

高效液相色谱法测定醋酸甲羟孕酮有关物质

刘天姝, 张佳佳, 王惠玉

(海能未来技术集团股份有限公司, 山东 250104)

摘要: 本文使用悟空 K2025 高效液相色谱仪测定醋酸甲羟孕酮有关物质。色谱条件: 色谱柱为: C₁₈ (4.6×250mm, 5μm), 流速为 1.0mL/min, 柱温为 25°C, 进样量为 10μL, 检测波长为 254nm。实验结果: 醋酸甲羟孕酮峰的理论塔板数为 10727; 醋酸甲羟孕酮峰与炔诺酮峰之间的分离度为 17.68, 醋酸甲羟孕酮峰前的杂质峰与醋酸甲羟孕酮峰的分度为 2.85, 均满足《中国药典(2020年版)》的要求。

关键词: 醋酸甲羟孕酮; 高效液相色谱

醋酸甲羟孕酮为白色或类白色的结晶性粉末; 无臭; 在三氯甲烷中极易溶解, 在丙酮中溶解, 在乙酸乙酯中略溶, 在无水乙醇中微溶, 在水中不溶。

醋酸甲羟孕酮主要用于痛经、功能性闭经、功能性子宫出血、先兆流产或习惯性流产、子宫内膜异位症、治疗晚期乳腺癌、子宫内膜腺癌及肾癌等; 大剂量可用作长效避孕针; 除此之外作用还体现在月经来潮因子宫内膜失去雌激素和孕激素的支持发生脱落后, 能继续人为地补充雌激素或孕激素特别是孕激素, 使“无援”的子宫内膜继续得到支持, 保持继续增厚的水平, 这样子宫内膜牢固地生长在子宫壁上, 为受精卵植入作好了准备, 实现了推迟月经的目的。

1 范围

适用于醋酸甲羟孕酮有关物质的测定。

2 原理

醋酸甲羟孕酮在 254nm 处有紫外吸收, 使用高效液相色谱法进行测定。

3 试剂与材料

水: 符合 GB/T6682 的一级水;

甲醇: 色谱纯;

杂质对照品: 炔诺酮;

醋酸甲羟孕酮对照品;

试验用样品: 醋酸甲羟孕酮原料药。

4 仪器与设备

高效液相色谱仪：K2025 P2 二元高压输液泵、K2025 AS 自动进样器、K2025 CO 柱温箱、K2025 UVD 紫外-可见光检测器、Wookinglab 色谱工作站；

分析天平：精确到 0.0001g；

涡旋振荡器；

容量瓶：10mL、100mL，棕色带刻度。

5 测定步骤

5.1 溶液配制

系统适用性溶液：取醋酸甲羟孕酮与炔诺酮对照品各适量，加甲醇溶解并稀释制成每 1mL 中各约含 0.16 mg 的混合溶液；

供试品溶液：取本品（3.5）适量，加甲醇溶解并稀释制成每 1mL 中约含 0.8mg 的溶液；

对照溶液：供试品溶液用甲醇稀释 100 倍；

灵敏度溶液：供试品溶液用甲醇稀释 2000 倍。

5.2 色谱条件

- a) 色谱柱：C₁₈ 4.6×250mm，5μm 或者相当的色谱柱；
- b) 流动相：甲醇-水（70:30）；
- c) 柱温：25℃；
- d) 流速：1.0mL/min；
- e) 波长：254 nm；
- f) 进样量：10 μL，记录色谱图至主成分峰保留时间的 1.5 倍。

系统适用性溶液的色谱图中，理论板数按醋酸甲羟孕酮峰计算应不低于 2000，醋酸甲羟孕酮峰与炔诺酮峰之间的分离度应大于 3.0，醋酸甲羟孕酮峰前的杂质峰与醋酸甲羟孕酮峰的分离度应符合要求。

6 结果

按照上述色谱条件（5.2）进行采集，系统适用性溶液的色谱图如图 1 所示，积分结果如表 1 所示。

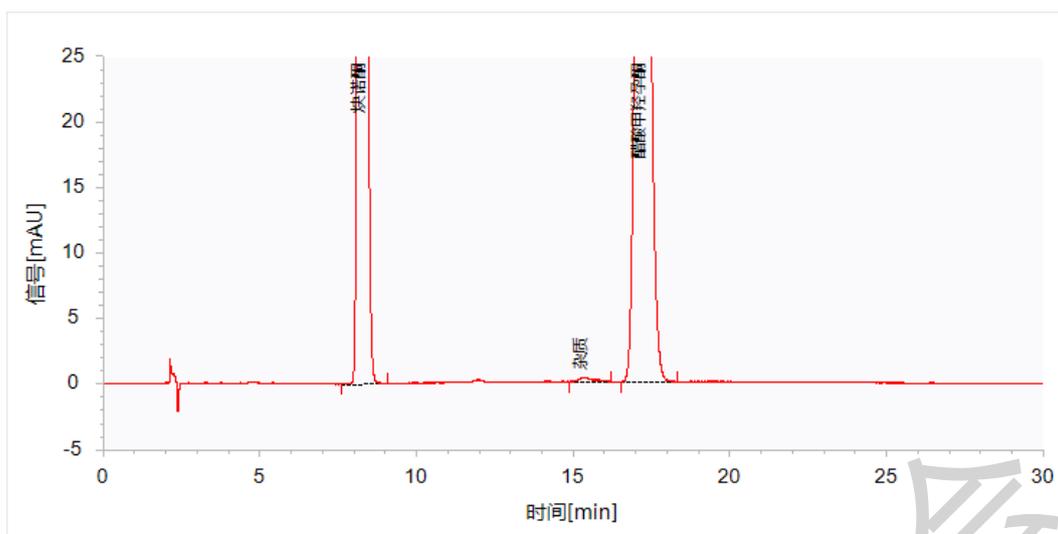


图 1 系统适用性溶液的色谱图

表 1 系统适用性溶液色谱图积分结果

目标物	保留时间 (min)	峰面积 (mAU.s)	峰高 (mAU)	理论塔板 数	分离度	对称/拖尾因子
炔诺酮	8.278	3821.275	289.658	9128	-	1.15
杂质	15.365	10.757	0.333	9329	14.42	1.66
醋酸甲羟孕酮	17.222	2664.448	104.963	10727	2.85	1.14

由表 1 可知，醋酸甲羟孕酮峰的理论塔板数为 10727，满足《中国药典（2020 年版）》中理论塔板数按醋酸甲羟孕酮峰计算不低于 2000 的要求；醋酸甲羟孕酮峰与炔诺酮峰之间的分离度为 17.68，醋酸甲羟孕酮峰前的杂质峰与醋酸甲羟孕酮峰的分度为 2.85，满足《中国药典（2020 年版）》中醋酸甲羟孕酮峰与炔诺酮峰之间的分离度应大于 3.0，醋酸甲羟孕酮峰前的杂质峰与醋酸甲羟孕酮峰的分度应不小于 1.5 的要求。

供试品溶液的色谱图如图 2 所示。

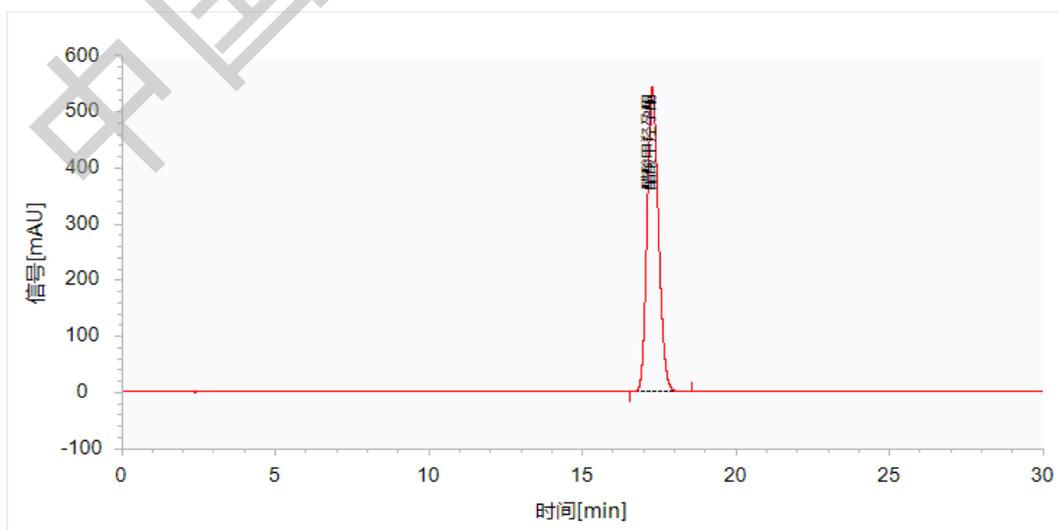


图 2 供试品溶液的色谱图

将对照溶液连续进样 7 针，进行重复性测试，结果见表 2，叠加的色谱图如图 3 所示。

表 2 对照溶液连续进样 7 针重复性数据统计

目标物		1	2	3	4	5	6	7	平均值	RSD%
醋酸甲羟孕酮	保留时间	17.310	17.353	17.325	17.340	17.373	17.360	17.315	17.339	0.137
	峰面积	124.172	125.769	125.411	124.694	124.596	125.306	124.267	124.888	0.490

由表 2 可知，对照溶液连续进样 7 针进行重复性测试，醋酸甲羟孕酮峰保留时间的 RSD 为 0.137%，峰面积的 RSD 为 0.490%。

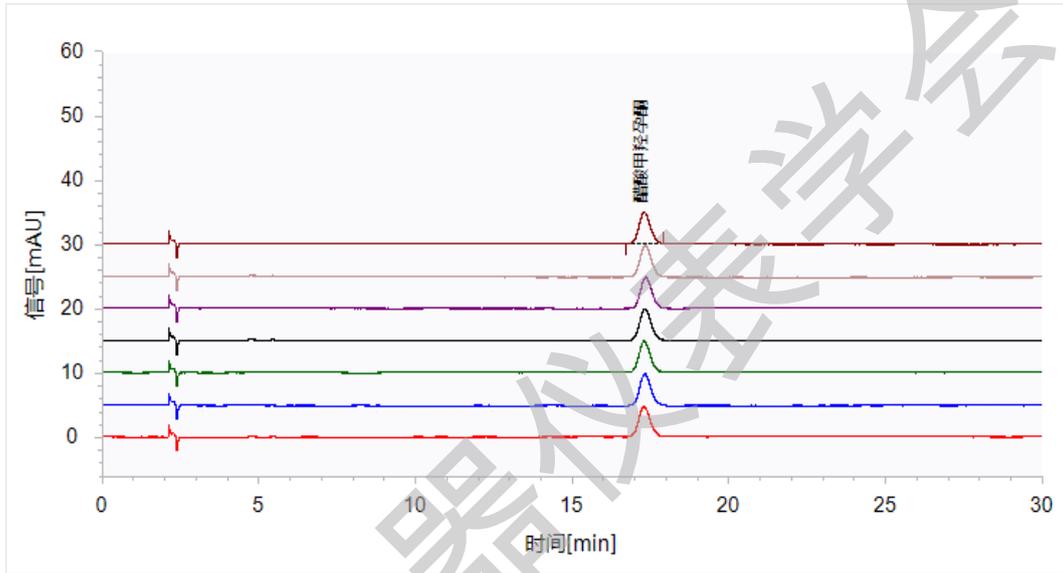


图 3 对照溶液连续进样 7 针叠加的色谱图

将供试品溶液稀释 2000 倍进行灵敏度测试，如图 4 所示，灵敏度计算结果见表 3。

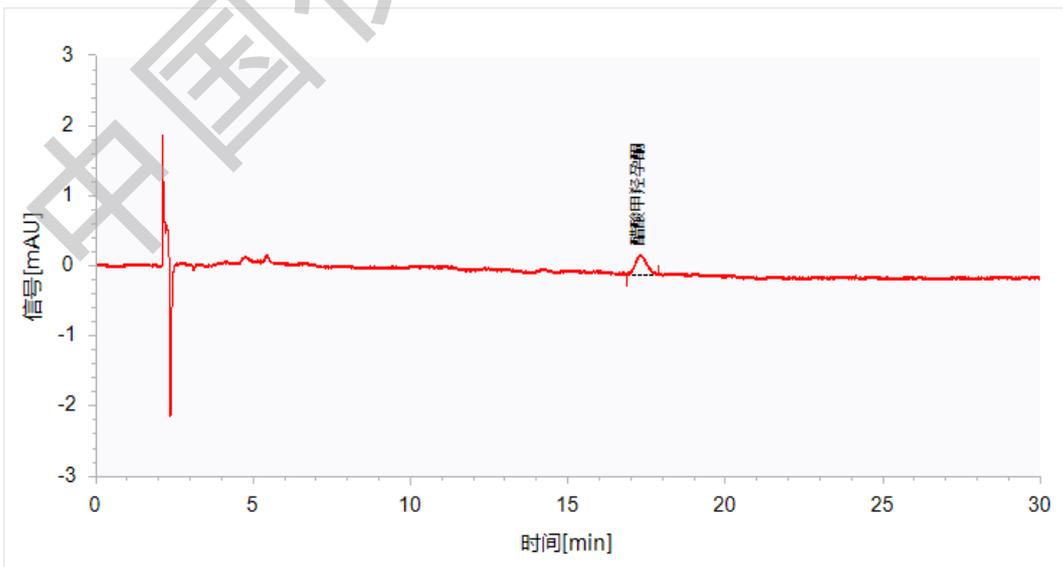


图 4 灵敏度溶液的色谱图

表 3 醋酸甲羟孕酮灵敏度计算结果

目标物	峰高 (mAU)	噪声 (mAU)	S/N
醋酸甲羟孕酮	0.293	0.008	36.6

通过计算，灵敏度溶液中醋酸甲羟孕酮的信噪比 S/N 为 36.6，满足《中国药典（2020 年版）》中定量测定时，信噪比应不小于 10 的要求。

7 结论

本实验结果：醋酸甲羟孕酮峰的理论塔板数为 10727；醋酸甲羟孕酮峰与炔诺酮峰之间的分离度为 17.68，醋酸甲羟孕酮峰前的杂质峰与醋酸甲羟孕酮峰的分离度为 2.85；对照溶液连续进样 7 针重复性测试，醋酸甲羟孕酮峰保留时间的 RSD 为 0.137%，峰面积的 RSD 为 0.490%；灵敏度溶液中醋酸甲羟孕酮的信噪比 S/N 为 36.6。因此，Wooking K2025 高效液相色谱仪对醋酸甲羟孕酮有关物质的测定，在理论塔板数、分离度、重复性以及灵敏度等方面均满足《中国药典（2020 年版）》的要求。