

普卢利沙星片的质量标准研究

孙金娥¹, 陈红燕², 朱建军³, 贾红圣⁴

(1. 南京苏中药物研究有限公司, 江苏 南京 210016; 2. 太仓市农业技术推广中心, 江苏 太仓 215411;
3. 太仓市沙溪人民医院, 江苏 太仓 215421; 4. 健雄职业技术学院, 江苏 太仓 215411)

摘要:采用高效液相色谱法(HPLC)测定普卢利沙星片中普卢利沙星的含量及有关物质。使用紫外-可见分光光度法测量片剂溶出度,作为普卢利沙星片的质量控制标准的一种新方法。在片剂的含量测定中,3种浓度下回收率均良好,RSD=0.015%,空白辅料对主药测定无干扰。本品3批有关物质均小于1.0%;溶液浓度在(1~10)g/mL范围内,与吸光度值线性关系良好, $A=0.0978C+0.002$,相关系数 $r=1$ 。本品在45 min内容出量达85%以上。建立的普卢利沙星片的含量、有关物质和溶出度测定方法简便、快速、准确。

关键词:普卢利沙星片;质量控制;有关物质;溶出度;含量

中图分类号:TQ472.3

文献标识码:A

文章编号:1671-5322(2013)01-0052-04

普卢利沙星(Prulifloxacin)为日本新药公司和明治制果公司共同研制开发新型的喹诺酮类产品,片剂商品名为 Quisnon,于2002年10月在日本上市。该药为活性中间体 NM-394 的前药,口服后在体内转化为活性形式 NM-394。NM-394 在体内外均表现出广谱的抗菌活性^[1],不仅对革兰氏阴性菌有很好的抗菌作用,对革兰氏阳性菌、厌氧菌、支原体、衣原体以及分枝杆菌等有很好的抗菌作用,特别是对铜绿假单胞菌有很好的疗效,临床上主要用于慢性呼吸道感染、尿路感染、胆道感染、妇科感染、五官科及口腔科感染的治疗^[2]。普卢利沙星口服吸收良好,毒副作用小,几乎没有喹诺酮类药物潜在的光敏反应,耐受性好,反复给药在体内无蓄积性^[3]。本文采用高效液相色谱法(HPLC)测定普卢利沙星片中普卢利沙星的含量,并测定其有关物质的含量。片剂溶出度的测定方法采用桨法,选用紫外-可见分光光度法测定普卢利沙星的量,建立了其质量控制方法。

1 仪器及试剂

1.1 仪器

岛津 UV-2401PC 紫外可见分光光度计;岛

津 SPD-10A 高效液相色谱仪;RC-智能药物溶出仪(天津大学);岛津 LC-10ATVP 泵,岛津 SPD-10AVP 紫外多波长检测器。

1.2 试剂

普卢利沙星对照品(供含量测定用,批号:110119,南京苏中药物研究有限公司);普卢利沙星原料(批号:110218,自制);普卢利沙星片(批号110608、110611、110614,规格:100 mg/片,自制)。

2 方法与结果

2.1 性状

本品为淡黄色薄膜衣片,片芯为白色。

2.2 定性

采用 UV 吸收光谱最大波长(1)和 HPLC 保留时间(2)定性两种方法进行定性^[2]。

(1)取本品,加乙腈适量溶解,用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 溶液制成每 1 mL 中约含普卢利沙星 $4 \mu\text{g}$ 的溶液,在 274 nm 波长处有最大吸收。

(2)按照本品含量测定项下的方法记录色谱图,供试品溶液主峰的保留时间与对照品溶液主峰的保留时间一致^[4]。

2.3 溶出度检查

2.3.1 溶出介质的选择

收稿日期:2013-02-14

作者简介:孙金娥(1978-),女,江苏南京人,主要研究方向为药物质量标准。

因本品在水中几乎不溶,故以 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl 溶液作为溶出介质;由于本品的标示量为 100 mg ,而 UV 法含量测定的最佳浓度为 $5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,故选用 900 mL 溶剂量不影响测定。

2.3.2 空白干扰及波长选择实验

称取本品空白片粉末适量,用 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液配成浓度为 $2.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,过滤,取续滤液作为空白辅料供试液;另称取普卢利沙星原料 11.2 mg ,置 50 mL 量瓶中,用乙腈溶解后用 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液稀释至刻度,精密移取 1 mL 至 50 mL 量瓶中,用溶出液稀释至刻度,摇匀作为对照品溶液。取上述两种溶液,于 $200\sim400\text{ nm}$ 的波长范围内进行紫外光谱扫描。结果表明主药的最大吸收波长为 274 nm ,本品的辅料在该波长处,对测定无干扰,紫外法测定溶出度可行^[5]。

2.3.3 线性关系考察

精密称取对照品 25.3 mg 置于 250 mL 容量瓶中,加入 10 mL 乙腈振摇使其溶解后,加 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液稀释至刻度,分别取 $1,3,5,7,9\text{ mL}$ 置 100 mL 量瓶中,加 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液,在 274 nm 处分别测定吸光度,结果如表 1 所示,以吸光度 A 对浓度 C 进行线性回归,线性关系曲线见图 1,表明普卢利沙星浓度在 $(1\sim10)\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内有较好的线性,相关系数为 1。

表 1 线性关系试验结果

Table 1 Linear relationship test results

C/(g·mL)	1.012	3.036	5.06	7.084	9.108
A	0.102	0.298	0.495	0.697	0.892
线性	$A=0.0978C+0.002$				$r=1$

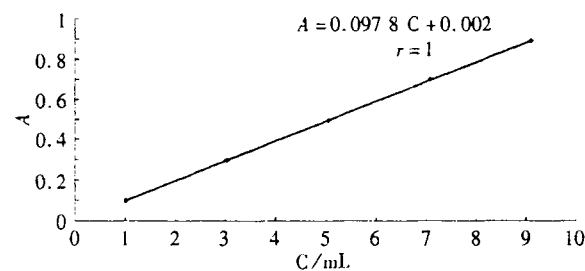


图 1 线性关系曲线
Fig. 1 Linear relation curve

2.3.4 普卢利沙星片溶出度测定转速的选择

照《中国药典》2010 年版附录 X C 第二法 - 桨法^[4],以 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl 溶液 900 mL 为溶出介质,分别采用不同转速: $50,75$ 和 100 r/min 进行试验,依法测定,分别计算普卢利沙星的溶出度,结果见表 2,可见桨法 100 r/min 的溶出度效果较好,故选用桨法 100 r/min 为测定方法。

表 2 不同转速测定结果 ($\bar{x}\pm\text{SD}\%$, $n=6$, UV 法)

Table 2 Different speed measurement results ($\bar{x}\pm\text{SD}\%$, $n=6$, UV method)

时间/min	桨法	桨法	桨法
	$50/\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$	$75/\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$	$100/\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$
5	11.11 ± 1.41	13.15 ± 1.82	17.18 ± 2.32
10	37.03 ± 1.10	44.15 ± 1.28	47.15 ± 1.39
20	46.15 ± 0.52	66.15 ± 0.75	80.21 ± 0.88
30	67.39 ± 2.19	75.42 ± 2.33	90.52 ± 2.90
45	70.29 ± 0.30	80.35 ± 0.35	99.45 ± 0.42
60	77.25 ± 0.71	86.42 ± 0.75	99.50 ± 0.83

2.3.5 溶出曲线的测定

取本品 (110608、110611、110614 批) 每批 6 片,按照上述溶出度测定的方法,分别在 $5,15,30,45,60\text{ min}$ 时取出溶液 5 mL ,并及时补入溶出液 5 mL ,滤过,在 274 nm 处测定吸光度。同时配制 $5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的普卢利沙星对照品溶液,同法测定。以外标法计算各时间普卢利沙星片的累积溶出量。结果表明本品在 45 min 内溶出量达 85% 以上,符合《中国药典》2010 年版附录 XC 中的规定。

2.3.6 样品溶出度测定

按照上述溶出曲线测定方法,测定了 3 批样品 (110608、110611、110614) 经 45 min 时的溶出度,结果 3 批样品在 45 min 内溶出量均达 85% 以上,显示溶出度良好。

2.4 有关物质含量的测定

2.4.1 色谱条件的选择

检测波长:取对照品的乙腈溶液在 $200\sim400\text{ nm}$ 范围内进行扫描,其对照品在 274 和 340 nm 处均有吸收,但其中间体在 340 nm 处没有明显吸收,故选择 274 nm 有关物质检查的检测波长。

流动相:采用常用的十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;在试验过程中,以保留时间、分离度、理论板数为指标,经改变流动相比例、盐的种类等,最终确定流动相为 $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的十二烷基磺酸钠和 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾溶液 (用三乙胺

调节 pH 值 7.0) - 乙腈(50:50)。保留时间:7.9 min;流速:1.0 mL · min⁻¹为佳。

测定法:取本品细粉 170 mg(相当于普卢利沙星 100 mg),精密称定,置 200 mL 量瓶中,加乙腈适量溶解,用流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液(每 1 mL 中约含 0.5 μg 的普卢利沙星);精密量取续滤液 1.0 mL,置 100 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照溶液(每 1 mL 中约含 5 μg 的普卢利沙星)。照含量测定项下的方法^[6],取对照溶液 10 μL 注入液相色谱仪,调节检测灵敏度,使主成分色谱峰的峰高为满量程的 20%;再取供试品溶液和对照溶液各 10 μL,分别注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的 2.5 倍,供试品溶液色谱图中如有杂质峰,各杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积(1.0%)。

2.4.2 方法的验证

2.4.2.1 空白辅料和溶剂的干扰试验

精密称取空白辅料适量,加乙腈溶解后,用流动相稀释配成每 1 mL 约含辅料 0.25 mg 的溶液,滤过,取续滤液,依法测定,空白辅料和溶剂在主峰保留时间处无杂质峰,表明其对本品测定无干扰。

2.4.2.2 破坏性试验

氧化破坏试验:取本品 1 片,加入 30% H₂O₂ 1 mL,室温放置 8 h,加乙腈溶解后,用流动相稀释配成每 1 mL 约含普卢利沙星 0.5 mg 的溶液。

酸破坏试验:取本品 1 片,加入 1 mol · L⁻¹ 盐酸溶液 1 mL,室温放置 8 h,并用 1 mol · L⁻¹ 的氢氧化钠溶液中和至中性,加乙腈溶解后,用流动相稀释配成每 1 mL 约含普卢利沙星 0.5 mg 的溶液。

碱破坏试验:取本品 1 片,加入 1 mol · L⁻¹ 氢氧化钠溶液 1 mL,室温放置 8 h,并用 1 mol · L⁻¹ 的盐酸溶液中和至中性,加乙腈溶解后,用流动相稀释配成每 1 mL 约含普卢利沙星 0.5 mg 的溶液。

热破坏试验:取本品 1 片,置具塞试管中,120 °C 烘箱中放置 8 h,加乙腈溶解后,用流动相稀释配成每 1 mL 约含普卢利沙星 0.5 mg 的溶液。

光照破坏试验:取普卢利沙星片一片,置具塞试管中,在 4 500 Lx 照度下照射 3 d,加乙腈溶解后,用流动相稀释配成每 1 mL 约含主药 0.5 mg 溶液。

分别取上述溶液,滤过,取续滤液,依法检查,结果在该色谱条件下,各种降解产物对主峰的检测无干扰,说明本法可用于普卢利沙星片有关物质和降解产物检查。

2.4.3 有关物质检查测定结果

取本品 3 批样品,按有关物质检查方法测定,结果本品 3 批有关物质均小于 1.0%。

2.5 含量测定

2.5.1 方法

色谱条件参见有关物质的检查方法。

测定法 取本品 20 片,精密称定,研细后,精密称取 35 mg(相当于普卢利沙星 25 mg),置 50 mL 容量瓶中,加乙腈适量溶解,用 0.1 mol · L⁻¹ HCl 稀释至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液 0.5 mL,置 50 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为供试液。精密量取 10 μL,注入液相色谱仪,记录色谱图。另取普卢利沙星对照液。按外标法以峰面积计算含量,即得。

2.5.2 方法的验证

2.5.2.1 系统适用性试验

用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;流动相为 0.01 mol · L⁻¹ 的十二烷基磺酸钠和 0.1 mol · L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(用三乙胺调节 pH 值 7.0) - 乙腈(50:50);流速 1.0 mL · min⁻¹;检测波长 274 nm。HPLC 图谱见图 2,由图可见,普卢利沙星主峰的理论板数为 6 580。

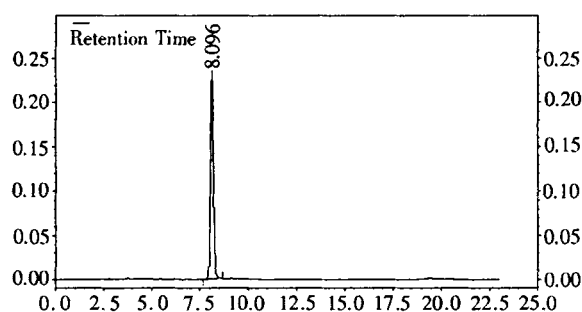


图 2 系统适用性

Fig.2 System applicability

2.5.2.2 回收率试验

精密称取 105 °C 干燥至恒重的普卢利沙星对照品约 20、25、30 mg(80%、100%、120%),分别置 100 mL 量瓶中,按处方比例分别加入空白辅料 10、12.5、15 mg,加乙腈溶解并稀释至刻度,取续滤液适量,加流动相稀释制成每 1 mL 含普卢利沙星 20 μg、25 μg 和 30 μg 的溶液,作为供试品溶

液;另取对照品溶液。分别精密量取上述溶液 10 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图。按外标法计算回收率,结果见表 3,3 种浓度下回收率均良好, $\text{RSD}=0.015\%$,表明空白辅料对测定无干扰。

表 3 回收率试验(HPLC 法)
Table 3 Recovery test(HPLC method)

	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%
80%	19.92	19.90	99.90	99.90
	20.09	20.07	99.90	
	19.95	19.92	99.85	
100%	24.92	24.72	99.20	99.92
	25.03	25.01	99.92	
	25.01	24.97	99.84	
	29.85	29.75	99.66	
120%	30.03	30.01	99.93	99.93
	30.15	30.08	99.77	

2.5.2.3 重复性考察

取本品(110608 批)20 片,准确称量,研细后,准确称量适量样品(相当于普卢利沙星 25 mg)3 份,精密称定,分别置 100 mL 量瓶中,加乙腈适量溶解,用流动相稀释至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液 1.0 mL ,置 10 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为供试液。精密量取 10 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图。按外标法以峰面积计算含量,其 RSD 为 0.77%,表明 HPLC 法测定的重复性良好,偏差较好。

2.5.2.4 线性与范围

取在 105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒重的普卢利沙星对照品适量,精密称定,加乙腈溶解后,用流动相制成每 1 mL 含 12.5、20.0、25.0、30.0、37.5 μg 的溶液,分别进样 10 μL ,记录色谱图,以浓度 C 为横坐标,峰面积 A 为纵坐标,经统计得回归方程为 $A=9.863\ 2C+3.390\ 1$, $r=0.999\ 8$,

结果表明普卢利沙星浓度在(12.5 ~ 37.5) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内线性良好。

2.5.2.5 溶液的稳定性

取供试液一份室温下放置 0 h、2 h、4 h 和 8 h 后进样,主峰面积的 RSD 为 0.29%。表明本品室温放置 8 小时稳定。

2.5.3 含量测定

取 3 批本品,按含量测定方法测定本品普卢利沙星的含量,按外标法以峰面积计算含量,测得 3 个批号样品的含量分别为 99.83%、101.03%、99.73%,均符合规定。

3 讨论

3.1 定性

采用 UV 吸收光谱最大波长(1)和 HPLC 保留时间(2)定性两种方法进行鉴别,本品在 274 nm 波长处有最大吸收,在含量测定项下记录的色谱图,供试品溶液主峰的保留时间与对照品溶液主峰的保留时间一致。

3.2 溶出度的测定

由于紫外-可见分光光度法快速方便,采用其来测试溶出度。结果溶液浓度与吸光度值在(1 ~ 10) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内线性良好, $A=0.097\ 8\ C+0.002$,相关系数 $r=1$ 。本品在 45 min 内溶出量达 85% 以上。

3.3 色谱条件的选择

卢利沙星含有羧基和碱性氮原子,可以在水溶液中解离,但单独用乙腈-水为流动相时色谱峰拖尾严重,对称性差,分离度低,而加上 0.01 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的十二烷基磺酸钠和 0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾溶液适量,即以 0.01 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的十二烷基磺酸钠和 0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾溶液(用三乙胺调节 pH 值 7.0)-乙腈(50:50)为流动相,分离效果即可改善,峰形也较好。

3.4 方法特点

对样品经酸、碱、高温、光照、氧化破坏后的色谱实验结果表明,本方法简便、快速,结果可靠,制剂中的辅料不干扰测定,可作为该制剂的质量控制方法。

参考文献:

[1] 王金生,宋慈媛. 新氟喹诺酮抗菌药 NM441[J]. 国外医药(抗生素分册),1996(3):99-102.
[2] 陈敏,周斌,魏大鹏. 高效液相色谱法测定普卢利沙星片的含量[J]. 药物分析杂志,2006,26(1):136-137.

Numerical Simulation of Hydraulic Characteristics about Orifice Plate Relief

QIAN Ling

(Yancheng Fire Technology Services Firm, Yancheng Jiangsu 224001, China)

Abstract: Orifice plate relief is indispensable in the fire protection system decompression facilities. It is important to design and calculate in fire protection system. The previous research of orifice plate relief was based on head loss formula about design manual. In this paper, the numerical simulation method were applied to discuss hydraulic characteristics about orifice plate relief. The results showed that with the increase of flow, pressure drop increased. The effect of pressure drop is obvious as lower d/D .

Keywords: orifice plate relief; numerical simulation; pressure drop

(责任编辑:沈建新)

(上接第 55 页)

- [3] 郝二军,张慧勇,李伟. 高效液相色谱法测定普卢利沙星片的含量[J]. 中国现代应用药学杂志,2006,23(2):162 - 164.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. II 部. 北京:化学工业出版社,2010.
- [5] 徐耀华,欧艳,马宁. 普卢利沙星胶囊的含量及有关物质的 HPLC 测定[J]. 湖南中医药大学学报,2010(8):21 - 23.
- [6] 陈蓓,张奇华,肖凯. 反相高效液相色谱法测定普卢利沙星的含量及有关物质[J]. 中南药学,2011(1):28 - 32.

Quality Research of Prulifloxacin Tablets

SUN Jine¹, CHEN Hong-yan², ZHU Jian-jun³, JIA Hong-sheng²

- 1. Nanjing Suzhong Pharmaceutical Research Co Ltd, NanJing Jiangsu 210016, China;
- 2. Taicang Agricultural Technology Promotion Center, Taicang Jiangsu 215411, China;
- 3. Shaxi people's Hospital of Taicang City, Taicang Jiangsu 215421, China;
- 4. Chien - shiung Institute of Technology, Taicang Jiangsu 215411, China

Abstract: To establish the quality standard for Prulifloxacin tablets. Methods: Utilizing high performance liquid chromatography (HPLC) to determine the content of Prulifloxacin and the relevant components in tablets. The measurement method of dissolution rate is UV - Vis spectrophotometry method. Results: In the content measurement, tablets of three concentrations all have good recovery rates, $RSD = 0.015\%$, blank materials have no impact on the determination of medicine. The relevant materials in 3 batches of the tablets were less than 1.0% . The concentration of the solution is in good linear with the absorbance value. In the range of $1 \sim 10$ g/ml, the linear equation is $A = 0.0978C + 0.002$, the correlation coefficient $r = 1$. In 45 min, this product dissolves more than 85% of the initial amount. Conclusion: The essay method and dissolution determination method are simple, quick and accurate. It could be applicable in quality control.

Keywords: Prulifloxacin tablets; quality control; related substances; dissolution; content

(责任编辑:沈建新)