

超高效液相色谱法同时测定复方氟喹酸鼻喷剂中3种组分的含量

区洁雯^{1*},周小圆²,邓红²(1.佛山市顺德区第一人民医院,广东佛山 528300;2.广东药学院药物研究所,广州 510006)

中图分类号 R927.2;R987 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)41-3918-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.41.28

摘要 目的:同时测定复方氟喹酸鼻喷剂中氧氟沙星、盐酸萘甲唑啉及马来酸氯苯那敏的含量。方法:采用超高效液相色谱法,色谱柱为 Waters ACQUITY UPLC[®]BEH C₁₈,流动相为乙腈-0.03 mol/L 磷酸二氢铵溶液(含 0.005 mol/L 的庚烷磺酸钠, pH=3.0)(30:70),流速为 0.2 ml/min,进样量为 2 μl;使用光电二极管阵列检测器,检测波长为 220 nm。结果:氧氟沙星、盐酸萘甲唑啉、马来酸氯苯那敏检测质量浓度线性范围分别为 29.76~208.3、2.153~15.068、4.064~28.45 μg/ml($r \geq 0.9997$),平均回收率分别为 100.1%、100.3%、100.9%,RSD 分别为 1.25%、1.20%、0.99%($n=3$)。结论:所建立的方法快速、准确,可用于复方氟喹酸鼻喷剂的质量控制。

关键词 复方氟喹酸鼻喷剂;氧氟沙星;盐酸萘甲唑啉;马来酸氯苯那敏;超高效液相色谱法;含量测定

Simultaneous Determination of the Contents of 3 Components in Compound Ofloxacin Nasal Spray by UPLC
OU Jie-wen¹, ZHOU Xiao-yuan², DENG Hong²(1.Foshan Shunde District First People's Hospital, Guangdong Foshan 528300, China; 2.Institute of Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To determine the contents of ofloxacin, naphazoline hydrochloride and chlorphenamine maleate in Compound ofloxacin nasal spray simultaneously. METHODS: UPLC method was established. The Waters ACQUITY UPLC[®]BEH C₁₈ column was used with mobile phase consisted of acetonitrile-0.03 mol/L ammonium dihydrogen phosphate solution (containing 0.005 mol/L sodium heptanesulfonate, pH=3.0, 30:70) at the flow rate of 0.2 ml/min. The sample size was 2 μl. Photodiode array detector was adopted, and the detection wavelength was set at 220 nm. RESULTS: The linear range were 29.76-208.3 μg/ml for ofloxacin, 2.153-15.068 μg/ml for naphazoline hydrochloride and 4.064-28.45 μg/ml for chlorphenamine maleate ($r \geq 0.9997$), respectively. The average recoveries were 100.1% (RSD=1.25%, $n=3$), 100.3% (RSD=1.20%, $n=3$) and 100.9% (RSD=0.99%, $n=3$), respectively. CONCLUSIONS: The method is rapid and accurate, and can be used for quality control of Compound ofloxacin nasal spray.

KEY WORDS Compound ofloxacin nasal spray; Ofloxacin; Naphazoline hydrochloride; Chlorphenamine maleate; UPLC; Content determination

表3 2种分析方法的比较

Tab 3 Comparison of 2 kinds of analysis methods

参数	本法	文献法
色谱柱	Kromasil 100-5 C ₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)	Dikma Diamonsil C ₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)
流动相	0.01 mol/L 四丁基溴化铵溶液-乙腈-三乙胺(980:20:2,用磷酸调节 pH 值至 6.0)	0.1% 三乙胺溶液(用磷酸调节 pH 至 5.0)-乙腈(99:1)
波长	254 nm	220 nm
杂质定位方式	HPLC	LC-MS 及 HPLC-DAD
控制杂质	开环物 A、B	开环物 A 及 C, 二聚物 A 及 B

此本法可作为比阿培南中开环物的质控方法。同时,通过系统适用性试验,对特定杂质开环物 A 和 B 进行定位,不需要提供杂质对照品,操作方法简便,并可有效保证产品质量安全。

参考文献

[1] 赵敏,赵国君,张勇.新碳青霉烯类抗生素比阿培南[J].中国临床药理学杂志,2005,21(5):390.

- [2] 张菁,邢亮彬.HPLC法测定注射用比阿培南的含量及有关物质[J].中国抗生素杂志,2006,31(9):565.
- [3] 傅小雅.反相高效液相色谱法测定注射用比阿培南的含量及有关物质[J].海南医学院学报,2005,11(5):388.
- [4] 马杰,赵玉新,王广慧,等.凝胶色谱法测定比阿培南聚合物的含量[J].中国当代医药,2010,17(8):116.
- [5] 王蓓,张菁,马卫红.注射用比阿培南的有关物质测定方法研究[J].现代中西医结合杂志,2010,19(10):1247.
- [6] 刘俊华,张莉,程玉宝,等.HPLC法测定比阿培南二聚物方法研究及其降解途径考察[J].药物分析杂志,2012,32(3):468.
- [7] 明治制果制药株式会社.注射用 Omegacin 0.3g[EB/OL].(2013-02)[2013-04-15].<http://www.info.pmda.go.jp/>.
- [8] Nan Wang, Chun-Feng Li, Dou-Sheng Zhang, et al. Establishment of an HPLC method for the analysis of biapenem an its impurities[J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2011, 20(2):171.

* 副主任药师。研究方向:医院药学。电话:0757-22318955。E-mail:sdyyzj@126.com

(收稿日期:2013-03-06 修回日期:2013-05-28)

复方氟嗹酸鼻喷剂是佛山市顺德区第一人民医院研制的复方制剂,用于各种急性鼻炎、慢性单纯性鼻炎、急性副鼻窦炎和过敏性鼻炎等症状,活性成分包括氧氟沙星、盐酸萘甲唑啉及马来酸氯苯那敏^[1]。目前有采用高效液相色谱(HPLC)法测定其他复方制剂中盐酸萘甲唑啉与马来酸氯苯那敏或氧氟沙星与盐酸萘甲唑啉含量的方法的文献报道,但仅限于2种组分的同时测定,未见同时测定上述3种组分的文献报道。由于超高效液相色谱(UPLC)法具有灵敏度高、分离效能高、分析时间短、需要溶剂量少的特点^[2-3],故笔者建立了采用此法同时测定本复方制剂中3种组分含量的方法,结果表明该法快速、准确,可有效控制该制剂质量。

1 材料

UPLC H-Class 液相色谱仪(美国 Waters 公司);CP225D 电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

复方氟嗹酸鼻喷剂(佛山市顺德区第一人民医院,批号:20111107、20120115、20120326,规格:每支 10 ml,含氧氟沙星 30 mg、盐酸萘甲唑啉 2 mg、马来酸氯苯那敏 4 mg);氧氟沙星对照品(批号:130454-200905,纯度:98.8%)、盐酸萘甲唑啉对照品(批号:100111-201104,纯度:99.2%)、马来酸氯苯那敏对照品(批号:00047-200606,纯度:99.7%)均来源于中国食品药品检定研究院;乙腈为色谱纯,其余试剂为分析纯,水为双蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Waters ACQUITY UPLC[®]BEH C₁₈(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm);流动相为乙腈-0.03 mol/L 磷酸二氢铵溶液(含 0.005 mol/L 的庚烷磺酸钠,用磷酸调 pH=3.0)(30:70, V/V),流速为 0.2 ml/min;进样量为 2 μl;使用光电二极管阵列检测器,检测波长为 220 nm。

理论板数按氧氟沙星、盐酸萘甲唑啉、马来酸氯苯那敏计均不应低于 4 000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液的制备。精密称取氧氟沙星对照品 150 mg、盐酸萘甲唑啉对照品 10 mg 与马来酸氯苯那敏对照品 20 mg,置于 100 ml 量瓶中,用 0.25 mmol/L 盐酸溶液溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液(实际制备氧氟沙星、盐酸萘甲唑啉与马来酸氯苯那敏的质量浓度分别为 1.488、0.107 6、0.203 2 mg/ml),精密量取上述贮备液 1 ml 至 10 ml 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,过 0.22 μm 滤膜,即得混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备。精密吸取本品 1 ml(约相当于氧氟沙星 3 mg、盐酸萘甲唑啉 0.2 mg 与马来酸氯苯那敏 0.4 mg),置于 20 ml 量瓶中,加 0.25 mmol/L 盐酸溶液稀释至刻度,摇匀,过 0.22 μm 滤膜,即得。

2.2.3 阴性样品溶液的制备。取处方组成中除主药外的其余成分制备成不含氧氟沙星、盐酸萘甲唑啉及马来酸氯苯那敏的阴性样品,取 1 ml,按“2.2.2”项下的制备方法处理即得。

2.3 检测波长的选择

精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液 2 μl,进样。采用二极管阵列检测器,通过对 3 种组分进行在线光谱检测,可知 3

种组分在 220 nm 波长处均有最大吸收,且盐酸萘甲唑啉的响应值最大。由于本品处方中盐酸萘甲唑啉的含量仅为氧氟沙星的 1/15,为了能同时检测 3 种组分的含量,且有相对均衡的响应值,故选定检测波长为 220 nm。混合对照品溶液的馏分光谱指数见图 1。

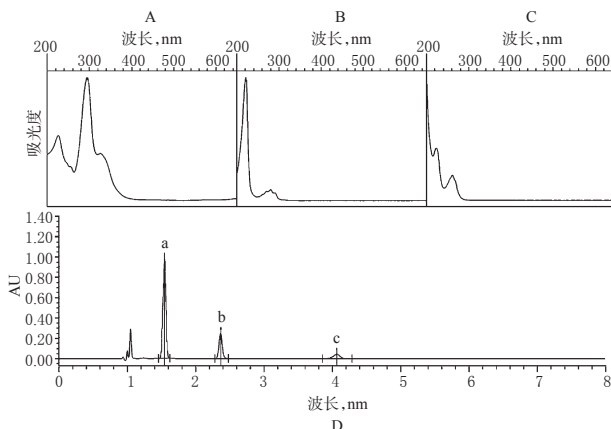


图 1 馏分光谱指数图

A. 氧氟沙星光谱图;B. 盐酸萘甲唑啉光谱图;C. 马来酸氯苯那敏光谱图;D. 混合对照品色谱图;a. 氧氟沙星;b. 盐酸萘甲唑啉;c. 马来酸氯苯那敏

Fig 1 Figure of fraction spectral index

A. spectrum of ofloxacin; B. spectrum of naphazoline hydrochloride; C. spectrum of chlorphenamine maleate; D. chromatograms of mixed control; a. ofloxacin; b. naphazoline hydrochloride; c. chlorphenamine maleate

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性试验。取混合对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液,分别进样 2 μl,记录色谱图。结果各组分峰分离度均符合要求,空白辅料无干扰,详见图 2。

2.4.2 标准曲线制备。分别吸取适量的混合对照品贮备液,加 0.25 mmol/L 盐酸溶液稀释成氧氟沙星质量浓度为 29.76、74.40、148.8、178.6、208.3 μg/ml,盐酸萘甲唑啉质量浓度为 2.153、5.382、10.763、12.916、15.068 μg/ml,马来酸氯苯那敏质量浓度为 4.064、10.16、20.32、24.38、28.45 μg/ml 的系列对照品溶液。依次进样 2 μl。以峰面积(A)对对照品溶液质量浓度(c)进行回归,得氧氟沙星回归方程 $A=21\ 215c+7\ 117.4$ ($r=0.999\ 9$);盐酸萘甲唑啉回归方程 $A=86\ 634c-6\ 029.3$ ($r=0.999\ 7$);马来酸氯苯那敏回归方程 $A=21\ 274c-2\ 258.1$ ($r=0.999\ 9$)。表明氧氟沙星、盐酸萘甲唑啉、马来酸氯苯那敏检测质量浓度线性范围分别为 29.76~208.3、2.153~15.068、4.064~28.45 μg/ml。

2.4.3 精密度试验。取供试品溶液 2 μl,连续测定 6 次,分别记录氧氟沙星、盐酸萘甲唑啉及马来酸氯苯那敏的峰面积,计算 RSD 分别为 1.22%、0.85%、1.31% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.4.4 稳定性试验。取同一供试品溶液 2 μl,分别于 0、1、2、4、8 h 测定,分别记录氧氟沙星、盐酸萘甲唑啉及马来酸氯苯那敏的峰面积,计算 RSD 分别为 0.93%、1.01%、0.84% ($n=5$),表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

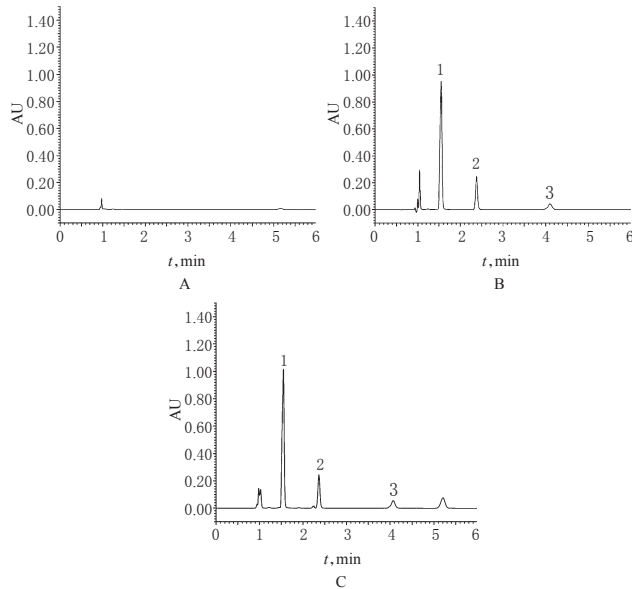


图2 高效液相色谱图

A. 阴性样品; B. 混合对照品; C. 供试品; 1. 氧氟沙星; 2. 盐酸萘甲唑啉; 3. 马来酸氯苯那敏

Fig 2 HPLC chromatograms

A. negative sample; B. mixed control; C. test sample; 1. ofloxacin; 2. naphazoline hydrochloride; 3. chlorphenamine maleate

2.4.5 重复性试验。取同批(批号:20111107)样品6份,依法测定,以外标法计算含量,结果氧氟沙星、盐酸萘甲唑啉及马来酸氯苯那敏的含量分别为102.2%、95.94%、104.28%,RSD分别为0.89%、0.78%和1.55%(n=6)。表明本法重复性良好。

2.4.6 回收率试验。精密吸取混合对照品贮备液1.6、2、2.4 ml各3份,分别置于20 ml量瓶中,分别加入阴性样品溶液1 ml,加0.25 mmol/L 盐酸溶液稀释至刻度,依法测定,记录色谱图。以外标法计算,氧氟沙星、盐酸萘甲唑啉、马来酸氯苯那敏平均回收率分别为100.1%、100.3%、100.9%,RSD分别为1.25%、1.20%、0.99%(n=3),结果详见表1。

2.5 样品含量测定

取3批样品,依法进样测定,记录峰面积,以外标法计算3种主药含量,结果见表2。

3 讨论

本试验应用UPLC特有的馏分指数分析功能(见“2.3”项),采用二极管阵列检测器,通过对3种组分进行在线光谱检测,测定了复方氟噻酸鼻喷剂中3种组分含量。

马来酸氯苯那敏在含水溶液中可解离为马来酸和氯苯那敏^[4],因而分析检测时会出现马来酸峰及氯苯那敏峰。氯苯那敏为有机碱,极性较马来酸小,因此需要在试验中区分2个峰,并以氯苯那敏来定量,操作较复杂。而笔者通过调整流动相pH值,采用加入离子对试剂盐溶液的方法抑制马来酸氯苯那

表1 回收率试验结果(n=3)

Tab 1 Results of recovery tests (n=3)

加入量,mg			测得量,mg			回收率,%		
氧氟沙星	盐酸萘甲唑啉	马来酸氯苯那敏	氧氟沙星	盐酸萘甲唑啉	马来酸氯苯那敏	氧氟沙星	盐酸萘甲唑啉	马来酸氯苯那敏
2.380 8	0.172 2	0.325 1	2.359 4	0.174 4	0.330 6	99.1	101.3	101.7
			2.409 4	0.171 1	0.326 7	101.2	99.4	100.5
			2.399 8	0.170 3	0.331 6	100.8	98.9	102.0
2.976 0	0.215 2	0.406 4	2.934 3	0.215 8	0.405 6	98.6	100.3	99.8
			2.961 1	0.218 4	0.413 3	99.5	101.5	101.7
			2.925 4	0.219 5	0.407 6	98.3	102.0	100.3
3.571 2	0.258 2	0.487 6	3.592 6	0.254 9	0.496 5	100.6	98.7	101.8
			3.614 1	0.256 9	0.483 8	101.2	99.5	99.2
			3.631 9	0.260 6	0.491 1	101.7	100.9	100.7
平均回收率,%						100.1	100.3	100.9
RSD,%						1.25	1.20	0.99

表2 样品含量测定结果(n=3)

Tab 2 Results of content determination of samples (n=3)

批号	占标示量百分比,%		
	氧氟沙星	盐酸萘甲唑啉	马来酸氯苯那敏
20111107	102.2	95.94	104.28
20120115	101.2	96.20	103.56
20120326	101.5	98.67	102.35

敏的解离,因此可依据单一色谱峰即马来酸氯苯那敏峰来定量,不但减少了误判峰的机会,而且简化了以往文献^[5]中操作定量计算带来的烦琐。

复方氟噻酸鼻喷剂成分复杂,本文首次建立了UPLC法,一次进样即可同时测定氧氟沙星、盐酸萘甲唑啉及马来酸氯苯那敏3种组分的含量方法;且方法操作简便,精确度、准确度均符合要求,分析时间短(小于5 min),溶剂的消耗量少,从而为成品、生产过程中中间体有效成分的含量测定以及该品种的质量标准的完善、产品质量的有效控制提供了参考。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:二部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社, 2010:48、774.
- [2] 孙全乐,蔡广知,贡济宇. 超高效液相色谱法测定人参皂苷Re的含量[J]. 中国药房, 2012, 23(3):258.
- [3] 李南,邓红,张蜀. UPLC法快速测定山豆根中氧化苦参碱和苦参碱的含量[J]. 今日药学, 2012, 22(6):341.
- [4] 孙素芳,刘国瑞,王拮,等. 马来酸氯苯那敏片的HPLC测定[J]. 中国医药工业杂志, 2006, 37(9):627.
- [5] 李国成,刘春霞,余晓霞. HPLC测定鼻炎灵滴鼻液中盐酸萘甲唑啉和马来酸氯苯那敏含量的方法研究[J]. 国际医药卫生导报, 2010, 16(2):192.

(收稿日期:2013-01-21 修回日期:2013-03-13)