

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

关蓉¹, 周瑞琪¹, 陆宇婷¹, 宋敏¹, 杨林^{2*}, 杭太俊^{1*}

(1. 中国药科大学药物分析系, 南京 210009; 2. 中国人民解放军空军军医大学第一附属医院药剂科, 西安 710032)

摘要 目的: 采用色谱-质谱联用技术鉴定新型外用制剂复方他扎罗汀丙酸氯倍他索软膏中的有关物质, 为其质量研究提供参考依据。**方法:** 采用 Phecda C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以 0.1% 乙酸铵/0.2% 甲酸水溶液-甲醇-乙腈 (70:21:9) 为流动相 A, 甲醇-乙腈 (70:30) 为流动相 B, 进行线性梯度洗脱, 检测波长为 240 nm 和 325 nm, 分别对丙酸氯倍他索和他扎罗汀的有关物质进行检测; 采用电喷雾正离子化-飞行时间质谱法 (ESI⁺-TOF/MS) 测定各有关物质的准确质量和元素组成, 三重四极杆串联质谱测定子离子特征, 解析鉴定有关物质的结构。**结果:** 在所建立的条件下, 复方他扎罗汀丙酸氯倍他索软膏中的主成分他扎罗汀、丙酸氯倍他索及有关物质分离良好, 检测并鉴定出 12 个有关物质, 其中 7 个为他扎罗汀有关物质, 5 个为丙酸氯倍他索有关物质; 鉴定出有关物质 2、5、6、8、9、11 和 12 分别为他扎罗汀亚砷、他扎罗汀酸、他扎罗汀酸甲酯、倍他米松 17-丙酸酯、氯倍他索、倍他米松 21-丙酸酯和 17α-螺环化合物, 均为已知有关物质, 而未知有关物质 1、3、4、7 和 10 为本研究首次鉴定。**结论:** 建立的色谱-质谱联用方法能有效地分离鉴定复方他扎罗汀丙酸氯倍他索软膏中的有关物质, 鉴定结果为其质量控制提供了参考。

关键词: 他扎罗汀; 丙酸氯倍他索; 他扎罗汀酸; 活性代谢产物; 维 A 酸类药物; 糖皮质激素类药物; 有关物质; 结构鉴定; 色谱-质谱联用

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793 (2019) 12-2126-10
doi: 10.16155/j.0254-1793.2019.12.03

Identification of the related substances of compound tazarotene and clobetasol propionate ointment by LC-MS techniques

GUAN Rong¹, ZHOU Rui-qi¹, LU Yu-ting¹, SONG Min¹, YANG Lin^{2*}, HANG Tai-jun^{1*}

(1. Department of Pharmaceutical Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China;

2. Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of PLA Air Force Military Medical University, Xi'an 710032, China)

Abstract Objective: To develop LC-MS methods for identification of the related substances of compound tazarotene and clobetasol propionate ointment, and provide a reference for its quality control. **Methods:** The separation was performed on a Phecda C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) by linear gradient elution using 0.1% ammonium acetate/0.2% formic acid buffer solution-methanol-acetonitrile (70:21:9) as mobile phase A and methanol-acetonitrile (70:30) as mobile phase B. The detection wavelength for clobetasol propionate and

* 通信作者 杨林 Tel:(029) 84775475-8307; E-mail: yanglin_0625@126.com
杭太俊 Tel:(025) 83271090; E-mail: hangtj@cpu.edu.cn
第一作者 Tel:(025) 83271090; E-mail: epuguanrong@126.com

tazarotene were 240 nm and 325 nm, respectively. The exact mass and elemental composition of the parent ions of each related substance were determined by high resolution TOF/MS operated in electrospray positive mode, triple quadrupole tandem mass was employed for the product mass spectra determination, and the structures of the related substances were analyzed and identified. **Results:** The principal components of compound tazarotene and clobetasol propionate ointment, tazarotene, clobetasol propionate and its related substances were adequately separated under the established conditions. Twelve related substances were detected and identified, seven of them were related to tazarotene, the others were the related substances of clobetasol propionate. The related substances 2, 5, 6, 8, 9, 11 and 12 were identified as tazarotene sulfoxide, tazarotenic acid, tazarotenic acid methylate, betamethasone 17-propionate, clobetasol, betamethasone 21-propionate and 17 α -spiro compound, respectively, all of which are known related substances, and the unknown related substances 1, 3, 4, 7 and 10 were identified for the first time in this paper. **Conclusion:** The developed LC-MS methods are effective for the separation and identification of related substances of compound tazarotene and clobetasol propionate ointment, the identification results provide references for its quality control.

Keywords: tazarotene; clobetasol propionate; tazarotenic acid; active metabolite; retinoids; glucocorticoids; related substances; structure identification; LC-MS

复方他扎罗汀丙酸氯倍他索软膏是一种新型复方外用制剂,其主成分为他扎罗汀(tazarotene, 图1),即6-[(3,4-二氢-4,4-二甲基-2H-1-苯并噻喃-6-基)乙炔基]-3-吡啶羧酸乙酯,和丙酸氯倍他索(clobetasol propionate, 图1),即16 β -甲基-11 β -羟基-17-(1-氧代丙基)-9-氟-21-氯-孕甾-1,4-二烯-3,20-二酮,用于治疗寻常型银屑病。他扎罗汀是原药,在体外无活性,体内经酯酶水解为活性代谢产物他扎罗汀酸,而他扎罗汀酸主要作用于皮肤,选择性高,是最适合皮肤外用的维A酸类药物^[1-3]。丙酸氯倍他索作为高效局部外用糖皮质激素类药物,在临床上应用广泛,常制成外用制剂用于银屑病的治疗^[4-5],并且常与其他外用制剂或治疗方法联合使用,如他扎罗汀乳膏、窄谱中波紫外线疗法(NB-UVB疗法),从而提高疗效^[6-8]。本文的研究对象即为该新型复方外用制剂,名为复方他扎罗汀丙酸氯倍他索软膏,为我国自主研发,已申请发明专利^[9],未见文献报道和研究。欧洲药典9.0版及《中华人民共和国药典》二部(2015年版)已收载丙酸氯倍他索质量标准,他扎罗汀质量标准仅在《中华人民共和国药典》二部(2015年版)有收载^[10-11]。他扎罗汀、丙酸氯倍他索的质量研究已分别有文献报道^[12-15],但复方他扎罗汀丙酸氯倍他索软膏有关物质的系统研究及鉴定未见报道。

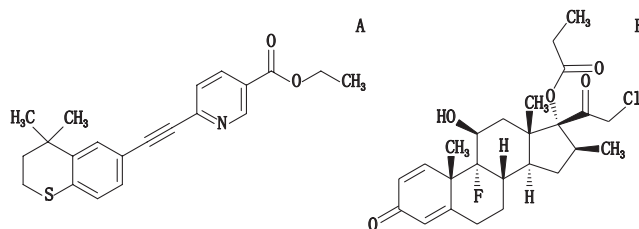


图1 他扎罗汀(A)及与丙酸氯倍他索(B)化学结构图

Fig. 1 Chemical structures of tazarotene (A) and clobetasol propionate (B)

本研究建立了适用于复方他扎罗汀丙酸氯倍他索软膏有关物质检查的色谱-质谱联用分析方法,通过ESI⁺-TOF/MS测定其有关物质的精密相对分子质量及分子式,结合MS/MS的子离子特征,综合鉴定其有关物质的结构,为复方他扎罗汀丙酸氯倍他索软膏的质量控制提供了参考依据。

1 仪器、药品与试剂

1.1 仪器

Agilent 1290 Infinity 液相色谱-6224 飞行时间质谱仪, Agilent Mass Hunter Qualitative Analysis 软件(Agilent 公司); Thermo Dionex Ultimate 3000 高效液相色谱-TSQ Quantum Ultra 型 LC-MS/MS 联用仪, Xcalibur 3.0 数据处理系统(Thermo Fisher 公司), BS 21S 分析天平(Sartorius 公司)。

1.2 药品与试剂

复方他扎罗汀丙酸氯倍他索软膏(批号20180115,江苏知原药业有限公司);有关物质对照品

(他扎罗汀亚砷、氯倍他索、17 α -螺环化合物,加拿大 TRC Research Chemicals Inc; 他扎罗汀酸,江苏小林制药有限公司合成)。乙酸铵、甲酸(分析纯,南京化学试剂有限公司),甲醇(色谱纯, TEDIA 公司),乙腈(色谱纯, TEDIA 公司),水(市售娃哈哈纯净水)。

2 方法

2.1 色谱条件

采用 Phecda C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μ m) 色谱柱,以 0.1% 乙酸铵/0.2% 甲酸水溶液-甲醇-乙腈(70:21:9) 为流动相 A, 甲醇-乙腈(70:30) 为流动相 B, 线性梯度洗脱[0~35 min, A-B(40:60) → A-B(20:80); 35~37 min, A-B(20:80) → A-B(0:100); 37~47 min, A-B(0:100); 47~48 min, A-B(0:100) → A-B(40:60); 48~55 min, A-B(40:60)], 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 25 $^{\circ}$ C, 检测波长 240 nm(用于检测丙酸氯倍他索有关物质)和 325 nm(用于检测他扎罗汀有关物质), 进样量 20 μ L, 分流比 1:1 进行 MS 检测。

2.2 质谱条件

电喷雾正离子化, TOF/MS 测定喷雾电压 3.5 kV, 雾化氮气压力 275 kPa, 流量 10 L·min⁻¹, 温度 350 $^{\circ}$ C, 碎片电压 135 V, 参比离子 m/z 121.050 8(质子化嘌呤, C₅H₅N₄⁺) 和 m/z 922.009 8(质子化氟代磷嗪 HP-921, C₁₈H₁₉O₆N₃P₃F₂₄⁺), 质量数扫描范围 m/z 100~1 000。MS/MS 测定的喷雾电压 4 kV, 雾化气压力 300 kPa, 辅助气压力 35 kPa, 毛细管温度 350 $^{\circ}$ C, 二级质谱扫描碰撞氩气压力 0.16 Pa, 碰撞能量 10~30 eV。

2.3 溶液配制

2.3.1 供试品溶液 取复方他扎罗汀丙酸氯倍他索软膏 1 g, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 精密加甲醇 5 mL, 55 $^{\circ}$ C 加热 5 min 并充分振摇使他扎罗汀和丙酸氯倍他索溶解, 冰浴 30 min 后取上清液, 以 0.45 μ m 有机系滤膜过滤, 取续滤液即得。

2.3.2 混合有关物质对照品溶液 取有关物质他扎罗汀亚砷、他扎罗汀酸、氯倍他索、17 α -螺环化合物的对照品适量, 精密称定, 加甲醇溶解并定量稀释成质量浓度均约为 1.0 μ g·mL⁻¹ 的溶液, 即得。

2.3.3 强制降解试验溶液 精密称取复方他扎罗汀丙酸氯倍他索软膏 1 g, 置 10 mL 量瓶中, 分别经 1.0 mL 酸(0.1 mol·L⁻¹ 盐酸甲醇溶液) 60 $^{\circ}$ C 水浴 5 h, 0.5 mL 碱(0.01 mol·L⁻¹ 氢氧化钠甲醇溶液) 60 $^{\circ}$ C 水浴 15 min, 0.5 mL 3% 过氧化氢甲醇溶液 60 $^{\circ}$ C 水浴 30 min, 高温(90 $^{\circ}$ C) 水浴 12 h, 光照(4 500 lx) 条件下照

射 12 h 处理, 然后均加入甲醇 5 mL, 55 $^{\circ}$ C 加热 5 min 并充分振摇使他扎罗汀和丙酸氯倍他索溶解, 冰浴 30 min 后取上清液, 使用 0.45 μ m 有机系滤膜迅速过滤, 取续滤液作为他扎罗汀质量浓度约为 200 μ g·mL⁻¹ 和丙酸氯倍他索质量浓度约为 100 μ g·mL⁻¹ 的强制降解试验溶液。同法配制空白溶液。

3 结果

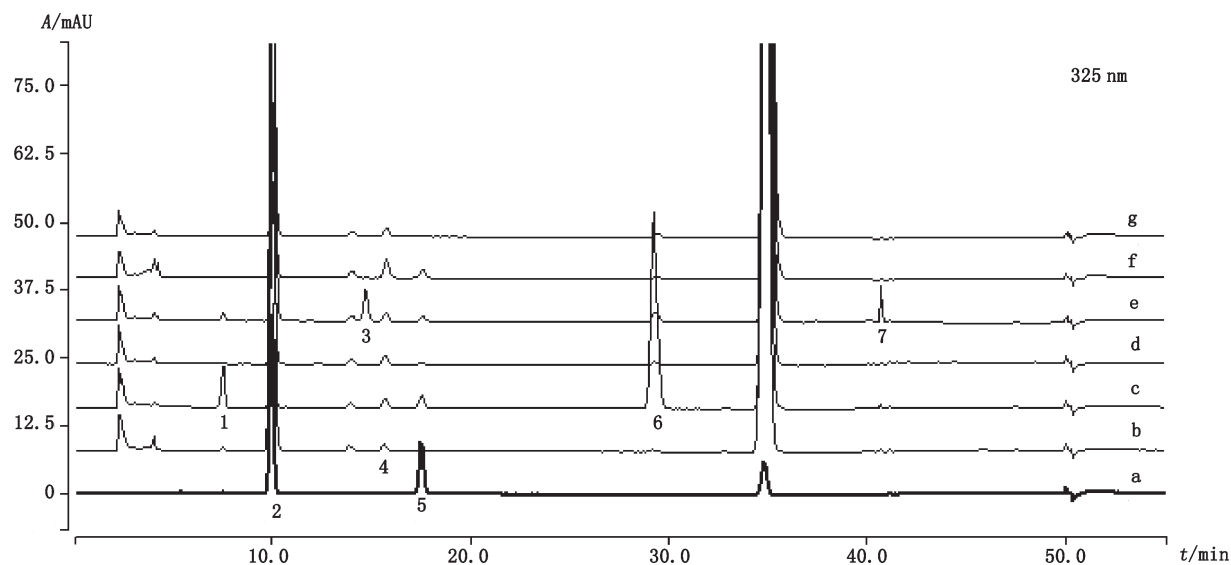
3.1 有关物质检查

建立的复方他扎罗汀丙酸氯倍他索软膏有关物质挥发性流动相 HPLC 检查方法适用于质谱联用鉴定。图 2、3 分别为复方他扎罗汀丙酸氯倍他索软膏供试品溶液及强制降解试验溶液的 325 nm(他扎罗汀)和 240 nm(丙酸氯倍他索) HPLC 叠加色谱图, 共检出 12 个主要有关物质, 分别按各自波长下保留时间从小到大顺序编号, 325 nm 下检出有关物质 1~7, 240 nm 下检出有关物质 8~12。

复方他扎罗汀丙酸氯倍他索软膏样品共检出 3 个有关物质, 为有关物质 2、4、6, 均为 325 nm 下他扎罗汀的有关物质, 而 240 nm 下未见明显有关物质。强制降解试验表明, 复方他扎罗汀丙酸氯倍他索软膏中他扎罗汀稳定性较差, 在强制降解试验中主要降解为有关物质 1~7, 根据与混合有关物质对照品溶液的比较, 确定有关物质 2 为他扎罗汀亚砷, 有关物质 5 为他扎罗汀酸, 同时根据二级碎片离子特征解析出有关物质 6 为文献中报道的他扎罗汀酸甲酯^[16]。丙酸氯倍他索较稳定, 强制降解条件较剧烈, 而产生有关物质含量较低, 主要为有关物质 8~12, 根据与混合有关物质对照品溶液的比较, 确定有关物质 9 为氯倍他索, 有关物质 12 为 17 α -螺环化合物, 同时根据二级碎片离子特征解析出有关物质 8 和 11 分别为欧洲药典记载的有关物质 A(倍他米松 17-丙酸酯)和 K(倍他米松 21-丙酸酯)。酸破坏检测到 7 个降解产物(有关物质 1~7), 碱破坏检测到 9 个降解产物(有关物质 1、2、4~6、8、9、11 和 12), 光照破坏检测到 4 个降解产物(有关物质 2、4、6 和 10), 氧化破坏检测到 4 个降解产物(有关物质 1、2、4 和 12), 高温破坏检测到 5 个降解产物(有关物质 2、4、5、9 和 12)。

3.2 有关物质的结构鉴定

采用 TOF/MS 测得各有关物质母离子的准确质量和分子式, 三重四极杆获得二级质谱碎片信息, 通过与主成分及已知有关物质质谱特征的对比分析, 鉴定各有关物质的结构, 结果见表 1 和图 4。

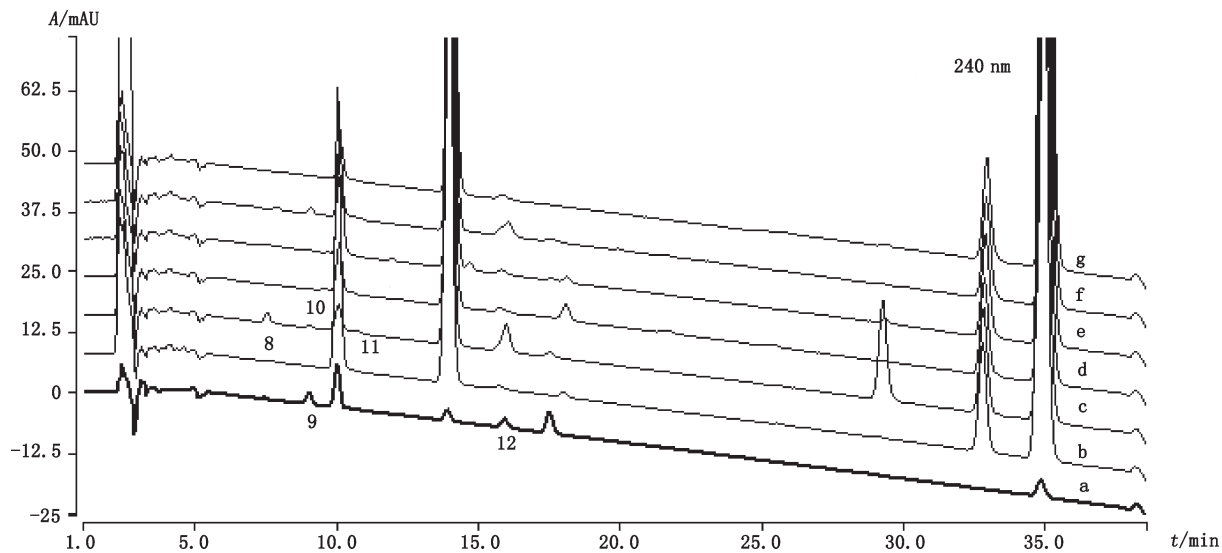


1~7. 同表 1 (same as Tab.1)

a. 对照品溶液 (reference solution) b. 氧化破坏溶液 (forced degradation solution under oxidation stress) c. 碱破坏溶液 (forced degradation solution under base stress) d. 光照破坏溶液 (forced degradation solution under photolysis stress) e. 酸破坏溶液 (forced degradation solution under acid stress) f. 高温破坏溶液 (forced degradation solution under heat stress) g. 供试品溶液 (test sample solution)

图 2 复方他扎罗汀丙酸氯倍他索软膏及其强制降解试验溶液的高效液相色谱图 (325 nm)

Fig. 2 HPLC chromatograms of compound tazarotene and clobetasol propionate ointment and its forced degradation solutions (325 nm)



8~12. 同表 1 (same as Tab.1)

a~f. 同图 2 (same as Fig. 2)

图 3 复方他扎罗汀丙酸氯倍他索软膏及其强制降解试验溶液的高效液相色谱图 (240 nm)

Fig. 3 HPLC chromatograms of compound tazarotene and clobetasol propionate ointment and its forced degradation solutions (240 nm)

表 1 复方他扎罗汀丙酸氯倍他索软膏有关物质结构的液质联用鉴定结果

Tab. 1 The structures of the related substances of compound tazarotene and clobetasol propionate ointment identified by LC-MS

有关物质 (related substance)	[M+H] ⁺ (m/z)	t _R /min	离子式 (ion formula)	偏差 (diff)	碎片离子 (product ions) m/z	来源 (origin)
1	354.116 3	7.6	C ₂₀ H ₂₀ NO ₃ S ⁺	1.32	322, 310, 294	Dr
2	368.132 6	10.0	C ₂₁ H ₂₂ NO ₃ S ⁺	2.99	340, 308, 280	Dr, Pr
3	404.108 7	14.7	C ₂₁ H ₂₃ ClNO ₃ S ⁺	1.24	368, 340, 322, 308, 280	Dr
4	398.142 3	15.7	C ₂₂ H ₂₄ NO ₄ S ⁺	0.70	324, 294	Dr, Pr
5	324.105 1	17.6	C ₁₉ H ₁₈ NO ₂ S ⁺	0.50	308, 294	Dr
6	338.121 6	29.3	C ₂₀ H ₂₀ NO ₂ S ⁺	2.04	322, 308, 290	Dr, Pr
他扎罗汀 (tazarotene)	352.137 5	34.9	C ₂₁ H ₂₂ NO ₂ S ⁺	2.57	324, 294	-
7	388.112 1	40.7	C ₂₁ H ₂₃ ClNO ₂ S ⁺	3.08	352, 324, 294	Dr
8	449.234 7	7.8	C ₂₅ H ₃₄ FO ₆ ⁺	2.92	373, 355, 337, 301, 278, 263	Dr
9	411.172 7	9.0	C ₂₂ H ₂₉ ClFO ₄ ⁺	1.57	373, 337, 319, 301, 283, 241	Dr
10	449.233 8	9.5	C ₂₅ H ₃₄ FO ₆ ⁺	0.77	355, 337, 279, 133	Dr
11	449.233 2	10.7	C ₂₅ H ₃₄ FO ₆ ⁺	0.49	411, 355, 337, 309, 279, 171	Dr
丙酸氯倍他索 (clobetasol propionate)	467.200 6	14.1	C ₂₅ H ₃₃ ClFO ₅ ⁺	2.40	373, 355, 279, 319, 263	-
12	449.189 6	16.0	C ₂₅ H ₃₁ ClFO ₄ ⁺	1.49	429, 411, 393, 265, 173	Dr

注 (notes): “Pr” 工艺有关物质 (process related substance); “Dr” 降解有关物质 (degradation related substance)

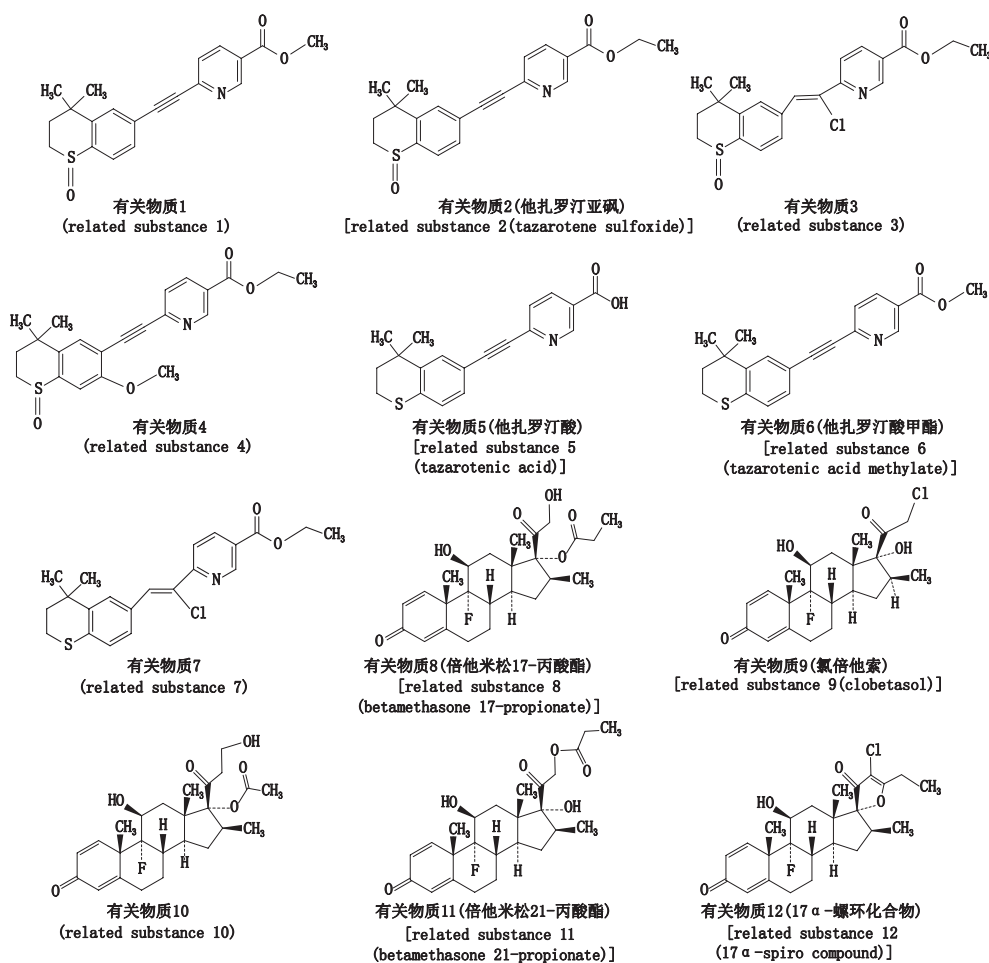
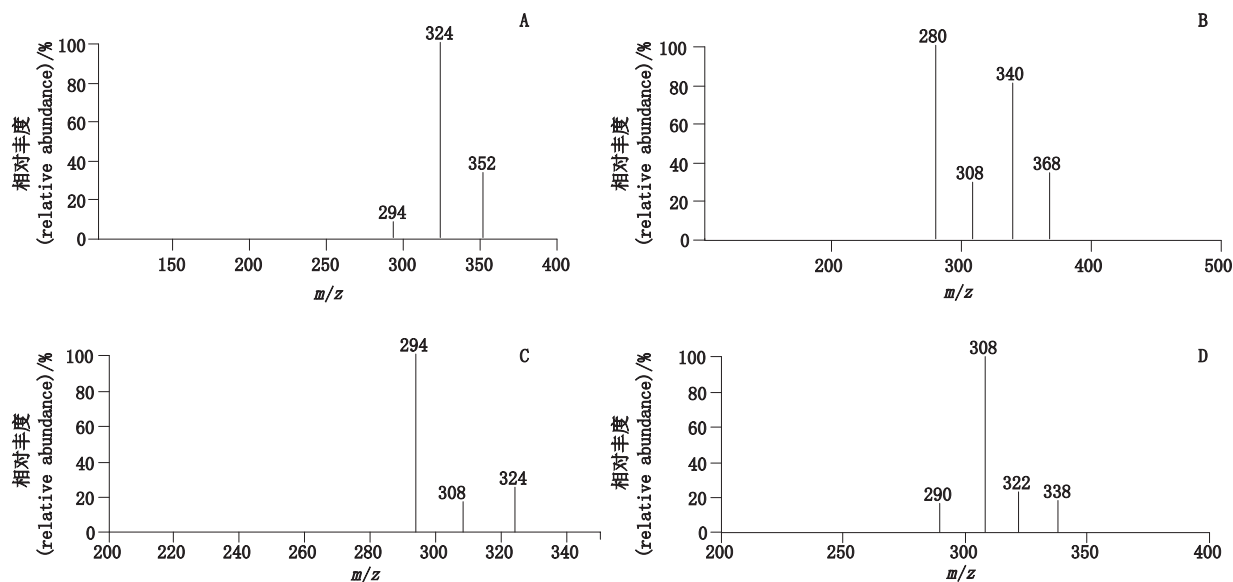


图 4 复方他扎罗汀丙酸氯倍他索软膏有关物质 1~12 化学结构图

Fig. 4 Chemical structures of the related substances 1-12 of compound tazarotene and clobetasol propionate ointment

3.2.1 已知有关物质的确证 通过对他扎罗汀及有
关物质 2 (他扎罗汀亚砷) 和有物质 5 (他扎罗汀
酸) 的一级质谱母离子准确质量、二级质谱特征碎片

离子和裂解途径 (图 5 和图 6) 的分析, 可以辅助其
未知有关物质结构的推断与鉴定。



A. 他扎罗汀 (tazarotene, m/z 352) B. 有关物质 2 (related substance 2, m/z 368) C. 有关物质 5 (related substance 5, m/z 324) D. 有关物质 6 (related substance 6, m/z 338)

图 5 他扎罗汀及其已知有关物质的二级质谱图

Fig. 5 MS/MS spectra of tazarotene and its known related substances

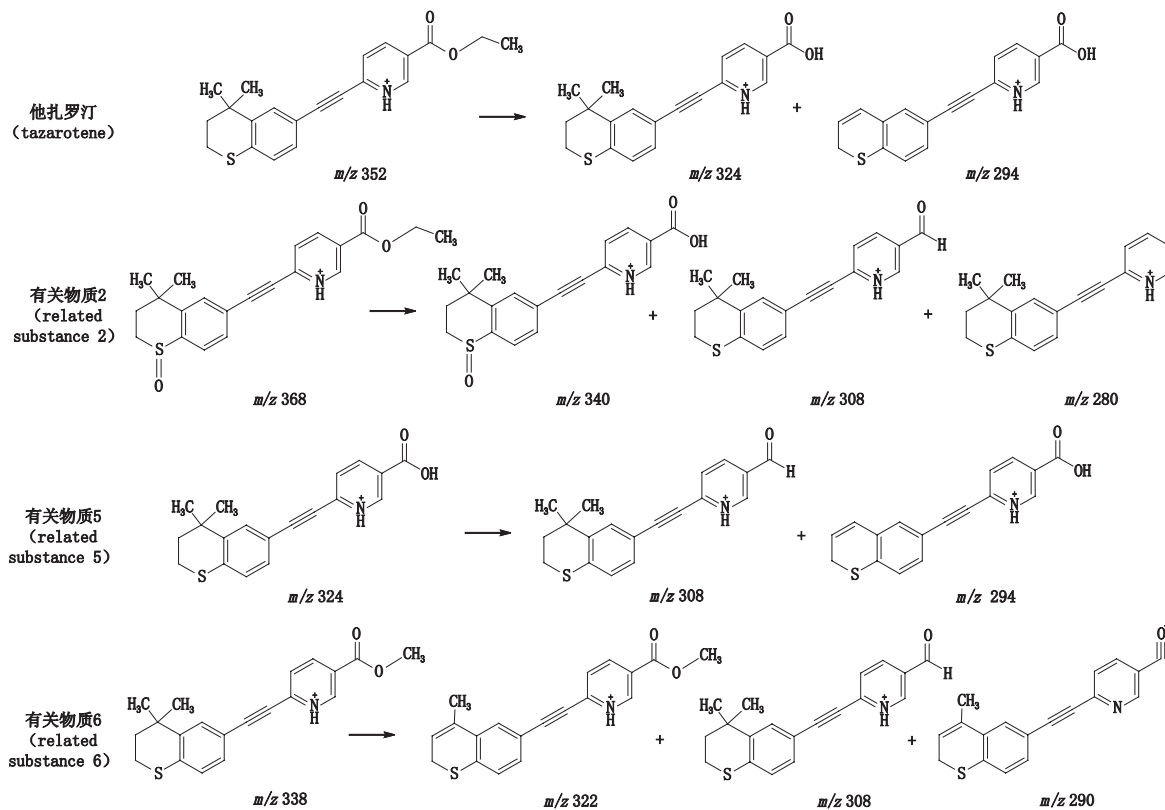


图 6 他扎罗汀及其已知有关物质的裂解途径

Fig. 6 MS/MS fragmentation pathways of tazarotene and its known related substances

他扎罗汀及其已知有关物质裂解规律如下:

①他扎罗汀及有关物质 2 的母离子中, 3-吡啶羧酸乙酯脱去乙基, 生成质量数少 28 的特征碎片离子。

②他扎罗汀及有关物质 5 的母离子中, 苯并噻喃环上的甲基脱落, 生成 m/z 294 特征碎片离子; 有关物质 6 同样裂解规律下形成 m/z 322 特征碎片离子。

③有关物质 5 和 6 的母离子中, 3-吡啶羧酸酯处的酯键断裂, 生成 m/z 308 特征碎片离子。

④有关物质 2 的母离子 3-吡啶羧酸乙酯处的酯键断裂, 同时苯并噻喃环上的甲基脱落形成 m/z 308 特征碎片离子; 有关物质 6 同样裂解规律下生成 m/z 290 特征碎片离子。

3.2.2 未知有关物质的确证 通过有关物质 HPLC

定位及质谱特征, 结合他扎罗汀及已知有关物质的裂解规律, 对各未知有关物质进行综合分析并鉴定其结构。

有关物质 1: 采用 ESI⁺-TOF/MS 测得有关物质 1 [M+H]⁺ 的准确质量为 354.116 3, 与离子式 C₂₀H₂₀NO₃S⁺ 相应, 与已知有关物质 2 (他扎罗汀亚砷) 相比, 其质量数少 14, 离子式少 CH₂, 对应 1 个亚甲基, 推测其为他扎罗汀亚砷与甲醇发生酯交换的产物。MS/MS 主要特征碎片离子为 m/z 322、310、294, 其中 m/z 294 比已知有关物质 2 的 m/z 308 碎片离子质量数少 14, 有关物质 1 吡啶羧酸甲酯的酯键断裂形成 m/z 322 的碎片离子, 再脱甲基形成 m/z 310 的碎片离子。质谱裂解 (图 7) 均得到合理归属。

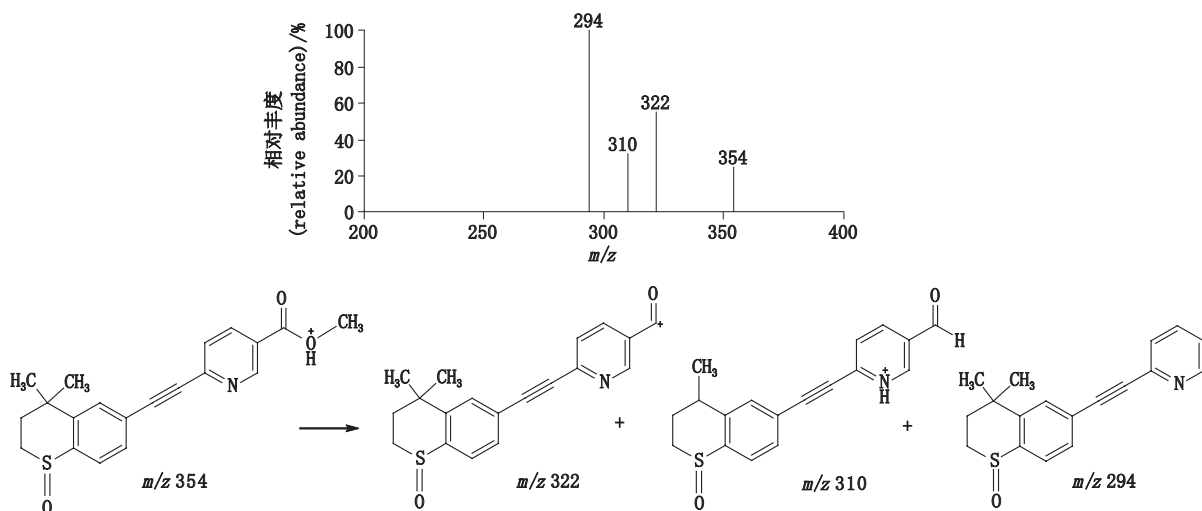


图 7 有关物质 1 [M+H]⁺ 离子的二级质谱图及其裂解途径

Fig. 7 MS/MS spectrum and fragmentation pathways of [M+H]⁺ ions of related substance 1

有关物质 3: 采用 ESI⁺-TOF/MS 测得有关物质 3 [M+H]⁺ 的准确质量为 404.108 7, 与离子式 C₂₁H₂₃ClNO₃S⁺ 相应, 与已知有关物质 2 (他扎罗汀亚砷) 相比, 其质量数多 36, 离子式多 HCl, 推测其为他扎罗汀亚砷与盐酸反应的产物。MS/MS 主要特征碎片离子为 m/z 368、340、322、308、280, 其中 m/z 340、308、280 与已知有关物质 2 的碎片离子一致, 而 m/z 368 则与有关物质 2 的母离子一致, 说明有关物质 3 应为他扎罗汀亚砷的炔键与盐酸发生加成反应的产物, 质谱裂解 (图 8) 均得到合理

归属。

有关物质 4: 采用 ESI⁺-TOF/MS 测得有关物质 4 [M+H]⁺ 的准确质量为 398.142 3, 与离子式 C₂₂H₂₄NO₄S⁺ 相应, 与已知有关物质 2 (他扎罗汀亚砷) 相比, 其质量数多 30, 离子式多 CH₂O, 推测其为他扎罗汀亚砷与甲醇反应的产物。MS/MS 主要特征碎片离子为 m/z 324、294, m/z 324 与主成分他扎罗汀的碎片离子一致, m/z 324 是由苯并噻喃环脱甲基和亚砷后环合形成的碎片离子, 质谱裂解 (图 9) 均得到合理归属。

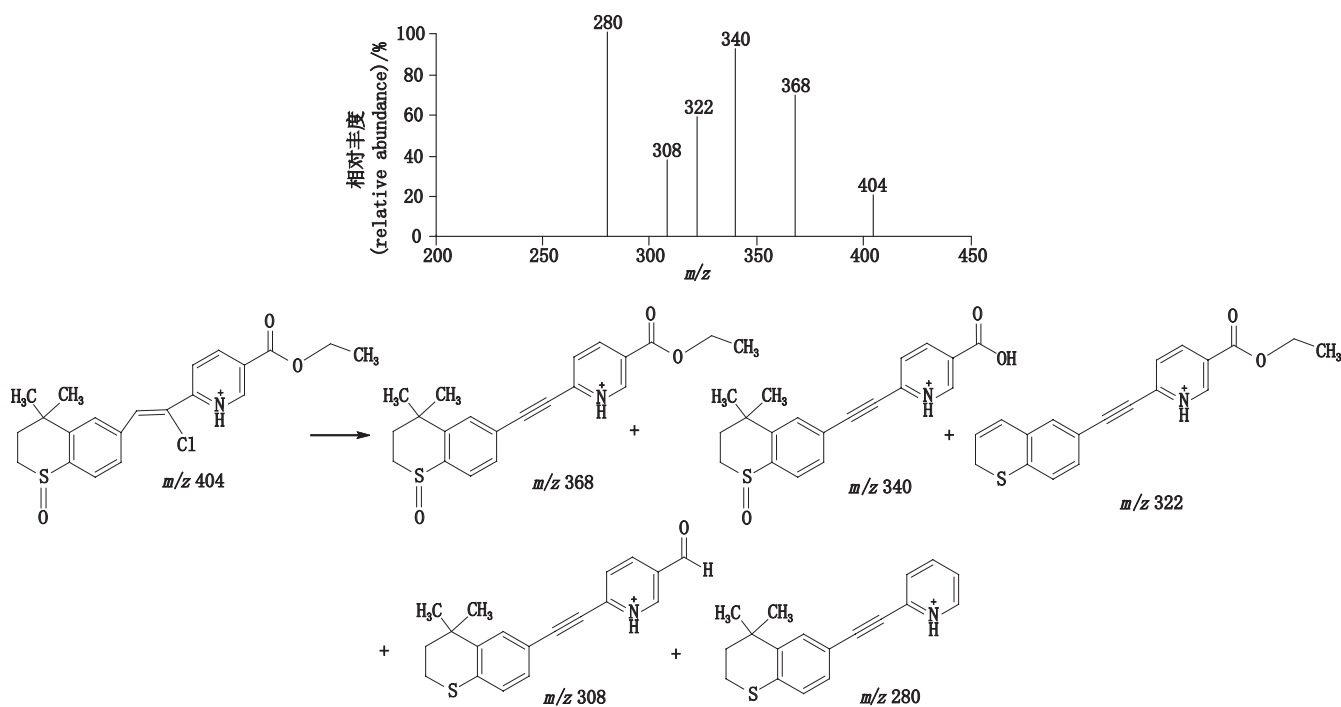


图 8 有关物质 3 $[M+H]^+$ 离子的二级质谱图及其裂解途径

Fig. 8 MS/MS spectrum and fragmentation pathways of $[M+H]^+$ ions of related substance 3

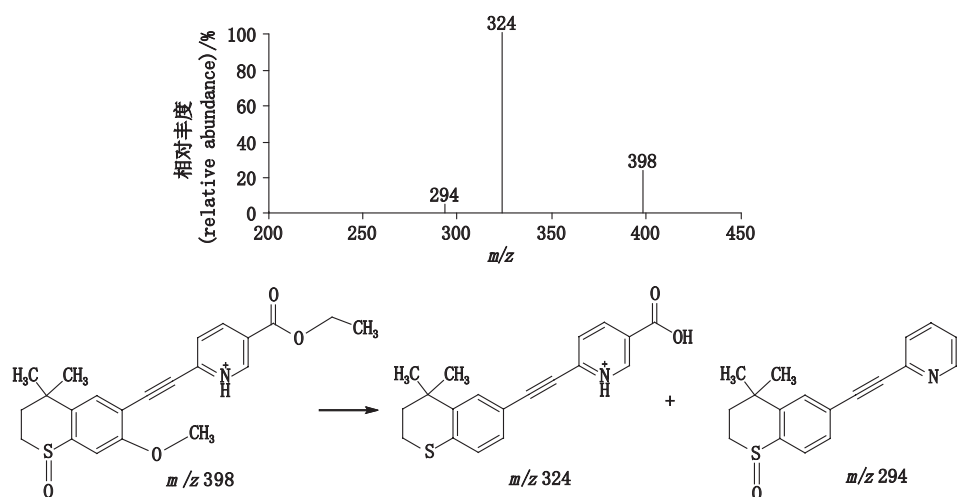


图 9 有关物质 4 $[M+H]^+$ 离子的二级质谱图及其裂解途径

Fig. 9 MS/MS spectrum and fragmentation pathways of $[M+H]^+$ ions of related substance 4

有关物质 7: 采用 ESI^-TOF/MS 测得有关物质 7 $[M+H]^+$ 的准确质量为 388.1121, 与离子式 $C_{21}H_{22}ClNO_2^+$ 相应, 与他扎罗汀相比, 其质量数多 36, 离子式多 HCl, 推测其为他扎罗汀与盐酸反应的产物。MS/MS 主要特征碎片离子为 m/z 352、324、294, 其中 m/z 324、294 与

他扎罗汀的碎片离子一致, 而 m/z 352 则与他扎罗汀的母离子一致, 说明有关物质 7 应为他扎罗汀的炔键与盐酸发生加成反应的产物, 质谱裂解 (图 10) 均得到合理归属。

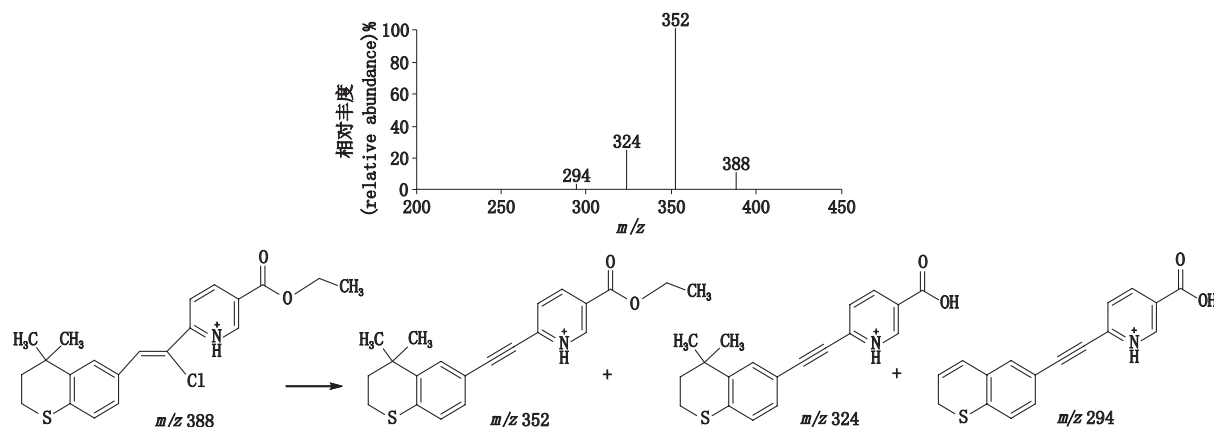


图 10 有关物质 7 $[M+H]^+$ 离子的二级质谱图及其裂解途径

Fig. 10 MS/MS spectrum and fragmentation pathways of $[M+H]^+$ ions of related substance 7

丙酸氯倍他索的有关物质个数较少,含量较低,根据有关物质 8 和 11 的二级碎片离子特征,并结合丙酸氯倍他索及已知有关物质 9、12 的裂解规律,解析出有关物质 8 和 11 分别为欧洲药典记载的有关物质 A(倍他米松 17-丙酸酯)和 K(倍他米松 21-丙酸酯)^[10],并首次鉴定出未知有关物质 10 的结构,其碎片均经合理途径产生。

4 讨论

由于他扎罗汀与丙酸氯倍他索各自有关物质的最大吸收波长分别为 325 nm 和 240 nm,故建立了双波长的液相色谱检测方法。在建立的挥发性流动相色谱-质谱联用鉴定条件下,他扎罗汀和丙酸氯倍他索与各有关物质均得到有效的分离,共检测到 12 个有关物质;其中 1~7 为他扎罗汀的有关物质^[16], 8~12 为丙酸氯倍他索的有关物质,而已知有关物质共 7 个,分别为 2、5、6、8、9、11 和 12;未知有关物质共 5 个,分别为 1、3、4、7 和 10,5 个未知有关物质均为本文首次鉴定。由于没有对照品比对,有关物质结构鉴定仍存在不确定性,本文的推断结果仅供参考和学习。

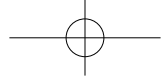
强制降解试验结果表明,他扎他索软膏中的主成分他扎罗汀在酸、碱、氧化、高温及光照条件下均不稳定,其中强酸条件下产生的有关物质个数最多,包括有关物质 1~7,有关物质 2、5 和 6 分别为已知有关物质他扎罗汀亚砷、他扎罗汀酸和他扎罗汀酸甲酯,有关物质 1 和 4 均为他扎罗汀或他扎罗汀亚砷与甲醇反应的产物,有关物质 3 和 7 分别为他扎罗汀亚砷和他扎罗汀与盐酸反应的产物,二者均为酸破坏条件下

的特定有关物质。他扎他索软膏中的主成分丙酸氯倍他索在各个强制降解条件下均较稳定,产生的有关物质个数较少,含量较低,其中有关物质 8 和 11 仅在碱性条件下产生,有关物质 9 和 12 在碱及高温条件下产生。因此,他扎他索软膏应避光、阴凉暗处密闭存储。

通过色谱-质谱联用技术对他扎他索软膏有关物质进行分析研究,对其降解途径进行了探讨,为其存储条件和质量研究提供了参考依据。

参考文献

- [1] DANDO TM, WELLINGTON K. Topical tazarotene—A review of its use in the treatment of plaque psoriasis [J]. *Am J Clin Dermatol*, 2005, 6(4): 255
- [2] 由蕾,严煜林. 维甲酸类化合物及其受体与银屑病研究进展 [J]. *医学综述*, 2007, 13(6): 466
YOU L, YAN YL. Study progress of psoriasis with retinoids and their receptor [J]. *Med Recapit*, 2007, 13(6): 466
- [3] 孙联文,郑家润. 他扎罗汀的临床前药理及临床药理研究 [J]. *国外医学 皮肤性病学分册*, 1999, 25(6): 342
SUN LW, ZHENG JR. Preclinical and clinical pharmacology of tazarotene [J]. *Foreign Med Sci (Sect Dermatol Venereol)*, 1999, 25(6): 342
- [4] FELDMAN SR, YENTZER BA. Topical clobetasol propionate in the treatment of psoriasis: a review of newer formulations [J]. *Am J Clin Dermatol*, 2009, 10(6): 397
- [5] SCHLEICHER SM. Psoriasis: pathogenesis, assessment, and therapeutic update [J]. *Clin Podiatr Med Surg*, 2016, 33(3): 355
- [6] 石娟,石年,黄朝卫,等. 丙酸氯倍他索联合他扎罗汀乳膏治疗寻常型银屑病的疗效与安全性分析 [J]. *医学理论与实践*, 2018, 31(11): 1640



- SHI X, SHI N, HUANG CW, *et al.* Efficacy and safety of clobetasol propionate combined with tazarotene cream in the treatment of psoriasis vulgaris [J]. *J Med Theory Pract*, 2018, 31(11): 1640
- [7] 李琳琳. 复方丙酸氯倍他索软膏联合 NB-UVB 治疗寻常型银屑病疗效观察 [J]. *皮肤病与性病*, 2018, 40(4): 555
- LI LL. Therapeutic effect of compound clobetasol propionate ointment combined with NB-UVB on psoriasis vulgaris [J]. *J Dermatol Venereol*, 2018, 40(4): 555
- [8] 顾军, 陈洁, 陈棋枫. 复方丙酸氯倍他索软膏治疗寻常性银屑病临床疗效观察 [J]. *中国皮肤性病学期刊*, 2003, 17(1): 35
- GU J, CHEN J, CHEN QF. The efficacy and safety of clobetasol propionate compound ointment in patients with psoriasis vulgaris [J]. *Chin J Dermatovenereol*, 2003, 17(1): 35
- [9] 中国医学科学院皮肤病研究所. 治疗银屑病的复方外用药物: 中国, CN 1528313A [P]. 2004-09-15
- Institute of Dermatology, Chinese Academy of Medical Sciences. Compound Topical Medicine for Treating Psoriasis: China, CN 1528313A [P]. 2004-09-15
- [10] EP 9.0 [S]. 2017: 2116
- [11] 中华人民共和国药典 2015 版. 二部 [S]. 2015: 148, 232
- ChP 2015. Vol II [S]. 2015: 148, 232
- [12] PATHARE DB, JADHAV AS, SHINGARE MS. A validated stability indicating RPLC method for tazarotene [J]. *Chromatographia*, 2007, 66(3-4): 247
- [13] ROY C, CHAKRABARTY J. Development and validation of a stability-indicating rp-hplc method for simultaneous determination of phenoxyethanol, methylparaben, propylparaben, mometasone furoate, and tazarotene in topical pharmaceutical dosage formulation [J]. *Sci Pharm*, 2013, 81(4): 951
- [14] MARIKA K, KATHERINE F, JIANMIN L, *et al.* A sensitive high-throughput HPLC assay for simultaneous determination of everolimus and clobetasol propionate [J]. *J Chromatogr Sci*, 2008, 46(1): 23
- [15] FAUZEE AFB, WALKER RB. Forced degradation studies of clobetasol 17-propionate in methanol, propylene glycol, as bulk drug and cream formulations by RP-HPLC [J]. *J Sep Sci*, 2013, 36(5): 849
- [16] NAGULAKONDA NNM, ANANTHULA RS, KRISHNAMURTHY T, *et al.* Quantification and in silico toxicity assessment of tazarotene and its impurities for a quality and safe drug product development [J]. *J Chromatogr Sci*, 2019, 57(7): 625

(本文于 2019 年 5 月 27 日收到)