

高效液相色谱法测定氟罗沙星胶囊的含量

郭振永 张 昕(北京 101149 北京市胸部肿瘤结核病医院药剂科)

摘要 目的:建立氟罗沙星胶囊的含量的测定方法。方法:反相高效液相色谱法,以依诺沙星为内标,ODS 为填充剂,乙腈:0.2%的三乙胺溶液(16:84 v/v, pH2.6)为流动相,检测波长为 295nm。结果:氟罗沙星胶囊中的辅料预胶化淀粉对氟罗沙星和依诺沙星的测定无干扰。氟罗沙星的线性范围为 $100 \sim 12.5 \mu\text{g} \times \text{mL}^{-1}$,胶囊的平均回收率为 99.5%,RSD=0.7%。结论:本试验建立的 HPLC 测定方法简便可靠,重现性好,可用于测定氟罗沙星胶囊的含量。

关键词 氟罗沙星;高效液相色谱法;依诺沙星;内标

Determination of Fleroxacin capsules by HPLC

Guo Zhenyong, Zhang Xin(Pharmacy Department of Beijing Thoracic Tumor and Tuberculosis Hospital 101149)

ABSTRACT OBJECTIVE: To determination Fleroxacin capsules. **METHOD:** An RP-HPLC with internal standard Enoxacin was used. Fleroxacin was separated on an ODS column using a mobile phase of acetonitrile:0.2% triethylamine(16:84 v/v pH2.6) with detection at 295nm. **RESULTS:** Fleroxacin, internal standard and other components can be separated completely. The standard curve was linear over the range of 12.5 to 100 $\text{mg} \times \text{mL}^{-1}$ of Fleroxacin with $r=0.9997$. The average recovery for the determine of Fleroxacin capsules was 99.5%. **CONCLUSION:** The method could be used to determine Fleroxacin capsules.

KEY WORDS Fleroxacin, HPLC, Internal standard

氟罗沙星是新一代的广谱氟喹诺酮类抗生素,目前广泛应用于临床。主要通过抑制细菌的 DNA 旋转酶而起杀菌作用。适用于多种细菌性感染。为了对氟罗沙星胶囊进行质量控制,建立了氟罗沙星胶囊中主药的测定方法。

1 1 仪器和试剂与试验方法

1.1 BECKMAN 125 高效液相色谱仪,166 紫外检测器,

7125 手动进样器,Gold Nouvea 工作站。氟罗沙星标准品来自浙江省药品检验所。依诺沙星(批号为 37H0945)来自 SIGMA 公司。氟罗沙星胶囊[规格 100mg,批号为 010312,000419,001208]由北京市胸部肿瘤结核病医院药剂科提供。乙腈为色谱纯,三乙胺、氢氧化钠为分析纯,所用水均为自制高纯水。

1.2 色谱条件 色谱柱为 BECKMAN 公司的 C₁₈ 色谱柱 (200 mm × 5 mm, 5 μm), 流动相为乙腈 ~ 0.2% 三乙胺溶液 (16:84), 用磷酸调节 pH 值为 2.6, 检测波长为 295 nm^[2], 流速为 1.0 ml × min⁻¹, 进样量为 20 μl。

1.3 氟罗沙星标准溶液的配制 精密称取氟罗沙星对照品 50 mg 置 50 ml 容量瓶中, 加入 0.1 mol · l⁻¹ 氢氧化钠 2.5 ml 和 20 ml 水, 振摇使溶解, 后加水至刻度, 得 1 mg · ml⁻¹ 的氟罗沙星储备溶液。精密吸取储备液 0.5 ml, 置 10 ml 容量瓶中, 加水至刻度, 得 50 μg · ml⁻¹ 的氟罗沙星标准溶液。

1.4 内标溶液的配制 精密称取依诺沙星 50.0 mg 置 50 ml 容量瓶中, 按氟罗沙星标准溶液配制项下方法, 得 1 mg · ml⁻¹ 的依诺沙星溶液, 置冰箱中备用。

1.5 样品溶液的制备 取氟罗沙星胶囊 10 粒, 倒出内容物, 混匀。精密称取内容物适量 (约含氟罗沙星 2.5 mg), 置 50 ml 容量瓶中, 加入 0.1 mol · l⁻¹ 氢氧化钠 2 ml 和 20 ml 水, 再加入内标储备液 2.5 ml, 超声溶解 10 min, 再用水稀释至刻度, 摇匀, 用双层滤纸过滤, 弃去初滤液, 收集续滤液, 作为样品储备溶液。

1.6 样品分析 取氟罗沙星标准溶液和内标储备溶液各适量, 置 10 ml 容量瓶中, 用水稀释成浓度分别约为 25 μg · ml⁻¹ 的氟罗沙星和 50 μg · ml⁻¹ 内标溶液。精密吸取 20 μl 进样。记录色谱图, 计算氟罗沙星和内标的峰高比, 代入标准曲线, 求得氟罗沙星含量。

2 试验结果

2.1 色谱行为

称取氟罗沙星辅料适量, 按样品溶液的制备方法制成空白样品溶液, 分别吸取氟罗沙星对照品溶液、样品溶液和空白样品溶液各 20 μl 进样。得色谱图 1。在该色谱条件下, 氟罗沙星和内标的保留时间分别为 6.52 和 5.40 min, 完全分离。样品和对照品的色谱中, 氟罗沙星和内标的保留时间一致, 胶囊中辅料的吸收峰对主药及内标的吸收峰没有干扰。

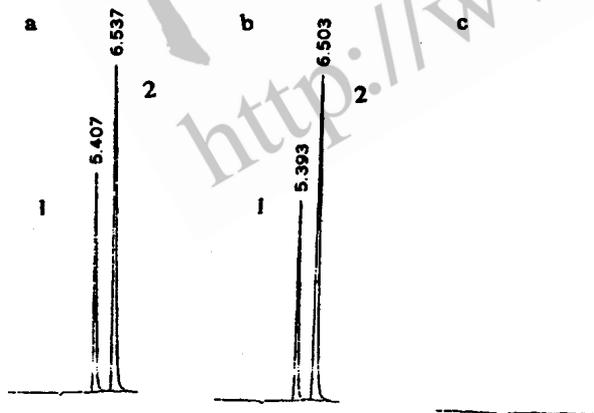


图 1 氟罗沙星及辅料的 HPLC 色谱图

a. 氟罗沙星对照品及内标溶液 b. 氟罗沙星胶囊及内标溶液 c. 胶囊辅料溶液

1. 内标依诺沙星峰 2. 氟罗沙星峰

2.2 线性关系

精密吸取氟罗沙星储备液 1.0, 0.7, 0.5, 0.3, 0.25, 0.

125 ml 分别置于 6 个 10 ml 容量瓶中, 再分别加入内标溶液 0.5 ml, 加水稀释至刻度, 摇匀得 100, 70, 50, 30, 25, 12.5 μg · ml⁻¹ 氟罗沙星标准溶液。分别精密吸取 20 μl 进样, 测得氟罗沙星与内标的峰高比, 以此峰高比 H 对其浓度 C (μg · ml⁻¹) 进行线性回归, 得回归方程为 C = 9.87686 × H - 2.1264 (r = 0.9997), 说明氟罗沙星在 100 ~ 12.5 μg · ml⁻¹ 浓度范围内线性关系良好。

2.3 回收率试验 按处方比例精密称取氟罗沙星对照品和辅料适量, 研磨均匀, 制成模拟胶囊粉, 取样 (约相当于氟罗沙星 2.5 mg), 精密称定, 置 50 ml 量瓶中, 加入 2.5 ml 内标储备液, 按样品溶液的制备方法制成模拟样品溶液, 平行配制 5 份。按“样品分析”项下方法测定氟罗沙星的浓度, 并计算回收率, 结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

序号	加入量	测得量	回收率	平均值 %	RSD %
1	2.498	2.486	99.5		
2	2.540	2.519	99.2		
3	2.491	2.506	100.6	99.5	0.7
4	2.485	2.504	100.8		
5	2.521	2.510	99.6		

2.4 精密度和重现性试验 分别取氟罗沙星储备液和内标溶液 0.25 ml 0.5 ml 加入 10 ml 容量瓶中, 按“试验方法”重复进样 5 次, 测得氟罗沙星与内标峰高比分别为 2.7588, 2.7767, 2.7150, 2.8015, 2.7942, 平均为 2.7626, RSD = 1.11%。

取同一批号的氟罗沙星胶囊 10 粒, 按样品溶液的制备方法制成样品溶液, 然后按“样品分析”项下方法测定氟罗沙星的含量。结果标示量 (%) 分别为 103.8, 101.3, 101.9, 105.6, 103.2, 平均值为 103.16%, RSD = 1.64%, 重现性良好。

2.5 稳定性试验 取氟罗沙星标准溶液 (25 μg · ml⁻¹), 按试验方法于 2 周内每天进样 1 次, 氟罗沙星与内标峰高比基本保持一致, 说明氟罗沙星水溶液至少在两周内稳定。

2.6 样品测定 取氟罗沙星胶囊 3 批各 10 粒, 按“样品溶液的制备”项下的方法配制样品溶液, 然后按“样品分析”项下操作, 测定氟罗沙星的含量, 结果见表 2。

表 2 样品测定结果

批号	标示量 %	平均值 %	RSD %
010312	99.8, 96.4, 97.2, 100.3, 97.9	98.3	1.7
000419	100.5, 102.8, 99.7, 101.7, 101.2, 101.2	101.2	1.2
001208	103.1, 105.4, 104.9, 102.1, 105.8, 104.3	104.3	1.5

3 讨论

3.1 流动相 pH 值的影响 在试验中发现, 当流动相的 pH 值逐渐减小时 (3.6 ~ 2.2), 氟罗沙星的保留时间缩短很快。可能是因为氟罗沙星为弱酸性药物, 当 pH 值减小时, 药物与柱子之间的吸附力降低, 这样峰的拖尾现象也有所改善。但考虑到柱子对酸的耐受性, 将 pH 定在 2.6。

3.2 三乙胺的影响 在试验过程发现氟罗沙星拖尾比较严重, 所以在流动相中加入了峰形改善剂三乙胺, 当加入 0.2%

的三乙胺时,峰形趋于正常。

参考文献

- 1 刘瑞东,赵梦博,张昌才等.氟罗沙星的药理及临床应用[J].中国药事,1998,12(1):57.

- 2 Domink E Uehlinger, Franzika Schaedeli, Martina Kinzig, *et al.* Pharmacokinetics of Fleroxacin after multiple oral dosing in patients Receiving regular Hemodialysis. [J]. Antimicrobial Agent and Chemotherapy 1996, Vol. 40 (8): 1903.

收稿日期:2001 - 07 - 26