

比卡鲁胺有关物质研究

王媛 刘梦婷

连云港杰瑞药业有限公司 江苏 连云港 222000

【摘要】目的: 采用高效液相色谱法测定比卡鲁胺中的有关物质。方法: 采用 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 色谱柱 (4.6mm × 100mm, 3.5μm), 以磷酸 - 乙腈 - 水 (1.9:100:1900) 为流动相 A; 以磷酸 - 水 - 乙腈 (1.9:100:1900) 为流动相 B, 梯度洗脱, 检测波长为 210nm, 流速为每分钟 1.0ml; 柱温为 40℃。结果: 在所建立色谱条件下共分离 15 个杂质, 各杂质之间及主成分之间均分离良好, 并进行了完整的分析方法验证包括专属性、线性、检测限和定量限、准确度、精密度、耐用性等, 均符合规定, 建立了加校正因子的自身对照法测定比卡鲁胺中有关物质的含量。结论: 该方法专属性强、准确性和灵敏度较高、耐用性好, 能有效地控制比卡鲁胺的质量。

【关键词】比卡鲁胺; 高效液相色谱法; 有关物质; 方法验证

Study on the related substances of Bicalutamide

Abstract: OBJECTIVE To determine the related substances of Bicalutamide by HPLC. METHODS Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 column (4.6mm × 100mm, 3.5μm) was used, and the mobile phase A was phosphoric acid R1, acetonitrile R1, water R (1.9:100:1900 V/V/V) and the mobile phase B was phosphoric acid R, water R, acetonitrile R1 (1.9:100:1900 V/V/V), gradient elution mode at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. Detection wavelength was 210 nm and column temperature was 40℃. RESULTS Under the established chromatographic conditions, a total of 15 impurities were separated, and the impurities and the main components were well separated. A complete analytical method was verified, including specificity, linearity, detection limit and quantitative limit, accuracy, precision, durability, and so on. All of them met the requirements. A self-control method with correction factor was established to determine the content of related substances in bicalutamide. CONCLUSION The method has the advantages of high specificity, accuracy, sensitivity and durability, and can effectively control the quality of bicalutamide.

Key words: Bicalutamide; HPLC; Related substances; Validation of Analytical Procedures

比卡鲁胺是由英国阿斯利康 (AstraZeneca) 制药公司开发的长效口服非甾体类抗雄激素药物, 能够竞争性结合雄激素受体, 消除雄激素对癌细胞的刺激, 从而抑制癌细胞增殖, 达到抗肿瘤效果, 主要用于前列腺癌的治疗^{[1][2]}。1995 年 6 月由 Zeneca 公司首先在英国上市, 1995 年 10 月获美国 FDA 批准在美国上市, 随后陆续在欧洲、澳大利亚、日本等二十多个国家和地区上市, 1999 年在英国增加了 150mg 规格, 单独用于治疗未转移的前列腺癌。我国国家食品药品监督管理局于 1999 年 10 月批准 Zeneca 公司的比卡鲁胺进口。

比卡鲁胺在生产和贮藏过程中会产生和降解生成各种杂质, 通过对比卡鲁胺制备工艺涉及的有机杂质和可能的降解途径进行了系统分析, 其可能的杂质有起始物料 (杂

质 D 和 N), 反应中间体 (杂质 I、G 和 J), 反应副产物 (杂质 A、B、C、E、F、H、K、L 和 O) 和降解杂质 (杂质 M、D 和 I), 具体分析见图 1。比卡鲁胺质量标准在欧洲药典 EP^[3]、英国药典 BP 和美国药典 USP^[4] 中均有收载, 除杂质 G、杂质 I 和杂质 N 外, 其余杂质均为药典中明确的已知杂质, 本文所研究的杂质包括了药典中的所有已知杂质, 并对其他杂质也进行了研究。

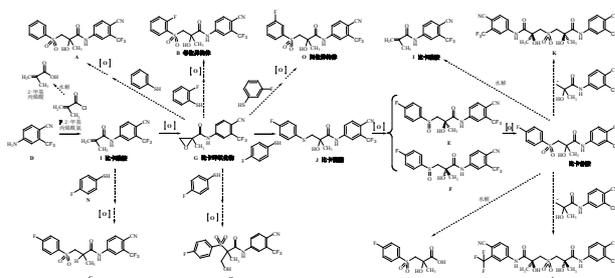


图 1 比卡鲁胺杂质生成示意图

作者简介: 王媛 (1982—), 女 (汉族), 江苏徐州人, 工程师, 硕士, 主要从事药物研发质量研究工作

1 仪器与试剂

赛默飞 U3000 高效液相色谱仪, 德国赛多利斯 BT25S 型电子分析天平, 所用试剂乙腈、磷酸均为色谱纯, 水为纯化水。比卡鲁胺原料药为连云港杰瑞药业有限公司生产。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 色谱柱(4.6mm×100mm, 3.5 μ m), 以磷酸-乙腈-水(1.9:100:1900)为流动相 A; 以磷酸-水-乙腈(1.9:100:1900)为流动相 B, 进行梯度洗脱(0min, B: 8%; 3min, B: 8%; 18min, B: 33%; 43min, B: 40%; 50min, B: 70%; 51min, B: 8%; 58min, B: 8%); 检测波长为 210nm, 流速为每分钟 1.0mL; 柱温为 40 $^{\circ}$ C, 进样量 10 μ l。

2.2 溶液配制

取杂质 A、B、C、D、(E+F)、G、H、I、J、K、L、M、N、O 对照品、和比卡鲁胺对照品适量, 用稀释剂乙腈-水(50:50)制成每 1mL 中含杂质 A、B、D、G、H、I、J、K、L、M、N、O 各 0.5 μ g、(E+F)1.25 μ g、杂质 C 0.75 μ g 和比卡鲁胺 0.5mg 的溶液, 作为系统适用性溶液。取本品 25mg, 精密称定, 置 50mL 量瓶中, 加稀释剂溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。精密量取供试品溶液适量, 加稀释剂稀释制成每 1mL 中含 1 μ g 的溶液, 作为对照溶液。

2.3 分析方法验证

2.3.1 专属性

分别取杂质 A、B、C、D、(E+F)、G、H、I、J、K、L、M、N、O, 加稀释剂乙腈-水(50:50)制成一定浓度的溶液, 作为各杂质的定位溶液。精密量取稀释剂、各杂质定位溶液和系统适用性溶液进样分析, 各杂质和比卡鲁胺各峰之间的分离度最小为 1.4, 大于 1.0, 该方法专属性良好。

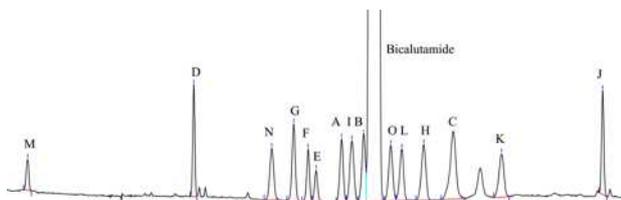


图 2 比卡鲁胺系统适用性典型色谱图

2.3.2 强制降解试验

取比卡鲁胺供试品进行氧化(30% 双氧水, 24h)、酸[盐酸甲醇溶液(9 \rightarrow 100), 24h]、碱(0.5mol/L 氢氧化钠甲醇溶液, 6h)、高温(105 $^{\circ}$ C, 24h)、水浴(80 $^{\circ}$ C, 12h)和光照(4500 \pm 500LX, 24h)强制降

解试验, 结果显示比卡鲁胺在氧化、水浴、高温、光照条件下基本无降解; 在酸性条件下略有降解、在碱条件下有较大降解, 主要降解杂质为 M、D 和 I, 含量分别为 2.4%、4.4% 和 0.9%。各经过破坏的溶液在 DAD(二极管阵列)检测器下主峰峰纯度均大于 990, 符合纯度要求, 各降解杂质均得到有效分离, 供试品溶液破坏前后质量基本守恒。

2.3.3 线性和校正因子

取比卡鲁胺对照品和各杂质对照品, 制成 20%、50%、80%、100%、150% 的线性溶液, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标作线性方程, 线性相关系数均大于 0.999, 线性关系良好。杂质 A、杂质 B、杂质 C、杂质 E、杂质 F、杂质 H、杂质 I、杂质 J、杂质 K、杂质 L、杂质 N 和杂质 O 的相对校正因子均在 0.9~1.1 之间, 计算时不需加校正因子; 杂质 D、杂质 G 和杂质 M 的相对校正因子分别为 0.71、0.85 和 2.38, 计算时需加校正因子。

2.3.4 检测限和定量限

根据“线性和范围”项下线性溶液所得色谱图的信噪比, 配制一定浓度的溶液进行稀释, 检测限以 $S/N \geq 3$ 计, 定量限以 $S/N \geq 10$ 计, 分别进样确定各杂质和比卡鲁胺的检测限(LOD)和定量限(LOQ), 各杂质定量限与供试品浓度比均不大于 0.02%, 检测限均不大于 0.01%, 比卡鲁胺的检测限为 0.033 μ g/mL, 定量限为 0.066 μ g/mL。

2.3.5 准确度

按照各杂质限度浓度的 50%、100%、150% 加样配制回收率溶液, 每个浓度点配制 3 份, 按照上述色谱条件进行测试, 按自身对照法计算, 各杂质三个浓度点的平均回收率均在 92%~105% 范围内; RSD 均小于 5%, 该方法回收率符合要求。

2.3.6 精密度

取本品精密称定, 照有关物质检查项下的方法操作, 6 次测定有关物质结果的 RSD 均不大于 10%, 该方法重复性符合要求。由不同的人, 在不同时间不同仪器上测定, 12 份样品有关物质结果的 RSD 均小于 10%, 该方法中间精密度符合要求。

2.3.7 溶液稳定性

取本供试品溶液, 置室温条件下自然放置, 分别于 0h、2h、4h、6h、8h、10h、12h 取样进行检测, 放置 12h 有关物质结果与 0h 相比差值均小于 0.05%, 该溶液在室温 12h 内是稳定的。

2.3.8 耐用性

分别改变色谱柱、流速(1.0 \pm 0.1mL/min)、柱温(40 \pm 2 $^{\circ}$ C)、流动相 pH(7.0 \pm 0.1)和初始有机相比例(7%、

9%)等色谱条件,对系统适用性溶液中杂质B和比卡鲁胺的分离度以及供试品溶液有关物质测定结果进行比较,分离度均大于1.0,有关物质测定结果基本一致,该方法耐用性良好。

3 结论

分别对USP和BP收载的有关物质色谱条件进行重现,USP方法中杂质A和杂质I、杂质B和比卡鲁胺不能完全分离,BP方法中杂质E和杂质F未分离,杂质I和杂质B不能完全分离,分离度小于1.0。本文参照BP2017有关物质方法并进行了优化,流动相、检测波长、流速和进样量均同BP,色谱柱规格由C18(4.0mm×250mm,5μm)改为C18(4.6mm×100mm,

3.5μm),柱温由50℃改为40℃,梯度进行了略微调整,优化后的方法杂质之间的最小分离度为1.4,分离效果良好,分离检测的杂质个数要多于USP和BP药典方法,能够较好地控制比卡鲁胺中的杂质。

【参考文献】

- [1] 比卡鲁胺片说明书. 康士得®CASODEX®. AstraZeneca UK Limited. 2016年02月02日.
- [2] 武国海,周彩红,王明伟. 前列腺癌治疗药物的研究新进展[J]. 中国新药杂志,2007,16(017):1330-1336.
- [3] European Pharmacopoeia (Ph. Eur.)9.2: Bicalutamide 01/2017:2196.
- [4] United States Pharmacopeia (USP) 40:3023-3024.