

反相高效液相色谱法测定福多司坦片的含量*

易红¹, 杨思芸^{2△}, 王鹏¹, 崔健毓¹, 袁浩宇¹

(1. 核工业四一六医院, 四川 成都 610051; 2. 四川省南充市中心医院·川北医学院第二临床医学院, 四川 南充 637000)

摘要:目的 建立测定福多司坦片中福多司坦含量的高效液相色谱(HPLC)法。方法 色谱柱为 Hypersil BDS C₁₈ 柱(200 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.02 mol/L 戊烷磺酸钠溶液(磷酸调 pH 为 2.2 ± 0.1) - 乙腈(94:6), 流速为 1.0 mL/min, 进样量为 20 μL, 柱温为 30 ℃, 检测波长为 210 nm。结果 福多司坦峰和相邻杂质峰达到良好分离; 福多司坦质量浓度在 50.0 ~ 300.0 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好, $r=0.999\ 9$ ($n=5$); 低、中、高水平的平均回收率分别为 99.08%, 99.61%, 99.52%, RSD 分别为 0.58%, 0.26%, 0.74% ($n=3$)。结论 该方法测定福多司坦片的含量准确、便捷。

关键词: 高效液相色谱法; 福多司坦片; 含量测定

中图分类号: R927.2; R974

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2018)19-0014-03

Content Determination of Fudosteine in Fudosteine Tablets by RP-HPLC

Yi Hong¹, Yang Siyun², Wang Peng¹, Cui Jianyu¹, Yuan Haoyu¹

(1. Nuclear Industry 416 Hospital, Chengdu, Sichuan, China 610051; 2. Nanchong Center Hospital, The Second Clinical Medical College of North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan, China 637000)

Abstract: Objective To establish a RP-HPLC method for content determination of fudosteine in Fudosteine Tablets. **Methods** The Hypersil BDS C₁₈ column(200 mm × 4.6 mm, 5 μm) was adopted, the mobile phase was 0.02 mol/L sodium pentanesulfonate solution (adjusted pH to 2.2 ± 0.1 with phosphoric acid) - acetonitrile(94:6), the flow rate was 1.0 mL/min, the sample size was 20 μL, the column was 30 ℃, and the detection wavelength was 210 nm. **Results** The fudosteine peak and the other peaks were well separated. The fudosteine had good linearity in the range of 50.0 - 300.0 μg/mL, $r=0.999\ 9$ ($n=5$). The average recovery rates of fudosteine with low, medium and high concentrations were 99.08%, 99.61% and 99.52% with RSD of 0.58%, 0.26% and 0.74% ($n=3$).

Conclusion This method is accurate and convenient for the content determination of Fudosteine Tablets.

Key words: HPLC; Fudosteine Tablets; content determination

福多司坦为黏液溶解剂,是具有司坦基本骨架的半胱氨酸衍生物,由日本三菱制药和 S. S 制药在 20 世纪 80 年代末研制出。其通过抑制气管中杯状细胞的过度形成和岩藻黏蛋白的产生,从而减少黏液分泌并降低痰液的黏性,还可以增加呼吸道黏膜的浆液分泌来稀释痰液,并具有抗炎作用,适用于支气管哮喘、慢性支气管炎、支气管扩张症、肺结核、尘肺症、肺气肿、非典型性分枝杆菌感染、弥漫性细支气管炎等慢性呼吸系统疾病的祛痰^[1],临床应用较广泛。本研究建立了测定福多司坦含量的反相高效液相色谱(RP-HPLC)法。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

2010C 型高效液相色谱仪, LC-Solution 型色谱工作站(日本岛津公司); PB-10 型 pH 计, BS224S 型电子天平(德国 Sartorius 公司)。

1.2 试剂

福多司坦对照品(含量为 99.9%, 上海江莱生物科

技有限公司); 福多司坦片(自制制剂, 规格为每片 0.2 g, 批号分别为 150301, 150302, 150303)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: 大连依利特 Hypersil BDS C₁₈ 柱(200 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.02 mol/L 戊烷磺酸钠溶液(磷酸调 pH 为 2.2 ± 0.1) - 乙腈(94:6); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 210 nm; 柱温: 30 ℃; 进样量: 20 μL。理论板数按福多司坦峰计算不小于 4 000, 且和相邻杂质峰的分度大于或等于 1.5。

2.2 溶液制备

供试品溶液: 取福多司坦片 10 片, 研细, 称取适量(约 200 mg), 精密称定, 置 100 mL 容量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液 1 mL, 置 10 mL 容量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得。

对照品溶液: 取福多司坦对照品 20 mg, 精密称定, 置 100 mL 容量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇

*基金项目: 四川省科技计划项目[2016JY0192]。

第一作者: 易红, 女, 大学本科, 副主任药师, 研究方向为医院药学、临床药学, (电子信箱) yihong0517@163.com。

△通信作者: 杨思芸, 女, 大学本科, 主任药师, 研究方向为临床药学, (电子信箱) 413305344@qq.com。

匀,制成 1 mL 含福多司坦 0.2 mg 的溶液。

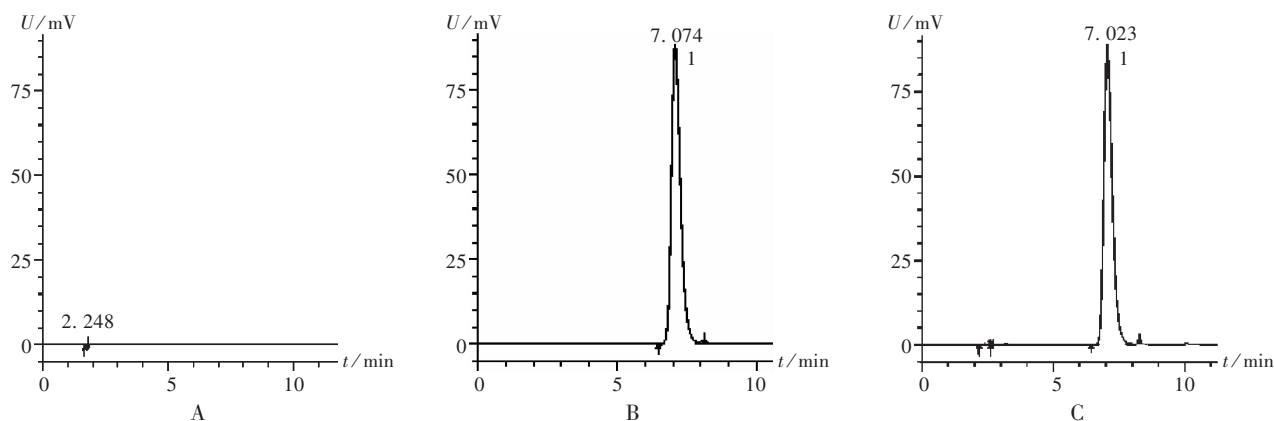
空白辅料溶液:按处方比例称取 200 mg 主药对应的空白辅料,按供试品溶液制备方法制备,即得。

2.3 方法学考察

空白干扰试验:将 2.2 项下 3 种溶液各吸取 20 μ L 注入色谱仪,测定并记录,结果见图 1。福多司坦的保留时间约为 7.0 min,与其他杂质峰的分度符合要求,空白流动相和辅料不干扰福多司坦的测定。

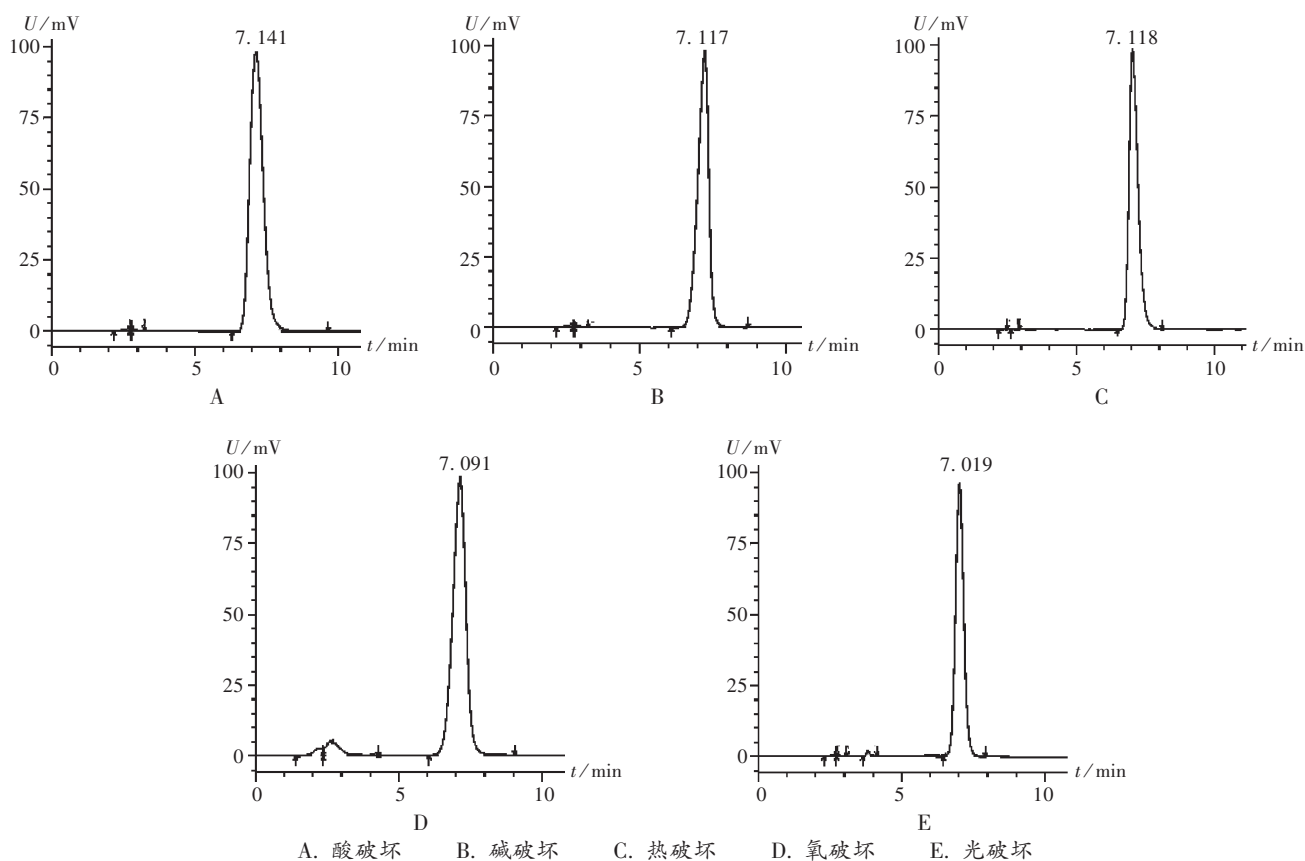
破坏性试验:取 3 份福多司坦片,每份 10 片,研磨,

取细粉,分别置 100 mL 容量瓶,待检。1)酸解试验,加 0.1 mol/mL 盐酸 10 mL,室温放置 2 h 后,用 0.1 mol/mL 氢氧化钠中和至中性;2)碱解试验,加 0.1 mol/mL 氢氧化钠 10 mL,室温放置 2 h 后,用 0.1 mol/mL 盐酸中和至中性;3)氧化试验,加 30% H_2O_2 5 mL,室温放置 2 h;4)高温试验,取本品 10 片,在 60 $^{\circ}C$ 下放置 5 d;5)强光试验,取本品 10 片,在强光[照射度为 $(4\ 500 \pm 500)lx$]下照射 5 d。随后将分别处理后的样品定容,并按 2.2 项下方法制备供试品溶液,依法测定。色谱图见图 2。



1. 福多司坦
A. 空白辅料溶液 B. 对照品溶液 C. 供试品溶液

图 1 高效液相色谱图



A. 酸破坏 B. 碱破坏 C. 热破坏 D. 氧破坏 E. 光破坏

图 2 破坏性试验色谱图

线性关系考察:取福多司坦对照品 50 mg,精密称定,置 50 mL 容量瓶中,加流动相溶解并定容,作为贮备液。将贮备液制成质量浓度为 50.0, 100.0, 150.0, 200.0, 300.0 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,分别注入色谱仪。以峰面积(A)对质量浓度(C , $\mu\text{g/mL}$)进行线性回归,得线性回归方程 $A = 34\,050C + 5\,247.2$, $r = 0.999\,9$ ($n = 5$)。结果表明,福多司坦质量浓度在 50.0 ~ 300.0 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。按信噪比(S/N)为 3 和 10,测得福多司坦的检出限和定量限分别为 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 和 1 $\mu\text{g/mL}$ 。

精密度试验:将同一对照品溶液注入色谱仪,结果峰面积的 RSD 为 0.46% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

重复性试验:取同一批样品(批号为 150301),按 2.2 项下方法平行制备供试品溶液 6 份,按外标法测定含量。结果福多司坦的平均百分含量为 99.23%, RSD 为 0.62% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:于空白辅料中,按照处方量的 80%, 100%, 120% 加入对照品,用流动相稀释制成低、中、高质量浓度(160.0, 200.0, 240.0 $\mu\text{g/mL}$)的溶液,每个质量浓度平行制备 3 份,照 2.2 项下方法分别精密吸取 20 μL 进样,计算回收率。结果见表 1。

表 1 福多司坦加样回收试验结果($n = 3$)

加入量($\mu\text{g/mL}$)	测得量($\mu\text{g/mL}$)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
160.0	157.87	98.67		
160.0	159.58	99.74	99.08	0.58
160.0	158.11	98.82		
200.0	198.92	99.46		
200.0	198.93	99.47	99.61	0.26
200.0	199.83	99.92		
240.0	237.36	98.90		
240.0	238.37	99.32	99.52	0.74
240.0	240.81	100.34		

稳定性试验:将供试品(批号为 150301)溶液置 4 $^{\circ}\text{C}$ 进样池中,分别于 0 ~ 10 h 每 2 h 分析 1 次。结果峰面积的 RSD 为 0.44% ($n = 5$),表明在 10 h 内 4 $^{\circ}\text{C}$ 环境中供试品溶液较稳定。

2.4 样品含量测定

分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 20 μL ,注入色谱仪,记录峰面积,以外标法计算样品中福多司坦的含量。结果 3 批样品的标示百分含量分别为 99.34%, 99.57%, 100.01%。

3 讨论

福多司坦不仅具有较好黏液溶解作用,还具有一定的抗炎作用,并同抗生素有一定协同作用,有利于疾病的治疗^[2-4]。

目前,测定福多司坦的方法主要有 HPLC 法^[5-7]、

荧光分光光度法^[8]和液相色谱-质谱联用(LC-MS/MS)法^[9],参考文献[10-11],建立了 RP-HPLC 法测定福多司坦片中福多司坦的含量。福多司坦为半胱氨酸衍生物,结构中无共轭体系。50.0 $\mu\text{g/mL}$ 的福多司坦对照品溶液在 200 ~ 400 nm 波长范围内进行紫外扫描,图谱中只有末端吸收,因而检测波长选定为 210 nm。

福多司坦结构中含有氨基和羧基 2 种官能团,极性较大,在 C_{18} 柱中进行分析时保留时间很短,有学者直接以水为流动相^[12-13],考虑到对色谱柱的保护并参考文献[11],在流动相中加入离子对试剂戊烷磺酸钠,调节流动相的 pH,以增加福多司坦在 C_{18} 柱上的吸附保留。当流动相为 0.02 mol/L 戊烷磺酸钠溶液(磷酸调 pH 为 2.2 ± 0.1) - 乙腈(94:6)时,福多司坦的保留时间合适,对称性和分离度均符合要求,因此确定为流动相。

参考文献:

- [1] 王月花,宋昱晨,赵美芳,等. 福多司坦治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期的随机对照双盲试验[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2015,20(11):1283-1286.
- [2] 杜飞,贺刚,李云飞,等. 福多司坦对慢性阻塞性肺疾病急性加重患者的祛痰作用及对肺功能的影响[J]. 实用心脑血管病杂志, 2014,22(4):38-39.
- [3] Takahashi K, Kai H, Mizuno H, et al. Effect of fudosteine, a new cysteine derivative, on mucociliary transport[J]. J Pharm Pharmacol, 2001,53(6):911-914.
- [4] Ueno - Iio T, Shibakura M, Iio K, et al. Effect of fudosteine, a cysteine derivative, on airway hyperresponsiveness, inflammation, and remodeling in a murine model of asthma[J]. Life Sci, 2013, 92(20-21):1015-1023.
- [5] 王莹,杭太俊. 手性衍生化-反相 HPLC 法测定福多司坦光学纯度[J]. 药学进展, 2005,29(9):421-425.
- [6] 宋小莉,郑文. 高效液相色谱法测定福多司坦片含量[J]. 药物分析杂志, 2005,25(9):1143-1144.
- [7] 王荣,贾正平,谢华,等. 高效液相色谱-荧光检测法测定人血浆中福多司坦含量[J]. 解放军药学报, 2010,26(1):19-21.
- [8] 王佩琪,王亚娟,徐浩源,等. 荧光分光光度法测定福多司坦片剂的含量[J]. 中国药师, 2008,11(6):684-686.
- [9] 魏晓明,赵娜,宋冬梅,等. 健康志愿者福多司坦颗粒剂与片剂的生物等效性研究[J]. 中国新药杂志, 2010,19(8):683-687.
- [10] 林秋婕,陈赞民. 福多司坦颗粒的 HPLC 测定[J]. 中国医药工业杂志, 2007,38(12):872-874.
- [11] 闻宏亮,黄山,刘文英. 反相高效液相色谱法测定福多司坦的含量[J]. 中国新药杂志, 2004,13(12):1135-1137.
- [12] 余红,李瑞,张青,等. 福多司坦片的制备工艺研究[J]. 药学与临床研究, 2008,16(3):191-193.
- [13] 许茜,李杰,王燕,等. 高效液相色谱法测定福多司坦口服溶液的浓度、有关物质及对其稳定性的初步研究[J]. 药物分析杂志, 2006,26(10):1457-1460.

(收稿日期:2018-06-01)