·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 mg·mL^{-1}范围内线性关系良好($r>0.999\ 4$),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 mg·mL^{-1}, respectively ($r>0.999\ 4$). 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，以期为对照品的建立以及含量测定提供参考。

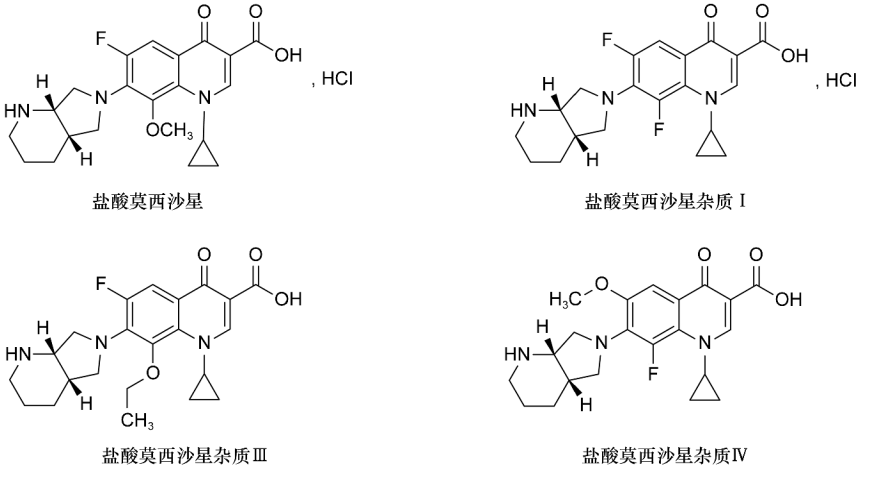


图 1 盐酸莫西沙星及其 3 种杂质的化学结构式

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

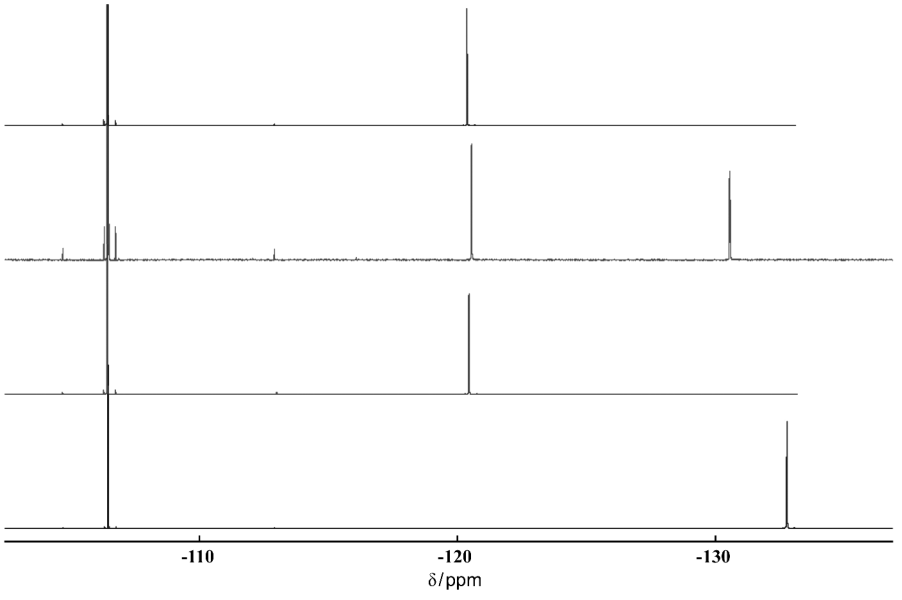
1 供试品溶液配制

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:

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

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 mg·mL^{-1}及内标物浓度均为1 mg·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/mg·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 μg·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 mg·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%)×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)。

表3 定量核磁共振氟谱法与质量平衡法结果比较

待测物	含量/%	
	定量核磁共振氟谱法	质量平衡法
盐酸莫西沙星	96.2	95.6
杂质Ⅰ	97.8	98.2
杂质Ⅲ	99.1	99.6
杂质Ⅳ	99.4	98.9

讨 论

1 溶剂与内标物的选择

由于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 δ/×10^{-6}	T1/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

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. ^{1}H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