

· 实验研究 ·

定量核磁共振氟谱法测定盐酸莫西沙星及其 3 种杂质对照品的含量

徐翊雯, 林晓宇, 袁汝欣, 王 青, 杨会英, 吴先富*

(中国药品检定研究院, 北京 102629)

[摘要] **目的:** 建立盐酸莫西沙星及其 3 种杂质对照品含量测定的定量核磁共振氟谱法。**方法:** 使用 Bruker Avance NEO 600 MHz 核磁共振波谱仪, 以 4,4'-二氟二苯甲酮为内标物, 氘代二甲基亚砜(DMSO- d_6) 为溶剂, zgig 脉冲程序, 32 次采样(NS), 采样时间为 2.88 s, 弛豫延迟时间(D1)为 10 s, 采集盐酸莫西沙星及其 3 种杂质(盐酸莫西沙星杂质 I、杂质 III、杂质 IV)对照品的核磁共振氟谱并进行定量分析。**结果:** 盐酸莫西沙星及其 3 种杂质对照品的定量峰与内标物 4,4'-二氟二苯甲酮的定量峰在核磁共振氟谱上分离度良好, 盐酸莫西沙星、杂质 I、杂质 III、杂质 IV 分别在 2.988 ~ 14.70、3.012 ~ 15.17、3.149 ~ 15.26、2.857 ~ 14.58 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好($r > 0.9994$), 测定精密度和重复性良好。定量核磁共振氟谱法与质量平衡法测定的含量结果基本一致。**结论:** 本文建立的盐酸莫西沙星及其 3 种杂质对照品含量测定的定量核磁共振氟谱法简便、快捷、准确性高, 为对照品的建立及含量测定提供了参考。

[关键词] 盐酸莫西沙星; 杂质; 对照品; 含量测定; 定量核磁共振氟谱法; 质量平衡法

[中图分类号] R917 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2026)19-2108-05

Determination of reference standards of moxifloxacin hydrochloride and its three impurities by quantitative fluorine nuclear magnetic resonance

XU Yi-wen, LIN Xiao-yu, YUAN RU-xin, WANG Qing, YANG Hui-ying, WU Xian-fu*

(National Institutes for Drug Control, Beijing 102629, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a quantitative fluorine nuclear magnetic resonance (qFNMR) method for the determination the content of reference standards of moxifloxacin hydrochloride and its three impurities. **Methods:** The fluorine nuclear magnetic resonance spectra of the reference standards of moxifloxacin hydrochloride and its three impurities (Impurity I, Impurity III, and Impurity IV) were collected using a Bruker Avance NEO 600 MHz spectrometer with 4,4'-difluorobenzophenone as the internal standard and DMSO- d_6 as the solvent. The spectra were acquired with the zgig pulse program, 32 scans (NS), an acquisition time of 2.88 s, and a relaxation delay time (D1) of 10 s, and quantitative analysis was performed. **Results:** The quantitative peaks of moxifloxacin hydrochloride and its three impurities were well separated from that of the internal standard 4,4'-difluorobenzophenone on the fluorine NMR spectra. Good linear relationships were obtained for moxifloxacin hydrochloride, Impurity I, Impurity III and Impurity IV in the ranges of 2.988 ~ 14.70, 3.012 ~ 15.17, 3.149 ~ 15.26, 2.857 ~ 14.58 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively ($r > 0.9994$). The precision and repeatability of the method were good. The content results determined by the qFNMR method were basically consistent with those obtained from the mass balance method. **Conclusion:** The established qFNMR method for the content determination of reference standards of moxifloxacin hydrochloride and its three impurities is simple, rapid, and highly accurate, thus providing a reference for the

[基金项目] 中国食品药品检定研究院中青年发展研究基金资助项目(2025C10)

[作者简介] 徐翊雯,女,助理研究员,研究方向:药品质量控制及标准物质研究。联系电话:(010)53852515,E-mail:xuyiwen@nifdc.org.cn。

[通讯作者] * 吴先富,男,研究员,研究方向:药品质量控制及标准物质研究。联系电话:(010)53852026,E-mail:wuxf99@163.com。

[DOI] 10.20251/j.cnki.1003-3734.2026.19.012

establishment and content determination of these reference standards.

[Key words] moxifloxacin hydrochloride; impurities; reference standards; content determination; quantitative fluorine nuclear magnetic resonance; mass balance method

盐酸莫西沙星是第4代喹诺酮类广谱抗菌药,主要作用机制为抑制DNA螺旋酶和拓扑异构酶Ⅳ从而阻止DNA的合成。相较于早期喹诺酮类抗菌药,盐酸莫西沙星抗厌氧菌、革兰氏阳性菌及衣原体、支原体等活性增强,同时耐药性和光毒性下降,临床应用中的适应证为社区获得性肺炎、急性鼻窦炎、慢性支气管炎等^[1-3]。盐酸莫西沙星为《中华人民共和国药典》2025年版新增品种^[4],现行《美国药典》^[5]、《欧洲药典》^[6]和《英国药典》^[7]均已收载,并规定了盐酸莫西沙星杂质Ⅰ、盐酸莫西沙星杂质Ⅲ和盐酸莫西沙星杂质Ⅳ多个特定杂质结构(见图1)和有关

物质的高效液相色谱检查法。文献报道盐酸莫西沙星的含量测定方法有紫外分光光度法^[8]、非水电位滴定法^[9]以及定量核磁共振氢谱法^[10-11]等。定量核磁共振法因无须引入校正因子、不需要特定的标准物质、操作简单、检测速度快等优势,被广泛用于药物对照品的含量标定^[12]。对于含氟的化学成分可以采用定量核磁共振氟谱法(quantitative fluorine nuclear magnetic resonance, qFNMR)进行含量测定。本文建立了盐酸莫西沙星及其3种杂质(杂质Ⅰ、杂质Ⅲ、杂质Ⅳ)对照品含量的定量核磁共振氟谱测定法,以为对照品的建立以及含量测定提供参考。

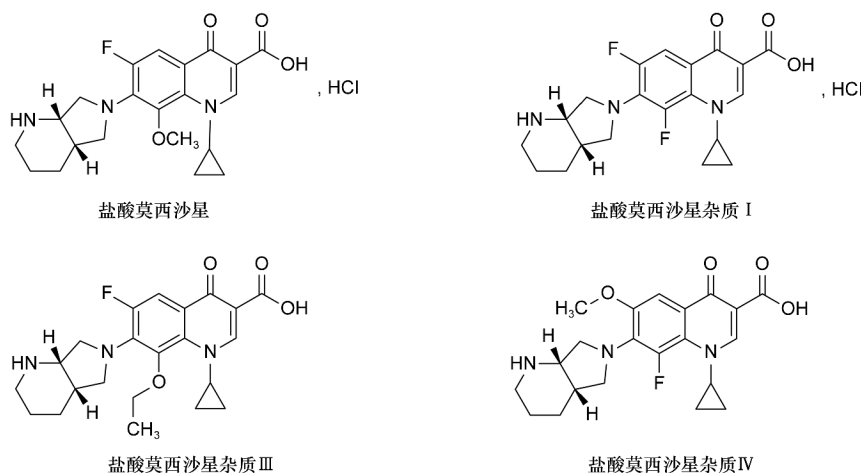


图1 盐酸莫西沙星及其3种杂质的化学结构式

材 料

1 仪器

Bruker Avance NEO 600 MHz 型核磁共振波谱仪(瑞士 Bruker 公司);MSA125P-1CE-DI 型电子天平(Sartorius 公司)。

2 试药

盐酸莫西沙星(批号:510140-202003,含量:95.6%)、盐酸莫西沙星杂质Ⅰ(批号:510074-202102)、盐酸莫西沙星杂质Ⅲ(批号:510076-202102)和盐酸莫西沙星杂质Ⅳ(批号:510190-202102)均购自中国食品药品检定研究院;4,4'-二氟二苯甲酮(LGC Labor GmbH 公司,批号:1017560,含量:99.1%);氘代二甲基亚砜(DMSO- d_6 , Cambridge Isotope Laboratories

公司,批号:PR-31973/06080DM1)。

方法与结果

1 供试品溶液配制

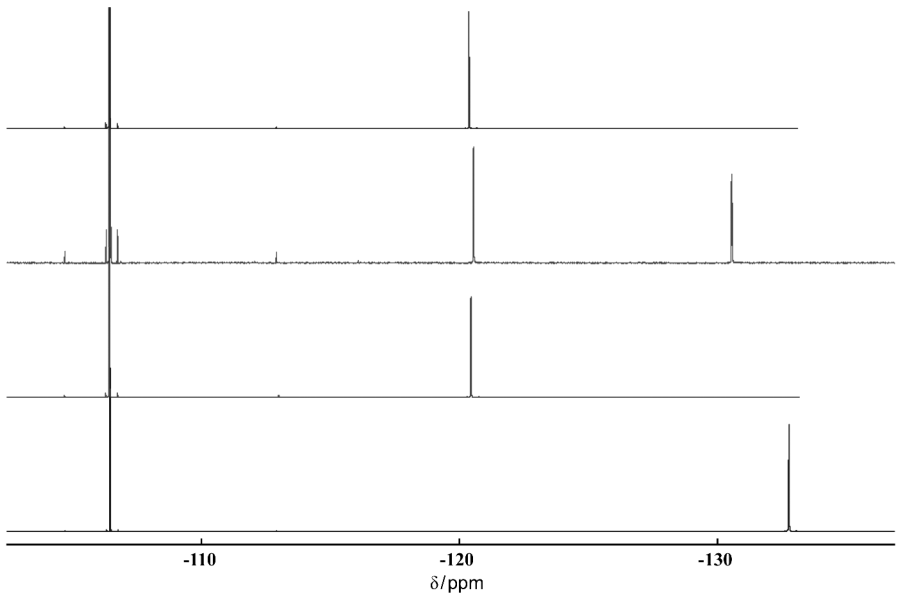
取盐酸莫西沙星、杂质Ⅰ、杂质Ⅲ和杂质Ⅳ各约10 mg,分别精密称定,各加入精密称定的内标物(4,4'-二氟二苯甲酮)约5 mg,加入DMSO- d_6 0.6 mL,振摇使完全溶解,将各溶液分别转移至5 mm 核磁管中备用。

2 核磁仪器参数

采用 zgig 脉冲程序:空扫(DS)4次;采样(NS)32次;采样时间(AQ)2.88 s;采样点数(TD)64 K;接收器增益(RG)32;弛豫延迟时间(D1)10 s。采集盐酸莫西沙星及其3种杂质(杂质Ⅰ、杂质Ⅲ、杂

质Ⅳ)对照品的核磁共振氟谱(见图2),选取氟谱图中化学位移-106.46处信号峰为内标物定量峰,化学位移-120.39处信号峰为盐酸莫西沙星的定量峰,化学位移-120.50和-130.55处信号峰为杂质

Ⅰ的定量峰,化学位移-120.42处信号峰为杂质Ⅲ的定量峰,化学位移-132.78处信号峰为杂质Ⅳ的定量峰。



A:盐酸莫西沙星;B:盐酸莫西沙星杂质Ⅰ;C:盐酸莫西沙星杂质Ⅲ;D:盐酸莫西沙星杂质Ⅳ

图2 盐酸莫西沙星及其3种杂质的核磁共振氟谱图(含内标物)

3 数据处理与定量核磁共振氟谱法计算

采用 Bruker TopSpin 4.1.3 软件进行数据处理,将采集到的氟谱进行傅里叶变换,然后对图谱进行基线校正和相位校正。对选定的内标物定量峰和样品定量峰进行积分,每个峰积分5次,取峰面积的平均值,计算公式如下:

$$P_s = \frac{M_s \times A_s \times N_r \times m_r}{M_r \times A_r \times m_s \times N_s} \times P_r \times 100\%$$
 式(1)

其中 P_s 、 P_r 分别为样品与内标物质量百分含量; M_s 、 M_r 分别为样品与内标物相对分子质量; A_s 、 A_r 分别为样品与内标物定量峰积分面积; N_s 、 N_r 分

别为样品与内标物定量峰包含的质子数; m_s 、 m_r 分别为样品与内标物称样量。

4 方法验证

4.1 线性 取盐酸莫西沙星、杂质Ⅰ、杂质Ⅲ、杂质Ⅳ,按照“1”项下方法,配制各样品浓度分别为3、5、8、10、12、15 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 及内标物浓度均为1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的系列溶液,按“2”项下条件测定各溶液的核磁共振氟谱。以样品与内标物的质量比为横坐标,样品定量峰与内标物定量峰面积比值为纵坐标,进行线性回归。结果见表1。

表1 盐酸莫西沙星及其3种杂质回归方程及线性范围

样品	线性方程	r	线性范围/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$
盐酸莫西沙星	$y = 0.246\ 1x + 0.003\ 0$	0.999 8	2.988 ~ 14.70
杂质Ⅰ	$y = 0.261\ 2x + 0.003\ 1$	0.999 9	3.012 ~ 15.17
杂质Ⅲ	$y = 0.263\ 8x + 0.004\ 0$	0.999 4	3.149 ~ 15.26
杂质Ⅳ	$y = 0.269\ 1x + 0.002\ 2$	0.999 6	2.857 ~ 14.58

4.2 精密度实验 取各样品,分别制备供试品溶液,按“2”项下条件测定,连续6次,以样品定量峰

面积与内标物定量峰面积的比值计算盐酸莫西沙星、杂质Ⅰ、杂质Ⅲ、杂质Ⅳ的相对标准偏差,RSD

($n=6$) 分别为 0.07%、0.02%、0.05%、0.02%。

4.3 重复性实验 取各样品,平行制备 6 份供试品溶液,按“2”项下条件进行测定,按式(1)计算样品

含量。结果表明,核磁共振氟谱法测定盐酸莫西沙星、杂质 I、杂质 III、杂质 IV 含量的结果重现性良好(见表 2)。

表 2 盐酸莫西沙星及其 3 种杂质测定结果

样品	含量/%						平均值/%	RSD/%
	1	2	3	4	5	6		
盐酸莫西沙星	96.81	96.30	96.05	95.98	96.42	96.43	96.16	0.27
杂质 I	97.67	98.01	98.03	97.82	97.75	97.42	97.78	0.23
杂质 III	99.01	99.15	98.97	98.96	99.20	99.05	99.05	0.10
杂质 IV	99.36	99.31	99.57	99.28	99.54	99.52	99.43	0.13

4.4 稳定性实验 取各样品,制备供试品溶液,按“2”项下条件于 0、4、8、12 h 分别进行测定,计算各样品定量峰面积与内标物定量峰面积比值的 RSD。盐酸莫西沙星、杂质 I、杂质 III、杂质 IV 的 RSD 结果分别为 0.06%、0.02%、0.27%、0.05%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

4.5 检出限和定量限 取上述各供试品溶液,测得盐酸莫西沙星、杂质 I、杂质 III、杂质 IV 的定量峰的信噪比(S/N)分别约 777、339、574、415;以定量峰 $S/N=3$ 估算,盐酸莫西沙星、杂质 I、杂质 III、杂质 IV 的检出限分别为 12、27、16、21 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;以定量峰 $S/N=300:1$ 计^[13],盐酸莫西沙星、杂质 I、杂质 III、杂质 IV 的定量限分别为 1.2、2.7、1.6、2.1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

5 定量核磁共振氟谱法与质量平衡法结果比较
根据质量平衡法,样品含量 = (100% - 干燥失重% - 炽灼残渣%) $\times$ HPLC 纯度,盐酸莫西沙星、杂质 I、杂质 III、杂质 IV 的含量采用质量平衡法与定量核磁共振氟谱法测定的结果基本一致(见表 3)。

物和内标物反应,而且在核磁共振氟谱中没有信号,不干扰样品及内标峰,符合溶剂的选择要求,因此本实验选择 $\text{DMSO-}d_6$ 作为定量核磁共振氟谱法实验溶剂。由于 4,4'-二氟二苯甲酮的化学性质稳定、纯度高、不与待测样品发生反应,且与盐酸莫西沙星及其 3 种杂质定量峰具有很好的分离,因此本实验选择 4,4'-二氟二苯甲酮作为定量核磁共振氟谱法的定量内标物。

2 定量峰的选择

内标物 4,4'-二氟二苯甲酮的 2 个氟原子为等价氟原子,选择化学位移 -106.46 处信号峰作为定量峰。盐酸莫西沙星的定量峰化学位移 -120.39。杂质 I 含有 2 个氟原子且不等价,其信号峰化学位移 -120.50 和 -130.55,本次含量测定选择化学位移 -120.50 和 -130.55 处信号峰作为待测物的定量峰。杂质 III 和杂质 IV 均含有 1 个氟原子,其定量峰分别为化学位移 -120.42 和 -132.78(见图 2)。

3 仪器参数的选择

弛豫延迟时间($D1$)是影响核磁定量峰面积准确性的重要参数, $D1$ 设定与纵向弛豫时间($T1$)直接相关, $D1$ 设定值通常不小于 5 倍的 $T1$ 值^[14]。采用反转恢复实验,测得盐酸莫西沙星、杂质 I、杂质 III、杂质 IV 和内标物定量峰在 $\text{DMSO-}d_6$ 溶剂中的 $T1$ 值为 0.19 ~ 1.44 s(见表 4),最终 $D1$ 值设定为 10 s。

表 4 盐酸莫西沙星及其 3 种杂质与内标物的 $T1$ 值

待测物/内标物	定量峰 $\delta/\times 10^{-6}$	$T1/\text{s}$
盐酸莫西沙星	-120.39	0.34
杂质 I	-130.55	0.19
杂质 I	-120.50	0.34
杂质 III	-120.42	0.39
杂质 IV	-132.78	0.20
4,4'-二氟二苯甲酮	-106.46	1.44

讨 论

1 溶剂与内标物的选择

由于 $\text{DMSO-}d_6$ 对盐酸莫西沙星及其 3 种杂质和 4,4'-二氟二苯甲酮都有很好的溶解性,不与待测



4 结论

本文建立了测定盐酸莫西沙星及其3种杂质对照品的定量核磁共振氟谱法,定量核磁共振氟谱法只对氟原子响应,谱图相对比较简单,各有关信号分离度好无重叠。建立的定量核磁共振氟谱法简便、快捷、准确性高,为盐酸莫西沙星及其3种杂质的含量测定提供了新的测定方法,也可作为上述成分对照品质量平衡法定值结果的有力佐证。

[参 考 文 献]

- [1] 张英,赵志刚,张杰. 莫西沙星——一种新的氟喹诺酮类药物[J]. 中国临床药理学杂志, 2002, 18(5): 396-400.
- [2] 卢定强,王维胞,凌岫泉,等. 新一代喹诺酮类盐酸莫西沙星的合成及应用研究进展[J]. 现代化工, 2014, 34(2): 33-37.
- [3] 李彧,车宝泉,李珉,等. HPLC法测定盐酸莫西沙星有关物质[J]. 中国抗生素杂志, 2023, 48(3): 300-307.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 2025年版. 二部. 北京: 中国医药科技出版社, 2025: 1316-1318.

- [5] 美国药典委员会. USP43-NF38[S]. 2020: 3032-3033.
- [6] 欧洲药典委员会. EP 11.0[S]. 2023: 3452-3454.
- [7] 英国药典委员会. BP 2025[S]. 2025.
- [8] 杜明权,李东,阳宇,等. 紫外分光光度法测定盐酸莫西沙星片的含量[J]. 中国现代药物应用, 2008, 2(2): 6-7.
- [9] 聂忠莉,李长生,唐雪枫,等. 非水电位滴定法测定盐酸莫西沙星含量的方法研究[J]. 基层医学论坛, 2013(31): 4084-4086.
- [10] 何雨,张雅军,谢晶鑫,等. 定量核磁共振氢谱法测定4种盐酸莫西沙星杂质对照品的含量[J]. 中国药学杂志, 2024, 59(12): 1151-1155.
- [11] 冯玉飞,吴先富,肖新月. ^1H 定量核磁共振波谱法测定盐酸莫西沙星及其杂质7-氨基莫西沙星喹啉羧酸的含量[J]. 中国新药杂志, 2021, 30(4): 357-361.
- [12] 吴先富,肖新月. 核磁共振波谱在药物领域中的应用[J]. 药物分析杂志, 2020, 40(11): 1905-1913.
- [13] HOLZGRABE U. Quantitative NMR spectroscopy in pharmaceutical applications[J]. *Prog Nucl Magn Reson Spectrosc*, 2010, 57(2): 229-240.
- [14] HE WY, DU FP, WU Y, *et al.* Quantitative ^{19}F NMR method validation and application to the quantitative analysis of a fluoropolyphosphates mixture[J]. *J Fluor Chem*, 2006, 127(6): 809-815.

编辑:姚佳敏/接受日期:2026-02-28