

# 高效液相色谱法测定米非司酮的血药浓度

吴丽花, 申屠建中, 章霞, 史美甫(浙江大学医学院附属第一医院临床药理研究室, 浙江 杭州 310003)

**摘要:**目的 建立测定米非司酮血药浓度的方法。方法 以乙腈:水(70:30)为流动相, 炔诺酮作内标, 血浆样品经用乙醚萃取后上样, 经  $C_{18}$  柱分离后, 在紫外波长 302nm 处检测米非司酮, 在 240nm 处检测炔诺酮。结果 线性范围 0.05 ~ 10.0  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  ( $r = 0.9995$ )。平均相对回收率在 95% ~ 110% 之间, 日内和日间 RSD 均小于 6%。米非司酮最低检出限为 0.01  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 萃取回收率大于 90%。结论 本法快速、简便、准确、灵敏, 可用于米非司酮的药物动力学研究。

**关键词:**米非司酮; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2003)01-0085-02

## Determination of mifepristone in plasma by high performance liquid chromatography

WU Li-hua, SHENTU Jian-zhong, ZHANG Xia, SHI Mei-fu (Department of clinical pharmacology, First Affiliated Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310003, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To develop a method for determination of mifepristone in plasma. **METHOD** RP-HPLC was applied to quantitative analysis. Plasma samples were extracted with ethylether. 20  $\mu\text{L}$  of extraction was injected and separated by  $C_{18}$  column. The mobile phase was composed of acetonitrile-water (70:30), norethindrone was used as internal standard. The UV detective wavelength was 302nm and 240nm for mifepristone and norethindrone respectively. **RESULTS** There is a good linear relationship within the range of 0.05 ~ 10.0  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  ( $r = 0.9995$ ), and the relative recovery was between 95 ~ 110%. The RSD of daily and days assays were all less than 6%. The minimum amount of detection proved to be 0.01  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , the absolute recovery was more than 90%. **CONCLUSION** The method is rapid, simple, accurate and sensitive.

**KEY WORDS:** mifepristone; HPLC

米非司酮(RU486, mifepristone)为一甾体化合物,具有抗孕激素和抗肾上腺皮质激素的作用,配伍米索前列醇终止早孕已在全世界范围内广泛应用<sup>[1]</sup>。我们研究并建立了一种简便、灵敏的 HPLC,用来测定米非司酮的血药浓度,以满足药物动力学研究的需要。

### 1 仪器与试剂

美国 Waters2690 高效液相色谱仪; Waters 996 二极管阵列检测器; Millennium<sup>32</sup> 数据处理系统。

米非司酮对照品:浙江仙居制药厂提供,纯度 99.6%;炔诺酮(内标):浙江仙居制药厂提供,纯度 98.9%,批号 000103;乙腈为色谱纯;乙醚为分析纯;水为二次重蒸馏水。

### 2 分析方法

#### 2.1 色谱条件

色谱柱: Dikma Diamonsil(钻石)  $C_{18}$  柱(200mm  $\times$  4.6mm, 5 $\mu\text{m}$ ),流动相:乙腈-水(70:30);流速:1  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ;进样量:20 $\mu\text{L}$ ;柱温:室温;检测波长:米非司酮为 302nm,炔诺酮为 240nm;色谱分析时间:14min。

#### 2.2 样品处理及测定

取血清 450 $\mu\text{L}$ ,加入 50 $\mu\text{L}$  内标炔诺酮溶液(21.5  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的乙腈溶液),旋涡振荡 30s,再加入 5mL 乙醚,充分振荡 0.5min,以 3000r/min 离心 10min,移出有机层,置 37 $^{\circ}\text{C}$  水中氮气吹干,残渣用 100 $\mu\text{L}$  乙腈溶解,取 20 $\mu\text{L}$  进样分析。

### 3 结果

#### 3.1 色谱图

内标物在 4.10min 出峰,米非司酮在 7.23min 出峰,不受血浆中内源性物质干扰。

**3.2 标准曲线制备** 取空白血清准确加入米非司酮标准液,使其浓度分别为 10.0, 5.0, 2.5, 1.0, 0.8, 0.4, 0.2, 0.1, 0.05  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。各取 450 $\mu\text{L}$ ,依“样品处理”项下处理,以样品浓度为横坐标 X,样品与内标的峰面积比值为纵坐标 Y,绘制标准曲线,计算回归方程,得  $Y = 0.4907X - 0.0021$ ,  $r = 0.9995$ ,可见,在 0.05 ~ 10.0  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  内,线性关系良好。血浆中米非司酮的最低检出限为 0.01  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  (S/N=3)。

#### 3.3 萃取回收率

取空白血清准确加入米非司酮标准液,配成血清浓度分别为 0.05, 0.4, 5.0  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的低、中、高 3 个浓度的样品,取 450 $\mu\text{L}$  依“样品处理”项下处理后进样,与直接将对应浓度的标准品进样所得的峰面积相比,计算萃取回收率,结果低、中、高 3 个浓度的样品的萃取回收率分别为 91.20%, 95.33%, 93.16% ( $n = 5$ )。

#### 3.4 加样回收率及精密度测定

取空白血清准确加入米非司酮标准液,配成血清浓度分别为 0.05, 0.4, 5.0  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的低、中、高 3 个浓度的样品,取 450 $\mu\text{L}$  依“样品处理”项下处理。日内平行做 5 次;隔日做 1

次,共 5 次。结果低、中、高 3 个浓度( $0.05, 0.4, 5.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )的平均加样回收率分别为 104.63%, 103.91%, 100.64%; 日内 RSD 分别为 3.85%, 5.12%, 4.41%; 日间 RSD 分别为 4.53%, 4.57%, 3.61%。

#### 4 讨论

关于米非司酮的血药浓度测定,国内文献报道较少,操作较为繁琐,且均采用外标法<sup>[2,3]</sup>。本实验选用炔诺酮为内标物,在本实验条件下,米非司酮、内标及血源性杂质得到很好地分离。在流动相的选择中,我们曾采用甲醇-水(70:30),此条件下炔诺酮和米非司酮的保留时间过长,分别为 9 min 和 25 min。采用乙腈-水(70:30)为流动相后,获得了较好的洗脱效果,保留时间合适,峰形较佳。对流出的峰进行紫外扫描,发现炔诺酮和米非司酮的紫外最大吸收峰分别落

在 240, 302nm 处,为此我们应用二极管阵列检测器,选择 302nm 处检测米非司酮,而炔诺酮的检测则在 240nm 处。大大提高了检测灵敏度。该方法快速、简便、准确、灵敏,可用于米非司酮的药物动力学研究。

#### 参考文献

- [1] Frydman R, Baton C, Lelaidier C, *et al*. Mifepristone for induction of labor[J]. *Lancet*, 1991, 337:488.
- [2] 罗劲松,赵志刚,高婉丽,等.晚期妊娠引产产妇血浆及其脐血中的米非司酮浓度测定[J]. *中国医院药学杂志*, 1998, 18(1): 9.
- [3] 高晨,赵志刚,王越,等.晚期妊娠引产产妇及其新生儿血浆中的米非司酮浓度测定[J]. *药物分析杂志*, 2000, 20(2): 119.

收稿日期:2001-03-06