

## • 药物分析 •

# RP- HPLC 法测定天门冬氨酸洛美沙星注射液的含量

冯有龙<sup>1</sup>, 高华<sup>2</sup>, 侯刚毅<sup>3</sup>, 丁安伟<sup>1</sup>(1. 南京中医药大学中药学院, 南京 210029; 2. 河南康利医药技术开发公司, 郑州 450003; 3. 河南省鹤壁市药品检验所, 鹤壁 456600)

**摘要:**目的: 建立天门冬氨酸洛美沙星注射液的含量测定方法。方法: 采用  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub>(10 $\mu$ m) 4.6mm  $\times$  150mm 色谱柱, 以乙腈-磷酸盐缓冲液-四乙基溴化铵溶液(15: 85: 4)为流动相, 流速为 1.0ml/min, 检测波长 288nm。结果: 平均回收率为 100.1%, RSD 为 2.37%。结论: 本方法准确、快速、专属性强, 可适用于本药的质量控制。

**关键词:** RP- HPLC; 天门冬氨酸洛美沙星; 含量测定

中图分类号: R927.2 文献标识: B 文章编号: 1006-0111(2000)01-0032-03

## Determination of lomefloxacin aspartate injection by RP- HPLC

FENG You-long, GAO Hua, HOU Gang-yi, DING An-wei(1. College of Chinese Pharmacy, Nanjing TCM University, Nanjing 210029; 2. Henan Kangli Company of Medical and Technological Development, Zhengzhou 450003; 3. Henan Hebi Institute for Drugs Control, Hebi 456600)

**ABSTRACT: OBJECTIVE:** To establish a method for the determination of lomefloxacin aspartate injection.

**METHODS:** The concentration of lomefloxacin aspartate was assayed on a  $\mu$ -Bondapak-C<sub>18</sub> column with a mobile phase consisting of acetonitrile-phosphate buffer-0.5mol/L tetrabutylammonium bromide(15:85:4) at a flow rate of 1.0ml/ml, and detected at 288 nm. **RESULTS:** The average recovery and relative standard deviation were 100.1% and  $\pm$ 2.37% respectively. **CONCLUSION:** This method was rapid, specific and accurate. It is very suitable for quality control of the product.

**KEY WORDS:** RP- HPLC; lomefloxacin aspartate; determination

洛美沙星是由日本北陆制药公司与群马公司联合开发的长效氟喹诺酮类合成抗菌药物; 其具有广谱、高效、长效、低毒等特点, 被广泛地应用于临床。现在中国国内市场有其口服制剂出售, 由于固体口服制剂达峰时间较长, 达峰浓度较低, 因而不能很好地满足临床的需要, 为了更好地满足患者的需求, 更充分地发挥洛美沙星的药效, 填补国内空白, 经过大量地工作, 河南康利医药技术公司成功地研制了水溶性强的天门冬氨酸洛美沙星盐(原料药)及其制剂天门冬氨酸洛美沙星注射液(2ml: 0.1g)。该制剂及其原料药均已获得卫生部颁发的新药证书及

生产批件。对于天门冬氨酸洛美沙星注射液的含量测定方法, 目前尚未见有文献报导, 我们参照有关文献<sup>[1,2]</sup>拟定了反相高效液相色谱法的测定方法。

### 1 仪器、样品及试剂

岛津 SPD-6A 紫外检测器; 北京星达(LP-10C) 高压泵;  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub> 色谱柱(10 $\mu$ m, 4.6mm  $\times$  150mm), 中科院大连化物所 JS-3020 江申通用汉化液相色谱工作站(大连江申分离科学技术公司)。

天门冬氨酸洛美沙星注射液: 规格 2ml: 0.1g, 批号为 930720、930721、930722(河南康利

医药技术开发公司研制提供);天门冬氨酸洛美沙星对照品(河南康利医药技术开发公司提供,其纯度经 HPLC 归一化法测定为 99.7%);吡哌酸对照品(购自中国药品生物制品检定所,批号:151-9202)。

甲醇(色谱纯),乙腈(光谱纯);四丁基溴化铵、磷酸、磷酸二氢钾均为 AR 级;水为高纯水。

2 实验方法

2.1 供试品溶液及标准溶液的制备

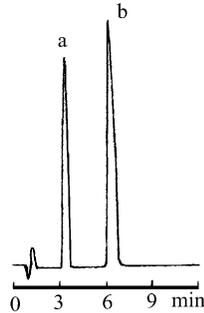
2.1.1 供试品溶液的制备 精密量取本品(0.05g/ml)2ml 置 250ml 容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,备用;另取吡哌酸对照品,加 2% 磷酸溶液温热使溶解,加水制成每 1ml 中含 0.25mg 的溶液作为内标溶液。精密量取上述两种溶液各 5ml 置 25ml 容量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,即得供试品溶液。

2.1.2 标准溶液的制备 取天门冬氨酸洛美沙星对照品相当于洛美沙星约 40mg,精密称定,置 100ml 容量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液;另取吡哌酸对照品,加 2% 磷酸溶液适量温热使溶解,加水制成每 1ml 中含 0.5mg 的溶液作为内标溶液。精密吸取上述两种溶液各 5ml 置于 25ml 容量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,即得标准溶液。

2.2 分析测定方法

2.2.1 色谱条件及系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈-磷酸盐缓冲液(称取磷酸二氢钾 6.7g,加磷酸 2.8ml 并加水稀释至 1000ml)-0.5mol/L 四丁基溴化胺

溶液(15:85:4)为流动相;流速约为 1.0ml/min,灵敏度为 0.32AUFS,检测波长 288nm,理论板数按天门冬氨酸洛美沙星峰计应不低于 1500,天门冬氨酸洛美沙星和内标物质峰的分离度应符合要求,色谱图如图 1。



a 内标(吡哌酸)峰  
b 样品(天门冬氨酸洛美沙星)峰

图 1 天门冬氨酸洛美沙星色谱

2.2.2 线性关系考查 精密称取经 100℃真空干燥的天门冬氨酸洛美沙星对照品适量,加水溶解并制成 0.571mg/ml 的溶液作为标准品溶液;另取吡哌酸对照品适量,加入 2% 磷酸溶液适量,温热使溶解并加水制成 0.538mg/ml 的溶液作为内标溶液;分别精密吸取上述标准品溶液 40.0、20.0、10.0、50、2.5ml 及内标溶液 2.5、5.0、10.0、20.0、40.0ml 于 50ml 容量瓶中,用流动相稀释至刻度,混匀,照高效液相色谱法测定。分别精密进样 20μl,记录色谱图,以样品对内标浓度比(Cs/Cn)对应两者的峰面积之比(As/An)回归得回归方程,结果见表 1。

表 1 天门冬氨酸洛美沙星的线性关系考查结果(n=3)

标准液浓度 Cs(μg/ml)	标准液峰 面积(As)	内标浓度 Cn(μg/ml)	内标峰面积 (An)	Cs/Cn C'	As/An A'
228.4	175776	10.8	4945	21.2268	35.5434
114.2	88653	21.5	10499	5.3067	8.4443
57.1	43503	53.8	25995	1.0613	1.6735
22.8	17238	107.6	51211	0.2123	0.3366
11.4	8419	215.2	97823	0.0531	0.0861

$$A' = 0.8345 \times C' - 0.1024 \quad r = 0.9999$$

由上述结果可以看出,在 Cs/Cn= 0.053~21.227 间二者呈现出良好的线性关系。

2.2.3 样品测定方法 精密吸取标准品溶液

和供试品溶液各 20μl 注入液相色谱仪,记录各自的色谱图,以峰面积按内标法计算出样品中天门冬氨酸洛美沙星的含量(以洛美沙星计)。

**2.2.4 回收率试验** 采用加样回收法。分别配制出 0.01、0.02、0.04、0.06、0.08mg/ml 的天门冬氨酸洛美沙星对照品溶液,各精密量取 5.0ml 于 10ml 容量瓶中,于每瓶中加入 1.0ml 供试品溶液并用流动相稀释至刻度,摇匀。按

上述色谱条件进样 20 $\mu$ l,每份样品测定 3 次,并将所得结果减去供试品溶液中天门冬氨酸洛美沙星的已知量得测得量,用测得量除以加入量计算回收率,平均回收率为 100.1%, $RSD = 2.37\%$ ,结果见表 2。

表 2 回收率试验结果( $n = 3$ )

试验号	已知量( $\mu$ g)	加入量( $\mu$ g)	总测得量( $\mu$ g)	回收率(%)	$\bar{x} \pm SD$ (%)	$RSD$ (%)
1	80	50	129.9	99.8		
2	80	100	181.3	101.3	100.1	
3	80	200	277.6	98.8	$\pm 2.37$	2.37
4	80	300	371.3	97.1		
5	80	400	493.2	103.3		

回收率试验结果表明本法的回收率较好,能满足含量测定的有关技术要求。

**2.2.5 精密度试验** 取不同浓度的标准溶液(分别为 22.8、57.1、114.2 $\mu$ g/ml),各进样 5 次,每次 20 $\mu$ l,求得日内  $RSD$ ;连续测定 3 天(每天 5 次),求得日间  $RSD$ ,结果见表 3。

表 3 日内、日间  $RSD$  测定结果(%)

浓度( $\mu$ g/ml)	日内( $n = 5$ )	日间( $n = 5$ )
22.8	1.9	2.1
57.1	1.8	2.4
114.2	2.2	2.6

精密度试验结果表明:日内、日间的  $RSD$  都比较小,重现性也较好。

**2.2.6 测定方法的稳定性试验** 对 930720 批次的样品溶液分别于 0、1、2、4、8、12、24hr 进行测定以考核方法的稳定性,结果见表 4。

结果显示在 8 小时以内样品基本稳定,8 小时以后测得的含量略有下降,提示本品的含量测定应在 8 小时以内完成。

**2.2.7 样品测定结果** 对三批样品(批号:930720、930721、930722)依法进行测定,结果见表 5。

表 4 测定方法的稳定性试验结果

时间(h)	0	1	2	4	8	12	24	$\bar{x} \pm SD$ (%)	$RSD$ (%)
含量(%)	100.2	99.9	99.7	99.8	100.4	97.9	96.1	$99.2 \pm 1.6$	1.6

表 5 三批样品的含量测定结果( $n = 3$ )

批号	含量	$\bar{x} \pm SD$ (%)	$RSD$ (%)
930720	99.8	$99.83 \pm 0.45$	0.45
	100.3		
	99.4		
930721	99.2	$99.27 \pm 0.40$	0.41
	99.7		
	98.9		
930722	100.4	$99.73 \pm 0.61$	0.61
	99.2		
	99.6		

### 3 结果与讨论

**3.1** 从洛美沙星的结构看,它既含有碱性基团又含有酸性基团,采用  $C_{18}$  色谱柱分离时,在流动相中加入四丁基溴化铵,可消除色谱柱填充剂中未硅烷化的硅羟基对其碱性基团的吸附,以改善拖尾、提高柱效。

**3.2** 在配制内标溶液时,用磷酸溶解这一步很关键,加热时间过短(溶解不完全)或过长,都会使含量测定的结果产生较大的误差;另外,磷酸的加入量也应严格控制好,否则会使测定溶液的 pH 出现波动,对结果带来影响。

**3.3** 因为天门冬氨酸洛美沙星的吸湿性强,所以在进行含量测定之前务必将天门冬氨酸洛美沙星对照品充分干燥以除去其中的水分,否则会对含量测定的结果带来影响。

#### 参考文献:

- [1] USP[M]. XXII 963.
- [2] 陈翠萍,吴如金.两种诺氟沙星盐及其注射剂的高效液相色谱分析及其稳定性探讨[J].中国药科大学学报,1992,23(6):370.