

# 不同厂家左炔诺孕酮原料药及片剂中右旋体存在状况考察

施捷\*,车宝泉,尹光(北京市药品检验所,北京 100035)

中图分类号 R927.11 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)04-0538-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.04.34

**摘要** 目的:考察不同厂家左炔诺孕酮原料药及片剂中是否存在无活性右旋体,并对高温、高湿、光照破坏的原料药进行考察,以了解贮存时的变化情况。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Hypersil ODS,流动相为甲醇-1%  $\gamma$ -环糊精(50:50),流速为 1.2 ml/min,检测波长为 242 nm,柱温为 30 ℃。分析来源于 2 个厂家的 11 批次原料药、7 个厂家的 19 批片剂(包括放置 3 年的 1 批样品)、1 个厂家的 2 批肠溶片、原研片及经光、湿、热破坏的原料药中右旋体的存在情况。结果:在采用的色谱条件下,左炔诺孕酮与右旋体分离良好,右旋体检测限为 1 ng;各检品中均未检出右旋体。结论:建立的方法专属性强、灵敏且环保;推导该药在原料合成时即可以控制左炔诺孕酮的光学纯度,制剂稳定性好,贮存期间不会因光、湿、热等因素产生右旋体。

**关键词** 左炔诺孕酮;右旋体;原料药;片剂;高效液相色谱法

## Investigation of Dextroisomer in Levonorgestrel Drug Substance and Levonorgestrel Tablets from Different Manufacturers

SHI Jie, CHE Bao-quan, YIN Guang(Beijing Institute for Drug Control, Beijing 100035, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To investigate if any inactive dextroisomer is in levonorgestrel drug substance or Levonorgestrel tablets from different sources, and to investigate levonorgestrel drug substance treated with heat, moisture and light to study the change of storage. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Hypersil ODS column with mobile phase consisted of methanol-1%  $\gamma$ -cyclodextrin (50:50) at the flow rate of 1.2 ml/min. The detection wavelength was set at 242 nm, and the column temperature was 30 ℃. The inactive dextroisomer were analyzed in 11 batches of drug substance from 2 manufacturers, 19 batches of tablet from 7 manufacturers (containing 1 batch of sample after kept for 3 years), 2 batches of enteric-coated tablet from 1 manufacturer, original tablet and drug substance treated with heat, moisture and light. RESULTS: Dextroisomer was well separated from levonorgestrel under above chromatogram condition, and the limit of detection was 1 ng. No dextroisomer was found in samples. CONCLUSIONS: Established method is specific, sensitive and environmental. It can control the optical purity of levonorgestrel during synthesis process through the derivation. The preparation is stable, and no dextroisomer is produced due to light, moisture or heat during storage.

**KEYWORDS** Levonorgestrel; Dextroisomer; Drug substance; Tablet; HPLC

- [ 3 ] Li RW, David LG, Myers SP, *et al.* Anti-inflammatory activity of Chinese medicinal vine plants[J]. *J Ethnopharmacol*, 2003, 85(1):61.
- [ 4 ] 赵小勤,蒲旭峰,孔卫东,等.独活寄生丸的药材鉴别及蛇床子素的测定[J].*华西药学杂志*, 2012, 27(3):342.
- [ 5 ] 邹渭洪,付成效,龙宇,等. RP-HPLC法测定三皮止癬酊中蛇床子素的含量[J].*中国药房*, 2012, 23(47):4 484.
- [ 6 ] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版.北京:中国医药科技出版社, 2010:附录 X A.
- [ 7 ] 方勇飞,钟兵,王剑莉,等.中药处方制剂中风湿病相关方剂数据库的建立与处方分析[J].*中国药房*, 2003, 14(11):667.
- [ 8 ] 刘建新,张文平,周俐,等.蛇床子素对大鼠的抗炎作用和机制[J].*中药材*, 2005, 28(11):1 002.
- [ 9 ] Pham-Marcou TA, Beloeil H, Sun X, *et al.* Antinociceptive effect of resveratrol in carrageenan-evoked hyperalgesia in rats: prolonged effect related to COX-2 expression impairment[J]. *Pain*, 2008, 140(2):274.
- [ 10 ] Liang HJ, Suk FM, Wang CK, *et al.* Osthole, a potential antidiabetic agent, alleviates hyperglycemia in db/db mice [J]. *Chem Biol Interact*, 2009, 181(3):309.
- [ 11 ] 王一涛,王家葵,杨奎.续断的药理学研究[J].*中药药理与临床*, 1996(3):20.
- [ 12 ] 邱建波,徐清,姜笑寒.独活乙醇提取物对环氧化酶的影响[J].*中国医药导报*, 2011, 8(16):42.
- [ 13 ] 谭洪根,林生,张启伟,等.高效液相色谱法测定续断药材中川续断皂苷Ⅵ的含量[J].*中国中药杂志*, 2006, 31(9):726.
- [ 14 ] 夏立武,唐晓霞,刘亚军,等. HPLC测定熟参益气止血颗粒中川续断皂苷Ⅵ的含量[J].*药物分析杂志*, 2011, 31(5):941.

\*副主任药师,硕士研究生。研究方向:药品检验、药品质量、实验室质量管理。电话:010-83228397。E-mail: shijie\_20130419@126.com

(收稿日期:2014-04-08 修回日期:2014-11-18)

(编辑:刘萍)

左炔诺孕酮为国家基本药物,是广泛使用的孕激素药物。其是消旋体炔诺孕酮中具有生物活性的左旋体,活性比炔诺孕酮强1倍,而其对映体右旋体无活性。左炔诺孕酮片为事后紧急避孕药,其有效性的重要性不言而喻。消旋体炔诺孕酮是首先被合成出的,为获得左旋体,生产厂家采用微生物不对称还原的路线<sup>[1-3]</sup>进行左旋体的定向合成。其关键中间体乙基缩合物,经酿酒酵母菌AS2.346的不对称还原获得17 $\beta$ -羟基和13 $\beta$ -乙基立体专一的乙基羟化物,即左炔诺孕酮所需的立体构型,并且在后续的合成中保持不变。为控制本品为具有药效的左旋体,国内外主要药典<sup>[3-5]</sup>均通过测定其三氯甲烷溶液的比旋度来进行控制。但采用三氯甲烷提取浓缩后的旋光度鉴别法控制产品质量的方法操作烦琐,且样品耗用量大,对环境污染也大;同时旋光度值的设置也不能反映样品的真实情况,方法可控性不强。《英国药典》<sup>[6]</sup>采用流动相添加手性试剂的高效液相色谱(HPLC)法,对光学异构体进行拆分,从而鉴别其中的光学活性成分。由于该法更具有先进性,故笔者参考《英国药典》方法,收集市场上的各个厂家的左炔诺孕酮片、肠溶片及原料药,对其进行了右旋体存在状况的考察。

左炔诺孕酮全合成中关键的微生物不对称还原步骤及左炔诺孕酮化学结构式分别见图1、图2。

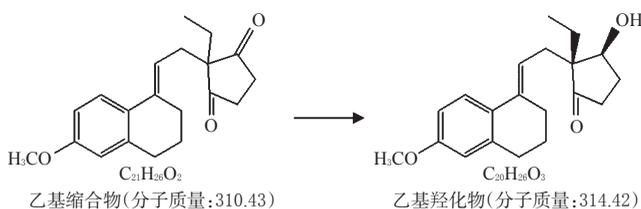


图1 左炔诺孕酮全合成中关键的微生物不对称还原步骤

Fig 1 The key step of the microbial asymmetric reduction in total synthesis of levonorgestrel



图2 左炔诺孕酮化学结构式

Fig 2 Chemical structure of levonorgestrel

## 1 材料

### 1.1 仪器

1200 HPLC仪及Chem Station 色谱工作站(美国安捷伦公司);CP225D电子天平(德国赛多利斯公司)。

### 1.2 药品与试剂

左炔诺孕酮对照品(批号:100076-200703,纯度:99.8%)及炔诺孕酮对照品(批号:100028-199907,纯度:99.4%)均由中国食品药品检定研究院提供;供试样品中左炔诺孕酮片19批(批号分别为101221、100723;090301、100801、100101;20110501、20110101、20110301;LEU101001;100301、090606、100302;100102、100506、110406;101215、110113、110214、20080205,来源于7个厂家,规格:每片0.75、1.5 mg);左炔诺孕酮肠溶片2批(批号分别为110201、100701,来源于1个厂家,

规格为每片1.5 mg,均为2011年国家评价性抽验样品);原料药11批[批号:20100116、01001107019、01001101013、01001007008、20090105、ZQ20110009(2份)、ZQ20090005、ZQ200911022、ZQ20090015、ZQ20090016,来源于国内2个原料厂家;纯度:均在97.0%以上];经高温(60℃放置10 d)、高湿(相对湿度92.5%放置10 d)及光照(紫外光灯254、365 nm照射4 h)破坏的原料药1批(批号:20100116)来源于国内某原料药厂家;原研片剂左炔诺孕酮片(商品名:保仕婷<sup>®</sup>,匈牙利吉瑞大药厂,批号:T92234P,规格:每片0.75 mg);所用试剂甲醇为色谱纯,水为Milli-Q高纯水, $\gamma$ -环糊精的纯度>98.0%。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件<sup>[6]</sup>

参考2011年版《英国药典》左炔诺孕酮片鉴别A项下色谱条件,色谱柱为Hypersil ODS(150 mm $\times$ 4.6 mm,5  $\mu$ m),流动相为甲醇-1%  $\gamma$ -环糊精(50:50),流速为1.2 ml/min,检测波长为242 nm,柱温为30℃,进样量为20  $\mu$ l。

### 2.2 溶液制备

2.2.1 左炔诺孕酮对照品溶液 取左炔诺孕酮对照品15 mg,精密称定,置于25 ml量瓶中,加80%甲醇溶液使溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取1 ml,置于100 ml量瓶中,加80%甲醇溶液稀释至刻度,摇匀即得。

2.2.2 炔诺孕酮对照品溶液 取炔诺孕酮对照品12 mg,精密称定,置于10 ml量瓶中,加80%甲醇溶液使溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取1 ml,置于100 ml量瓶中,加80%甲醇溶液稀释至刻度,摇匀即得。

2.2.3 系统适用性溶液 取左炔诺孕酮对照品15 mg,精密称定,置于25 ml量瓶中,用炔诺孕酮对照品溶液溶解并稀释至刻度,摇匀即得。

2.2.4 供试品溶液 取原料药15 mg或相当于左炔诺孕酮15 mg的片剂细粉适量,精密称定,置于25 ml量瓶中,加80%甲醇溶液适量,超声10 min,置于60℃水浴加热10 min,放冷,用80%甲醇溶液稀释至刻度,摇匀(片剂需滤过,取续滤液),作为供试品溶液。

### 2.3 方法学考察

2.3.1 专属性试验 根据各厂家提供的处方,制备混合辅料,取相当于15 mg主成分对应的辅料量,按“2.2.4”项下方法制备混合辅料溶液。结果表明辅料对右旋体分析未见干扰。取左炔诺孕酮对照品溶液、炔诺孕酮对照品溶液、系统适用性溶液、供试品溶液及空白溶剂(80%甲醇溶液),依法测定。结果左炔诺孕酮与右旋体分离良好,空白溶剂及供试品中其他杂质不干扰右旋体测定,典型色谱图见图3。

2.3.2 检测限试验 取炔诺孕酮对照品溶液逐级稀释,当右旋体色谱峰高与基线噪音比值为3:1时,右旋体进样量为1 ng,相当于供试品溶液中含0.008 3%的右旋体即可被检出。

### 2.4 样品中右旋体检测

按“2.2.4”项下制备供试品溶液,并按“2.1”项下条件测定。结果来源于2个厂家的原料药、来源于7个厂家的片剂(包括放置3年的1批样品,批号:20080205)、来源于1个厂家的肠溶片剂、原研片剂及经光湿热破坏的原料药中,均未检出无药效的右旋体杂质。

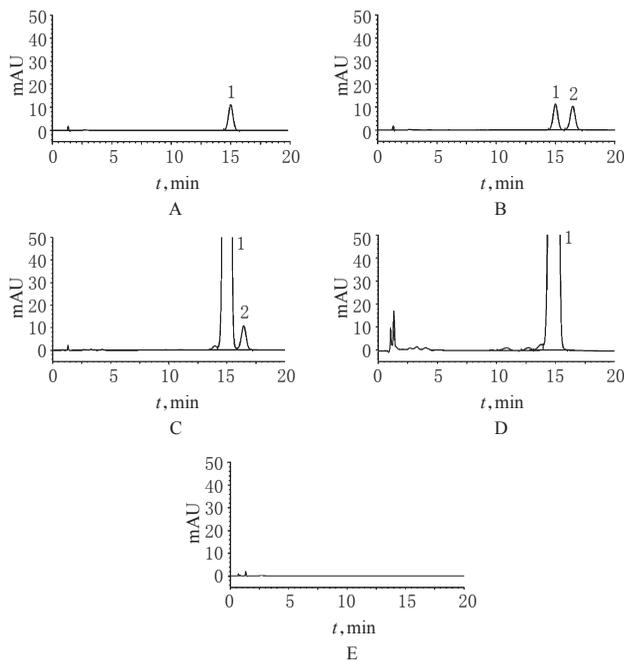


图3 左炔诺孕酮及其右旋体分离的典型色谱图

A. 左炔诺孕酮对照品溶液; B. 炔诺孕酮对照品溶液; C. 系统适用性溶液; D. 供试品溶液(批号: 100302); E. 空白溶剂; 1. 左炔诺孕酮; 2. 炔诺孕酮右旋体

Fig 3 Typical chromatograms of the separation of levonorgestrel and its dextroisomer

A. levonorgestrel control solution; B. norgestrel control solution; C. system suitability solution; D. test solution (lot No. 100302); E. blank solvent; 1. levonorgestrel; 2. dextroisomer

### 3 讨论

(1)原料合成工艺对左炔诺孕酮光学纯度的控制:原料药中均未检出对映体杂质,表明工艺路线中酿酒酵母菌AS2.346对乙酰缩合物的不对称还原具有性能稳定、专一性强的优点<sup>[2]</sup>。工艺路线中的其他步骤也未出现构型翻转<sup>[7-8]</sup>现象,表明已建立的合成工艺完全可以控制左炔诺孕酮的光学纯度。

(2)样品稳定性:经光、湿、热破坏的原料药中未检出右旋体杂质,表明左旋炔诺孕酮性质稳定,不会发生构型翻转或者手

性转化。片剂中均未检出右旋体,表明片剂也是性质稳定的,不会产生右旋体杂质。

(3)方法学验证:因在所有原料和片剂中均未检出右旋体杂质,因此只对该方法的专属性和检测限<sup>[3]</sup>进行了考察。

(4)方法应用展望:HPLC法是目前手性药物分析和分离中应用最广泛、有效的方法之一<sup>[9]</sup>。本文方法与《中国药典》采用的旋光度测定法相比,具有专属性强、灵敏及环保的优势,可用于左炔诺孕酮原料药及片剂的光学纯度质量控制。在限度制订上,可根据微生物不对称还原工艺专一性强的特点和样品实际测定结果,进行严格的控制。

### 参考文献

- [1] 甾族激素组.D-18-甲基炔诺酮及D-18-甲基二烯炔诺酮的全合成[J].化学学报,1979,37(1):1.
- [2] 上海有机化学所一室.光学活性18-甲基炔诺酮鉴定会[J].有机化学,1981(3):177.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:104-105、附录194-195.
- [4] 美国药典委员会.USP36-NF31[S].Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, 2013:4 102.
- [5] 欧洲药典委员会. European Pharmacopoeia 7.0[S].Strasbourg: Council of Europe, 2011:2 363.
- [6] 英国药典委员会. British Pharmacopoeia[S]. London: The Stationery Office, 2011:2 938.
- [7] 周燕.手性氨基醇类催化剂的设计合成及其在硼烷对前手性酮不对称还原反应中的应用研究[D].兰州:兰州大学,2008:67-72.
- [8] 钱慧芬.(1R,3S)-樟脑酸制备(1S,3R)-樟脑酸酐过程中构型翻转的研究[J].南京工业大学学报,2001,26(4):35.
- [9] 程民.色谱法拆分手性药物在我国的应用[J].中国药房,2011,22(13):1 220.

(收稿日期:2014-05-07 修回日期:2014-06-09)

(编辑:刘 萍)

## 国家食品药品监督管理总局发布《食品药品监督管理统计管理办法》

本刊讯 2014年12月19日,国家食品药品监督管理总局《食品药品监督管理统计管理办法》(总局令第10号)发布,该规章于2014年9月29日经总局局务会议审议通过,于2015年2月1日起施行。

《食品药品监督管理统计管理办法》对原办法进行了修订,共六章二十八条,其修订的主要内容包括:明确了食品、保健食品、药品、化妆品、医疗器械等产品的全口径统计范围;调整了统计基本任务和适用范围;强化了各级食品药品监督管理

理部门对统计工作的组织领导与保障;增加了统计资料公开以及统计人员素质、权利和义务的规定;规定了部门负责人、统计机构、统计人员及统计调查对象发生违法情况的法律责任;建立健全了统计资料的审核、签署、归档制度。

为有效解决统计机构和各业务部门及直属单位重复统计、多头统计的问题,提高统计调查的权威性和数据的质量,《食品药品监督管理统计管理办法》对各级食品药品监督管理部门的统计机构与业务部门及直属单位的职责进行了明确。