

高效液相色谱法测定麻保沙星溶液的含 量

林仙军, 穆琳, 吕伟军, 周芷锦

(浙江省兽药监察所, 杭州 310020)

[收稿日期] 2013-01-23 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280(2013)06-0036-03 [中图分类号] R927.2

[摘要] 建立了高效液相色谱法测定麻保沙星溶液含量的方法。以 23% 甲醇溶液溶解并稀释成每 1 mL 中含麻保沙星 0.1 mg 的溶液作为供试品, 用十八烷基硅烷键合硅胶色谱柱, 以醋酸铵高氯酸钠溶液-乙腈(85:15, V/V) 为流动相, 检测波长 291 nm, 流速 1.0 mL/min, 柱温 40 °C, 进样量 10 μ L。结果表明, 麻保沙星溶液在 5 ~ 200 μ g/mL 范围内线性良好, 线性方程为 $Y = 4.6 \times 10^4 X + 3.64 \times 10^5$, $r = 0.9998$; 平均回收率为 98.3% ~ 100.3%, 批内变异系数为 0.4% ~ 1.0%, 批间变异系数为 0.4% ~ 0.9%。本方法准确、可靠, 适用于麻保沙星溶液的含 量测定。

[关键词] 麻保沙星溶液; 高效液相色谱法; 含 量测定

Determination of Principal Component Content in Marbofloxacin Solution by High Performance Liquid Chromatography

LIN Xian-jun, MU Lin, LV Wei-jun, ZHOU Zhi-jin

(Zhejiang Province Institute of veterinary Drug Control, Hangzhou 310020, China)

Abstract: To establish a high performance liquid chromatography method for determination of the content of marbofloxacin solution. The sample dissolved with 23% methanol solution and diluted to 0.1 mg/mL, and then assayed by HPLC. The separation used with ODS chromatography column, and ammonium acetate/sodium perchlorate solution and acetonitrile (85:15, V/V) was used as mobile phase. The detection wavelength was 291 nm, the flow rate was 1 mL/min, and the column temperature was 40 °C. The linear equation was $Y = 4.68 \times 10^4 X + 3.64 \times 10^5$, and correlation coefficient was $r = 0.9998$, as marbofloxacin at 5 ~ 200 μ g/mL. The average recoveries were 98.3% ~ 100.3%, the intra-assay coefficient of variation were 0.4% ~ 1.0%, and the inter-assay coefficients of variation were 0.4% ~ 0.9%. The results show that, this method is accurate, reliable and applicable to the determination of content of marbofloxacin solution.

Key words: marbofloxacin solution; HPLC; determination

麻保沙星 (Marbofloxacin, MBF) 是一种动物专用的新型氟喹诺酮类抗菌药^[1-2], 其化学名为 9-氟-2,3-二氢-3-甲基-10-(4-甲基-1-哌嗪)-7-氧-7H-吡啶-[3,2,1-ij][4,1,2]-苯并噁二嗪-6-羧酸, 分子式为 $C_{17}H_{19}FN_4O_4$, 分子量 362, 为第三代喹诺酮类药物, 由瑞士罗氏公

司研制, 并于 1995 年首次在英国上市, 目前仅批准作为宠物药使用于犬和猫。麻保沙星具有抗菌谱广, 抗菌活性强, 体内分布广泛, 耐受性好, 与其他抗菌药物无交叉耐药性等特征, 其生物利用度高, 毒性低, 较安全, 被列为动物专用药。目前, 测定麻保沙星含量的方法有高效毛细管电泳法^[3]、HPLC/MS

法^[4]和梅雪珍等报道的麻保沙星在羊体内的药物动力学^[5]以及黄显会等报道的麻保沙星在鸡体内的生物利用度及药物动力学^[6],均为测定血浆中麻保沙星残留的反相高效液相色谱法,未见使用HPLC法测定麻保沙星溶液的含量。为了制定科学合理的质量控制方法,研究建立了HPLC法测定麻保沙星溶液含量的方法,为麻保沙星溶液的质量监控提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器 Waters2695 高效液相色谱仪,配Waters2487 紫外检测器(美国 Waters 公司);TU-1810 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);XS-205 电子天平(Mettler 公司);SL502 N 电子天平(上海民桥精密科学仪器有限公司);DELTA 320 酸度计(Mettler 公司);KQ-500E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 主要试剂 乙腈,甲醇均为色谱纯,默克公司;磷酸为优级纯,浙江三鹰化学试剂有限公司;高氯酸钠为分析纯,上海市国药集团化学试剂有限公司;醋酸铵为色谱纯,SIGMA 公司;水为超纯水。

1.3 对照品和供试品 麻保沙星对照品,批号为R090501,含量为99.7%;麻保沙星溶液,规格为100 mL:2.5 g,批号为090201、090202 和 090203,均由浙江国邦制药有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 波长的选择 取麻保沙星适量,用甲醇溶解并稀释制成5 μg/mL 的溶液,在200~400 nm 波长范围内进行扫描。结果麻保沙星在291 nm 波长处有最大吸收(图1),故检测波长选择为291 nm。

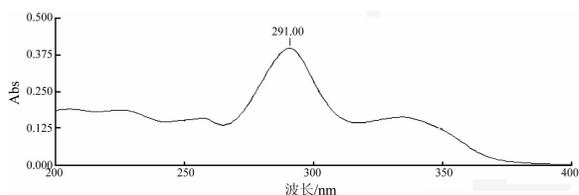


图1 浓度为5 μg/mL 麻保沙星对照品溶液紫外光吸收图谱

2.2 对照品溶液的制备 取麻保沙星对照品适量,用15%、23%、30%和40% 甲醇溶液超声溶解并稀释制成每1 mL 中含麻保沙星0.1 mg 的溶液,摇匀,作为对照品溶液。

2.3 麻保沙星供试品溶液的制备及稀释溶液的确定 精密量取麻保沙星溶液适量,用15%、23%、30%和40% 甲醇溶液超声溶解并稀释制成每1 mL 中含麻保沙星0.1 mg 的溶液,摇匀,作为供试品溶液。结果23% 甲醇溶液峰形最好,故选择23% 甲醇溶液作为稀释溶液。

2.4 色谱条件与系统适用性试验 用十八烷基硅烷键合硅胶色谱柱(Waters symmetry C18, 5 μm, 4.6 mm × 250 mm),以醋酸铵高氯酸钠溶液(取醋酸铵4.0 g 和高氯酸钠7.0 g,加水1300 mL 使溶解,用磷酸调节pH 值至2.2)–乙腈(85:15, V/V)为流动相,检测波长291 nm,流速1.0 mL/min,柱温40 °C,进样量10 μL。照2.2 项和2.3 项下的方法分别制备供试品溶液和对照品溶液,进样分析,色谱图见图2。

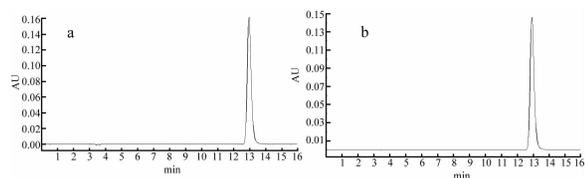


图2 麻保沙星色谱图(a、对照品 b、样品)

2.5 线性关系考察 取麻保沙星对照品适量,用23% 甲醇溶液超声溶解并稀释制成每1 mL 中含麻保沙星1 mg 的溶液,摇匀,作为对照品贮备液。分别取贮备液0.25、0.5、1、2、5、10 mL,置50 mL 容量瓶,用23% 甲醇溶液稀释至刻度,浓度分别为5、10、20、40、100、200 μg/mL,依照浓度由小到大的次序,按上述色谱条件进样分析,以系列标准溶液浓度为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线(图3),得线性方程 $Y = 4.68 \times 10^4 X + 3.64 \times 10^5$, $r = 0.9998$,结果表明麻保沙星在5~200 μg/mL 范围内线性关系良好。

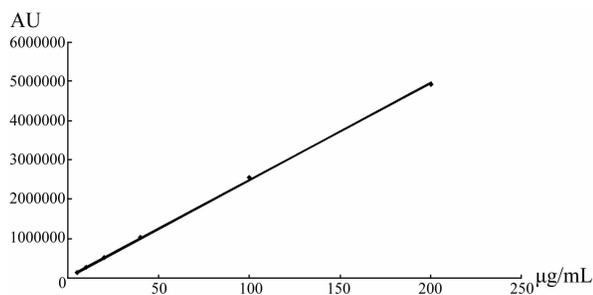


图3 麻保沙星标准曲线

2.6 精密度试验 取麻保沙星对照品溶液,按上述色谱条件重复连续进样6次,每次进样量为10 μL,测定峰面积分别为2556256、2514556、2537886、2535446、2516895和2527081, RSD为0.6%,表明此方法的仪器精密度符合要求。

2.7 稳定性试验 取批号为090201的麻保沙星溶液依法配制供试品溶液,分别于0、2、4、6、12和24 h进行测定,结果,麻保沙星溶液的含量分别为102.5%、102.3%、102.1%、102.0%、102.0%和101.8%, RSD为0.2%,表明供试品溶液稳定性

良好。

2.8 加样回收率试验 分别称取麻保沙星原料0.5101、1.2589和2.5145 g于50 mL量瓶中,用二甲基甲酰胺溶解并稀释至刻度,使成为10.20 mg/mL、25.18 mg/mL和50.29 mg/mL的加样样品,依法进行测定。每个浓度连续3 d,每次做5份平行样,计算测定浓度、批内变异系数和批间变异系数。结果,方法的平均回收率为98.3%~100.3%,批内变异系数为0.4%~1.0%,批间变异系数为0.4%~0.9%。结果见表1。

表1 加样回收率试验结果

添加浓度 (mg·mL ⁻¹)		测定浓度/%				平均回收率 /%	批内变异系数 /%	批间变异系数 /%
10.20	10.18	9.98	10.09	10.21	10.20	99.3	1.0	
10.20	10.18	10.08	10.05	10.12	10.19	99.3	0.6	0.4
10.20	10.21	10.25	10.20	10.15	10.14	99.9	0.5	
25.18	24.63	24.65	24.83	24.83	24.80	98.3	0.4	
25.18	25.05	24.95	24.93	24.75	24.83	98.9	0.5	0.5
25.18	25.08	24.98	24.93	24.80	25.05	99.2	0.4	
50.29	49.99	50.24	50.44	50.98	50.62	100.3	0.7	
50.29	50.03	50.04	49.86	49.18	49.38	98.8	0.8	0.9
50.29	49.54	50.32	49.84	49.79	50.29	99.3	0.6	

3 讨论与小结

由于企业所提供的麻保沙星原料有粉末状和颗粒状两种,检测过程中发现,在称样量接近和溶剂相同的情况下,粉末状的麻保沙星易溶解,而颗粒状的麻保沙星很难溶解,甚至不能溶解,但是,当把颗粒磨成粉末时,则易溶解。因此,在加样回收率试验中所加的麻保沙星为粉末状或颗粒磨成的粉状,以确保试验准确可靠。

本文建立了HPLC法测定麻保沙星溶液含量的方法,方法平均回收率为98.3%~100.3%,批内变异系数为0.4%~1.0%,批间变异系数为0.4%~0.9%。结果表明,该方法操作简便,结果准确、可靠,适用于麻保沙星溶液的含量测定。

参考文献:

[1] 邱银生,吴佳. 动物专用氟喹诺酮类药物研究进展简介[J]. 中国兽药杂志,1998,32(3):46-48.

[2] 王志强,陈杖榴. 动物专用氟喹诺酮为抗菌新药——麻保沙星[J]. 中兽医医药杂志,2001,20(4):38-41.

[3] 李志伟,崔哲,刘波,等. 高效毛细管电泳法用于麻保沙星的测定[J]. 河北科技大学学报,2011,32(1):75-77,81.

[4] 沈慧芳,张燕红,兰仁华,等. α-三连噻吩和麻保沙星的HPLC-MS分析[J]. 华南理工大学学报,2001,29(11):48-49.

[5] 梅雪珍,李引乾,庞利娜,等. 麻保沙星在山羊体内的药物动力学[J]. 西北农业学报,2009,18(3):38-41.

[6] 黄显会,陈杖榴,张淑婷,等. 麻保沙星在鸡体内的生物利用度及药物动力学[J]. 中国兽医学报,2002,22(3):279-281.

(责任编辑:陈希)