

对卤米松/三氯生乳膏中有关物质检查方法的思考

赵敬丹, 陈阳, 刘浩*, 金薇, 乐健*

(上海市食品药品检验研究院 国家药品监督管理局化学药品制剂质量分析重点实验室, 上海 201203)

摘要 目的:通过卤米松/三氯生乳膏中最大单个未知杂质的结构推测,探讨进口注册标准的合理性。**方法:**采用国家食品药品监督管理局进口药品注册标准 JX20080304 中有关物质项下的色谱条件对样品进行杂质检查;采用 USP 三氯生项下的方法对样品中的二噁英类物质进行检查;采用 LC-Q TOF/MS 对样品中的最大单个未知杂质进行推测。**结果:**按照 JX20080304 测定,以卤米松计,样品中最大单个杂质(RRT 0.67)检出量为 2.5%,超出标准规定的 1.0%;结合三氯生对照品溶液的色谱保留行为,推测上述杂质可能来源于三氯生;结合杂质的 MS 信息,推测可能为三氯生的工艺杂质。**结论:**对于复方制剂,建议对主要相关成分中涉及的杂质分别进行控制,并根据安全性数据进行有效评估,以保证制剂产品质量的稳定性和临床用药的安全性。

关键词:卤米松;三氯生;杂质;二噁英;复方制剂;有关物质;安全性;质谱

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2024)07-1233-05

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024-0045

Thoughts on determination method of the related substances in halometasone/triclosan cream

ZHAO Jing - dan, CHEN Yang, LIU Hao*, JIN Wei, LE Jian*

(NMPA Key Lab for Quality Analysis of Chemical Drug Preparations, Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

Abstract Objective: To analyze the structure of the maximum impurity in halometasone/triclosan cream and discuss the rationality of the current registered standard for imported drugs. **Methods:** The related substances in halometasone/triclosan were detected according to JX20080304, and dioxins were determined according to USP. Finally, the possible structures of the maximum impurity were characterized by LC-Q TOF/MS. **Results:** The results showed that the maximum unknown impurity(RRT 0.67), calculated according to halometasone was OOS (1.0%) at 2.5%. The peak was related to triclosan through comparing with the chromatography behavior of triclosan in reference substance solution. MS information indicted the process impurities of triclosan. **Conclusion:** For compound preparations, to ensure the stability and safety of the product, the impurities relevant to different components should be controlled separately at rational limit based on safety data.

Keywords: halometasone; triclosan; impurity; dioxins; compound preparation; related substances; safety; MS

* 通信作者 刘浩 Tel:(021)50798183;E-mail:liuhao1968@hotmail.com

乐健 Tel:(021)50798193;E-mail:fdalej@163.com

第一作者 Tel:18001677205;E-mail:dannyzhaoj@163.com

卤米松/三氯生(halometasone/triclosan)乳膏,商品名新适确得,由瑞士 Recordati AG 研发,希腊 Famar SA 生产,为复方制剂;其组分为每 1 g 乳膏含卤米松一水化合物 0.5 mg,三氯生 10 mg。适应症为用于已并发有三氯生敏感细菌继发感染,而皮质类固醇又有疗效的各种类型和各个部位的炎性皮肤病。

根据国家药品监督管理局数据库信息,卤米松/三氯生乳膏于 2007 年在我国获批进口,现执行标准为进口注册标准 JX20080304^[1],其中有关物质项下仅以卤米松计算产品中的相关杂质,三氯生中的杂质未见明确要求。三氯生是一种广谱抗菌剂,被广泛应用于肥皂、牙膏等日用化学品之中。三氯生本身对人体安全无毒,但生产工艺使得产品中极易携带高毒性杂质二噁英化合物^[2]。复方制剂含有 2 个或 2 个以上活性药药物成分,由于其成分较多,复方制剂相较于单方制剂的杂质更为复杂,不仅包括每个原料药中的杂质,还包括生产和贮存期间产生的降解产物以及活性药物成分之间、活性药物成分与辅料之间相互作用产生的降解产物^[3]。目前,为了全面评价药品的质量,对于复方制剂有关物质的研究逐渐引起了重视,在 1 个色谱系统中同时进行控制^[4-10]或在 2 个色谱系统中分别进行控制^[11-14]。

随着检测技术的提高以及杂质控制理念^[15]的不断更新,对于卤米松/三氯生乳膏中有关物质的检查应该针对卤米松和三氯生,分别制定相应的杂质控制方法,保证产品质量的稳定性和临床用药的安全性。

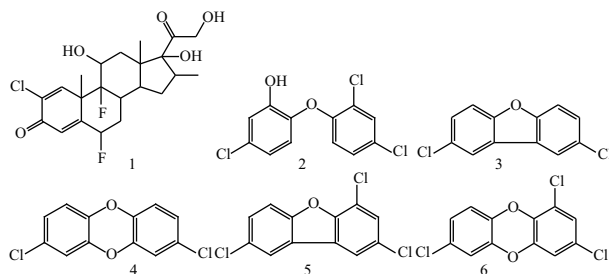
1 仪器与试剂

1.1 仪器

1260 型高效液相色谱仪,配备紫外检测器、二元梯度泵、自动进样器及 1260 型高效液相色谱仪 - 6550 iFunnel Q/TOF LC/MS 系统(安捷伦科技有限公司);CP224S 型万分级电子天平及 CP225D 型十万分级电子天平(赛多利斯科技有限公司)。

1.2 试剂与试剂

卤米松对照品(批号 QS21051501,含量 99.9%,企业 A),三氯生对照品(批号 510138-201701,含量 100.0%,中国食品药品检定研究院),三氯生有关物质混合物 A 对照品溶液(批号 FOE292,USP),结构见图 1。卤米松/三氯生乳膏(批号 2110a、2110b)来自企业 A。乙醇、正己烷、冰醋酸均为色谱纯(默克公司),水为超纯水(密理博公司)。



1. 卤米松(halometasone) 2. 三氯生(triclosan) 3. 2,8-二氯二苯并呋喃(2,8-dichlorodibenzofuran) 4. 2,8-二氯二苯并对二噁英(2,8-dichlorodibenzo-p-dioxin) 5. 2,4,8-三氯二苯并呋喃(2,4,8-trichlorodibenzofuran) 6. 1,3,7-三氯二苯并对二噁英(1,3,7-trichlorodibenzo-p-dioxin)

图 1 卤米松、三氯生及相关杂质的结构

Fig. 1 Structures of the main components and related substances

2 方法与结果

2.1 进口注册标准^[1]有关物质检查色谱条件

采用 Diamonsil 5 μm C_{18} (2) (150 mm \times 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱,以乙腈 - 水 - 冰醋酸(45:55:0.1)为流动相,流速 1.5 mL \cdot min⁻¹,检测波长 254 nm,进样体积 20 μL 。

2.2 USP 2,8-二氯二苯并呋喃等限度检查色谱条件

采用 Diamonsil 5 μm C_{18} (2) (150 mm \times 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱,以乙腈 - 水 - 冰醋酸(70:30:0.1)为流动相,流速 1.0 mL \cdot min⁻¹,检测波长 220 nm,进样体积 20 μL 。

2.3 质谱条件

以负离子扫描模式采集质谱图,采集范围 m/z 100 ~ 1 000。毛细管电压 3 500 V,鞘气温度 250 $^{\circ}\text{C}$,鞘气流速 11 L \cdot min⁻¹,干燥气流速 19 L \cdot min⁻¹,雾化室压力 0.24 MPa,二级质谱碰撞能量选择 30 eV 和 40 eV。

2.4 溶液的配制

2.4.1 卤米松对照品溶液 取卤米松对照品 10 mg,置 200 mL 量瓶中,加乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取 1 mL,置 100 mL 量瓶中,用乙腈稀释至刻度,摇匀,制成每 1 mL 中含 0.5 μg 的溶液。

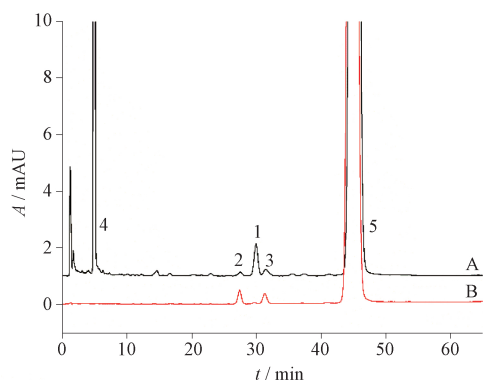
2.4.2 三氯生对照品溶液 1 取三氯生对照品 10 mg,置 10 mL 量瓶中,加乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀,制成每 1 mL 中含 1 mg 的溶液,即得。

2.4.3 三氯生线性溶液 取“2.4.2”项下的三氯生对照品溶液 1,用乙腈定量稀释制成每 1 mL 中分别含 0.5、1、2、5 和 10 μg 的系列对照品溶液,即得。

2.4.4 供试品溶液 取本品 5 g (相当于卤米松 2.5 mg), 精密称定, 置分液漏斗中, 加正己烷 50 mL, 静置 1 h 后, 强烈振摇, 再分别加乙腈 15、15 和 10 mL 提取 3 次, 合并提取液, 置 50 mL 量瓶中, 加乙腈稀释至刻度, 摇匀, $3\ 000\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清液, 即得。

2.5 样品测定

分别取“2.4”项下供试品溶液、卤米松对照品溶液 ($0.5\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 和三氯生对照品溶液 1 按“2.1”项下色谱条件进样分析; 取三氯生有关物质混合物 A 对照品溶液和“2.4”项下供试品溶液和三氯生线性溶液项下对照品溶液 ($10\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 按“2.2”项下色谱条件和“2.3”项下质谱条件进样分析, 典型色谱/质谱图见图 2~4。



1. 最大杂质 (the maximum impurity) 2~3. 三氯生其他相关杂质 (other related compounds of triclosan) 4. 卤米松 (halometasone) 5. 三氯生 (triclosan)

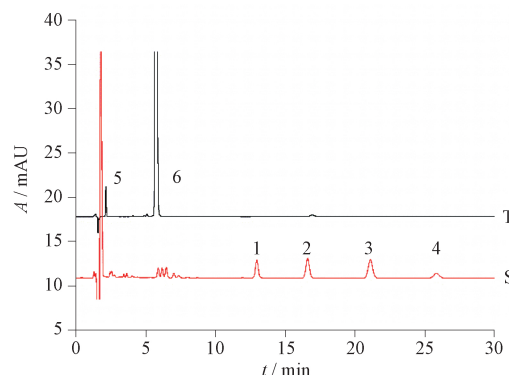
图 2 供试品溶液 (A) 和三氯生对照品溶液 (B) 在进口注册标准色谱系统中的典型色谱图

Fig. 2 Chromatograms of the test solution (A) and triclosan reference standard solution (B) in JX20080304 HPLC system

结果表明, 按照进口注册标准检查卤米松三氯生乳膏中的有关物质, 单个最大杂质检出量约为 2.5%, 远超标准规定的 1.0%。标准中并未明确哪些杂质来源于卤米松, 哪些杂质来源于三氯生, 极易影响结果的判定。

为了考察样品中的杂质是否为二噁英类物质, 按照现行 USP 三氯生项下 2,8-二氯二苯并呋喃等 4 种二噁英类物质检查方法对样品进行测定, 并未检出上述杂质。

RRT 0.67 杂质的一级质谱信息显示, 其相对分子质量为 251.90。



1. 2,8-二氯二苯并呋喃 (2,8-dichlorodibenzofuran) 2. 2,8-二氯二苯并对二噁英 (2,8-dichlorodibenzo-p-dioxin) 3. 2,4,8-三氯二苯并呋喃 (2,4,8-trichlorodibenzofuran) 4. 1,3,7-三氯二苯并对二噁英 (1,3,7-trichlorodibenzo-p-dioxin) 5. 卤米松 (halometasone) 6. 三氯生 (triclosan)

图 3 三氯生有关物质混合物 A 对照品溶液 (S) 和供试品溶液 (T) 典型色谱图

Fig. 3 Chromatograms of triclosan related compounds mixture A solution (S) and the test solution (T)

3 讨论

3.1 样品中 RRT 0.67 杂质的来源分析

采用和供试品溶液中三氯生相同浓度的三氯生对照品溶液 ($1\ \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 进样分析, 结果显示, 三氯生对照品溶液色谱图中存在和供试品溶液中最大单个杂质保留时间一致的色谱峰。初步推测 RRT 0.76 杂质可能来源于三氯生。

3.2 样品中 RRT 0.67 杂质的推测

取三氯生对照品 20 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加乙腈溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成每 1 mL 中含 2 mg 的溶液, 作为三氯生对照品储备液。

酸破坏试验: 取三氯生对照品储备液 1 mL, 置 2 mL 量瓶中, 加 $1\ \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸溶液 0.25 mL, 室温静置 4 h, 加 $1\ \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液 0.25 mL, 用乙腈稀释至刻度, 摇匀。

碱破坏试验: 取三氯生对照品储备液 1 mL, 置 2 mL 量瓶中, 加 $1\ \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液 0.25 mL, 室温静置 2 h, 加 $1\ \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸溶液 0.25 mL, 用乙腈稀释至刻度, 摇匀。

氧化破坏试验: 取三氯生对照品储备液 1 mL, 置 2 mL 量瓶中, 用 30% 的过氧化氢溶液稀释至刻度, 摇匀, 置 $90\ ^\circ\text{C}$ 水浴加热 5 min。

光照破坏试验: 取“2.4”项下三氯生对照品溶液 1, 置 5 000 lx 照度条件下照射 24 h。

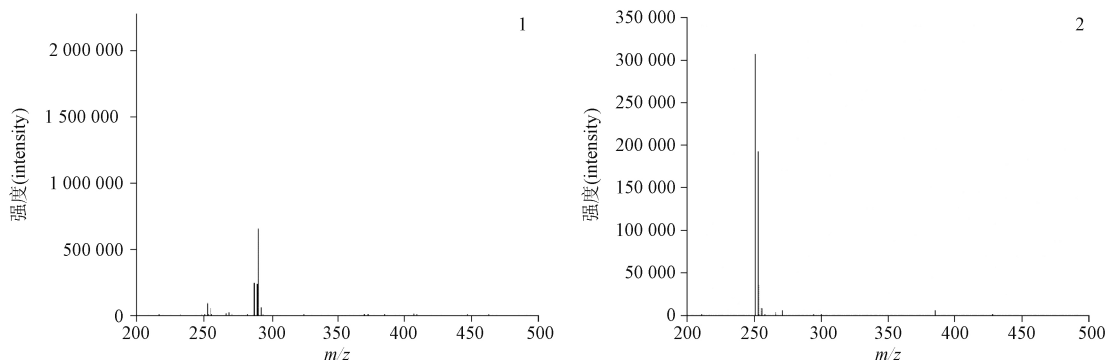


图4 三氯生(1)和未知杂质(2)的一级质谱图

Fig. 4 MS spectrums of triclosan (1) and the maximum impurity(2)

加热破坏试验:取“2.4”项下三氯生对照品溶液1,置90℃水浴加热4h。

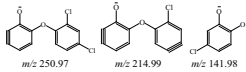
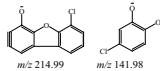

分别取上述溶液按“2.1”项下色谱条件进样分析。三氯生对照品溶液经酸破坏,主要在RRT 0.76处出现降解杂质;经碱破坏,主要在RRT 0.72处出现降解杂质;经氧化破坏,主要在RRT 0.79和RRT 0.83处出现降解杂质;经光照破坏,

主要在RRT 0.32处出现降解杂质;经加热破坏处理,主要在RRT 0.79和RRT 0.83处出现降解杂质。提示RRT 0.67杂质可能不是降解产物,可能来源于生产工艺。

排除辅料干扰,结合同位素丰度比以及三氯生和该杂质二级质谱图中的碎片离子,推测该杂质可能是三氯生的相关化合物(表1)。

表1 RRT 0.67 杂质结构推测

Tab. 1 Possible structures of the maximum impurity

化合物 (compound)	同位素丰度 (isotopic abundance)	主要碎片离子信息 (main fragment ions)	可能的结构 (possible structure)
三氯生(triclosan)	27:27:9:1		/
RRT 0.67 杂质(RRT 0.67 impurity)	9:6:1		

生产企业如果存在原料药变更的情况,应对变更后的供应商进行充分的评价,保证药品质量的稳定性。

3.3 样品中 RRT 0.67 杂质的定量

进口注册标准中以卤米松为指标定量样品中的未知杂质并不合理。

分别取“2.4”项下三氯生线性溶液,按“2.1”项下色谱条件进样分析。三氯生的质量浓度在0.521 0~10.42 μg·mL⁻¹范围内与峰面积呈良好的线性关系,回归方程为

$$A = 2.4305C + 0.4287 \quad r = 0.9998$$

取“2.4”项下供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样分析,采用标准曲线法计算样品中 RRT

0.67 杂质的量。2个样品测定结果均约为0.1%。提示,对于复方制剂,在对有关物质进行评价前,应该首先明确杂质的来源,才能制定合理的质量控制方法。

3.4 复方制剂有关物质分析方法的探讨

对于许多传统药,受限于早期较为落后的技术手段,对杂质的控制并不完善,随着对杂质认识水平的深入以及技术手段的不断提高,应对上市药物的质量评价方法进行及时更新。对于复方制剂,建议建立更为有效的杂质检测方法,依托先进有效的检测方法改善药品质量,并根据安全性数据进行有效评估,以保证复方制剂产品质量的稳定性和临床用药的安全性。

4 结论

针对卤米松三氯生乳膏在质量分析中发现样品中最大单个杂质超出限度的问题,分别采用不同的方法对该杂质进行了来源分析,初步判断该杂质来源于三氯生。对于复方制剂,建议对主要相关成分中涉及的杂质分别进行控制,并根据安全性数据进行有效评估,以保证制剂产品质量的稳定性和临床用药的安全性。

参考文献

- [1] JX20080304 进口药品注册标准[S]. 2008
JX20080304 Registered Standard for Imported Drugs[S]. 2008
- [2] 汪昌国, 金抒. 广谱杀菌剂三氯新中二恶英类化合物的形成及其危害[J]. 日用化学品科学, 2001, 24(6): 25
WANG CG, JIN S. The formation ways of dioxins in triclosan and their harmness[J]. Deterg Cosmet, 2001, 24(6): 25
- [3] 唐丽莉, 黄慧萍. 复方制剂有关物质研究及其对产品优化的作用[J]. 当代化工研究, 2023(19): 188
TANG LL, HUANG HP. Impurity control for compound preparation and its impact on product optimization[J]. Mod Chem Res, 2023(19): 188
- [4] 刘晶晶, 庞赛, 钟丹敏, 等. 基于国家药品抽检的氨咖黄敏胶囊质量评价[J]. 沈阳药科大学学报, 2022, 39(9): 1070
LIU JJ, PANG S, ZHONG DM, et al. Quality evaluation of paracetamol caffeine, artificial cow - bezoar and chlorphenamine maleate capsules based on national drug sampling inspection[J]. J Shenyang Pharm Univ, 2022, 39(9): 1070
- [5] 邱科先, 刘晓芬. 高效液相色谱法测定含对乙酰氨基酚、氢溴酸右美沙芬和琥珀酸多西拉敏的软胶囊有关物质[J]. 中国药物经济学, 2022, 17(3): 121
QIU KX, LIU XF. Determination of related substances in soft capsules containing acetaminophen, dextromethorphan hydrobromide and doxylamine succinate by HPLC method[J]. China J Pharm Econ, 2022, 17(3): 121
- [6] 关蓉, 周瑞琪, 陆宇婷, 等. 复方他扎罗汀丙酸氯倍他索软膏有关物质的色谱-质谱结构鉴定[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(12): 2126
GUAN R, ZHOU RQ, LU YT, et al. Identification of the related substances of compound tazarotene and clobetasol propionate ointment by LC-MS techniques[J]. Chin J Pharm Anal, 2019, 39(12): 2126
- [7] 朱恒怡, 江虹, 刘峰, 等. 复方氨酚苯海拉明片有关物质及原辅料相容性研究[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(8): 1506
ZHU HY, JIANG G, LIU F, et al. Study on the test of related substances in compound paracetamol and diphenhydramine hydrochloride tablets and the compatibility of raw material and excipient[J]. Chin J Pharm Anal, 2019, 39(8): 1506
- [8] 魏宁漪, 周颖, 陈翠翠, 等. HPLC法测定依那普利氢氯噻嗪片的有关物质[J]. 中国新药杂志, 2018, 27(17): 1999
WEI NY, ZHOU Y, CHEN CC, et al. HPLC determination of related substances in enalapril maleate and hydrochlorothiazide tablets[J]. Chin J New Drugs, 2018, 27(17): 1999
- [9] 柴洪帆, 郑扬, 曹霞. 愈创木酚甘油醚和右美沙芬复方制剂中杂质同时测定的方法研究[J]. 中国药业, 2017, 26(16): 18
CHAI HF, ZHENG Y, CAO X. Simultaneous determination of impurities in guaifenesin and dextromethorphan compound preparation[J]. China Pharm, 2017, 26(16): 18
- [10] 朱雪萍, 陈爱萍, 戴云志. 加校正因子的主成分自身对照法测定复方依折麦布瑞舒伐他汀钙片的有关物质[J]. 中国药理学杂志, 2017, 52(2): 140
ZHU XP, CHEN AP, DAI YZ. HPLC method with correction factor for determination of related substances in compound ezetimibe and rosuvastatin calcium tablets[J]. Chin Pharm J, 2017, 52(2): 140
- [11] 古丽霞, 廖志刚, 邓红, 等. 曲咪新乳膏的有关物质研究[J]. 广东药科大学学报, 2021, 37(2): 52
GU LX, LIAO ZG, DENG H, et al. Study on related substances of triamcinolone acetonide acetate and miconazole nitrate neomycin sulfate cream[J]. J Guangdong Pharm Univ, 2021, 37(2): 52
- [12] 赵新, 冯莹, 静振波, 等. 利格列汀盐酸二甲双胍片有关物质的HPLC法测定[J]. 中国医药工业杂志, 2018, 49(4): 510
ZHAO X, FENG Y, JING ZB, et al. Determination of related substances in linagliptin and metformin hydrochloride tablets by HPLC[J]. Chin J Pharm, 2018, 49(4): 510
- [13] 杨光, 李志平, 刘燕, 等. 高效液相色谱法测定复方非洛地平缓释片的含量及有关物质[J]. 中国药理学杂志, 2015, 50(6): 536
YANG G, LI ZP, LIU Y, et al. Determination of contents and related substances of felodipine and metoprolol tartrate in compound felodipine sustained-release tablets by HPLC[J]. Chin Pharm J, 2015, 50(6): 536
- [14] 王培琦, 龚亚, 周彦彬, 等. 复方布洛芬那敏片有关物质检查方法研究[J]. 中国药理学杂志, 2014, 49(12): 1062
WANG PQ, GONG Y, ZHOU YB, et al. Study detection of related substances of allergy and congestion relief[J]. Chin Pharm J, 2014, 49(12): 1062
- [15] 胡昌勤. 特邀主编点评——现代药物质量控制与评价[J]. 中国抗生素杂志, 2021, 46(4): 260
HU CQ. Invited editor comments——modern drug quality control and evaluation[J]. Chin J Antibiot, 2021, 46(4): 260

(本文于2024年1月19日收到)