

# 高效液相色谱法检查巴洛沙星原料及片剂中有关物质

邢桂菊<sup>1</sup>, 王宝庆<sup>1</sup>, 王振坚<sup>2</sup>, 张瑞琦<sup>1</sup>, 杜平<sup>1</sup> (1. 牡丹江市药品检验所, 黑龙江 牡丹江 157011; 2. 牡丹江市自来水公司, 黑龙江 牡丹江 157011)

**摘要:**目的 建立测定巴洛沙星原料及片剂中有关物质的高效液相色谱法。方法 采用 C<sub>18</sub> 色谱柱(250 × 4.6mm, 5μm); 以 0.05mol/L 枸橼酸-乙腈(80:20, 用三乙胺调 pH 值为 7.5)为流动相; 检测波长 264nm。结果 巴洛沙星与其它杂质峰完全分离, 从而对其有关物质进行限量检查。结论 该法操作简便, 结果准确, 影响因素少。

**关键词:** 高效液相色谱法; 巴洛沙星; 有关物质

中图分类号: R917.730.1 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2006)02-0155-03

## HPLC determination of related substances in balofloxacin and tablets

XING Gui-ju<sup>1</sup>, WANG Bao-qing<sup>1</sup>, WANG Zhen-jian<sup>2</sup>, ZHANG Rui-qi<sup>1</sup>, DU Ping<sup>1</sup> (1. *Mudanjiang Institute for Drug Control, Mudangjiang 157011, China*; 2. *Water Supply Compang of Mudanjiang, Mudanjiang 157011, China*)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish an HPLC method for determination of related substances in balofloxacin material and tablets. **METHODS** A C<sub>18</sub> column(5μm, 4.6 × 250mm) was used with the mobile phase of 0.05mol/L citric acid-acetonitrile(80:20 adjust pH to 7.5 with triethylamine), the detection wavelength was 264nm. **RESULTS** Balofloxacin was separated from the related substances completely and the limit of the main impurity was analyzed. **CONCLUSION** The method is rapid, simple and accurate.

**KEY WORDS:** HPLC; balofloxacin; related substances

巴洛沙星是国内外正在进行深入研究的新颖、第四代喹诺酮类药物, 具有广谱抗菌活性, 能有效对抗革兰阳性和阴性菌、厌氧菌、衣原体及支原体等病原微生物。用于治疗呼吸系统和泌尿系统等感染性疾病。与许多抗菌药物间无交叉耐药性, 极具市场开发潜力。目前国内还未上市, 许多研究机构正在抓紧研究, 但其质控标准仍未出台。本实验利用 HPLC 对其有关物质进行定量检查, 获得了满意的效果。操作简便、快速、准确。

### 1 仪器与试剂

岛津 LC-10AT<sub>vp</sub> 高效液相色谱仪, SPD-10A<sub>vp</sub> 紫外检测器, N3000 色谱工作站, UV-210 紫外分光光度计。日本产 GR-202 型十万分之一电子天平。

巴洛沙星对照品、巴洛沙星原料、巴洛沙星片、中间体 A(北京某研究单位提供); 乙腈(色谱纯), 其他试剂均为分析纯。

**作者简介:** 邢桂菊, 1967 年 12 月 3 日出生; 毕业学院: 1991 年毕业于黑龙江省中医药大学; 职称: 副主任药师; 学历: 学士学位。联系电话: 0453-6527539-8115 手机: 13836372112

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱(C<sub>18</sub>, 250 × 4.6mm, 5μm); 流动相: 0.05mol/L 枸橼酸-乙腈(80:20, 用三乙胺调 pH 值为 7.5); 检测波长: 264nm; 柱温: 室温; 灵敏度: 0.50AUFS; 流量: 1.0 mL/min; 进样量: 20μL。

#### 2.2 检测波长、流动相及样品浓度的确定

**2.2.1 检测波长** 取巴洛沙星及中间体 A 各适量, 分别用流动相配成 0.01mg/mL 的溶液进行紫外扫描, 找到等吸收值对应的波长, 即 264 nm 左右、且为杂质 A 的最大吸收波长。在 264 nm 波长下两者的吸收值比值为 1.019, 因而采用 264 nm 为检测波长, 且选用“不加校正因子的主成分自身对照法”<sup>[1-2]</sup>测定有关物质。

**2.2.2 流动相** 巴洛沙星的分子结构决定其易溶于弱酸性的有机系统中, 经过多次摸索并调 pH 值, 确定以 0.05mol/L

枸橼酸-乙腈(80:20,用三乙胺调 pH 值为 7.5)为流动相,结果巴洛沙星与其有关物质均分离较好,既能保证峰形又使保留时间适中。

**2.2.3 样品浓度** 用流动相配成样品浓度为 0.3mg/mL 的溶液,经稀释 100 倍的自身对照液响应值适中,检出量达到要求,信噪比合适。

**2.3 专属性试验**

**2.3.1 空白试验** 取片剂空白辅料适量,置 50mL 量瓶中,加流动相溶解并定容,摇匀,滤过,精密量取续滤液 20 $\mu$ L 注入液相色谱仪,记录色谱图,结果无色谱峰。结果见图 1。

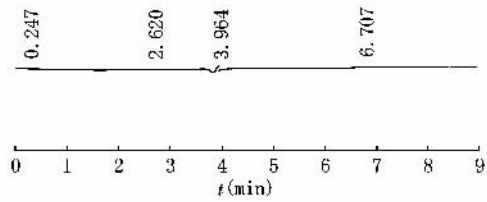


图 1 空白辅料图谱

**Fig 1 HPLC chromatogram**

**2.3.2 破坏性试验** 取本品适量,分别用盐酸、氢氧化钠、过氧化氢及在 105 $^{\circ}$ C 的环境下破坏,并放置 3h 后取出,加流动相稀释并定容至 10mL 量瓶中,摇匀,取 20 $\mu$ L 注入液相色谱仪,记录色谱图。结果:用强酸、强碱、高温破坏的,本品几乎未降解,各杂质峰均与巴洛沙星完全分离。用强氧化剂氧化的,本品部分降解,在 9.98 和 13.87min 处有杂质峰产生,各杂质峰均能与巴洛沙星峰完全分离。

**2.4 检出限与定量限**

**检出限:**取本品适量,加流动相制成每 1mL 中含 3 $\mu$ g 的溶液,取 20 $\mu$ L 注入液相色谱仪记录色谱图,此时的信噪比约为 3:1,即检出浓度为此浓度,结合有关物质检测浓度,可知,本品的检出限为 3ng。

**定量限:**以 S/N 约为 10 计,其定量限约为 10ng。

**2.5 重复性试验**

取同一批样品连续 6 份测定有关物质<sup>[3]</sup>,按巴洛沙星峰计,理论板数大于 5000,分离度在 2.5 以上, $n = 6$  RSD = 1.4%;同一个样品溶液连续进样 5 次,理论板数均大于 5000,分离度在 2.94, $n = 5$ ,RSD = 0.6%。结果见图 2。

**2.6 稳定性试验**

取巴洛沙星片 20 片,研细,精密量取适量,加流动相制成每 1mL 中含 0.3mg 的溶液,分别于 0, 2, 4, 6h 取此溶液 20 $\mu$ L 注入液相色谱仪,记录色谱图,结果表明,本品主峰与杂质峰在 4h 内均无显著变化,表明本品可在 4h 内检测。

**2.7 线性试验**

精密称取巴洛沙星对照品约 30mg,置 100mL 量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取适量,用流动相配制成 3, 45, 90, 150, 300 $\mu$ g  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 的浓度,照有关物质的测定方法测定,用峰面积 Y 对浓度 X 作线性回归后得:  $Y = 16\ 617\ 727.3X + 1\ 038\ 908$ ,  $r = 0.999\ 5$  结果表明:本品在 3 ~ 300 $\mu$ g  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 内峰面积与浓度呈良好的线性关系。

**2.8 回收率试验**

精密量取巴洛沙星对照品适量(相当于含标示量 80%, 100%, 120% 浓度水平,每个浓度取 5 份),按处方量分别加入各种辅料混合均匀,置 100mL 量瓶中,加流动相超声溶解并稀释至刻度,用滤膜(0.45 $\mu$ m)滤过,取续滤液 20 $\mu$ L 注入液相色谱仪,记录色谱图。平均回收率为 98.77% RSD 为 1.1% ( $n = 15$ )。

**2.9 有关物质的测定**

取巴洛沙星约 30mg(片剂取 20 片,研细),精密称定,置 100mL 量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液;精密量取 1.0mL,置 100mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照溶液。取对照溶液 20 $\mu$ L 注入液相色谱仪,调节仪器灵敏度,使主峰峰高约为满量程的 15%,再取供试品溶液 20 $\mu$ L 注入液相色谱仪,记录色谱图至主峰保留时间的 5 倍。结果见图 2, 3, 4。

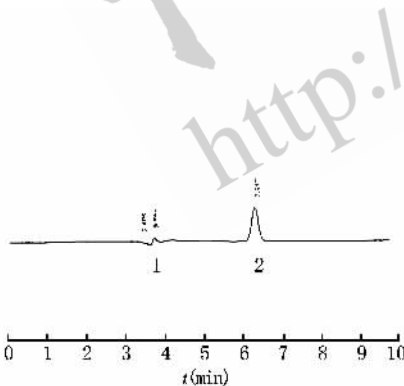


图 2 巴洛沙星对照品色谱图  
Fig 2 Chromatograms of balofloxacin standard

1. 辅料峰; 2. 对照品  
1. peak of adjuvant; 2. standard

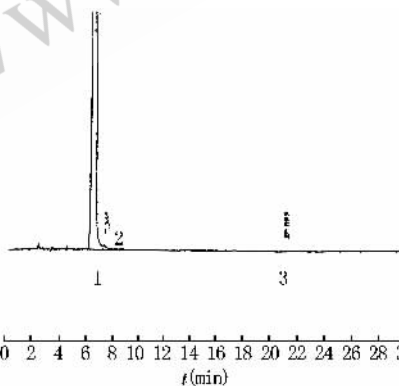


图 3 巴洛沙星供试品色谱图  
Fig 3 Chromatograms of balofloxacin sample

1. 巴洛沙星; 2. 有关物质; 3. 有关物质 A  
1. balofloxacin; 2. related substance  
3. related substance A

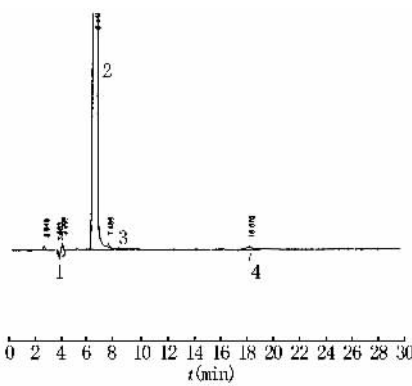


图 4 巴洛沙星片供试品色谱图  
Fig 4 Chromatograms of balofloxacin tablets

1. 溶剂峰; 2. 巴洛沙星; 3. 有关物质 B; 4. 有关物质 A  
1. solvent; 2. balofloxacin; 3. related substance B; 4. related substance A

原料:供试品溶液色谱图中除溶剂外,其各杂质峰峰面积之和不得大于对照溶液主峰峰面积的 1.0 倍(1.0%)。

片剂:供试品溶液色谱图中除溶剂外,其各杂质峰峰面积之和不得大于对照溶液主峰峰面积的 1.5 倍(1.5%)。

### 3 样品检测结果

取本品对照品和第三批原料及片剂,分别检测,结果见表 1。

### 参考文献

- [1] 中国药典 2000 年版二部[S]. 附录.
- [2] 凌大奎. 有关物质及其高效液相色谱测定法[J]. 中国药学杂志, 2000, 35(8):567.
- [3] 陈祖芬. HPLC 法检查盐酸雷尼替丁胶囊中有关物质[J]. 中国药品标准, 2002, 4(3):45.

收稿日期:2005-01-12

表 1 巴洛沙星中有关物质测定结果

Tab 1 Determination results of related substance in balofloxacin

样 品	批 号	有关物质(%)
对照品	20031021	0.13
	20031103	0.11
	20031114	0.11
	20030925	0.19
片 剂	20031201	0.12
	20031203	0.10
	20031205	0.13
	20030925	0.18

注:三批供试品的有关物质均 <0.5%

Note: The content of related substance of three batches of samples was under 0.5%