

左氟沙星注射液的制备及其含量测定研究

张秀芝 杨敬荣 吴 军(南京 210009 中国药科大学)

左氟沙星是一种新的喹诺酮类广谱抗菌药,含有左旋氧氟沙星(Levofloxacin)(I)即消旋体氧氟沙星之一的光学活性(-)-S体。本品不仅对葡萄球菌属、肺炎球菌、化脓性链球菌、溶血性链球菌、肠球菌等革兰氏阳性菌以及大肠杆菌、克雷白氏杆菌、沙雷氏菌属、变形杆菌属、绿脓杆菌等革兰氏阴性菌显示很强的广谱抗菌作用,而且对厌氧菌的消化性链球菌属及沙眼衣原体也显示抗菌作用。本品进入人体后可迅速地在各组织中达到最高浓度,无蓄积作用,几乎是以未变化体形式大部份从尿中排泄。本品对呼吸感染症、泌尿生殖系统感染症、胆道、肠管感染症等,以及妇科、皮肤科、耳鼻喉科、眼科、口腔科等各种感染症、均在临床上显示优良效果。

I的主要抗菌作用机理为阻碍DNA gyrase活性,其强度为氧氟沙星的两倍,MIC与MBC未发现有很大差别,故其作用为杀菌性。

参照氧氟沙星注射液的制备方法,国外是制成氧氟沙星的盐酸盐结晶,再将其配成注射液,本研究是以左氟沙星盐酸盐为原料,以药用乳酸调节pH,配成100ml:200mg注射液,加入适量稳定剂,制成质量稳定的注射液并对其含量测定方法进行了探讨。

1 实验与结果

1.1 仪器与试药

液相色谱仪((HP1100输液泵、紫外检测器HP3395积分仪,美国惠普);分光光度计(UV-2101PC,日本岛津);左氟沙星和左氟沙星注射液(中国药科大学医药化工研究所);乙腈和甲醇(色谱纯:淮阴精细化工研究所)。

1.2 注射液制备

处方:左氟沙星2.00g(折合左氟沙星盐酸盐2.30g);氯化钠:8.80g;乳酸QS;稳定剂QS;注射用水加至1000ml。

按处方将I加入配置量90%的新鲜注射用水中,水浴加热,温度控制在70~80℃,搅拌溶解后加入氯化钠,继续搅拌溶解,以乳酸调节至pH3.7~3.8,加注射用水至足量,加入稳定剂,再加配液量0.1%的活性炭(针用)继续保持上述温度,搅拌0.5h,滤除活性炭,滤

液冷至(0~2℃)静置24h,精滤、灌装115℃灭菌30min,即得。

1.3 注射液的含量测定

1.3.1 分光光度法:溶剂的选择:取注射液适量,分别用0.1mol/L HCl和0.1mol/L NaOH制成每1ml中含6μg的溶液,绘制吸收光谱,实验结果表明,I在酸性介质中最大吸收波长比在碱性介质中长,吸收系数大,溶液稳定,故选择0.1mol/L HCl为溶剂。

干扰情况的考察:分别取对照品及样品(注射液)用0.1mol/L HCl制成每1ml中约含6.5μg的溶液,取辅料适量制成不含I的模拟溶液,分别取上述溶液,绘制光谱,试验结果表明,样品和对照品的吸收光谱行为一致,辅料不干扰测定。

酸度的影响:精密量取注射液适量,分别加0.05,0.10,0.15mol/L HCl,稀释至刻度,制成每1ml中含6.75μg溶液,在波长294nm处测定吸收度分别为0.546,0.546,0.547,表明0.05~0.15mol/L HCl对含量测定没有影响。

稳定性试验:取注射液适量,用0.1mol/L HCl制成每1ml中含6.5μg的溶液,在0,12,24h测定吸收度,结果表明测定液在24h内稳定。

标准曲线的制备:取干燥至恒重的(对照品)适量,精密称定用0.1mol/L HCl制成1ml中含2.250,3.750,5.250,6.750,8.250,9.750μg的溶液,在波长294nm处测定吸收度,以浓度c(μg/ml)为纵坐标,吸收度A为横坐标,进行回归。回归方程为 $c = 1.262A - 0.0183$ ($r = 0.9999, n = 6$)。

回收率试验:按照处方配比分别取I和辅料制成模拟溶液,为了考察方法的可比性,投入不同量的I,按照标准曲线项下,进行回收率试验,测定平均回收率为99.54%(RSD=0.76%,n=5)。

样品测定:精密量取本品4ml,置100ml量瓶中,加0.1mol/L HCl稀释至刻度,摇匀,再精密量取该溶液10ml置100ml量瓶中加0.1mol/L HCl稀释至刻度,摇匀,在波长294nm处测定吸收度,计算结果见表1。

1.3.2 高效液相色谱法:色谱柱:ODS 10μm(200mm×4.6mm);流动相:0.05mol/L;柠檬酸:1M/L;乙酰胺(77

:1)用三乙胺调至 pH4.0-乙腈(82:18);流速:1.0ml/min;检测波长为 294nm。

I 标准溶液的制备:取对照品,用蒸馏水配制浓度为 0.1988mg/ml 标准贮备液。

样品溶液的配制:取样品溶液适量,配制浓度约为 4 μ g/ml 样品溶液。

标准曲线的绘制:分别量取标准贮备液制成浓度为 1.988,3.976,5.964,7.952,9.940,11.928 μ g/ml 的标准品溶液系列,10 μ l 进行进样量,以峰面积(μ V.S)为横坐标(X)I 进样浓度(μ g/ml)为纵坐标(Y)得回归方程($n=6$): $Y=-0.736+3.944\times 10^{-6}X(r=0.9994)$ 。

回收率测定:依照本品处方与工艺、精密称取 I 及辅料适量置 100ml 量瓶中,加水溶解,稀释至刻度,摇匀取 10 μ l 进样,测定计算平均回收率为 99.35%, $RSD=0.73\%$ 。

精密度试验:精密吸取本品 0.5ml 置 100ml 量瓶中,加水稀释至刻度摇匀,吸取 10 μ l 注入液相色谱仪,连续进样 5 次,求得平均值为 99.13%, RSD 为 0.54%。

稳定性试验:按上述方法配置溶液,在 0,12 和 24h 内测定,结果表明测定液在 24h 内稳定。

含量测定:依照中国药典 95 版二部附录 V D 外标法测定含量,计算结果见表 1。

有关物质检查:测定方法 HPLC-归一化法,有关条件同上。

供试品溶液的制备与测定:取本品制成 1ml 中含 0.2mg 的溶液作为供试品溶液。再加水制成 1ml 中含 0.002mg 的溶液作为预试溶液,取预试溶液 20 μ l 注入液相色谱仪,调节检测灵敏度,使主成分色谱高为满量

表 1 I 含量测定结果

批 号	标示量百分含量	
	HPLC	UV
960101	99.08	100.13
960102	98.35	98.97
960103	97.62	98.41
960104	98.18	98.72
960105	100.12	102.45

程的 20%~25%,再取供试品溶 20 μ l 注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的两倍,计算各杂质峰面积的和(扣除溶剂峰),结果见表 2。

表 2 I 有关物质的检查结果

批 号	杂质峰面积	总峰面积	杂质限量(%)
960101	175007	119469440	0.15
960102	168437	118963884	0.14
960103	189508	117297450	0.16

3 讨 论

3.1 本法是以左氟沙星盐酸盐结晶,配制注射液,并以乳酸(1 $\rightarrow$ 10)调节 pH,加入适量稳定剂,方法简单成本低廉,制成的注射液经光照、加热和留样考察试验,结果表明该注射液性质稳定。

3.2 应用高效液相色谱法和分光光度法测定左氟沙星注射液含量基本一致,但液相色谱法准确、灵敏、分离效果好。

3.3 以外标法测定供试品中主成分含量,应精密称取对照品和精密量取供试品,并必须精确控制进样量,必要时可用定量环进样。