

RP-HPLC 法测定盐酸洛美沙星滴眼液的含量

杨 青*, 郭炎荣

(广西壮族自治区人民医院, 广西 南宁 530021)

[摘要] 目的: 建立盐酸洛美沙星滴眼液的含量测定方法。方法: 以 Hanbon C₁₈ 色谱柱为分离柱, 以 0.05 mol·L⁻¹ 枸橼酸溶液(pH 4.0)-乙腈(85:15)为流动相, 采用 RP-HPLC 法测定。结果: 本品中盐酸洛美沙星含量测定线性范围为 0.030 12~0.240 96 μg, $r=0.999\ 8$, 平均回收率为 99.44% (RSD=1.21%, $n=6$)。结论: 此法操作简单、结果准确, 可用于盐酸洛美沙星滴眼液的质量控制。

[关键词] 反相高效液相色谱法; 洛美沙星; 滴眼液

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)04-0024-02

洛美沙星(Lomefloxacin)为喹诺酮类广谱抗菌剂, 对革兰阴性菌、阳性菌和部分厌氧菌均有较强的抗菌活性, 临床主要用于呼吸道、泌尿系统等感染的治疗。洛美沙星对细菌性结膜炎、角膜炎、泪囊炎、术后感染等外眼感染有良好的疗效^[1]。目前, 测定洛美沙星的分析方法有微生物法、UV 法、荧光分光光度法、HPLC 法、流动注射-化学发光法等, 对盐酸洛美沙星滴眼液的含量测定, 国家药品标准[ws₁(x-033)002z]采用的是 UV 法, 由于滴眼液中含有多种辅料, 主药对光热敏感, 贮存过程中易产生杂质, 本文采用 RP-HPLC 法对盐酸洛美沙星滴眼液进行含量测定, 可避免杂质的干扰。

1 仪器与试剂

美国 Waters 600 型四元液相色谱泵, Waters996 型光电二极管阵列检测器, WatersM32 色谱工作站;

METTLER AE-240 型电子天平(瑞士)。盐酸洛美沙星对照品(南京白敬宇制药有限公司提供, 含量>99.9%, 有关物质<0.04%)。盐酸洛美沙星滴眼液(规格 5 mL: 15 mg, 武汉亚欣医药技术有限公司, 批号 071012, 071014, 071019)。乙腈(色谱纯), 其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适应性 色谱柱为 Hanbon C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为 0.05 mol·L⁻¹ 枸橼酸溶液(pH 4.0)-乙腈(85:15), 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长: 287 nm, 柱温: 40 °C。理论塔板数按盐酸洛美沙星峰计算应不低于 5 000。供试品中盐酸洛美沙星与其他成分分离良好, 分离度大于 1.5, 阴性试验在对照品位置无干扰, 见图 1。

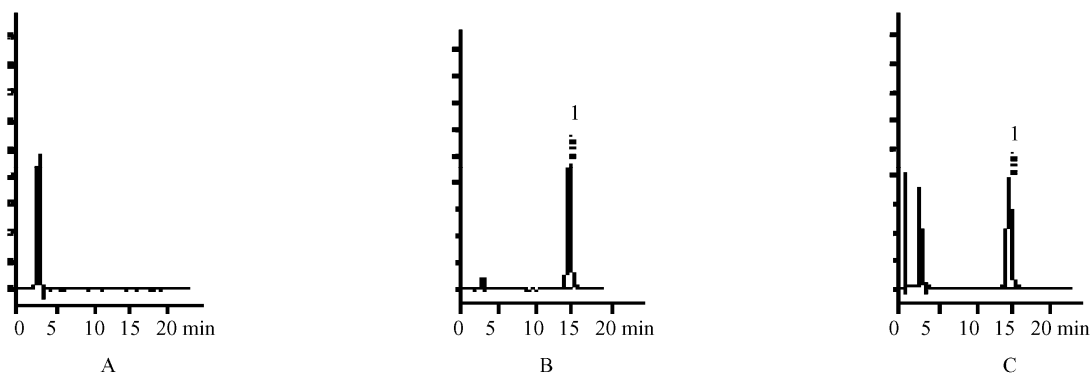


图 1 高效液相色谱图

A. 阴性样品; B. 对照品; C. 样品; 1. 盐酸洛美沙星

[收稿日期] 2008-11-07

[通讯作者] * 杨 青, Tel: (0771) 2186526; E-mail: yqhlslwy@163.com

2.2 对照品溶液制备 精密称取 105 °C 干燥至恒重的盐酸洛美沙星对照品 30.12 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得浓度为 301.2 μg·mL⁻¹ 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液制备 精密量取本品 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 再精密量取 1 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 阴性对照溶液的制备 按本品的处方、制法制备缺盐酸洛美沙星的阴性样品, 按供试品溶液制备方法制成缺盐酸洛美沙星的阴性溶液。

2.5 线性关系考察 精密吸取盐酸洛美沙星对照品溶液 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mL 至 100 mL 量瓶中, 加流动相定容至刻度, 摇匀, 按上述色谱条件, 依次进样 20 μL, 测定峰面积, 将所得峰面积与进样量进行线性回归, 得回归方程为 $Y = 5.03 \times 10^4 \times X + 6.28 \times 10^3$, $r = 0.9998$ 。结果表明, 盐酸洛美沙星进样量在 0.030 12~0.240 96 μg 范围内线性关系良好。

2.6 精密度试验 取浓度为 6.024 μg·mL⁻¹ 的盐酸洛美沙星对照品溶液, 重复进样 6 次, 每次 20 μL, 结果峰面积 RSD 为 0.96% ($n = 6$)。

2.7 重复性实验 取同一批号样品 6 份, 按样品溶液的制备方法进行测定, 结果峰面积 RSD 为 1.35%, 表明此方法重复性良好。

2.8 稳定性试验 取样品(批号 071014), 按 2.3 项制备成供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 8, 12 h 进行测定, 考察样品溶液的稳定性。结果平均峰面积 RSD = 1.43%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.9 回收率试验 精密量取已知浓度的盐酸洛美沙星滴眼液 1.0 mL 各 6 份, 分别置于 10 mL 量瓶中, 再精密加入盐酸洛美沙星对照品适量。按 2.3 项测定盐酸洛美沙星含量, 计算回收率。结果见表 1。

表 1 回收率试验结果 ($n = 6$)

含量 (mg)	加入对照品的量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
3.135	1.506	4.654	100.86		
2.998	1.506	4.486	98.80		
3.055	1.506	4.549	99.20	99.44	1.21
3.006	1.506	4.483	98.07		
2.982	1.506	4.503	100.99		
3.160	1.506	4.647	98.74		

2.10 样品测定 按供试液的制备及检测方法, 分别测定 3 个批号的样品, 结果见表 2。

表 2 样品测定结果 ($n = 6$)

样品批号	含量 (mg·mL ⁻¹)	RSD (%)
071012	3.126	1.21
071014	3.042	0.69
071019	2.976	1.15

2.11 有关物质检查 取本品适量, 加流动相制成每 1 mL 含洛美沙星 60 μg 的溶液作为供试品溶液; 精密量取盐酸洛美沙星对照品溶液适量, 加流动相制成每 1 mL 含洛美沙星 0.6 μg 的溶液作为对照溶液。取对照溶液 20 μL 注入液相色谱仪, 调节检测灵敏度, 使主成分色谱峰的峰高为满量程的 10%~25%, 再精密量取供试品溶液与对照溶液各 20 μL, 分别注入液相色谱仪。记录色谱图至主成分峰保留时间的 2 倍。3 批样品(071012, 071014, 071019) 杂质峰面积总和分别为 0.46%, 0.43%, 0.41%, 符合 < 1.0% 的规定。

3 讨论

由于盐酸洛美沙星对光热敏感, 贮存过程中易产生杂质^[2], 其结构中具有氨基和羟基, 为减少羟基对色谱柱分离的影响, 一般需在流动相加入一定量的四丁基溴化铵、四丁基碘化铵或庚磺酸钠^[3]。本文实验中曾以不同比例的甲醇-水, 枸橼酸-甲醇-乙腈等作为流动相进行试验, 结果表明以 pH4 的枸橼酸溶液-乙腈 (85:15) 为流动相测定时洛美沙星的吸收峰与其他干扰峰分离良好, 结果准确且操作简便, 可适用于盐酸洛美沙星滴眼液的质量控制。

[参考文献]

[1] 林跃生, 于强, 吴笑梅, 等. 盐酸洛美沙星滴眼液治疗眼部细菌性炎症疾病的临床观察[J]. 眼科, 1999, 8(3): 155-157.

[2] 蒋建兰, 叶小珍, 刘勇, 等. 盐酸洛美沙星注射液的制备条件对有关物质的影响[J]. 中国药师, 2002, 5(12): 736-737.

[3] 郑锦辉, 王知斌, 李桂艳, 等. RP-HPLC 法测定盐酸洛美沙星眼用凝胶的含量[J]. 辽宁医药, 2007, 22(3): 12-14.