

匹多莫德水溶液稳定性研究

于士龙¹, 罗胜男², 徐菁阳¹, 崔思娇¹, 汪宇^{1△}

(1. 中国人民解放军第463医院, 辽宁 沈阳 110042; 2. 沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110000)

摘要:目的 探讨不同条件下匹多莫德水溶液的稳定性,为其相关制剂质量标准的制订提供依据。方法 配制不同pH的匹多莫德水溶液样品,采用高效液相色谱(HPLC)法分别对室温普通光照、60℃光照、室温强光(4 500 lx)3种条件下匹多莫德的含量进行测定,考察其稳定性。结果 匹多莫德水溶液含量前后变化趋势基本相同,pH在6~8范围内最稳定;室温普通光照下稳定性最好,60℃光照稳定性最差。结论 匹多莫德水溶液应调节pH为6~8,在室温、避光条件下可保持最佳稳定性。

关键词:匹多莫德;高效液相色谱法;稳定性;pH;光照试验

中图分类号:R927.11;TQ460.6;R979.5

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2018)21-0012-03

Study on Stability of Pidotimod Aqueous Solution

Yu Shilong¹, Luo Shengnan², Xu Jingyang¹, Cui Sijiao¹, Wang Yu¹

(1. No. 463 Hospital of PLA, Shenyang, Liaoning, China 110042; 2. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang, Liaoning, China 110000)

Abstract: Objective To investigate the stability of pidotimod aqueous solution under different conditions, and to provide a basis for the formulation of quality standards of related preparations. **Method** Pidotimod aqueous samples with different pH were made up, and the content of pidotimod samples were determined by HPLC under three conditions: room temperature and normal light, 60℃ and normal light, room temperature and hard light(4 500 lx), and its stability was inspected. **Results** Under the three kinds of conditions, the content of pidotimod aqueous solution had the same change trend, its most stable pH range was 6-8. According to content change degree, the stability of room temperature and normal light was the best and the stability of 60℃ and normal light was the worst. **Conclusion** Pidotimod aqueous solution can maintain the best stability at room temperature without light and its pH should be adjusted to 6-8.

Key words: pidotimod; HPLC; stability; pH; illumination test

匹多莫德是人工合成的免疫调节剂,能显著下调由植物血凝素诱导的血单核细胞白细胞介素4(IL-4)等细胞因子的分泌,增加 γ 干扰素(IFN- γ)和IL-12等Th₁型细胞因子的分泌,从而调节Th₁/Th₂细胞因子平衡。匹多莫德通过免疫功能调节机制发挥其抗细菌和病毒作用,预防和降低感染的复发^[1-2]。其口服制剂市售剂量下可快速起效,服用方便,无注射疼痛,且水溶性良好,各口服剂型的生物利用度无明显差异,因而应用广泛。但由于匹多莫德的分子结构中含有2个酰胺结构,其在有水的条件下易受pH和温度等条件影响而水解。本研究中探讨了匹多莫德水溶液稳定性的影响因素^[3],考察不同条件下匹多莫德水溶液的稳定性,为其口服液体制剂或注射剂的处方工艺筛选提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

高效液相色谱仪(美国SSI科学系统公司);pHS-25型pH计(上海仪电科学仪器股份有限公司);HNP-400GSD型综合药品稳定性试验箱(重庆宇硕实验仪器公司);ATY224型电子分析天平(日本岛津公司);CSF-18

型超声波清洗仪(上海超声波仪器厂,功率为500 W);DK-98-II型恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司)。

1.2 试剂

匹多莫德原料药(批号为151102,江苏吴中医药集团公司);匹多莫德对照品(中国食品药品检定研究院,含量为99.9%,批号为100588-201402);甲醇和异丙醇为色谱纯,氢氧化钠和磷酸二氢钠为分析纯。

2 方法与结果

2.1 样品溶液制备^[4]

称取匹多莫德原料药约80 g,加入2 000 mL水中,将样品水溶液置30℃水浴中,搅拌溶解,完全溶解后停止加热,冷却至室温。将样品均分成15份,以30%氢氧化钠分别调节pH为1.8,2.5,3.0,3.5,4.0,4.5,5.0,5.5,6.0,6.5,7.0,7.5,8.0,8.5,9.0(分别编号为1~15)。重复以上步骤,平行制备3份,作为3种不同存放条件下的试验样品。

2.2 含量测定^[5-6]

2.2.1 色谱条件

色谱柱:Diamonsil C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μ m);

第一作者:于士龙,男,满族,硕士研究生,主管药师,研究方向为药剂学和药物分析,(电子信箱)ysl_ufo@qq.com。

[△]通信作者:汪宇,女,博士研究生,副主任药师,研究方向为药剂学和医院药学,(电子信箱)264305216@qq.com。

流动相:0.01 mol/L 磷酸二氢钠-甲醇-异丙醇(95:4:1, 磷酸调 pH 至 2.5);检测波长:210 nm;柱温:30 ℃;流速:1.0 mL/min。

2.2.2 溶液制备

供试品溶液:精密量取样品 0.5 mL,置 50 mL 容量瓶中,以流动相定容至刻度,摇匀,即得。

对照品贮备液:取匹多莫德对照品适量,精密称定,加流动相溶解,即得质量浓度为 0.9 g/L 的溶液。

2.2.3 方法学考察

线性关系考察:精密吸取对照品贮备液适量,加流动相分别稀释成质量浓度为 0.450, 0.225, 0.113, 0.056, 0.028, 0.014 g/L 的对照品溶液,分别精密吸取上述溶液各 20 μ L,注入液相色谱仪,记录峰面积,以峰面积(Y)对质量浓度(X)进行线性回归,得回归方程 $Y=2.5309 \times 10^4 X+15.1752 \times 10^4$, $r=0.9997$ ($n=6$)。结果表明,匹多莫德质量浓度在 0.45 ~ 0.014 g/L 范围内与峰面积线性关系良好。

重复性与精密度试验:取匹多莫德对照品适量,精密称定,加流动相溶解,平行制备 6 份质量浓度为 0.25 g/L 的溶液,测定含量。结果平均百分含量为 99.65%, RSD 为 1.21% ($n=6$),表明方法重复性良好。另取其中 1 份匹多莫德对照品溶液,精密吸取 20 μ L,连续进样 6 次,测定含量。结果平均百分含量为 99.23%, RSD 为 0.99% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取匹多莫德对照品贮备液,分别室温放置 0, 1, 2, 4, 6 h,用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,精密吸取 20 μ L,注入液相色谱仪,测定匹多莫德含量。结果的 RSD 为 1.25% ($n=4$),表明溶液在 6 h 内稳定。

加样回收试验:精密吸取已知含量的同一匹多莫德样品溶液 6 份,每份 1 mL,加流动相稀释 200 倍,每份各精密吸取 5 mL,分别精密加入对照品贮备液 2.0 mL,按拟订色谱条件进样测定。结果见表 1。

表 1 匹多莫德加样回收试验结果 ($n=6$)

样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
0.911	1.199	2.091	98.42	97.79	1.47
0.917	1.199	2.110	99.50		
0.912	1.199	2.093	98.50		
0.913	1.199	2.086	97.83		
0.908	1.199	2.051	95.33		
0.914	1.199	2.079	97.16		

2.3 稳定性影响因素考察^[7-8]

2.3.1 室温普通光照试验

将 2.1 项下制备的供试品溶液于室温和普通光照

条件下保存 3 个月,按拟订色谱条件,分别于第 0, 15, 30, 60, 90 d 时测定样品中匹多莫德含量,同时检测各样品的 pH。结果见表 2。

表 2 常温光照条件下不同 pH 样品含量和 pH 变化

样品 pH	含量变化(%)					pH 变化			
	15 d	30 d	60 d	90 d	合计	15 d	30 d	60 d	90 d
1.8	-13.13	-5.94	0.43	1.03	-17.08	1.9	2.3	2.0	2.2
2.5	-5.25	-0.08	1.43	-6.53	-10.23	2.5	2.6	2.5	2.7
3.0	-6.97	1.15	1.25	-5.36	-9.83	3.0	2.9	2.9	3.2
3.5	-4.71	1.32	0.61	-3.31	-6.07	3.6	3.7	3.5	3.6
4.0	-3.82	-2.08	-0.77	-3.73	-6.20	4.0	4.2	3.9	4.1
4.5	-4.86	2.04	-0.16	-4.53	-7.46	4.4	4.4	4.4	4.5
5.0	-4.89	1.08	1.82	-4.42	-6.43	4.9	4.7	4.5	4.6
5.5	-4.69	-1.07	0.66	-2.86	-7.81	5.4	5.4	5.7	5.4
6.0	-4.55	-2.99	-1.31	-0.77	-9.32	6.0	6.2	5.9	5.7
6.5	-4.99	-0.10	1.24	-1.32	-5.18	6.5	6.6	6.6	6.7
7.0	-6.16	-0.98	0.88	-1.00	-7.19	7.0	6.9	7.1	6.9
7.5	-3.58	-2.29	-1.33	-1.06	-8.02	7.5	7.3	7.5	7.3
8.0	-5.23	-1.74	-0.97	0.66	-7.17	8.0	7.8	7.9	7.8
8.5	-3.37	-3.05	0.51	0.39	-5.46	7.9	7.0	7.0	7.2
9.0	-4.98	-1.71	-1.26	0.92	-6.93	8.4	7.7	7.7	7.6

2.3.2 60 ℃ 光照试验

将 2.1 项下制备的供试品溶液于 60 ℃ 和普通光照条件下保存 3 个月,按拟订色谱条件,分别于第 0, 15, 30, 60, 90 天时测定样品中匹多莫德含量,同时检测各个样品的 pH。结果见表 3。

表 3 60 ℃ 光照条件下不同 pH 样品含量和 pH 变化

样品 pH	含量变化(%)					pH 变化			
	15 d	30 d	60 d	90 d	合计	15 d	30 d	60 d	90 d
1.8	-35.23	-23.12	-21.54	-24.13	-70.36	1.9	2.0	1.9	2.4
2.5	-19.02	-13.33	-12.32	-18.97	-50.13	2.5	2.5	2.6	2.8
3.0	-18.21	-6.36	-8.27	-8.10	-35.44	3.0	2.9	3.0	3.2
3.5	-6.11	-4.42	-1.80	-14.75	-24.87	3.5	3.3	3.3	3.6
4.0	-6.43	-1.83	-1.27	-2.58	-11.64	4.0	4.3	4.1	4.0
4.5	-2.82	-2.63	-1.98	-1.44	-8.59	4.5	4.7	4.1	4.3
5.0	-3.80	-3.12	-1.25	-0.25	-8.20	5.0	4.8	5.0	4.6
5.5	-4.52	-1.95	-1.95	-1.22	-9.20	5.2	5.2	4.7	4.7
6.0	-3.60	-2.08	-1.83	-1.01	-8.28	6.0	5.8	5.9	5.9
6.5	-2.61	-1.32	-1.07	-0.73	-5.62	6.5	6.8	6.5	6.7
7.0	-2.95	-1.51	0.08	-0.07	-4.36	7.0	6.5	6.5	6.6
7.5	-1.66	-1.02	0.84	-0.26	-2.12	7.3	7.2	6.7	6.9
8.0	-2.98	-0.66	-0.86	0.24	-4.24	7.8	7.1	7.3	7.0
8.5	-3.24	-1.19	1.02	-0.47	-3.88	7.9	7.0	7.2	6.9
9.0	-2.59	-1.55	0.77	-0.87	-4.20	8.1	7.3	7.3	7.1

2.3.3 室温强光(4 500 lx)^[9-10]试验

将2.2.2项下制备的供试品溶液于室温和强光(4 500 lx)条件下保存3个月,按拟订色谱条件,分别于第0,15,30,60,90 d时测定样品中匹多莫德含量,同时检测各个样品的pH。结果见表4。

表4 室温强光(4 500 lx)条件下不同pH样品含量和pH变化

样品 pH	含量变化(%)					pH变化			
	15 d	30 d	60 d	90 d	合计	15 d	30 d	60 d	90 d
1.8	-9.47	-3.77	1.49	-9.57	-20.04	1.9	1.9	2.1	2.0
2.5	-10.0	-2.17	1.37	-3.60	-13.96	2.5	2.5	2.7	2.8
3.0	-9.30	1.62	1.90	-5.58	-11.33	3.0	3.0	3.2	3.2
3.5	-6.53	1.05	0.87	-4.88	-9.38	3.5	3.3	3.6	3.6
4.0	-9.57	1.54	-0.93	-0.40	-9.36	4.0	3.7	4.0	4.1
4.5	-7.89	2.26	-2.84	-0.91	-9.30	4.5	4.1	4.3	4.4
5.0	-2.42	-3.62	-2.09	-2.25	-9.99	4.6	4.4	4.7	4.6
5.5	-1.55	-2.05	-2.39	-0.54	-6.38	5.5	5.4	5.7	5.7
6.0	2.29	-3.71	-3.88	-0.66	-5.95	5.8	5.5	5.6	5.6
6.5	-1.48	-1.29	-2.96	-1.00	-6.58	6.3	6.1	6.3	6.2
7.0	-1.12	-5.33	-2.58	0.52	-8.33	6.8	6.5	6.5	6.4
7.5	-3.57	-0.83	-2.79	0.16	-6.89	7.2	6.9	6.6	6.8
8.0	-0.71	-3.50	-3.42	-0.051	-7.51	7.2	6.6	6.2	6.2
8.5	-2.39	-2.62	-2.22	-1.21	-8.18	7.6	7.1	6.5	6.6
9.0	3.72	-4.42	-1.42	-2.02	-4.24	8.2	7.0	7.1	6.6

3 讨论

在室温普通光照储存条件下,4-15号样品(pH 3.5~9)的含量变化均小于10%,说明此条件匹多莫德水溶液相对稳定。其中,9-15号样品(pH 6~9)在第30天后的含量变化趋缓,均小于1.5%。由表3可知,14号和15号样品在储存期间pH变化较大,但其pH仅在30 d内变化程度较大,30 d后pH稳定在7~8范围内不变,说明当溶液pH大于8时,其最终稳定的pH为7~8。因此,在室温普通光照条件下,匹多莫德水溶液pH为3.5~8时相对稳定,pH为6~8时最稳定。

在60℃普通光照储存条件下,6-15号样品(pH 4.5~9)的含量变化均小于10%,说明此条件匹多莫德水溶液相对稳定;其中1-2号样品的含量变化均超过了50%,说明在低pH条件下升高温度更容易加速匹多莫德的分解;10-15号样品(pH 6.5~9)在第30天后的含量变化趋缓,且均小于1.5%。由表3可知,13-15号样品(pH 8~9)在储存期间pH变化较大,但其pH在30 d后变化趋缓,pH在7左右保持稳定。可知在60℃普通光照条件下,pH为4.5~8的匹多莫德水溶液相对稳定,pH为6~7.5最稳定。无论在60℃普通光照条件下,还是在室温普通光照条件下,匹多莫德水溶液的含量与pH变化趋势均一致;但60℃普通光照条件下,能

使匹多莫德水溶液保持稳定的条件范围更窄。可知,高温不利于匹多莫德水溶液的稳定性。

在室温强光(4 500 lx)条件下,4-15号样品(pH 4.5~9)的含量变化均小于10%,说明此条件匹多莫德水溶液相对稳定;其中5-15号样品(pH 5~9)在第60天后的含量变化趋缓,均小于1%。由表4可知,13-15号样品(pH 8~9)在储存期间pH变化较大,但其pH在30 d后变化趋缓,基本稳定在6~7范围内。可知,在室温强光(4 500 lx)条件下,pH为4.5~7.5的匹多莫德水溶液相对稳定,pH为5~7.5最稳定。室温强光(4 500 lx)条件下,匹多莫德水溶液的含量和pH变化趋势与其他2种条件相一致,而稳定性不如条件室温普通光照,但要强于60℃普通光照。可知,光线可以影响匹多莫德的稳定性,但并不是主要影响因素。

综上所述,匹多莫德水溶液保持稳定的最佳条件为调节pH为6~8,同时应在室温和避光条件下储存。匹多莫德水溶液主要用于注射剂和口服制剂,除了注射剂要保持特定的pH范围外,口服制剂还要受胃液pH的影响。胃液的pH一般低于3,pH为1.8~3.0时匹多莫德水溶液最不稳定,故本研究结果可为今后进一步进行匹多莫德的制剂处方筛选和体内稳定性研究提供参考。

参考文献:

- [1] 周越,戴玉旋. 匹多莫德和脾氨肽对反复呼吸道感染患儿的临床症状及Th1/Th2细胞因子影响的比较[J]. 中国生化药物杂志,2012,33(1): 64-66.
- [2] 张磊. 匹多莫德联合孟鲁司特钠治疗小儿支气管哮喘120例疗效观察[J]. 中国保健营养,2016,26(1): 376-377.
- [3] 钮瑛,堵伟峰. 盐酸安妥沙星注射液的稳定性试验[J]. 中国药业,2012,21(6): 27-29.
- [4] 尚海巍,孙英华,何仲贵. pH值对匹多莫德氯化钠注射液稳定性的影响[J]. 中国药理学杂志,2007,5(6): 315-319.
- [5] 王敬敏,李慧,孙进. 匹多莫德注射液的制备及其质量和稳定性研究[J]. 中国药理学杂志,2012,10(6): 93-98.
- [6] 黄敏,蒋伟哲,黄兴振,等. 盐酸左旋多巴甲酯水溶液稳定性研究[J]. 中国药业,2008,17(8): 29-30.
- [7] 刘晓,陈晓辉,戴锦娜,等. 溶液pH、温度和光照等因素对盐酸阿比朵尔稳定性影响的考察[J]. 药物分析杂志,2009,29(5): 833-836.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社,2015: 354-356.
- [9] 蒋军喜,张超群,阙海勇,等. 车前草穗枯病研究[J]. 江西农业大学学报,2007,29(5): 740-750.
- [10] 周施诗,李健和. 碘帕醇注射液的稳定性研究[J]. 中南药学,2018,16(1): 68-71.

(收稿日期:2018-05-23)