

曲松钠的分离最理想,并且缓冲液浓度和 pH 值对分离具有重要影响。高浓度缓冲液可获得较好的分离,但保留时间变长,而且导致通过毛细管的电流增加,从而增大焦耳热。因此,选用 25 mmol L^{-1} (pH 8.2) 四硼酸钠作缓冲液,分析时间短,峰形尖锐、对称并达到基线分离。

研究表明:柱温降低,分离度变好,但柱效减低,分析时间变长。综合考虑分离度和迁移行为的变化,选用 25°C 柱温较为合适。分离电压是毛细管电泳的一项重要参数,实验表明,增加组分的迁移速度是减少谱带展宽、提高分离效率的重要途径;增加电场强度可以达到提高速度的目的。但高场强度导致通过毛细管的电流增加,从而增大焦耳热,在 20 kV 时,分离选择性最佳。

对 HPLC 和 HPCE 的测定结果进行比较,两种方法无显著性差异。HPLC 法与 HPCE 法相比,必须使用离子对试剂作为流动相,具有消耗成本高、分析时间长、有机溶剂用量大等缺点。采用 HPCE 测定头孢曲松钠的含量,方法简便、准确、快速、重复性好,可为头孢曲松钠的质量控制提供简便的方法。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典[S]. 二部. 北京: 化学工业出版社, 2000. 173
- [2] 刘浩, 仇士林. 头孢曲松钠 HPLC 法含量测定[J]. 中国抗生素杂志, 2002, 27(5): 273
- [3] Flurer CL. Analysis of antibiotics by capillary electrophoresis[J]. Electrophoresis, 1997, 18(12-13): 2427

收稿日期: 2005-01

HPLC 测定氧氟沙星麻黄碱滴鼻液的含量

刘英, 崔春英

(河南省药品检验所, 河南 郑州 450003)

摘要: 目的 建立测定氧氟沙星麻黄碱滴鼻液含量的方法。方法 采用 HPLC 法同时测定滴鼻液中氧氟沙星与麻黄碱的含量。色谱柱为 Alltima C_{18} (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 柱温 35°C ; 流动相为 0.05 mol L^{-1} 醋酸铵溶液(用三乙胺调节 pH 4.0) - 乙腈 (85:15); 流速 1.0 ml min^{-1} ; 检测波长 254 nm; 检测灵敏度为 0.1 AUFS, 进样量 $20 \mu\text{l}$ 。结果 氧氟沙星在 $1.5 \mu\text{g ml}^{-1} \sim 0.75 \text{ mg ml}^{-1}$ 浓度范围内, 峰面积与浓度的线性关系良好 ($r=0.9999$), 平均回收率为 101.2%; 麻黄碱在 $5 \mu\text{g ml}^{-1} \sim 2.5 \text{ mg ml}^{-1}$ 范围内, 峰面积与浓度的线性关系良好 ($r=0.9999$), 平均回收率为 101.4%; 重复性试验的 $RSD=0.5\%$ ($n=9$)。结论 所用方法快速、简便、精密度好, 灵敏度高, 可作为氧氟沙星麻黄碱滴鼻液的含量控制方法。

关键词: 氧氟沙星; 麻黄碱; 含量测定; HPLC; 滴鼻液

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006-0103(2005)04-0345-03

Content determination of Ofloxacin Ephedrine nose drops

LIU Ying, CUI Chun-ying

(Henan Provincial Institute for Drug Control, Zhengzhou, 450003, China)

Abstract: **OBJECTIVE** To determine the content of Ofloxacin Ephedrine nose drops. **METHODS** HPLC method was adopted to determine Ofloxacin and Ephedrine simultaneously. The analytical column was Alltech Alltima C_{18} (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm), with column temperature of 35°C , mobile phase consisted of 0.05 mol L^{-1} ammonium acetate solution (pH 4.0) - acetonitrile (85:15), flow rate of 1.0 ml min^{-1} and detection wavelength at 254 nm. The detection sensitivity was 0.1 AUFS and the injected volume was $20 \mu\text{l}$. **RESULTS** The calibration curve for Ofloxacin was linear within the range of $1.5 \mu\text{g ml}^{-1}$ to 0.75 mg ml^{-1} ($r=0.9999$) and the average recovery was 101.2%. The calibration curve for Ephedrine was linear within the range of $5 \mu\text{g ml}^{-1}$ to 2.5 mg ml^{-1} ($r=0.9999$) and the average recovery was 101.4% with RSD of 0.5%. **CONCLUSION** The method is simple, rapid, accurate and reproducible, and can be used for the drug control.

Key words: Ofloxacin; Ephedrine; Content determination; HPLC; Nose drops

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2005)04-0345-03

氧氟沙星麻黄碱滴鼻液为复方制剂, 用于治疗急慢性鼻炎。现行标准用紫外分光光度法测定氧氟

沙星的含量, 无麻黄碱含量测定项目。由于麻黄碱用量较大, 且为限量用药, 对疗效有影响。因此, 特

作者简介: 刘英, 女, 硕士, 副主任药师, 从事药品检验工作, E-mail: yingleaf@263.net

采用 HPLC 法同时测定氧氟沙星与麻黄碱的含量,方法快速、简便,精密度好,灵敏度高,可作为氧氟沙星麻黄碱滴鼻液的含量控制方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Waters 2695 - 2996 色谱分析系统、Empower 色谱工作站(美国 Waters 公司)。氧氟沙星、盐酸麻黄碱对照品(中国药品生物制品检定所);氧氟沙星麻黄碱滴鼻液(河南省人民医院,批号:031229、040128、040302);乙腈(Merck 公司)为色谱纯;其余试剂为分析纯。

1.2 方法与结果

1.2.1 色谱条件

Alltech Alltima C₁₈柱(5 μm, 250

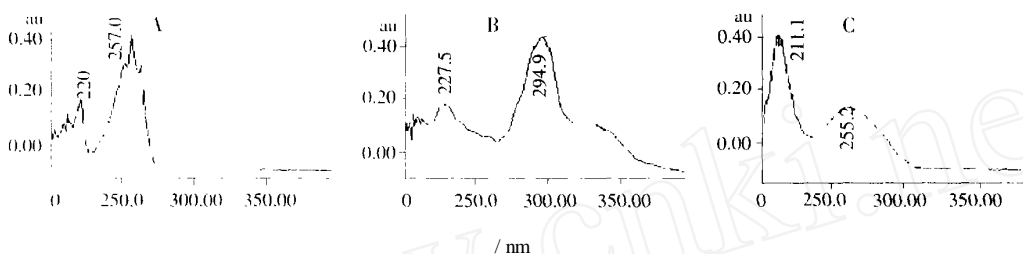


图1 HPLC 洗提液中麻黄碱(A)、氧氟沙星(B)及其杂质(C)的二极管阵列光谱图

Fig 1 DDA spectra for Ofloxacin (A), Ephedrine (B) and impurity (C) in HPLC eluate

mm ×4.6 mm);柱温 35 °C;流动相为 0.05 mol L⁻¹ 醋酸铵溶液(醋酸铵 3.8 g,冰醋酸 3.0 ml,加水至 1 × 10³ ml,用三乙胺调 pH 4.0) - 乙腈(85/15);流速 1.0 ml min⁻¹;检测波长 254 nm;检测灵敏度为 0.1 AUFS,进样量 20 μl。

mm ×4.6 mm);柱温 35 °C;流动相为 0.05 mol L⁻¹ 醋酸铵溶液(醋酸铵 3.8 g,冰醋酸 3.0 ml,加水至 1 × 10³ ml,用三乙胺调 pH 4.0) - 乙腈(85/15);流速 1.0 ml min⁻¹;检测波长 254 nm;检测灵敏度为 0.1 AUFS,进样量 20 μl。

1.2.2 检测波长的确定 取氧氟沙星与麻黄碱对照品,加流动相溶解并制成含氧氟沙星与麻黄碱分别约为 0.3 mg ml⁻¹与 1.0 mg ml⁻¹的溶液,进样 20 μl,记录二极管阵列光谱图,结果氧氟沙星在 295 nm 处有最大吸收,麻黄碱在 257 nm 处有最大吸收,杂质在 256 nm 处有最大吸收(图 1)。为了兼顾氧氟沙星与麻黄碱的检出,并同时制剂中的杂质进行控制,选择 254 nm 为测定波长。

1.2.3 流动相的 pH 值对色谱分离的影响 精密称取氧氟沙星、麻黄碱对照品,加流动相溶解并制成含氧氟沙星与麻黄碱分别约为 0.3、1.0 mg ml⁻¹的溶液,进样 20 μl,记录色谱图。
以 0.05 mol L⁻¹ 醋酸铵溶液(醋酸铵 3.8 g,冰醋酸 3.0 ml,加水至 1 × 10³ ml,用三乙胺调节 pH 4.0) - 乙腈(85/15)为流动相,改变水相的 pH 值,考察流动相的 pH 值对氧氟沙星、麻黄碱色谱行为的影响。结果表明,流动相 pH 值对麻黄碱的保留时间影响不大。流动相的 pH 越小,氧氟沙星在色谱柱中的保留时间越短;流动相 pH 值偏大(4.5)或偏小(3.5),氧氟沙星、麻黄碱的分离度与柱效均降低;流动相 pH 4.0 时,两者的分离度与柱效达到最佳。综合考虑氧氟沙星、麻黄碱的分离度与柱效,选择流动相的 pH 值为 4.0(表 1)。

1.2.4 流动相中缓冲盐浓度对色谱分离的影响 同“1.2.3”项,改变水相的缓冲盐浓度,考察其对氧氟沙星、麻黄碱色谱行为的影响。结果表明:流动相的缓冲盐浓度小,氧氟沙星、麻黄碱的分离度与柱效逐渐减小,保留时间变化不大;缓冲盐浓度为 0.05 mol L⁻¹时,分离度最佳。缓冲盐浓度的降低可能引起流动相缓冲能力不足,导致 pH 不稳定,影响分析

表 1 流动相的 pH 值对麻黄碱与氧氟沙星色谱峰行为的影响

Table 1 The influence of mobile phase pH of the HPLC chromatogram of Ephedrine and Ofloxacin

pH	Retention time/ min		Resolution	Plate count/ n	
	Ephedrine	Ofloxacin		Ephedrine	Ofloxacin
3.5	4.7	7.7	9.7	5.529 × 10 ³	6.656 × 10 ³
4.0	4.8	8.5	11.5	5.537 × 10 ³	7.388 × 10 ³
4.5	5.0	9.3	8.7	2.236 × 10 ³	5.623 × 10 ³

系统的重复性;增加缓冲盐浓度,又导致柱压与柱流失增加。为了保证良好的分离度、柱效并保护色谱柱,选择流动相浓度为 0.05 mol L⁻¹(表 2)。

表 2 流动相中缓冲盐浓度对麻黄碱与氧氟沙星色谱峰行为的影响

Table 2 The influences of salt concentration in the mobile phase on the HPLC chromatogram of Ephedrine and Ofloxacin

Concentration of salt in buffer solution/ mol L ⁻¹	Retention time/ min		Resolution	Plate count/ n	
	Ephedrine	Ofloxacin		Ephedrine	Ofloxacin
0.01	4.8	8.9	12.1	5.123 × 10 ³	7.361 × 10 ³
0.05	4.9	9.4	12.7	4.555 × 10 ³	7.870 × 10 ³
0.02	4.6	9.3	8.7	1.637 × 10 ³	3.624 × 10 ³

1.2.5 流动相的乙腈浓度对色谱分离的影响 流动相的其他条件不变,只改变流动相的乙腈浓度,考察氧氟沙星与麻黄碱色谱峰行为的变化。结果表明,乙腈浓度增大(25%),色谱峰不能分离;若乙腈

浓度降低至10%以下,麻黄碱峰形变宽,柱效降低。为兼颜色谱峰的有效分离和提高分析速度,流动相的乙腈浓度选择为15%。

1.2.6 分析方法的专属性 在氧氟沙星与麻黄碱对照品的混合溶液(0.3 mg·ml⁻¹与1.0 mg·ml⁻¹)中加入8 mol L⁻¹氢氧化钠溶液、1 mol L⁻¹盐酸溶液进行降解。对水浴加热30 min与光照24 h的溶液进行检查,并用光电二极管阵列紫外检测器对其色谱峰和常规样品的色谱峰进行纯度分析。结果表明,麻黄碱与氧氟沙星主峰均为单一纯色谱峰,在“1.2.1”项的色谱系统下能将样品中的杂质与主组分有效地分离(图2)。

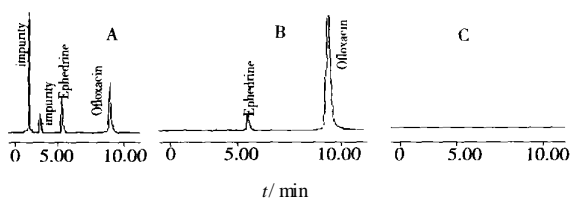


图2 麻黄碱与氧氟沙星降解(A)、常规样品(B)和空白辅料(C)的色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms of Ephedrine and Ofloxacin of being decomposed by sodium hydroxide (A), test sample (B) and excipients (C)

1.2.7 线性范围 精取氧氟沙星与麻黄碱对照品,加流动相稀释至下列浓度:麻黄碱0.005、0.025、0.250、0.500、1.000、1.500、2.500 mg L⁻¹;氧氟沙星1.5、7.5、75.0、150.0、300.0、450.0、750.0 μg L⁻¹。进样20 μl,记录色谱图,以峰面积与浓度进行线性回归,得回归方程为:Y_{麻黄碱} = 3.6626 × 10⁴X + 2.4750 × 10³ (r = 0.9999); Y_{氧氟沙星} = 1.4724 × 10⁶X + 7.2142 × 10⁴ (r = 0.9999)。说明麻黄碱与氧氟沙星浓度和峰面积的线性关系良好。

1.2.8 检测限和定量限 按信噪比3:1,麻黄碱检测限为41.1 ng、氧氟沙星为3.8 ng;按信噪比10:1,麻黄碱定量限为137.0 ng、氧氟沙星为12.5 ng。

1.2.9 精密度试验 在“1.2.1”项的色谱条件下,同日对同一样品溶液测定5次,麻黄碱和氧氟沙星的日内RSD分别为0.2%和0.2%。

1.2.10 重复性试验 取3个不同批号的样品,在“1.2.1”项的色谱条件下分别在3日内测定含量,氧氟沙星的日间RSD分别为0.2%、0.1%、0.2%;麻黄碱的分别为0.3%、0.2%、0.9% (n = 3)。

1.2.11 溶液的稳定性 取“1.2.1”项下溶液(0.3、1.0 mg·ml⁻¹),于室温下分别放置0、1、3、5、8 h,在

“1.2.1”项色谱条件下测定,麻黄碱峰面积的RSD = 0.5%;氧氟沙星峰面积的RSD = 0.4%,结果表明麻黄碱与氧氟沙星的峰面积在含量测定溶液中稳定。

1.2.12 准确度试验 精密称取麻黄碱对照品与氧氟沙星对照品,按处方加入辅料,再用流动相溶解并稀释至下列浓度:麻黄碱0.8、1.0、1.2 mg·ml⁻¹;氧氟沙星0.24、0.30、0.36 mg·ml⁻¹。各测定3次,测得麻黄碱的平均回收率为101.4%,RSD = 0.2%;氧氟沙星的为101.2%,RSD = 0.5% (n = 3)。

1.2.13 样品的测定 精密称取麻黄碱对照品与氧氟沙星对照品,加流动相溶解并制成含麻黄碱与氧氟沙星分别为1.0 mg·ml⁻¹与0.3 mg·ml⁻¹的溶液,作为对照品溶液;另精密吸取氧氟沙星麻黄碱滴鼻液适量,加流动相溶解并制成含麻黄碱与氧氟沙星分别为1.0 mg·ml⁻¹与0.3 mg·ml⁻¹的溶液,作为供试品溶液。分别精密吸取上述溶液20 μl注入液相色谱仪,在“1.2.1”项色谱条件下测定,用外标法以峰面积计算含量,结果见表3。

表3 氧氟沙星麻黄碱滴鼻液的含量测定结果(标示量%)

Table 3 The contents of Ofloxacin Ephedrine nose drops (labeled amount %)

Batch No.	Ephedrine	Ofloxacin
031229	106.4 %	99.3 %
040128	106.8 %	99.4 %
040302	107.1 %	99.4 %

2 讨论

氧氟沙星麻黄碱滴鼻液需要分别测定氧氟沙星与麻黄碱两个组份,文献^[1]采用HPLC法测定氧氟沙星的含量,采用酸碱滴定法测定麻黄碱的含量,也有文献采用离子对色谱法^[2]。我们在筛选色谱体系的基础上建立的氧氟沙星麻黄碱滴鼻液的含量分析方法,方法简便、专属性强、准确可靠,可同时测定两主成份的含量,因此,可作为其质量控制的分析方法。

分别采用TIANHE KromasilTM C₁₈与Alltech Alltima C₁₈柱在相同色谱条件下测定样品,均获得满意的分离与测定结果,重复性良好,表明方法通用性好,可推广使用。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典[S]. 二部. 北京: 化学工业出版社, 2000. 712
- [2] 费路华, 梁建英. 用HPLC法同时测定息喘灵中茶碱、盐酸麻黄素和异戊巴比妥的含量[J]. 药物分析杂志, 2001, 21(2): 132

收稿日期: 2005 - 01