

高效液相色谱法测定左氧氟沙星含量和有关物质

赵凤杰, 金程明, 储文璟, 朱惠卿(浙江东阳康裕药业有限公司, 浙江 东阳 322118)

摘要:目的 用高效液相色谱法测定左氧氟沙星含量和有关物质。方法 用 shim-pack CLC-ODS 色谱柱(150mm × 6.0mm, 5 μ m) [取己烷磺酸钠 0.98g, 加磷酸盐缓冲液(取磷酸二氢钾 6.8g, 加水溶解并稀释至 1000mL, 用约 500mL 的 0.05mol/L 磷酸调节 pH 至 2.4)1000mL]-甲醇(65:35)为流动相; 流速:1.0mL/min; 检测波长:293nm; 柱温:25℃; 进样量:10 μ L。结果 左氧氟沙星在 2.5 μ g/mL ~ 750 μ g/mL 浓度范围内线性关系良好($r=0.9997$)。结论 该法简便、准确、专属性好, 可用于左氧氟沙星含量及有关物质检查。

关键词:左氧氟沙星; 有关物质; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2005)09-0869-02

HPLC determination of Levofloxacin and related substances

ZHAO Feng-jie, JIN Cheng-ming, CHU Wen-jing, ZHU Hui-qing (Zhejiang Kangyu Pharmaceutical CO., LTD. Dongyang 322118)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the HPLC method for the determination of Levofloxacin and its related substances. **METHODS** The HPLC system consisted of a shim-pack CLC-ODS column (5 μ m, 150mm 6.0mm) and a mixture of sodium 1-hexanesulfonate-[weigh 6.8g of potassium phosphate monobasic into a suitable container. Dissolve in 1L of water. Adjust to pH2.4 with 0.05

mol/L of phosphoric acid about 500mL, and mix well. Then dissolve 0.98g sodium 1-hexanesulfonate with above phosphate buffer 1000mL and mix well.]:Methanol (65:35) as mobile phase, The flow rate was 1.0mL/min with detection wave length at 293nm and column temperature at 25°C. **RESULTS** Levofloxacin could be completely separated from other impurities. The linear range of Levofloxacin was 2.5μg/mL ~ 750μg/mL ($r=0.9997$). **CONCLUSION** The method is simple, accurate and is suitable for the determination of Levofloxacin.

KEY WORDS: Levofloxacin; related substance; HPLC

左氧氟沙星为氧氟沙星的左旋体,其作用机制是通过抑制细菌 DNA 旋转酶的活性,阻止细菌 DNA 的合成和复制而导致细菌死亡。其体外抗菌活性约为氧氟沙星的两倍。本实验在有关文献的基础上建立了测定左氧氟沙星含量和有关物质含量的 HPLC 方法。

1 仪器与试剂

Agilent DAD 和 Agilent 1100 系列高效液相色谱仪,甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。左氧氟沙星对照品为中国生物药品检定所标化(含量 97.2%)。样品及去甲基左氧氟沙星对照品为本公司提供。

2 试验方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Shim-pack CLC-ODS(5μm, 150mm × 6.0mm);流动相:己烷磺酸钠溶液:甲醇=65:35;流速:1mL/min;检测波长:293nm;柱温:25°C;进样量:10μL;理论板数按左氧氟沙星计算不低于 5000,分离度应符合要求。

2.2 含量与有关物质的测定法

精密称取样品适量,加 0.1mol/L 盐酸溶液溶解,制成含左氧氟沙星 0.5mg/mL 的供试品溶液。另取左氧氟沙星对照品同法制成含左氧氟沙星 0.5mg/mL 的对照品溶液。分别取对照品溶液和供试品溶液各 10μL 注入液相色谱仪,记录色谱图。按外标法以峰面积计算含量。

2.3 色谱条件选择与色谱系统专属性

在上述色谱系统中,左氧氟沙星的出峰时间适中,峰形好,理论塔板数以左氧氟沙星计大于 5000。左氧氟沙星经破坏性试验后(取左氧氟沙星 50mg 于 100mL 量瓶中,分别加入盐酸 5mol/L,放置 24h,氢氧化钠 5mol/L 放置 24h,5% 过氧化氢溶液放置 24h,4500lx 光照 10d,高温 80°C 放置 10d)进行测定,记录色谱图至主成分峰保留时间的 2 倍,并用 DAD 检测器进行检测。结果表明本系统能够将样品生成的降解产物峰与主成分峰有效地分离,分离度均大于 1.5。因本公司生产的左氧氟沙星样中主要杂质为去甲基左氧氟沙星,所以另取去甲基左氧氟沙星对照品适量,加 0.1mol/L 盐酸溶液溶解,照有关物质项下测定法测定与上述有关物质检测方法比较,得出的有关物质结果基本一致,表明主成分的响应因子与有关物质的响应因子基本一致,所以可沿用上述有关物质检查方法。

2.4 线性范围考察

精取左氧氟沙星对照品适量,用 0.1mol/L 的盐酸溶液溶

解并定容,使成 2.5,190,380,570,750μg/mL 的溶液,在上述色谱条件下进样 10μL,以进样量(X)对峰面积(Y)作线性回归,回归方程: $Y=51250.75X+2859.358$, $r=0.9997$,线性范围为 2.5μg/mL ~ 750μg/mL。

2.5 回收率

称左氧氟沙星对照品适量,用 0.1mol/L 的盐酸溶液溶解制成三种浓度(样品溶液浓度的 80%,100%,120%)溶液各三份,摇匀,进样(10μL)照含量项下,依法测定,结果平均回收率 ± RSD ($n=3$) 分别为 (99.8 ± 0.33)%, (100.0 ± 0.26)%, (100.8 ± 0.34)%。结果符合规定。

2.6 精密度的测定

7.1 日内差 精密称取左氧氟沙星对照品适量,制成浓度为 0.5mg/mL 的溶液 5 份,分别连续进样,每份进三针(10μL)结果峰面积的 RSD 分别为 0.01%,0.08%,0.02%,0.06%,0.05%。 $n=3$

7.2 日间差 精密称取左氧氟沙星对照品适量,制成浓度为 0.5mg/mL 的待测液,连续 5 日,每日进 1 次,进行检测,并计算日间差。结果 RSD 为 0.63%。

2.7 稳定性

取左氧氟沙星供试品,用 0.1mol/L 的盐酸溶液制成浓度为 0.5mg/mL 的溶液,在放置 0 ~ 24h 内每隔 1h 进行 HPLC 分析,结果峰面积的 RSD 为 0.24%,稳定性良好。

2.8 检测限与定量限

取 2.5μg/mL 的左氧氟沙星对照品溶液,用 0.1mol/L 的盐酸溶液稀释,进行检测,主成分峰高约为噪音峰高 3 倍时,进样量为 4ng,故该系统最小检出限为 4ng。同样当所得图谱主成分峰高约为噪音峰高 10 倍时,进样量 15ng,故该系统定量限为 15ng。

2.9 测定结果

依照含量测定项下对三批样品(20041201,20041202,20041203)进行含量和有关物质测定,结果分别为(99.5%,0.05%),(99.2%,0.08%),(99.8%,0.02%),RSD 分别为 0.02%,0.03%,0.06%。

3 讨论

左氧氟沙星现行药典含量和有关物质均用 HPLC 法,但供试品浓度不一样,为操作简便可将含量,有关物质合并成一种方法,溶剂用 0.1mol/L 的盐酸溶液。此方法简便,峰形好,样品与有关物质的分离度大于 3.0,符合分离度要求。

收稿日期:2004-12-23