

二丙酸倍他米松水解产物研究

杨平^{1*}, 李君^{2#}(1.重庆华邦制药有限公司, 重庆 401121; 2.重庆医药工业研究院有限责任公司, 重庆 400012)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)33-3137-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.33.21

摘要 目的:对二丙酸倍他米松主要水解产物的结构进行鉴定,为其稳定性及制剂处方研究提供参考。方法:对二丙酸倍他米松原料药进行强制降解试验,采用高效液相色谱法对水解产物进行分析、质谱法对水解产物进行结构鉴定,并利用合成所得杂质对照品对降解产物的结构进行确证。结果:二丙酸倍他米松在碱性和酸性条件下均可进行水解反应,且降解杂质不相同。其可水解产生倍他米松17-丙酸酯与倍他米松21-丙酸酯,2种单丙酸酯均可进一步水解成倍他米松。但二丙酸倍他米松在碱性条件下极易水解,降解产物可进一步降解;在酸性条件下水解则需要相对较强的反应条件,降解产物不易进一步水解。结论:二丙酸倍他米松在碱性和酸性条件下的水解杂质不相同,其3个主要的水解产物分别为倍他米松17-丙酸酯、倍他米松21-丙酸酯及倍他米松。

关键词 二丙酸倍他米松;水解产物;杂质;结构鉴定

Study on Hydrolysate of Betamethasone Dipropionate

YANG Ping¹, LI Jun²(1.Chongqing Huapont Pharmaceutical Co., Ltd., Chongqing 401121, China; 2.Chongqing Pharmaceutical Research Institute Co., Ltd., Chongqing 400012, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To identify the structure of the hydrolysate of betamethasone dipropionate, and to provide reference for the stability and formulation research. METHODS: Forced degradation test of betamethasone dipropionate was carried out; the hydrolysates were analyzed by HPLC, and the hydrolysates were identified by MS; and the structures of the hydrolysates were confirmed through comparison with synthetic impurities. RESULTS: The betamethasone dipropionate can be hydrolyzed under alkaline and acid conditions, and produced different impurities. The two main hydrolysis products of betamethasone dipropionate were betamethasone 17-monopropionate, betamethasone 21-monopropionate, and can be further hydrolyzed into betamethasone. Betamethasone dipropionate could be easily hydrolyzed under alkaline condition, and the degradation products can be further degraded. Under acid condition, the hydrolysis required relatively stronger reaction, and its degradation products can be degraded hardly. CONCLUSIONS: The hydrolysis impurities of betamethasone dipropionate in alkaline and acid conditions are not the same. Three main hydrolysis products were betamethasone 17-monopropionate, betamethasone 21-monopropionate and betamethasone.

KEYWORDS Betamethasone dipropionate; Hydrolysate; Impurity; Structure identification

二丙酸倍他米松(Betamethasone dipropionate, BD)为人工合成的长效糖皮质激素^[1],为地塞米松的差向异构体,通过抗炎、止痒、收缩血管从而发挥治疗激素敏感性皮肤的作用,用于缓解13岁及以上儿童和成人激素敏感性皮肤病出现的炎症和瘙痒症状。其化学名为9 α -氟-11 β ,17 α ,21-三羟基-16 β -甲基-孕甾-1,4-二烯-3,20-二酮-17,21-二丙酸酯,现有剂型有乳膏及注射液等。

BD易发生水解反应^[2],为了分析其中的潜在杂质^[3-5],保证药品的质量,笔者对BD原料药进行水解降解试验,取降解试验样品进行高效液相色谱(HPLC)分析^[6-7],对主要的降解产物进行结构鉴定^[8],并利用杂质对照品对降解产物进行了结构确证^[9-10]。本试验可为BD的稳定性和制剂处方的组成提供重要

依据。

1 材料

1.1 仪器

LC-20A分析型HPLC仪、SPD-20A紫外检测器、Labsolution色谱工作站(日本岛津公司);API-3000质谱仪(美国生物公司);Avance500 MHz核磁共振仪(德国Bruck公司)。

1.2 药品与试剂

BD原料药(批号:Y029-1006003,纯度:99.1%)、倍他米松17-丙酸酯杂质对照品(批号:20110601,纯度:98.1%)、倍他米松21-丙酸酯杂质对照品(批号:20110602,纯度:99.3%)均来自于重庆华邦制药有限公司;倍他米松杂质对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100118-201204,纯度:99.3%);乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为VP-ODS(150 mm \times 4.6 mm, 5 μ m);流动相a为

*工程师。研究方向:药物分析及质量标准。电话:023-67886981。E-mail:13018322338@163.com

#通信作者:工程师。研究方向:药品质量控制与管理。电话:023-62510941。E-mail:25739841@qq.com

水,流动相b为乙腈,梯度洗脱,流速为1.0 ml/min;紫外检测器,检测波长为250 nm;柱温为30 ℃;进样量为20 μl。梯度洗脱程序见表1。

表1 梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution program

时间, min	a, %	b, %
0	65	35
2	65	35
35	20	80
45	20	80
47	65	35
52	65	35

2.2 强制降解试验

取BD原料药约13 mg 5份,各置于100 ml量瓶中,加入10 ml乙腈使之溶解后,分别进行如下处理:(1)酸水解:加1 mol/L盐酸溶液2 ml,在50 ℃水浴加热30 min,放冷,加乙腈稀释至刻度。(2)碱水解:加0.05 mol/L氢氧化钠溶液1 ml,摇匀,立即加0.05 mol/L盐酸溶液1 ml中和,加乙腈稀释至刻度。(3)氧化:加3%过氧化氢溶液2 ml,50 ℃水浴中加热约30 min,放冷,加乙腈稀释至刻度。(4)加热:加乙腈溶解并稀释至刻度,摇匀,取约15 ml置于20 ml西林瓶中,扎盖,密封,置于105 ℃恒温箱中放置90 min后取出,放冷。(5)光照:加乙腈溶解并稀释至刻度,取溶液置于恒温光照箱中,照度为(4 500 ± 500) lx,照射24 h。

取上述强制降解试验的样品溶液,进样分析,测定主成分及杂质含量,结果见表2,色谱图见图1。

表2 强制降解试验结果(%)

Tab 2 Results of forced degradation test(%)

破坏条件	BD含量	杂质含量		
		A	B	C
未降解	100.0			0.19
酸水解	97.1		2.49	0.22
碱水解	86.8	2.06		10.19
氧化	99.2			0.20
加热	99.7			0.21
光照	99.5			0.18

试验结果显示,酸水解、碱水解后杂质增加明显;氧化、光照、加热后则比较稳定。BD分子中丙酸结构易发生水解反应,在不同条件下,其水解产物不尽相同,酸水解的主要产物为杂质B,碱水解的主要产物为杂质C及杂质A。因此,运用质谱分析及核磁分析对主要水解杂质结构进行鉴定。

2.3 杂质的鉴定

2.3.1 质谱分析。

收集酸水解和碱水解强制降解的杂质,对各杂质及主成分进行质谱(MS)分析。MS条件:离子源为电喷雾离子源(ESI);扫描方式为正离子扫描。MS分析见图2。

BD的分子离子峰[M+H]⁺为m/z 505.5,酸水解杂质B峰的分子离子峰[M+H]⁺为m/z 449.4,结合BD的结构及通过酸水解的途径,推测杂质为BD分子中1个丙酸酯水解成羟基的产物;碱水解杂质C峰的分子离子峰[M+H]⁺为m/z 449.4,结合BD的

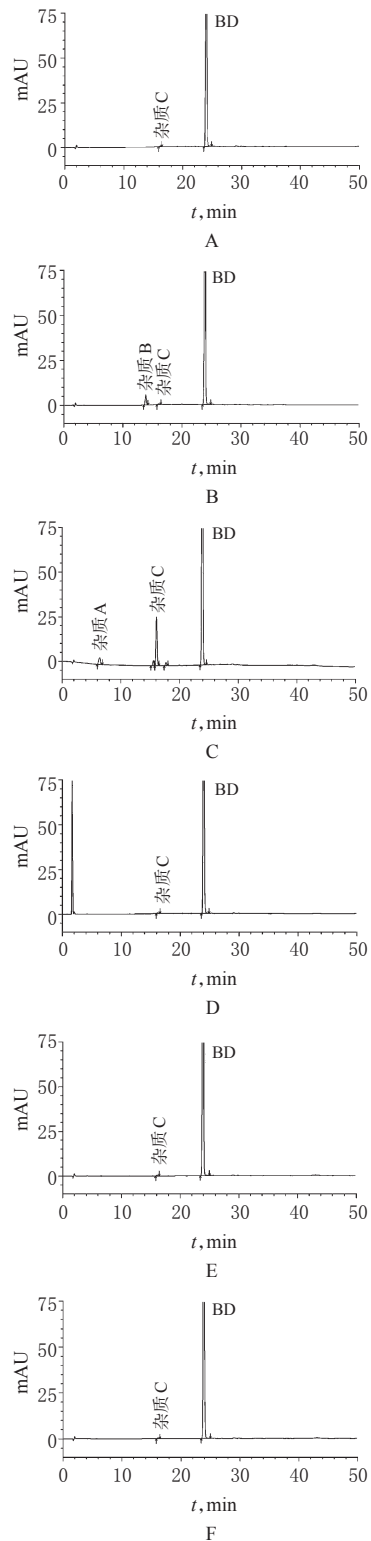


图1 强制降解试验高效液相色谱图

A. 未降解样品; B. 酸水解后样品; C. 碱水解后样品; D. 氧化后样品; E. 加热后样品; F. 光照后样品

Fig 1 HPLC chromatograms of forced degradation test

A. non-degraded sample; B. sample degraded by acid; C. sample degraded by alkaline; D. sample degraded by oxidative; E. sample degraded by thermal; F. sample degraded by light

结构及通过碱水解的途径,推测杂质为BD分子中另1个丙酸

酯水解成羟基的产物;碱水解杂质A峰的分子离子峰[M+H]⁺为m/z 393.2,结合BD的结构及通过碱水解的途径,推测杂质为BD分子中的2个丙酸酯均水解成羟基的产物(即倍他米松)。

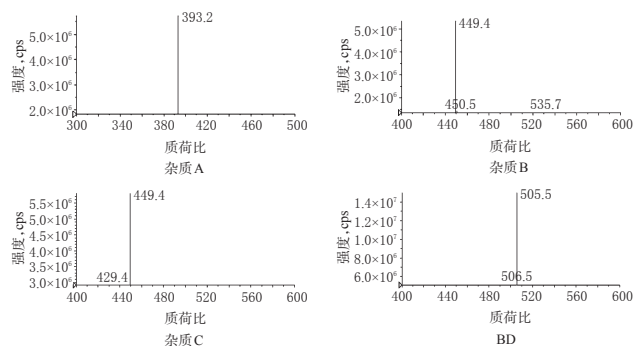


图2 3种杂质及BD的MS图

Fig 2 MS of 3 kinds of impurities and BD

酸水解杂质B峰和碱水解杂质C峰MS分析的分子离子峰相同,均由BD分子中的1个丙酸酯水解产生,但却不是不同位置的丙酸酯(倍他米松17-丙酸酯和倍他米松21-丙酸酯)。若要确认水解杂质各自的结构,还需通过其他方法进一步分析。

2.3.2 与杂质对照品对比。

(1)合成及化学结构。为确认上述推测的降解杂质的结构,用不同的合成路线制备倍他米松17-丙酸酯(杂质B)和倍他米松21-丙酸酯杂质对照品(杂质C),经HPLC检测,纯度均在98%以上。倍他米松、杂质B、杂质C和BD的化学结构见图3。

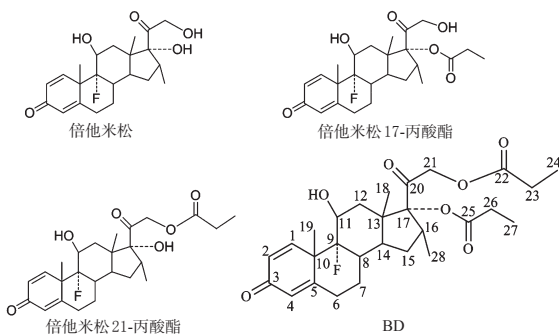


图3 化学结构图

Fig 3 Chemical structures

(2)核磁共振谱分析。分别对倍他米松、倍他米松17-丙酸酯、倍他米松21-丙酸酯和BD进行核磁共振碳谱(¹³C-NMR)分析,4种物质的¹³C-NMR数据(氘代二甲亚砜为溶剂)差异明显体现其结构上的关系(其中受氟原子影响的碳原子裂分显示为双峰,即2个化学位移值)。

倍他米松的¹³C-NMR数据δ(ppm):212.229,185.279,167.036,152.823,128.823,124.110,101.926(100.532),87.737,70.887(70.596),67.732,48.032(47.852),47.947,46.764,42.858,36.205,34.578,33.294(33.142),30.304,27.568,22.939(22.895),19.839,16.991。

倍他米松17-丙酸酯的¹³C-NMR数据δ(ppm):205.015,185.159,174.168,166.663,152.482,128.988,124.118,101.599(100.202),93.296,70.387(70.102),66.211,47.778(47.595),46.855,46.150,43.202,36.305,34.536,33.061(32.910),

30.136,27.488,27.373,22.824(22.781),19.560,16.782,8.617。

倍他米松21-丙酸酯的¹³C-NMR数据δ(ppm):205.504,185.231,173.010,166.993,152.742,128.937,124.069,101.902(100.508),87.873,70.717(70.426),69.091,48.341,47.987(47.806),46.862,42.791,35.985,34.519,33.265(33.112),30.263,27.568,26.553,22.976(22.933),19.686,16.602,8.971。

BD的¹³C-NMR数据δ(ppm):198.459,185.097,174.433,172.879,166.596,152.355,128.951,124.063,101.556(100.159),93.340,70.090(69.807),67.164,47.718(47.536),47.304,46.044,43.088,36.071,34.342,32.947(32.795),30.111,27.476,27.397,26.390,22.883(22.840),19.402,16.088,8.884,8.491。

对上述数据有差异之处进行分析,结果见表3。

表3 4种物质¹³C-NMR数据分析结果

Tab 3 ¹³C-NMR data analysis of 4 kinds of materials

碳原子	化学位移值δ(ppm)			
	BD	倍他米松17-丙酸酯	倍他米松21-丙酸酯	倍他米松
C ₁₇	93.34	93.30	87.87	87.74
C ₂₂ (羰基碳)	172.88		173.01	
C ₂₅ (羰基碳)	174.43	174.17		
C ₂₃ (亚甲基碳)	26.39		26.55	
C ₂₆ (亚甲基碳)	27.40	27.37		
C ₂₄ (甲基碳)	8.88		8.97	
C ₂₇ (甲基碳)	8.49	8.62		

由表3可知,与BD数据比较,倍他米松17-丙酸酯少3个碳原子δ值(172.88、26.39、8.88),结合分子结构可判断少了1个丙酸根;倍他米松21-丙酸酯也少3个碳原子δ值(174.43、27.40、8.49),可判断少了1个丙酸根;另外,倍他米松少6个碳原子δ值(174.43、172.88、27.40、26.39、8.88、8.49),可判断少了2个丙酸根。

C₁₇的化学位移值是判断倍他米松17-丙酸酯和倍他米松21-丙酸酯中丙酸根是在哪一位置的碳原子上的关键。从结构上分析,倍他米松17-丙酸酯和BD在C₁₇处结构相似,故化学位移值应相近;倍他米松21-丙酸酯与倍他米松在C₁₇处结构相似,故化学位移值应相近;倍他米松17-丙酸酯和倍他米松21-丙酸酯在C₁₇处结构差异较大,故化学位移值应具有较大的差异。结果表明,¹³C-NMR试验数据与结构分析理论一致。

(3)HPLC法确证。取3种杂质对照品(倍他米松、倍他米松17-丙酸酯和倍他米松21-丙酸酯),通过HPLC的保留时间对降解产物的结构进行确证。

杂质对照品溶液的配制:分别取3种杂质对照品各约10mg,精密称定,置于100ml量瓶中,加乙腈溶解并稀释至刻度。精密量取5ml,置于100ml量瓶中,加乙腈溶解并稀释至刻度。分别量取20μl,注入色谱仪,记录色谱图,见图4。

由图4所示,BD碱水解样品降解杂质A峰与倍他米松对照品主峰保留时间一致、降解杂质C峰与倍他米松21-丙酸酯对照品主峰保留时间一致;BD酸水解样品降解杂质B峰与倍他米松17-丙酸酯对照品主峰保留时间一致。

由上述分析可知,倍他米松、倍他米松17-丙酸酯、倍他米

松 21-丙酸酯对照品与降解产物 A、B、C 保留时间一致,证明 BD 水解产物的结构即为前文推断的结构。

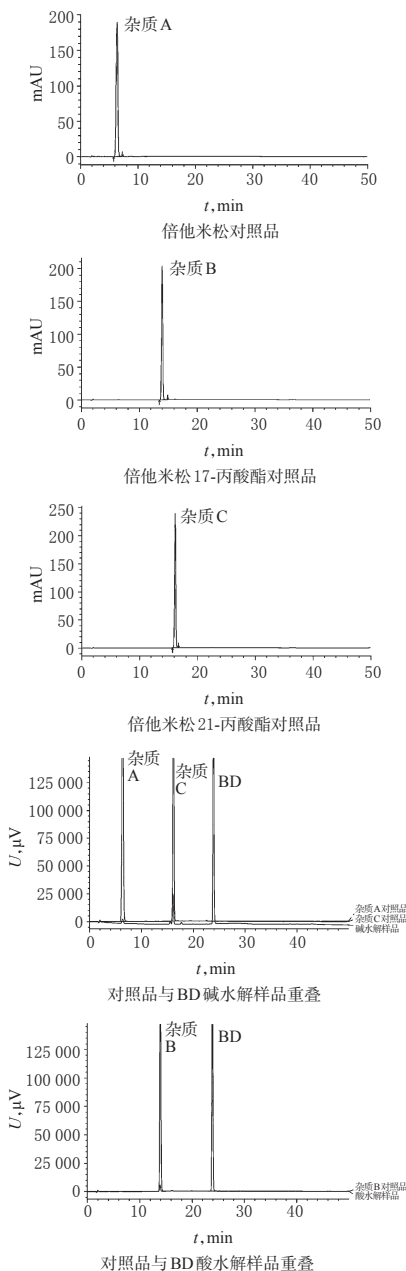


图 4 杂质鉴定高效液相色谱图

Fig 4 HPLC chromatograms of impurities identification

3 讨论

BD 在碱性和酸性条件下均可进行水解反应,且降解杂质不相同。从结构分析,BD 可水解产生杂质 B(倍他米松 17-丙

酸酯)与杂质 C(倍他米松 21-丙酸酯),2 种单丙酸酯均可以进一步水解成倍他米松。从本文研究可知,BD 在碱性条件下极易水解,降解产物倍他米松 21-丙酸酯可进一步降解产生倍他米松;而 BD 在酸性条件下水解则需要相对较强的反应条件,降解产物倍他米松 17-丙酸酯不易进一步水解。

本文对 BD 降解机制及主要降解杂质的研究结果,可为药品稳定性及制剂处方的组成提供依据。

参考文献

- [1] 齐思思,卢忠,黄岚,等.二丙酸倍他米松乳膏治疗湿疹和神经性皮炎的多中心、随机双盲对照研究[J].中华皮肤科杂志,2013,46(8):596.
- [2] 张宇松,金炜华,汪卫军.二丙酸倍他米松的合成研究[J].中国现代应用药学,2011,28(7):648.
- [3] Zou JJ, Dai L, Ding L, *et al.* Determination of betamethasone and betamethasone 17-monopropionate in human plasma by liquid chromatography-positive/negative electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography B*, 2008, 873(2): 159.
- [4] Chen B, Li M, Lin M, *et al.* A comparative study of enol aldehyde formation from betamethasone, dexamethasone, beclomethasone and related compounds under acidic and alkaline conditions[J]. *Steroid*, 2009, 74(1): 30.
- [5] Shou M, Galinada WA, Wei YC, *et al.* Development and validation of a stability-indicating HPLC method for simultaneous determination of salicylic acid, betamethasone dipropionate and their related compounds in Diprosalic Lotion[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2009, 50(3): 356.
- [6] (美)L.R.森德尔.实用高效液相色谱法的建立[M].2版.北京:华文出版社,2001:369-420.
- [7] 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,2010:99.
- [8] 丛浦珠,苏克曼.分析化学手册:第九分册[M].2版.北京:化学工业出版社,2000:293-375.
- [9] 宁永成.有机化合物结构鉴定与有机波谱学[M].2版.北京:科学出版社,2000:98-141.
- [10] 于德泉,杨峻山.分析化学手册:第七分册[M].2版.北京:化学工业出版社,1999:530-646.

(收稿日期:2014-03-05 修回日期:2014-05-06)

《中国药房》杂志——RCCSE 中国核心学术期刊,欢迎投稿、订阅