

HPLC 测定氟康唑莫西沙星眼用即型凝胶的含量

吴明钊¹, 沈秀微¹, 林洁¹, 谢丽晓¹, 黄鹏¹, 易林高¹, 林思思² (1.温州医学院附属第三医院, 浙江 瑞安 325200; 2.温州医学院, 浙江 温州 325000)

摘要: 目的 建立高效液相色谱法测定氟康唑莫西沙星眼用即型凝胶含量, 同时测定制剂中氟康唑、莫西沙星和羟苯乙酯的含量。方法 采用 ODS-C₁₈ 色谱柱, 以三乙胺缓冲液-甲醇为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 260 nm。结果 氟康唑、莫西沙星、羟苯乙酯的线性范围分别为 25~250 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 9$, $n=6$), 25~250 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 9$, $n=6$), 2.5~25 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 7$, $n=6$), 平均回收率分别为 99.6%, 99.4%, 99.3%。RSD 分别为 1.23%, 1.20%, 1.17%。结论 本方法操作简便, 灵敏度高, 重复性好, 可用于该制剂的含量测定。

关键词: 高效液相色谱法; 含量测定; 氟康唑; 莫西沙星; 羟苯乙酯

中图分类号: R965.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2012)06-0534-03

Determination of Fluconazole and Moxifloxacin in Situ Forming of Eye Gel by HPLC

WU Mingchai¹, SHEN Xiuwei¹, LIN Jie¹, XIE Lixiao¹, HUANG Peng¹, YI Lingao¹, LIN Sisi² (1. The Third Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Rui'an 325200, China; 2. Wenzhou Medical College, Wenzhou 325000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for measuring the content of fluconazole, moxifloxacin and ethylparaben in situ forming of eye gel. **METHODS** ODS-C₁₈ column was used, triethylamine buffer-methanol as mobile phase, the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, detection wavelength was 260 nm. **RESULTS** The linear range of fluconazole, moxifloxacin and ethylparaben were 25–250 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 9$, $n=6$), 25–250 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 9$, $n=6$), 2.5–25 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 7$, $n=6$), the average recovery rates were 99.6%, 99.4%, 99.3%. The RSD were 1.23%, 1.20%, 1.17%. **CONCLUSION** The method is simple, accurate, sensitive and the reproductivity is good. It can be used for the determination of this preparation. **KEY WORDS:** HPLC; content determination; fluconazole; moxifloxacin; ethylparaben

氟康唑莫西沙星眼用即型凝胶是一种用于抗感染的眼用复方新制剂, 主要成份为三唑类抗真菌药氟康唑和第 4 代喹诺酮类抗菌药莫西沙星, 兼具抗真菌与抗细菌作用, 用于眼部真菌与细菌的混合感染。本实验拟建立该制剂的高效液相色谱含量测定方法, 同时测定氟康唑、莫西沙星和羟苯乙酯的含量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

BECKMAN-125 高效液相色谱仪(166 检测器,

美国贝克曼库尔特商贸有限公司); TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司); AB104-S 电子天平(梅特勒-托利多); PHSJ-4 型酸度计(上海雷磁仪器厂)。

1.2 试剂

氟康唑对照品(中国药品生物制品鉴定所, 批号: 100314-200503, 供含量测定用); 氟康唑(武汉市合中生化制造有限公司, 批号: 20101104, 含量: 99.30%); 盐酸莫西沙星对照品(精制, 武汉市合中生化制造有限公司, 批号: 101101, 含量:

基金项目: 温州市科技计划项目(Y20110193)

作者简介: 吴明钊, 男, 副主任药师 Tel: (0577)65866400 E-mail: wm9525@163.com

99.19%); 羟苯乙酯(广州汉普医药有限公司, 批号: 301011, 含量: 100.2%); 泊洛沙姆 407(巴斯夫化学公司, 批号: WPEF537B); 甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

2 处方与制备

2.1 处方

氟康唑 3.0 g, 盐酸莫西沙星 3.0 g, 泊洛沙姆 407 155 g, 羟苯乙酯 0.3 g, 氯化钠 2.4 g, 注射用水加至 1 000 mL。

2.2 制备

①取注射用水约 400 mL, 将泊洛沙姆 407 均匀撒于水面上, 置冰箱中冷藏过夜, 完全溶胀后得澄明溶液 A。②取约 400 mL 注射用水加热至 90 ℃左右, 分别加入氟康唑, 羟苯乙酯, 搅拌溶解, 稍后加入盐酸莫西沙星、氯化钠, 溶解, 滤过, 得溶液 B。③将溶液 B 缓慢倒入溶液 A 中, 轻轻搅拌混匀, 加水至全量, 搅匀, 分装, 100 ℃流通蒸汽灭菌 20 min, 即得。

3 方法与结果

3.1 检测波长的确定

配制一定浓度的氟康唑、盐酸莫西沙星和羟苯乙酯溶液, 在 200~400 nm 内分别进行扫描。根据 3 种溶液紫外图谱, 选择 260 nm 为本复方制剂的检测波长。

3.2 含量测定

3.2.1 色谱条件 色谱柱: 依利特 Hypersil ODS-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 25 μm), 流动相: 三乙胺缓冲液^[1]pH 3.3(磷酸 8 mL, 三乙胺 14 mL, 加水稀释至 1 000 mL, 用三乙胺调节 pH 至 3.2, 加水 500 mL, 混匀, 即得。)-甲醇(58:42), 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 柱温: 25 ℃, 检测波长: 260 nm, 进样量: 20 μL。在以上色谱条件下, 本复方制剂的色谱图见图 1。

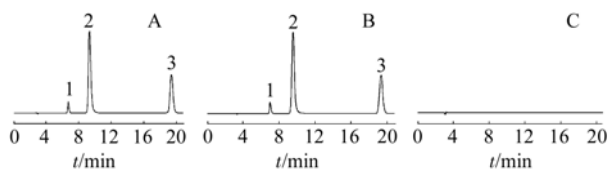


图 1 氟康唑莫西沙星眼用即型凝胶 HPLC 色谱图
A-对照品溶液; B-样品; C-空白样品; 1-氟康唑; 2-莫西沙星; 3-羟苯乙酯

Fig 1 HPLC chromatograms of the fluconazole and moxifloxacin in situ forming eye gel

A-reference standard; B-sample; C-negative sample; 1-fluconazole; 2-moxifloxacin; 3-ethylparaben

3.2.2 对照品溶液的制备 精密称取氟康唑对照品、盐酸莫西沙星对照品和羟苯乙酯, 以纯化水溶解, 定容, 每 1 mL 溶液含氟康唑 2.5 mg, 盐酸莫西沙星 2.5 mg, 羟苯乙酯 0.25 mg。

3.2.3 空白样品的制备 按处方配制不含氟康唑, 盐酸莫西沙星, 羟苯乙酯的凝胶溶液, 精密量取 0.5 mL 置 10 mL 量瓶中, 纯化水稀释至刻度, 摇匀, 进样, 色谱图见图 1。结果表明辅料对主药的含量测定无干扰。

3.2.4 凝胶样品的制备 按处方配制氟康唑莫西沙星眼用即型凝胶, 精密量取 0.5 mL 置 10 mL 量瓶中, 纯化水稀释至刻度, 摇匀, 进样, 色谱图见图 1。

3.2.5 线性实验 精密量取对照品溶液 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加入超纯水稀释至刻度, 摇匀, 按“3.2.1”项下色谱条件进样分析, 记录色谱图, 以浓度 C 对峰面积进行线性回归。得回归方程 A(氟康唑)=1 462.15C-1 992.89(r=0.999 9, n=6), A(莫西沙星)=16 630.24C-87 776.4(r=0.999 9, n=6)和 A(羟苯乙酯)=96 670.01C-66 193.6(r=0.999 7, n=6), 结果表明氟康唑、盐酸莫西沙星在 25~250 μg·mL⁻¹, 羟苯乙酯在 2.5~25 μg·mL⁻¹ 内有良好的线性关系。

3.2.6 精密度试验 精密量取“3.2.2”项下对照品溶液 0.5 mL 置 10 mL 量瓶中, 制成含氟康唑、莫西沙星、羟苯乙酯分别为 125, 125, 12.5 μg·mL⁻¹ 的溶液; 平行配制 6 份, 在 0, 4, 8 h 进行日内精密度考察, 结果 RSD 分别为 1.26, 1.24, 1.32%。于第 1, 2, 3 天分别测定, 每日测定 2 次, 日间 RSD 为 1.49, 1.23, 1.44%。

3.2.7 回收率试验 精密称取氟康唑、盐酸莫西沙星对照品及羟苯乙酯, 加在已知含量的氟康唑莫西沙星凝胶中, 制得高、中、低 3 种不同浓度的样品, 每一浓度平行配制 3 份, 按“3.2.1”项下色谱条件进行含量测定, 计算加样回收率, 平均回收率分别为 99.6, 99.4, 99.3%。RSD 分别为 1.23, 1.20, 1.17%。测定结果见表 1。

3.2.8 稳定性试验 精密量取对照品溶液 1.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 以“3.2.1”项下的流动相溶液稀释定容, 于 0, 2, 4, 6, 8 h 进样, 记录峰面积, RSD 为 0.68%。表明溶液在 8 h 内稳定。

3.2.9 测定方法的耐用性考察 ①取精密度试验项下的对照品溶液, 分别于 25 ℃和 30 ℃柱温条

表 1 回收率测定结果(n=3)

Tab 1 Results of recovery(n=3)

成分	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
氟康唑	100.1	99.33	99.23	99.6	1.23
	125.0	123.96	99.17		
	150.0	150.45	100.30		
莫西沙星	100.0	99.21	99.21	99.4	1.20
	124.9	124.43	99.62		
	150.0	148.90	99.27		
羟苯乙酯	10.15	10.12	99.70	99.3	1.17
	12.50	12.39	99.12		
	14.97	14.83	99.06		

件下进样, 25℃时氟康唑与莫西沙星分离较好, 羟苯乙酯在 19 min 时出峰, 30℃时氟康唑莫西沙星分离不佳, 需调整流动相比例。②取型号规格相同的两根色谱柱(依利特 Hypersil ODS 柱), 在相同的色谱条件下进样, 主药的出峰时间显著不同。③降低流动相中甲醇比例, 氟康唑与莫西沙星不能有效分离, 且羟苯乙酯出峰时间显著延长。

3.2.10 样品的含量测定 精密量取样品 1.0 mL 置 25 mL 量瓶中, 用纯化水稀释至刻度, 过滤, 按“3.2.1”项下色谱条件进样, 计算含量, 结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果

Tab 2 Results of sample determination

批号	氟康唑含量/%	莫西沙星含量/%	羟苯乙酯/%
20120201	100.65	97.94	97.04
20120202	98.31	96.83	96.25
20120203	99.34	96.45	96.77

4 讨论

4.1 波长的选择

紫外扫描结果表明氟康唑在 260 nm 处有最大吸收, 莫西沙星、羟苯乙酯分别在 291, 258 nm 处有最大吸收。由于氟康唑的吸光度相对较弱, 故选择氟康唑的最大吸收波长 260 nm 为检测波长, 在此波长处, 莫西沙星和羟苯乙酯均有较强吸收。

4.2 流动相的选择

选择磷酸盐缓冲液-乙腈、磷酸盐缓冲液-甲醇、磷酸三乙胺缓冲液-乙腈、磷酸三乙胺缓冲液-甲醇和三乙胺缓冲液(pH 3.3)-甲醇等流动相进行筛选, 结果表明三乙胺缓冲液(pH 3.3)-甲醇(58:42)较适宜。在此条件下, 各主要成份保留时间适当, 峰形对称, 各组份之间无干扰。

本方法对色谱柱、柱温及流动相的比例均有较高的要求, 改变其中的任一条件, 均需重新进行方法学的考查。氟康唑莫西沙星眼用即型凝胶是一种新型复方制剂, 本文建立的含量测定方法, 操作简便, 灵敏度高, 重复性好, 可用于该制剂的含量测定。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2010)Vol II (中国药典 2010 年版. 二部) [S]. 2010: Appendix 173.

收稿日期: 2011-12-20