

# 复方醋酸地塞米松乳膏有关物质的测定及其杂质的确定

林琪珊\*, 洪淑华, 余良钟#(广东华润顺峰药业有限公司, 广东 佛山 528300)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)09-0843-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.09.27

**摘要** 目的:测定复方醋酸地塞米松乳膏的有关物质并对其杂质进行初步确定。方法:采用反相高效液相色谱法。色谱柱为DIKMA Spursil C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-水(含0.1%醋酸)(43:57),流速为1.0 ml/min,检测波长为240 nm。结果:醋酸地塞米松与各杂质分离良好,地塞米松和醋酸可的松检测质量浓度线性范围分别为0.02~2.11、0.05~4.98 μg/ml( $r=0.999\ 8$ 、 $r=0.999\ 9$ ),平均回收率分别为102.0%(RSD=1.06%, $n=9$ )、100.9%(RSD=1.43%, $n=9$ ),检测限分别为4.49、8.66 ng/ml。结论:该法能准确定量,可用于杂质控制;初步确定地塞米松和醋酸可的松为复方醋酸地塞米松乳膏的杂质。

**关键词** 复方醋酸地塞米松乳膏;高效液相色谱法;有关物质;杂质确定

## Content Determination of Related Substances in Compound Dexamethasone Acetate Cream and the Attribution of Its Impurities

LIN Qi-shan, HONG Shu-hua, YU Liang-zhong (Guangdong Huarun Shunfeng Pharmaceutical Limited Company, Guangdong Foshan 528300, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To determine the related substances of Compound dexamethasone acetate cream, and attribute its impurities preliminarily. METHODS: RP-HPLC method was adopted. The determination was performed on DIKMA Spursil C<sub>18</sub> column with acetonitrile-water (containing 0.1% acetic acid) (43:57) as mobile phase at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 240 nm. RESULTS: Dexamethasone acetate was well separated from the impurities. The linear ranges were 0.02-2.11 μg/ml for dexamethasone ( $r=0.999\ 8$ ) and 0.05-4.98 μg/ml for cortisone acetate ( $r=0.999\ 9$ ). the recovery rates were 102.0% (RSD=1.06%, $n=9$ ) and 100.9% (RSD=1.43%, $n=9$ ), respectively. Their detection limits were 4.49 ng/ml and 8.66 ng/ml. CONCLUSIONS: The method is accurate for quantitation, which can be used for quality control of impurities. Dexamethasone and cortisone acetate are regarded as impurities in Compound dexamethasone acetate cream preliminarily.

**KEY WORDS** Compound dexamethasone acetate cream; HPLC; Related substances; Impurities attribution

复方醋酸地塞米松乳膏是一种抗炎、抗过敏的肾上腺皮质激素药,为常用非处方药,收载于2010年版《中国药典》二部<sup>[1]</sup>。其中醋酸地塞米松含量测定法为高效液相色谱(HPLC)内标法,并未对杂质进行限定,目前国内也尚未制订相关标准测定其有关物质。因此,目前的质量标准存在一定的局限性。为了更好地提高产品质量,也为复方制剂有关物质的控制提供一定的参考,笔者建立了测定复方醋酸地塞米松乳膏有关物质的HPLC法,结果表明该法能准确定量,可用于杂质控制;同时对其杂质进行归属,初步确定了地塞米松和醋酸可的松为该制剂的杂质。

### 1 材料

1200 HPLC仪、紫外检测器、1100 HPLC仪、二极管阵列检测器(美国Agilent公司);DIKMA Spursil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm, 色谱柱1,美国迪马公司);Kromasil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm, 色谱柱2,大连中汇达科学仪器有限公司);CP225D电子分析天平(德国Sartorius公司)。

复方醋酸地塞米松乳膏样品(自制,批号:20110902、20110903、20111226,规格:7.5 mg:10 g);阴性对照(自制,除不含醋酸地塞米松外,其余与样品相同,批号:20111017);醋

酸地塞米松对照品(批号:100122-200805,纯度:99.6%)、地塞米松对照品(批号:100129-200804,纯度:99.6%)和醋酸可的松对照品(批号:100123-200303,纯度:99.2%)均购自中国食品药品检定研究院;乙腈为色谱纯,冰醋酸、甲醇均为分析纯,水为双蒸水。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件

色谱柱:DIKMA Spursil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(含0.1%醋酸)(43:57),流速:1.0 ml/min;柱温:30 ℃;检测波长:240 nm;进样量:20 μl。

#### 2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液。取样品适量(约相当于醋酸地塞米松5.25 mg),精密称定,置于烧杯中,加入甲醇适量,水浴加热搅拌使之溶解,趁热合并洗液并入50 ml量瓶中,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,置于冰浴中冷却2 h以上,取出后迅速过滤,取续滤液即得。

2.2.2 阴性对照溶液。取阴性对照,制备方法同“2.2.1”项。

2.2.3 对照品贮备液。精密称取地塞米松和醋酸可的松对照品适量,用甲醇溶解并稀释成质量浓度分别为150、110 μg/ml的贮备液。

2.2.4 对照品溶液。精密称取醋酸地塞米松对照品适量,用甲醇溶解并稀释成质量浓度为105 μg/ml的对照品溶液。

#### 2.3 专属性试验

\* 助理工程师。研究方向:新药质量。电话:0757-22322629。E-mail:dcshanshan@163.com

# 通信作者:工程师。研究方向:新药质量。电话:0757-22322528。E-mail:3128582@qq.com

2.3.1 系统适用性试验。取流动相、溶剂、阴性对照溶液、2种对照品贮备液、对照品溶液及供试品溶液,分别进样,进行专属性考察。结果显示,流动相、溶剂、阴性对照对主峰及杂质检测均无干扰。该流动相适用于复方醋酸地塞米松乳膏有关物质的测定,具有一定的专属性,色谱见图1。

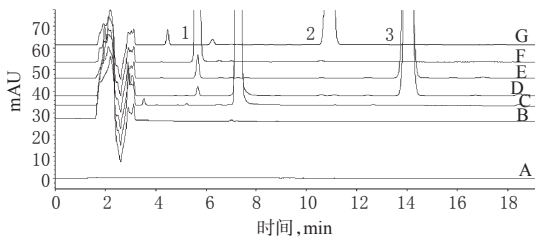


图1 专属性试验高效液相色谱图

A. 流动相; B. 溶剂; C. 阴性对照; D. 供试品; E. 醋酸地塞米松对照品; F. 地塞米松对照品; G. 醋酸可的松对照品; 1. 地塞米松; 2. 醋酸可的松; 3. 醋酸地塞米松

Fig 1 HPLC chromatograms of specificity tests

A. mobile phase; B. solvent; C. negative control; D. test samples; E. dexamethasone acetate control; F. dexamethasone control; G. cortisone acetate control; 1. dexamethasone; 2. cortisone acetate; 3. dexamethasone acetate

2.3.2 破坏性试验。取“2.2”项下供试品溶液及阴性对照溶液,各5份,分别进行碱破坏(加0.5 mol/L 氢氧化钠溶液1 ml,室温放置1 h)、酸破坏(加1 mol/L 盐酸溶液2 ml,室温放置1 h)、氧化破坏(加10% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>溶液3 ml,室温放置24 h)、高温破坏(105 °C 干燥6 h)和光照破坏(4 000 lx, 5 d)。进样分析,结果表明,在选定的色谱条件下,降解产物峰与主峰分离度符合要求,阴性对照无干扰。另样品对碱和酸均不稳定,在高温条件下也较不稳定,色谱见图2(因样品在氧化、光照情况下比较稳定,故上述溶液及阴性对照溶液均未提供相应色谱)。

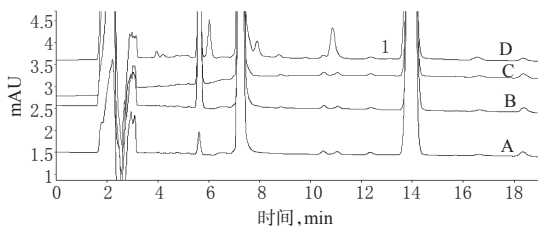


图2 破坏性试验高效液相色谱图

A. 未破坏样品; B. 碱破坏样品; C. 酸破坏样品; D. 高温破坏样品; 1. 醋酸地塞米松

Fig 2 HPLC chromatograms of destruction experiments

A. undestroyed sample; B. samples destroyed by alkali; C. samples destroyed by acid; D. samples destroyed by heat; 1. dexamethasone acetate

## 2.4 稳定性试验

取“2.2”项下供试品溶液,分别放置0、1、2、3、4、5、6、7 h后测定。结果,醋酸地塞米松、地塞米松和醋酸可的松峰面积的RSD( $n=8$ )分别为0.17%、0.22%、4.44%,阴性对照无干扰,说明供试品溶液在7 h内较稳定。

## 2.5 检测限和定量限考察

分别取“2.2”项下地塞米松和醋酸可的松对照品贮备液,逐级稀释进样,当信噪比约为10时,得定量限分别为0.20、0.44 ng/ml;当信噪比约为3时,得检测限分别为4.49、8.66 ng/ml。

## 2.6 线性关系考察

取地塞米松对照品贮备液稀释制成含地塞米松分别为0.02、0.21、0.53、1.05、1.58、2.11  $\mu\text{g/ml}$ 的对照品溶液,取醋酸可的松对照品贮备液稀释制成含醋酸可的松分别为0.05、0.50、1.25、2.49、3.74、4.98  $\mu\text{g/ml}$ 的对照品溶液,进样测定。以峰面积( $y$ )对各自浓度( $x$ )进行线性回归分析,得回归方程分别为:地塞米松: $y=47\ 440x+0.057\ 1$ ( $r=0.999\ 8$ );醋酸可的松: $y=47\ 121x+0.490\ 6$ ( $r=0.999\ 9$ )。结果表明,地塞米松和醋酸可的松检测质量浓度线性范围分别为0.02~2.11、0.05~4.98  $\mu\text{g/ml}$ 。

## 2.7 回收率试验

制备阴性对照溶液,分别精密加入地塞米松和醋酸可的松对照品贮备液,制成低、中、高3个不同水平的样品,每个样品测定3次。结果,地塞米松和醋酸可的松的平均回收率分别为102.0%(RSD=1.06%, $n=9$ )、100.9%(RSD=1.43%, $n=9$ )。

## 2.8 重复性试验

分别取地塞米松对照品贮备液1 ml、醋酸可的松对照品贮备液3 ml,置于100 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释到刻度,连续进样6次。结果,地塞米松、醋酸可的松峰面积的RSD( $n=6$ )均为0.07%。

## 2.9 耐用性试验

分别用色谱柱1和色谱柱2来测定3批样品的有关物质。结果发现,杂质数目、出峰顺序、分离效果无明显变化。

## 2.10 有关物质测定

取3批样品,已知杂质采用对照品外标法,未知杂质采用自身对照法进行测定,测定结果见表1,色谱见图3。

表1 3批样品有关物质检查结果(%)

Tab 1 Determination of related substances in 3 batches of samples (%)

批号	地塞米松	醋酸可的松	其他杂质	总杂质
20110902	0.66	0.21	0.50	1.37
20110903	0.66	0.17	0.44	1.27
20111226	0.28	未检出	0.39	0.67

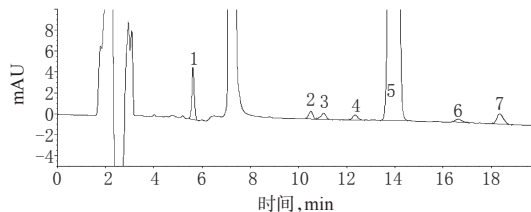


图3 有关物质测定高效液相色谱图

1. 地塞米松; 2. 地塞米松降解物; 3. 醋酸可的松; 4、6. 未知杂质; 5. 醋酸地塞米松; 7. 樟脑

Fig 3 HPLC chromatograms of related substances

1. dexamethasone; 2. dexamethasone degradation products; 3. cortisone acetate; 4, 6. unknown impurities; 5. dexamethasone acetate; 7. camphor

## 2.11 杂质的确定

阮宝强等<sup>[2]</sup>研究指出所含杂质可能为醋酸可的松,并可能系在原料生产过程中引入;而2010年版《中国药典》提及地塞米松为醋酸地塞米松原料药的控杂质。本文在此基础上结合色谱峰纯度检查 and 对照品比对试验,对复方醋酸地塞米松乳膏的杂质进行了初步归属。供试品溶液、地塞米松对照品贮备液及醋酸可的松对照品贮备液的测定色谱对比见图4。

经对比图3、图4得出,1号峰为地塞米松,2号峰为地塞米

# 纳米微粒系统介导小干扰RNA体内递送的研究进展

卫英\*, 陆国椿#(复旦大学附属肿瘤医院科技服务部康实药房/复旦大学上海医学院肿瘤学系, 上海 200032)

中图分类号 R945 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)09-0845-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.09.28

**摘要** 目的:为开发新型纳米微粒系统用于体内递送小干扰RNA(siRNA)提供参考。方法:总结siRNA体内递送障碍并综述近年来纳米微粒系统介导siRNA体内递送的研究现状。结果与结论:siRNA需要解决肾滤过、吞噬细胞摄取、血清蛋白凝聚以及内源性核酸酶降解等障碍。聚乳酸-乙醇酸共聚物纳米微粒系统能有效包载siRNA,改善其体内稳定性,但存在内含体逃逸及不能及时释放siRNA的缺陷;壳聚糖纳米微粒系统包载siRNA稳定性高、包封率达83%~94%、基因沉默效率接近80%;环糊精纳米微粒系统包载siRNA未见严重毒副作用;胶束纳米微粒系统能有效保护siRNA免受核酸酶降解,并能适时释放siRNA;阳离子共聚物纳米微粒系统能有效防止siRNA被核酸酶降解,但转染效率低;脂质纳米微粒系统可显著提高siRNA对靶基因的沉默效果,但存在一定毒性及易引起siRNA脱靶效应。部分荷载siRNA的纳米微粒系统用于临床试验已得到了令人鼓舞的成果,但仍有较多问题亟待解决。联合应用多种递送系统传递siRNA可能是未来研究发展趋势。

**关键词** 小干扰RNA;纳米微粒系统;体内递送;基因疗法

RNA干扰(RNA interference, RNAi)的发现与研究,为基因治疗带来了新的契机,其已发展成为一种非常有潜力的基

因治疗手段。1998年, Kim WJ等<sup>[1]</sup>在线虫体内首次发现双链RNA(Double strand RNA, dsRNA)能使基因表达沉默。外源

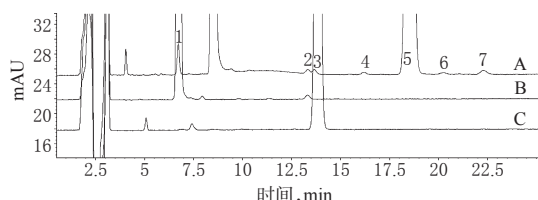


图4 杂质的定位试验高效液相色谱图

A. 供试品; B. 地塞米松对照品; C. 醋酸可的松对照品; 1. 地塞米松; 2. 地塞米松降解物; 3. 醋酸可的松; 4, 6. 未知杂质; 5. 醋酸地塞米松; 7. 樟脑

Fig 4 HPLC chromatograms of location test of impurities

A. test samples; B. dexamethasone control; C. cortisone acetate control; 1. dexamethasone; 2. dexamethasone degradation products; 3. cortisone acetate; 4, 6. unknown impurities; 5. dexamethasone acetate; 7. camphor

松降解物, 3号峰为醋酸可的松, 4号峰为醋酸地塞米松引入的未知杂质, 5号峰为醋酸地塞米松, 6号峰为未知杂质, 7号峰为另一主药樟脑。其中, 2、4、6号峰需做进一步研究。可见, 地塞米松和醋酸可的松为复方醋酸地塞米松乳膏的杂质。

## 3 讨论

### 3.1 流动相的选择

在前期试验中先后尝试了甲醇-水(70:30)和乙腈-水(40:60)作为流动相, 但保留时间和分离效果均不理想。后经摸索, 并参考了文献<sup>[9]</sup>资料, 发现当流动相调整为乙腈-水(含0.1%醋酸)(43:57)时, 各杂质分离度符合要求, 对称因子较

好, 故选用其为流动相。

### 3.2 溶剂的选择

样品最初用流动相溶解, 结果溶解后不易过滤; 根据醋酸地塞米松的性质<sup>[1]</sup>, 尝试用无水乙醇溶解, 发现出现双峰现象; 而用甲醇溶解, 样品容易过滤, 色谱峰峰形较好。故选择甲醇作为溶剂。

地塞米松和醋酸地塞米松抗炎活性相当, 但在乳膏剂中, 后者由于亲脂性增加, 比前者更容易溶解在角质层中, 较快透过表皮到达皮下血管发挥作用; 而醋酸可的松抗炎活性不强, 更存在钠潴留作用<sup>[9]</sup>。因此, 这2种杂质的存在不仅影响药物的纯度, 还可使药物疗效、安全性下降, 因此分析研究其杂质对提高药品安全性和有效性有着重要的意义。本方法的建立有助于保证复方醋酸地塞米松乳膏的药理活性和安全性, 对进一步控制该制剂的质量有一定的参考作用。

## 参考文献

- [1] 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: 593-594, 1 120-1 121.
- [2] 阮宝强, 杨腊虎. 醋酸地塞米松片及其有关物质分析[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(3): 412.
- [3] 张学斌, 施介华. HPLC鉴定抗风湿中药制剂中非法添加的6种西药成分[J]. 中国现代应用药学, 2010, 27(2): 160.
- [4] 徐亚玲, 申瑾, 罗曼, 等. HPLC法同时检测乳癖消片(胶囊)中是否非法掺入甾体激素类药[J]. 中国药房, 2011, 22(36): 3 440.
- [5] 尤启东. 药物化学[M]. 1版. 北京: 化学工业出版社, 2003: 583-584.

(收稿日期: 2012-04-17 修回日期: 2012-06-06)

\* 药师。研究方向: 抗肿瘤药理学。电话: 021-64175590-3211。E-mail: frank\_sky1997@126.com

# 通信作者: 主任药师。研究方向: 抗肿瘤药理学。电话: 021-64175590-3211