

# 羧甲司坦含量测定方法的研究进展

辛昱轩, 秦咏九, 徐新元

徐汇食品药品检验所(上海 200030)



**【摘要】**羧甲司坦是一种常用的祛痰药物, 目前已报道的羧甲司坦检测方法主要有电化学法、溴酸钾滴定法、动力学法、光谱法、色谱法、柱前衍生高效液相色谱荧光法、液相-质谱联用法等, 该文对比分析了各种分析方法的优缺点, 发现 HPLC 法更适合羧甲司坦质量分析, 为提升羧甲司坦检测标准提供参考。

**【关键词】**羧甲司坦; 含量测定; 光谱法; 色谱法; 慢性阻塞性肺病; 祛痰; 研究进展

## Research progress on determination methods of carbocisteine

XIN Yuxuan, QIN Yongjiu, XU Xinyuan

Xuhui Institute for Food and Drug Control, Shanghai 200030, China

Corresponding author: XIN Yuxuan, Email: xinyuxuan132@163.com

**【Abstract】**Carbocisteine is a commonly used expectorant drug. Currently, the reported detection methods for carbocisteine mainly include the electrochemical method, potassium bromated titration, kinetic method, spectrometry, chromatography, HPLC-FLD precolumn derivation determination, HPLC-MS, etc. The advantages and disadvantages of each method were compared and analyzed in this paper, and it is found that HPLC was more suitable for the quality analysis of carbocisteine, which could serve as a reference for upgrading standard of carbocisteine content determination.

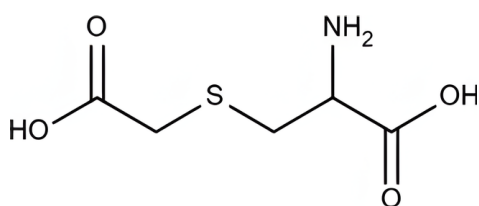
**【Keywords】**Carbocisteine; Determination; Spectrometry; Chromatography; Chronic obstructive pulmonary disease; Dispelling phlegm; Research progress

羧甲司坦由 L-半胱氨酸与氯乙酸在氢氧化钠水溶液中烷基化反应合成而得(结构式见图1)<sup>[1]</sup>, 是一种祛痰药物, 能减少支气管黏液分泌, 降低痰液黏度, 主要用于治疗慢性支气管炎、支气管哮喘等疾病引起的痰液稠厚、咳痰困难等症<sup>[2]</sup>。在慢性阻塞性肺病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)治疗研究中, 羧甲司坦还具有清除自由基和抗炎能力<sup>[3-5]</sup>。近30年来, COPD是导致我国人群健康受影响的前几大疾病<sup>[6]</sup>, 2020年我国60岁以上人群COPD患病率高达30%, 发病率和死亡率迅速增长, 已逐渐成为全球第三大死亡原因<sup>[7-9]</sup>。

一项对来自我国22个中心、709名患者的研究发现, 羧甲司坦可使COPD急性发作减少24.5%, 治疗费用减少85%, 能有效降低医疗资源消耗<sup>[10]</sup>。一些欧洲国家(捷克、英国、波兰、俄罗斯、西班牙等)COPD管理指南也推荐口服羧甲司坦<sup>[11]</sup>。随着羧甲司坦被广泛使用, 确保羧甲司坦药物的质量, 对于保障患者用药安全具有重要意义。关于羧甲司坦含量测定方法的综述, 尚未见相关报道。该文对比分析了国内外羧甲司坦分析方法的优缺点, 发现HPLC法更适合羧甲司坦的质量分析, 为提升羧甲司坦检测标准提供参考。

DOI: 10.12173/j.issn.1008-049X.202401138

通信作者: 辛昱轩, 硕士, 药师, Email: xinyuxuan132@163.com

图1 羧甲司坦分子结构式<sup>[1]</sup>Figure 1. Chemical structure of carbocisteine<sup>[1]</sup>

## 1 羧甲司坦原料及制剂的分析方法

### 1.1 电化学法

#### 1.1.1 电位滴定法

《欧洲药典》<sup>[12]</sup>《中国药典》<sup>[13]</sup>以及《日本药典》<sup>[14]</sup> 收录的羧甲司坦原料通过电位法测定含量，羧甲司坦溶解于无水甲酸，用 0.1 mol/L 高氯酸作为滴定液进行滴定，采用电位法测定终点。

#### 1.1.2 电流滴定法

赵冰璐等<sup>[15]</sup> 采用电流滴定法测定了羧甲司坦原料药与片剂的含量，羧甲司坦加水与盐酸溶解后，插入铂—铂电极，用溴酸钾滴定液滴定，采用永停滴定仪指示终点。

### 1.2 溴酸钾滴定法

《中国药典》<sup>[13]</sup> 收录的羧甲司坦片与羧甲司坦颗粒通过溴酸钾滴定法测定含量。羧甲司坦具有还原性，溴酸钾是较强的氧化剂，在酸性条件下采用溴酸钾滴定羧甲司坦，并测定其含量。

### 1.3 动力学法

金离子光化学还原为金纳米颗粒后变为红色，含硫化合物能减缓金离子的光化学还原反应。Kostara 等<sup>[16]</sup> 将金离子等依次添加到含硫化合物样品与对照品溶液中，用紫外光（波长：254 nm，功率：40 W）照射溶液，将添加含硫化合物样品与对照溶液出现红色所需的时间进行比较，用时间差与浓度绘制标准曲线回归方程，计算药物浓度，定量限可达  $\mu\text{mol/L}$  水平。

### 1.4 光谱法

#### 1.4.1 紫外-可见分光光度法

《中国药典》<sup>[13]</sup> 收录的羧甲司坦口服溶液含量测定方法采用紫外-可见分光光度法。羧甲司坦含有  $\alpha$ -氨基，在酸性条件下，茚三酮与  $\alpha$ -氨基反应生成蓝紫色化合物<sup>[17]</sup>，该化合物在约 567 nm 处有最大吸收，在该波长处测定吸光度，计算羧甲司坦含量。

Rele 等<sup>[18]</sup> 通过紫外分光光度法直接测定羧

甲司坦片的含量，羧甲司坦在 200.4 nm 处有最大吸收，以 0.1 mol/L HCl 为溶剂，在该波长处测定吸光度，羧甲司坦在 10~140  $\mu\text{g/mL}$  的浓度范围内线性关系良好。

羧甲司坦含有硫原子，研究者依据含硫化合物的特性，建立了多种分析方法。高锰酸钾在碱性介质中氧化含硫化合物，产物在 610 nm 处有最大吸收，显色强度随反应时间的增加而增加，Walash 等<sup>[19]</sup> 将羧甲司坦用氢氧化钠溶液溶解，然后加入高锰酸钾溶液，同时制备空白对照溶液，前 20 min 在固定时间内测量吸光度，根据对数反应速率与对数药物浓度，计算药物含量，该方法简单、快速、成本低。

羧甲司坦可与金属离子形成络合物。Walash 等<sup>[20]</sup> 将羧甲司坦在 pH 为 6.7 的硼酸盐缓冲液中与  $\text{Cu}^{2+}$  或  $\text{Ni}^{2+}$  反应，通过测量反应形成的络合物在其最大吸收波长的吸光度，计算羧甲司坦含量。Srivastava 等<sup>[21]</sup> 提出了一种动力学测定羧甲司坦的方法，羧甲司坦可与汞形成稳定的络合物，降低汞催化氰化物从  $[\text{Ru}(\text{CN})_6]^{4-}$  和 N-R-salt 中的取代率。将羧甲司坦与 N-R-salt、 $[\text{Ru}(\text{CN})_6]^{4-}$  溶液充分混合后，分别在 10 min 和 15 min 时测定 525 nm 处的吸光度，并计算羧甲司坦含量。

#### 1.4.2 荧光分光光度法

羧甲司坦可与试剂邻苯二甲醛反应形成高荧光异吡啶复合物，Walash 等<sup>[22]</sup> 向羧甲司坦溶液中加入邻苯二甲醛试剂，使用荧光光度计在 45 min 时，于 329 nm 激发，431 nm 处发出强荧光，建立回归方程，线性范围为 0.05~0.90  $\mu\text{g/mL}$ 。

Taha 等<sup>[23]</sup> 将  $\text{Tb}^{3+}$  和  $\text{U}^{3+}$  离子作为荧光探针，测定羧甲司坦等含硫化合物的含量。 $\text{Tb}^{3+}$  在缓冲液中与羧甲司坦形成三元络合物，于 241 nm 激发，488 nm 处发生荧光猝灭； $\text{U}^{3+}$  在水溶液中与羧甲司坦形成二元络合物，于 240 nm 激发，512 nm 处发生荧光猝灭。通过浓度与荧光强度降低计算羧甲司坦含量，线性范围分别为 1~4  $\mu\text{g/mL}$  和 0.5~5  $\mu\text{g/mL}$ 。

### 1.5 色谱法

#### 1.5.1 离子色谱法

由于羧甲司坦可能同时具有带正电荷和带负电荷的基团，离子交换柱对其具有保留作用。Megoulas 等<sup>[24]</sup> 通过离子色谱系统，建立了一种无抑制电导检测器的离子色谱法测定羧甲司坦含

量。在考察多种柱子类型和洗脱液的组合中,采用阳离子交换柱,以 0.25 mmol/L 三氟乙酸为流动相,流速为 1.2 mL/min 等度模式的试验结果最佳。在该条件下,羧甲司坦与常见氨基酸分离度良好,保留时间为 3.5 min,线性范围为 17~400  $\mu\text{g/mL}$ 。

霍柱健等<sup>[25]</sup>采用阴离子色谱柱,以 10 mmol/L 氢氧化钾溶液为流动相,流速为 1.0 mL/min,通过抑制型电导检测方式,抑制电流为 40 mA,建立了离子色谱法测定羧甲司坦中氯乙酸残留量的方法。

### 1.5.2 HPLC法

HPLC 法是药典用于含量测定的主流分析方法之一,有大量文献报道采用 HPLC 法检测羧甲司坦,羧甲司坦在 200~400 nm 无最大吸收,但有末端吸收,因此研究者选定末端吸收波长(205~220 nm)为检测波长,由于羧甲司坦在 232~256 nm 波长范围吸收较为平坦,有报道选定 240 nm 为检测波长,以排除其他物质干扰<sup>[26]</sup>。文献报道的色谱条件见表 1。

表1 HPLC法色谱条件

Table 1. Chromatographic conditions for HPLC

色谱柱	流动相	检测波 (nm)	参考 文献
C <sub>18</sub> (150 mm × 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	0.1%三氟乙酸	240	[14]
Hypersil BDS C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	0.1%三氟乙酸	240	[26]
WondaCract ODS 2 C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	pH 6.6磷酸盐缓冲液	210	[27]
Hypersil C <sub>18</sub> (300 mm × 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	pH 2.0磷酸盐缓冲液	210	[28]
VP-ODS C <sub>18</sub> (150 mm × 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	pH 3.0磷酸盐缓冲液	210	[29]
Shodex C <sub>8</sub> (250 mm × 3.9 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	0.025 mol/L磷酸二氢钠-乙腈 (87 : 13)	210	[30]
Zorbax SAX (250 mm × 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	0.2 mol/L磷酸盐溶液-乙腈 (50 : 50) (pH 4.0)	205	[31]
Diamonsil C <sub>18</sub> (150 mm × 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	磷酸二氢钾-庚烷磺酸钠缓冲液 (pH 2.5)	215	[32]
Diamonsil C <sub>18</sub> (150 mm × 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	磷酸二氢钾-己烷磺酸钠缓冲液 (pH 2.5)	215	[33]
Luna C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	磷酸氢二钾溶液 (pH 2.5, 含庚烷磺酸钠)	215	[34]
Hypersil BDS C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	(0.1%磷酸氢二钾, 含0.05%庚烷磺酸钠) - 0.2%三氟乙酸-乙腈 (30 : 68 : 2)	215	[35]
C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	乙腈-水 (10 : 90, pH 3.0)	220	[36]
C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 10 $\mu\text{m}$ )	乙腈-水 (10 : 90, pH 3.0)	220	[37]
Spherisorb ODS 2 C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	乙腈-甲醇-水 (12 : 28 : 60, pH 4.0)	210	[38]
Hypersil ODS C <sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	甲醇-水 (60 : 40)	-	[39]
Inertsil ODS-3V C <sub>18</sub> (150 mm × 4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	磷酸盐缓冲液 (pH 3.0) -乙醇 (75 : 25)	220	[40]

注: -为ELSD检测器。

《日本药典》<sup>[14]</sup>中羧甲司坦片通过 HPLC 法进行含量测定,以烟酸作为内标,0.1% 三氟乙酸溶液为流动相,羧甲司坦出峰时间控制在 2 min 左右。周远华等<sup>[26]</sup>以 0.1% 三氟乙酸为流动相,采用外标法测定羧甲司坦含量。该方法羧甲司坦和潜在的杂质半胱氨酸及胱氨酸分离度良好,定量准确,方法简单。

有文献采用磷酸盐缓冲液作为流动相,控制羧甲司坦结构中羧基与氨基的解离,以改善色谱峰峰型。颜元等<sup>[27]</sup>以 pH 6.6 磷酸盐缓冲液作为流动相测定羧甲司坦含量,羧甲司坦与杂质分离度良好,该法所用流动相与 pH 2.0<sup>[28]</sup>和 pH 3.0<sup>[29]</sup>的磷酸盐缓冲液相比,对色谱柱损伤较

小。Argekar 等<sup>[30]</sup>以 0.025 mol/L 磷酸二氢钠 - 乙腈 (87 : 13) 作为流动相,以 C<sub>8</sub> 色谱柱作为固定相,测定羧甲司坦含量,羧甲司坦的保留时间为 2.62 min,与 C<sub>18</sub> 色谱柱相比,C<sub>8</sub> 色谱柱含有较短的碳链,化合物保留时间较短,获得的峰型更尖锐。Fanigliulo 等<sup>[31]</sup>以 0.2 mol/L 磷酸盐溶液 - 乙腈 (50 : 50, pH 4.0) 为流动相,以阴离子色谱柱 (Zorbax SAX) 为固定相,开发了检测 Exputex<sup>®</sup> 糖浆样品中羧甲司坦及其相关降解杂质的检测方法,羧甲司坦的出峰时间约为 8 min,峰型良好,在美国注册为 Exputex<sup>®</sup> 糖浆的质控方法。

有研究通过向流动相中加入适量的离子对试剂来改善色谱峰峰型,增加保留时间。余琼



娥等<sup>[32]</sup>以磷酸二氢钾-庚烷磺酸钠缓冲溶液 (pH 2.5) 为流动相, 测定羧甲司坦含量及其有关物质, 羧甲司坦出峰时间约为 6.5 min。谭少云等<sup>[33]</sup>以 0.68% 磷酸二氢钾-0.05% 己烷磺酸钠缓冲溶液 (pH 2.5) 为流动相, 羧甲司坦与其合成前体半胱氨酸, 羧甲司坦热、酸、碱水解产物, 氧化产物和强光破坏产物均能实现较好的分离。李可鹏等<sup>[34]</sup>以 0.08 mol/L 的磷酸氢二钾溶液 (pH 2.5, 含 0.005 mol/L 庚烷磺酸钠) 为流动相, 分析鉴定了羧甲司坦及其杂质。赵雪梅等<sup>[35]</sup>以 (0.1% 磷酸氢二钾, 含 0.05% 庚烷磺酸钠)-0.2% 三氟乙酸-乙腈 (30:68:2) 为流动相, 测定羧甲司坦的含量及杂质, 羧甲司坦出峰时间约为 8 min, 与半胱氨酸及热降解产物分离度良好。目前,《中国药典》对羧甲司坦原料采用目视比色法检查半胱氨酸的限度, 采用薄层色谱法检查其他氨基酸的限度, 未对羧甲司坦制剂进行有关物质检查, 随着检测技术的发展, 可以对制剂中杂质含量检测方法进行研究, 以更好地实现药品质量控制。

缓冲液和离子对试剂均会对色谱柱寿命有一定影响, 有报道建立了流动相不含缓冲液和离子对试剂的分析方法。研究者<sup>[36-37]</sup>以乙腈-水 (10:90, 用邻苯二甲醛调节 pH 至 3.0) 为流动相测定羧甲司坦含量, 该方法所用流动相乙腈比例较低, 液相系统压力低, 降低了对色谱柱的损害, 检测成本低, 具有较好的成本效益。Orlovic 等<sup>[38]</sup>以乙腈-甲醇-水 (12:28:60, 用盐酸调节 pH 至 4.0) 为流动相, 检测羧甲司坦糖浆中羧甲司坦的含量及其有关物质, 峰型良好。

陈秀琳等<sup>[39]</sup>采用高效液相色谱-蒸发光散射检测器 (high performance liquid chromatography-evaporative light scattering detector, HPLC-ELSD) 法测定羧甲司坦颗粒剂中羧甲司坦的含量, 以甲醇-水 (60:40) 为流动相, 流速为 1.0 mL/min, ELSD 检测器漂移管温度为 95 °C, 载气流速为 2.20 mL/min。该方法简便、快速, 重现性较好。

近年来, 分析方面的研究者对开发有利于保护环境和操作者的绿色分析化学技术越来越感兴趣, 其主要原则包括尽量减少有毒溶剂的使用, 用更环保的替代品 (如乙酸乙酯、水和乙醇) 取代有害溶剂, 从而减少废液的排放量和毒性<sup>[41-42]</sup>。EI-Hay 等<sup>[40]</sup>以 0.025 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 3.0) - 乙醇 (75:25) 为流动相, 以 ODS-3V C<sub>18</sub> 色谱柱为固定相, 开发了一种绿色 HPLC 法测定羧甲司坦的含量。ODS-3V 色谱柱适宜分离亲水性与强极性化合物, 可获得良好的峰型, 该方法对生态环境影响较小, 对分析人员的危害较低。

## 2 生物样品中羧甲司坦的测定

### 2.1 柱前衍生高效液相色谱荧光法

羧甲司坦含有羟基、羧基和氨基等极性基团, 可将其衍生化为易挥发的非极性化合物以便于分离。基于化学衍生化的方法能够改善化合物的色谱行为和检测灵敏度, 具有代表性的柱前衍生试剂主要有邻苯二甲醛、氯甲酸苄甲酯等<sup>[43]</sup>。文献报道的柱前衍生高效液相色谱荧光法衍生试剂与色谱条件见表 2。

表 2 高效液相色谱荧光法的色谱条件

Table 2. Chromatographic conditions for HPLC-FLD

衍生化试剂	激发波 (nm)	发射波 (nm)	参考文献
氯甲酸苄甲酯、荧光试剂 1-苯基重氮甲烷	266	305	[44]
邻苯二甲醛与硼酸-氢氧化钠缓冲液	338	450	[45]
邻苯二甲醛、硼酸盐缓冲液	338	450	[46]

Brockmoller 等<sup>[44]</sup>通过高效液相色谱荧光色谱法定量检测羧甲司坦体内代谢情况。向血清与尿液样品中加入羧乙基半胱氨酸作为内标, 进行柱前衍生化, 通过梯度反相荧光色谱法检测。以 25 mmol/L 乙酸铵 (pH 3.8) 和 4% 二甲基甲酰胺作为初始洗脱剂, 然后用乙腈梯度洗脱。羧甲司坦的线性范围为 0.2~600.0 μg/mL, 该方法衍生化

条件简单, 灵敏度高。

毕惠嫦等<sup>[45]</sup>将血浆样品通过 10% 三氯醋酸沉淀蛋白后, 取上清液室温下衍生化 10 min 后立即进行样品分析, 流动相为甲醇-0.05 mol/L 醋酸钠缓冲液 (pH 5.9) - 四氢呋喃 (15:84:1), 在该条件下, 羧甲司坦的保留时间为 7.6 min, 线性范围为 1.0~40.0 mg/L。

王晓娟等<sup>[46]</sup>将血浆样品经过乙腈沉淀蛋白后,上清液通过自动进样器在线衍生,以流动相40 mmol/L磷酸二氢钠水溶液(pH 7.8)(A)和甲醇-乙腈-水(45:45:10)(B)进行梯度洗脱,羧甲司坦的保留时间18.8 min,线性范围为0.101 8~13.000 0 μg/mL。

## 2.2 液相-质谱联用法

液相-质谱联用技术(liquid chromatograph mass spectrometer, LC-MS)以液相为分离系统,质谱为检测系统,灵敏度高,专属性强,实现了色谱与质谱的优势互补,可同时实现定性与定量分析,广泛地应用于新药研发、复杂成分定性和代谢产物分析等领域,是当今重要的分析方法之一。文献报道的LC-MS色谱条件见表3。

Anacardio等<sup>[47]</sup>建立了LC-MS法检测血浆中羧甲司坦的含量,用S-[*(R)*-1-羧乙基]-*(R)*-半胱氨酸为内标,血浆样品经过蛋白沉淀后用离子交换柱分离,采用三重四极杆质谱仪,用正离子(ESI<sup>+</sup>)、选择性离子监测模式,运行时间为16 min。该方

法样品制备简单,无需任何衍生化步骤,内标法能消除内源性物质干扰。刘靖等<sup>[48]</sup>以烟酸为内标,建立了LC-MS/MS方法对血浆中羧甲司坦进行测定,采用负离子(ESI<sup>-</sup>)、多反应监测模式,羧甲司坦线性范围为0.210 9~54.000 0 μg/mL。Chen等<sup>[49]</sup>建立了一种LC-MS/MS测定人血浆中的羧甲司坦,以2-吡啶乙酸为内标,血浆样品经甲醇沉淀蛋白后,将羧甲司坦和内标用10 mol/L盐酸进行衍生,采用大气压电离模式,该方法将羧甲司坦衍生化成甲基化衍生物,提高了羧甲司坦的电离效率,分析时间短(3.5 min),灵敏度高。

Bi等<sup>[50]</sup>用甲醇沉淀血浆样品中的蛋白质,取上清液进行LC-MS/MS分析。采用ESI<sup>+</sup>、选择性离子监测模式,羧甲司坦线性范围为0.10~20.0 μg/mL。该方法制备过程简单,运行时间(2.0 min)较短。李婵等<sup>[51]</sup>采用LC-MS法测定了口服美羧伪麻片人血浆中羧甲司坦的浓度,采用离子阱质谱,用ESI<sup>+</sup>模式,质量扫描范围50~1 000 amu,羧甲司坦线性范围为0.20~200.00 μg/mL。

表3 液相-质谱联用法色谱条件

Table 3. Chromatographic conditions for LC-MS

色谱柱	流动相	参考文献
Supelcosil LC-SAX (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	甲醇-水(50:50, 含2%乙酸)	[47]
Xterra MS C <sub>18</sub> (150 mm × 2.1 mm, 5 μm)	甲醇-20 mmol/L甲酸铵(含0.5%甲酸)(75:25)	[48]
Zorbax Eclipse XDB C <sub>8</sub> (150 mm × 4.6 mm, 5 μm)	甲醇-水-甲酸(30:70:1)	[49]
Hypurity C <sub>18</sub> (2.1mm × 50mm, 5 μm)	甲醇-水(含0.1%甲酸)(50:50)	[50]
Agilent TC-C <sub>18</sub> (150 mm × 4.6 mm, 5 μm)	10.0 mmol/L甲酸水溶液(pH 2.2)-甲醇(92:8)	[51]

## 3 结语

在现行羧甲司坦的质量标准中,溴酸钾滴定法操作简单易行,但羧甲司坦与溴酸钾的反应速度较慢,滴定结果易受滴定速度和温度的影响;紫外-可见分光光度法通过茚三酮显色,方法简便,但易受温度、pH、显色时间等反应条件的影响,结果重现性差,茚三酮显色法可用于测定α-氨基类物质的含量,专属性不强。随着分析技术的发展,传统的滴定法与显色法在准确度、专属性等方面有一定的制约。电化学法完全自动化滴定,检测速度快,对仪器精度要求较高。动力学法操作简单、快速,成本较低,但结果判定易受主观因素影响。荧光分光光度法灵敏度高,特异性强,但结果易受温度、反应时间等影响。离子

色谱法分析速度快,灵敏度高,方法简单,但在药品质量标准中含量测定使用离子色谱法较少。LC-MS法分离效果好,灵敏度高,特异性强,但也存在一些缺点,例如仪器价格昂贵,维护成本较高,普及性低等,该方法目前在药品质量标准中较少使用,生物样品中药物测定应用较广泛。

HPLC法专属性强、检测灵敏度高,不易产生较大误差,操作自动化及应用范围广,是药品质量检测的主流方法。因此,建立一种简单、适用范围广、不受制剂辅料影响的HPLC体系,实现羧甲司坦制剂含量及有关物质的检查具有重要的应用价值。

羧甲司坦的分析方法受到研究者广泛关注,目前报道的多种分析方法各有优劣,仍有许多难题有待解决,包括如何更准确简便地实现含量测

定, 加强羧甲司坦的质量控制, 保障药物有效性。其次, 目前《中国药典》尚无关于羧甲司坦制剂中有关物质的检查方法, 建立合适的方法对制剂中潜在杂质的检测, 更好的保障药物安全性, 对于促进羧甲司坦药物开发具有重要意义。HPLC 法广泛用于药物原料及其制剂的鉴别、含量测定和杂质分析, 灵敏度高, 选择性好, 开发更为精准、简便、成本低、适用性高的 HPLC 法对羧甲司坦进行质量分析, 为羧甲司坦质量控制提供可行性依据, 是今后值得深入研究的方向。

### 参考文献

- 1 Wahl O, Holzgrabe U. Impurity profiling of carbocysteine by HPLC-CAD, qNMR and UV/vis spectroscopy[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 95: 1-10. DOI: [10.1016/j.jpba.2014.02.012](https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.02.012).
- 2 杨庆玺, 倪庆, 姬光东, 等. 羧甲司坦口服溶液联合莫西沙星治疗慢性支气管炎急性发作的临床研究[J]. *现代药物与临床*, 2022, 37(9): 2035-2039. [Yang QX, Ni Q, Ji GD, et al. Clinical study of carbocysteine oral solution combined with moxifloxacin intrtreatment of acute attack of chronic bronchitis[J]. *Drugs & Clinic*, 2022, 37(9): 2035-2039.] DOI: [10.7501/j.issn.1674-5515.2022.09.023](https://doi.org/10.7501/j.issn.1674-5515.2022.09.023).
- 3 张惠燕. 羧甲司坦联合布地奈德治疗哮喘的疗效及对血清炎症因子的影响[J]. *中国药师*, 2017, 20(1): 106-108. [Zhang HY. Clinical efficacy and effects on serum inflammatory factors of carbocysteine combined with budesonide in the treatment of asthma[J]. *China Pharmacist*, 2017, 20(1): 106-108.] DOI: [10.3969/j.issn.1008-049X.2017.01.029](https://doi.org/10.3969/j.issn.1008-049X.2017.01.029).
- 4 马瑞娟, 周凤, 田豆豆, 等. 黏液溶解剂羧甲司坦对急性呼吸道炎症的抑制作用[J]. *宁夏医科大学学报*, 2022, 44(12): 1219-1222. [Ma RJ, Zhou F, Tian DD, et al. Inhibitory effect of mucolytic agent carbocysteine on acute respiratory inflammation[J]. *Journal of Ningxia Medical University*, 2022, 44(12): 1219-1222.] DOI: [10.16050/j.cnki.issn1674-6309.2022.12.007](https://doi.org/10.16050/j.cnki.issn1674-6309.2022.12.007).
- 5 Hooper C, Calvert J. The role for S-carboxymethylcysteine (carbocysteine) in the management of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2008, 3(4): 659-669. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19281081/>.
- 6 杨晓雨, 陈东宇, 王红心, 等. 1990—2019 年中国疾病负担趋势分析[J]. *医学新知*, 2022, 32(5): 321-332. [Yang XY, Chen DY, Wang HX, et al. Trend analysis of disease burden in China from 1990 to 2019[J]. *Yixue Xinzhi Zazhi*, 2022, 32(5): 321-332.] DOI: [10.12173/j.issn.1004-5511.202201016](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-5511.202201016).
- 7 杜秋凤, 蒋运兰, 李滔, 等. 慢性阻塞性肺疾病患者出院后 30 天内再入院风险预测模型的系统评价[J]. *中国循证医学杂志*, 2024, 24(1): 49-55. [Du QF, Jiang YL, Li T, et al. Risk prediction models for readmission within 30 days after discharge in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review[J]. *Chinese Journal of Evidence-Based Medicine*, 2024, 24(1): 49-55.] DOI: [10.7507/1672-2531.202306041](https://doi.org/10.7507/1672-2531.202306041).
- 8 李庭, 冯睿智, 彭丽桥, 等. 益活化痰方治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期气虚血瘀痰阻证的临床研究[J]. *华西医学*, 2024, 39(4): 1-9. [Li T, Feng RZ, Peng LQ, et al. Efficacy and safety of Yi Huo Hua Tan granule in the treatment of stable chronic obstructive pulmonary disease (syndrome of qi deficiency with phlegm and bloodstagnation)[J]. *West China Medical Journal*, 2024, 39(4): 1-9.] DOI: [10.7507/1002-0179.202302084](https://doi.org/10.7507/1002-0179.202302084).
- 9 陈志博, 俞宁宁, 林圣乐. 吸入糖皮质激素对慢性阻塞性肺疾病合并社区获得性肺炎预后影响的回顾性研究[J]. *中国药师*, 2023, 26(11): 279-285. [Chen ZB, Yu NN, Lin SL. Retrospective study of effect of inhaled corticosteroids on prognosis of chronic obstructive pulmonary disease associated with community-acquired pneumonia[J]. *China Pharmacist*, 2023, 26(11): 279-285.] DOI: [10.12173/j.issn.1008-049X.202311051](https://doi.org/10.12173/j.issn.1008-049X.202311051).
- 10 Zheng JP, Kang J, Huang SG, et al. Effect of carbocysteine on acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (PEACE Study): a randomised placebo-controlled study[J]. *Lancet*, 2008, 371(9629): 2013-2018. DOI: [10.1016/S0140-6736\(08\)60869-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60869-7).
- 11 Pace E, Cerveri I, Lacedonia D, et al. Clinical efficacy of carbocysteine in COPD: beyond the mucolytic action[J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(6): 1261. DOI: [10.3390/pharmaceutics14061261](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061261).
- 12 EP 11.0[S]. 2022: 2205.
- 13 中国药典 2020 年版. 二部[S]. 2020: 1761-1763.
- 14 JP XVIII[S]. 2021: 626-627.
- 15 赵冰璐, 张克良. 电流滴定法测定羧甲司坦及片剂的含量[J]. *黑龙江医药*, 2000, 13(1): 10. [Zhao BL,



- Zhang KL. Determination of carboxymethylestan and tablets by amperometric titration[J]. Heilongjiang Medicine Journal, 2000, 13(1): 10.] DOI: [10.3969/j.issn.1006-2882.2000.01.009](https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-2882.2000.01.009).
- 16 Kostara A, Tsogas GZ, Vlessidis AG, et al. Generic assay of sulfur-containing compounds based on kinetics inhibition of gold nanoparticle photochemical growth[J]. ACS Omega, 2018, 3(12): 16831-16838. DOI: [10.1021/acsomega.8b02804](https://doi.org/10.1021/acsomega.8b02804).
- 17 白秀峰, 主编. 生物药物分析 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 274.
- 18 Rele RV, Patil SS. Ultra-violet spectrophotometric method for validation of carbocisteine from bulk drug and pharmaceutical formulation[J]. IntJPharma Bio Sci, 2013, 4(2): 847-851. <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=dd0eec2e0143388838686d472af2473e4430e6c1>.
- 19 Walash M, El-Brashy A, Metwally MES, et al. Spectrophotometric and kinetic determination of some sulphur containing drugs in bulk and drug formulations[J]. Bull Korean Chem Soc, 2004, 25(4): 517-524. DOI: [10.5012/bkcs.2004.25.4.517](https://doi.org/10.5012/bkcs.2004.25.4.517).
- 20 Walash M, El-Brashy A, Metwally MES, et al. Spectrophotometric determination of penicillamine and carbocisteine based on formation of metal complexes[J]. Farmaco, 2004, 59(6): 493-505. DOI: [10.1016/j.farmac.2003.11.016](https://doi.org/10.1016/j.farmac.2003.11.016).
- 21 Srivastava A, Sharma V, Singh VK, et al. A simple and sensitive inhibitory kinetic method for the carbocisteine determination[J]. J Mex Chem Soc, 2022, 66(1): 57-69. DOI: <http://dx.doi.org/10.29356/jmcs.v66i1.1654>.
- 22 Walash M, El-Brashy A, Metwally MES, et al. Fluorimetric determination of carbocisteine and ethionamide in drug formulation[J]. Acta Chimica Slovenica, 2004, 51(6): 283-291. <http://dlib.si/details/URN:NBN:SI:DOC-B8K9H4X9>.
- 23 Taha EA, Hassan NY, Aal FA, et al. Fluorimetric determination of some sulfur containing compounds through complex formation with terbium (Tb+3) and uranium (U+3)[J]. J Fluorescence, 2007, 17(3): 293-300. DOI: [10.1007/s10895-007-0172-6](https://doi.org/10.1007/s10895-007-0172-6).
- 24 Megoulas NC, Koupparis MA. Ion-chromatographic determination of carbocisteine in pharmaceuticals based on non-suppressed conductimetric detection[J]. J Chromatogr A, 2004, 1026(1-2): 167-174. DOI: [10.1016/j.chroma.2003.10.111](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.10.111).
- 25 霍柱健, 吴凌涛, 林泽鹏, 等. 离子色谱法测定羧甲司坦中的氯乙酸 [J]. 山东化工, 2016, 45(13): 87-89. [Huo ZJ, Wu LT, Lin ZP, et al. Determination of monochloroacetic acid in carbocistein by ion chromatography[J]. Chemical Industry, 2016, 45(13): 87-89.] DOI: [10.3969/j.issn.1008-021X.2016.13.029](https://doi.org/10.3969/j.issn.1008-021X.2016.13.029).
- 26 周远华, 方海顺, 苏广海, 等. 高效液相色谱法测定三种羧甲司坦制剂的含量 [J]. 中国药品标准, 2017, 18(4): 264-270. [Zhou YH, Fang HS, Su GH, et al. Determine the content of carbocisteine preparations by HPLC[J]. Drug Standards of China, 2017, 18(4): 264-270.] DOI: [CNKI:SUN:YBPZ.0.2017-04-004](https://doi.org/CNKI:SUN:YBPZ.0.2017-04-004).
- 27 颜元, 刘傲, 杨成, 等. 羧甲司坦微囊含量测定方法的研究 [J]. 贵州医药, 2023, 47(5): 678-681. [Yan Y, Liu A, Yang C, et al. Study on content determination of carbocisteine microcapsules[J]. Guizhou Medical Journal, 2023, 47(5): 678-681.] DOI: [10.3969/j.issn.1000-744X.2023.05.002](https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-744X.2023.05.002).
- 28 陈秀琳, 许永鹏. 高效液相色谱法测定羧甲司坦颗粒中羧甲司坦的含量 [J]. 海峡药学, 2002, 14(4): 43-44. [Chen XL, Xu YP. Determination of carbocisteine in carbocisteine granules by HPLC[J]. Strait Pharmaceutical Journal, 2002, 14(4): 43-44.] DOI: [10.3969/j.issn.1006-3765.2002.04.024](https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-3765.2002.04.024).
- 29 李锐, 骆海春, 路雪芳. 高效液相色谱法测定羧甲司坦片的含量 [J]. 中国药师, 2006, 9(6): 505-507. [Li R, Luo HC, Lu XF. Determination of carbocisteine tablets by HPLC[J]. China Pharmacist, 2006, 9(6): 505-507.] DOI: [10.3969/j.issn.1008-049X.2006.06.010](https://doi.org/10.3969/j.issn.1008-049X.2006.06.010).
- 30 Argekar AP, Raj SV, Kapadia SU. Simultaneous determination of cephalexin and carbocisteine from capsules by reverse phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC)[J]. Anal Lett, 1997, 30(4): 821-831. DOI: [10.1080/00032719708006427](https://doi.org/10.1080/00032719708006427).
- 31 Fanigliulo A, Filippis PD, Curcuruto O, et al. Development and validation of a stability indicating method for S-carboxymethyl-L-cysteine and related degradation products in oral syrup formulation[J]. J Pharm Biomed Anal, 2015, 115: 39-47. DOI: [10.1016/j.jpba.2015.06.031](https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.06.031).
- 32 余琼娥, 叶放. HPLC 测定羧甲司坦及其制剂有关物

- 质[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(2): 260-262. [Yu QE, Ye F. HPLC determination of the related substances in carbocysteine and its preparation[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2006, 26(2): 260-262.] DOI: CNKI:SUN:YWFX.0.2006-02-035.
- 33 谭少云, 叶放, 陈溪. HPLC 法测定羧甲司坦无糖口服溶液中羧甲司坦的含量及有关物质[J]. 广东药学院学报, 2009, 25(1): 52-55. [Tan SY, Ye F, Chen X. Assay of carbocysteine and its related substances in carbocysteine sugar-free oral solution[J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical College, 2009, 25(1): 52-55.] DOI: 10.16809/j.cnki.1006-8783.2009.01.017.
- 34 李可鹏, 胡梅, 晁若冰. 羧甲司坦中杂质的分离和鉴定[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(4): 707-710. [Li KP, Hu M, Chao RB. Separation and identification of impurities in carbocysteine[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2014, 34(4): 707-710.] DOI: CNKI:SUN:YWFX.0.2014-04-028.
- 35 赵雪梅, 黄秀明. 反相离子对色谱法测定羧甲司坦的含量及有关物质[J]. 中国药品标准, 2007, 8(2): 60-63. [Zhao XM, Huang XM. Determination of the content and the related substances of carbocysteine by reversed ion-pairphase HPLC[J]. Drug Standards of China, 2007, 8(2): 60-63.] DOI: 10.3969/j.issn.1009-3656.2007.02.021.
- 36 Vispute AC, Patil VA, Patil DA. RP-HPLC method for simultaneous estimation of amoxicillin and carbocysteine in dosage forms[J]. Der Pharmacia Lettre, 2013, 5(1): 327-333. [https://www.researchgate.net/publication/289397048\\_RP-HPLC\\_method\\_for\\_simultaneous\\_estimation\\_of\\_amoxicillin\\_and\\_carbocysteine\\_in\\_dosage\\_forms](https://www.researchgate.net/publication/289397048_RP-HPLC_method_for_simultaneous_estimation_of_amoxicillin_and_carbocysteine_in_dosage_forms).
- 37 Mankar SS, Younas M. Development of analytical method for simultaneous estimation of amoxicillin and carbocysteine in solid dosage form by RP-HPLC[J]. Int J Phar Sci Res, 2020, 11(4): 1674-1682. DOI: 10.13040/IJP.SR.0975-8232.11(4).1674-1682.
- 38 Orlovic D, Radulovic D, Vujic Z. Determination of S-carboxymethyl-L-cysteine, methylparaben and their degradation products in syrup preparations[J]. Chromatographia, 2004, 60(5-6): 329-333. DOI: 10.1365/s10337-004-0371-0.
- 39 陈秀琳, 郑小力. HPLC-ELSD 法测定羧甲司坦颗粒中羧甲司坦的含量[J]. 中国药品标准, 2006, 7(3): 62-64. [Chen XL, Zheng XL. Determination of carbocysteine in carbocysteine granules by HPLC-ELSD[J]. Drug Standards of China, 2006, 7(3): 62-64.] DOI: 10.3969/j.issn.1009-3656.2006.03.032.
- 40 EI-Hay SSA, Sheikh RE, Ali M, et al. Aneco-friendly HPLC method for concurrent determination of carbocysteine, guaifenesin, and oxememazine in their combined formulations[J]. Talanta Open, 2023, 8(5): 1002331-1002338. DOI: 10.1016/j.talo.2023.100233.
- 41 杨婷婷, 袁峰泉, 金荣庆, 等. 绿色分析技术及其在药物分析中的应用研究进展[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(12): 2070-2075. [Yang TT, Yuan FQ, Jin RQ, et al. Advances in green analytical techniques and their applications in pharmaceutical analysis[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2015, 35(12): 2070-2075.] DOI: 10.16155/j.0254-1793.2015.02.
- 42 Rashed NS, Zayed S, Abdelazeem A, et al. Development and validation of a green HPLC method for the analysis of clorsulon, albendazole, triclabendazole and ivermectin using monolithic column: assessment of the greenness of the proposed method[J]. Microchem J, 2020, 157(Pta1): 1050691-10506910. DOI: 10.1016/j.microc.2020.105069.
- 43 王秀中, 王清清, 宋海峰, 等. 衍生化技术在氨基酸分析中的应用进展[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(6): 1162-1166. [Wang XZ, Wang QQ, Song HF, et al. Application progress of derivatization technology in amino acids analysis[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2010, 30(6): 1162-1166.] DOI: CNKI:SUN:YWFX.0.2010-06-064.
- 44 Brockmuller J, Staffeldt B, Roots I. Evaluation of proposed sulphoxidation pathways of carbocysteine in man by HPLC quantification[J]. Eur J Clin Pharmacol, 1991, 40(4): 387-392. DOI: 10.1007/BF00265849.
- 45 毕惠嫦, 钟国平, 汤铮, 等. 高效液相色谱法测定人血浆中羧甲司坦浓度[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(9): 828-830. [Bi HC, Zhong GP, Tang Z, et al. Determination of carbocysteine in human plasma by HPLC[J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2005, 25(9): 828-830.] DOI: 10.3321/j.issn:1001-5213.2005.09.016.
- 46 王晓娟, 王荣, 邓冲, 等. 柱前衍生 HPLC-FLD 法测定人血浆中羧甲司坦[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(3): 372-375. [Wang XJ, Wang R, Deng C, et al. HPLC-FLD precolumn derivation determination of carbocysteine in human plasma[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical



- Analysis, 2008, 28(3): 372–375.] DOI: [10.16155/j.0254-1793.2008.03.028](https://doi.org/10.16155/j.0254-1793.2008.03.028).
- 47 Anacardio R, Cantalini MG, De Angelis F, et al. Quantification of S-carboxymethyl-(R)-cysteine in human plasma by high-performance ion-exchange liquid chromatography/atmospheric pressure ionization mass spectrometry[J]. J Mass Spectrom, 1997, 32(4): 388–394. DOI: [10.1002/\(SICI\)1096-9888\(199704\)32:4<388::AID-JMS462>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9888(199704)32:4<388::AID-JMS462>3.0.CO;2-8).
- 48 刘靖, 秦崇臻, 李慧, 等. HPLC-MS/MS 测定人血浆中羧甲司坦的浓度及其生物等效性研究 [J]. 中南药学, 2012, 10(2): 114–117. [Liu J, Qin CZ, Li H, et al. HPLC-MS/MS method for the determination of carbocysteine in human plasma and its bioequivalence[J]. Central South Pharmacy, 2012, 10(2): 114–117.] DOI: [10.3969/j.issn.1672-2981.2012.02.011](https://doi.org/10.3969/j.issn.1672-2981.2012.02.011).
- 49 Chen XY, Zhong DF, Han Y, et al. Determination of carbocysteine in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry employing precolumn derivatization[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2003, 17(3): 192–196. DOI: [10.1002/rcm.894](https://doi.org/10.1002/rcm.894).
- 50 Bi HC, Zhao LZ, Zhong GP, et al. High-throughput determination of carbocysteine in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry: application to a bioequivalence study of two formulations in healthy volunteers[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2006, 20(7): 1153–1160. DOI: [10.1002/rcm.2422](https://doi.org/10.1002/rcm.2422).
- 51 李婵, 傅强, 杨建婷, 等. HPLC-MS 法测定人血浆中羧甲司坦浓度 [J]. 西安交通大学学报 (医学版), 2009, 30(4): 518–520. [Li C, Fu Q, Yang JT, et al. Determination of carbocysteine concentration in human plasma by HPLC-MS[J]. Journal of Xi'an Jiaotong University(Medical Sciences), 2009, 30(4): 518–520.] DOI: [CNKI:SUN:XAYX.0.2009-04-034](https://doi.org/CNKI:SUN:XAYX.0.2009-04-034).

收稿日期: 2024 年 01 月 18 日 修回日期: 2024 年 04 月 21 日  
本文编辑: 钟巧妮 李 阳