

#### 四、讨论

硫酸妥布霉素注射液用旋光法和微生物检定法测定含量的结果非常接近,无显著差异( $P>0.05$ )。因本法操作简便、快速、重现性好,适用于医院、药厂进行批量生产时质量控制和快速分析。

实验表明:本法比较稳定,附加剂、温度、

时间及 PH 值等对旋光度测定基本没有影响。

#### 参考文献

- [1] USP, XXII. 1990. 1381~82
- [2] 中华人民共和国卫生部颁标准(试行) WS1-207~87
- [3] 中华人民共和国药典. 二部. 1990. 附录 17~18
- [4] 陈钧鸣, 徐玲娣编. 抗生素工业分析, 增订版, 北京: 中国医药科技出版社, 1991: 216~17

## 喹诺酮类药物分析方法概况

彭六保 李健和 陈孝治 龚建华

(湖南医科大学附二院药剂科 长沙 410011)

喹诺酮类药物抗菌谱广、抗菌作用强、使用安全,临床应用日益广泛。近年不仅为改善已有品种的欠缺致力于发展新品种方面取得重大进展,同时在药物剂型、检测手段及体内动态研究等方面也取得了一定成就。本文仅就第一代喹诺酮类药物萘啶酸,第二代吡哌酸,第三代氟哌酸原料药、制剂及体液的分析方法作一概述。

#### 1. 萘啶酸(Nalidixic Acid)

美国药典 22 版收载了萘啶酸及其片剂和口服混悬液。以二甲基甲酰胺为溶媒,中性百里酚酞为指示剂,0.1mol/L 甲氧化锂为滴定液对原料药进行了测定。其制剂测定采用对照品法,在 258nm 处测吸收值。中国药典 90 版也收载了萘啶酸及片剂,其含量测定均采用酸碱滴定法,溶媒为 0.1mol/L 氢氧化钠,指示剂为酚酞,滴定液为 0.1mol/L 盐酸。

Shingbal D. M. 等<sup>[1]</sup>将相当于 20mg 萘啶酸的片剂粉溶于甲醇,过滤,残渣用甲醇洗涤,滤液和洗涤液合并,加甲醇稀释至 50ml。往 5.0ml 该滤液中加 0.4ml 0.2% 磺胺, 2ml 2% 亚硝酸钠溶液, 0.4ml 2% 1-萘胺, 稀释至 10ml, 混合,在 100℃ 水浴上加热 10min。于 470nm 相对试剂空白测定吸收值。产物稳

定  $\leq 2\text{hr}$ , 20~200 $\mu\text{g/ml}$  的校正曲线为直线,回收率是定量的。Bhowal S. K. 等<sup>[2]</sup>角三氯化铁分光光度法测定了萘啶酸片,结果满意。Wu S. M. 等<sup>[3]</sup>用 5% OV-101/Chromosorb W AW DMCS (80~100 目)的 U 型玻璃柱(50cm $\times$ 3mm),氮作载气,50ml/min,以 8℃/min 从 245℃ 程序升温至 275℃ (保持 2min),火焰电离检测了片剂中萘啶酸。萘啶酸在 0.2~3 $\mu\text{mol}$  的响应呈线性,在 1.7 $\mu\text{mol}$  的回收率为 86%,所得结果与分光光度法十分一致。

萘啶酸已接近淘汰,有关其体内分析报道较少。Chan C. Y. 等<sup>[4]</sup>用吡哌酸(内标)处理 0.1ml 生物液体,然后于 55℃ 与 1mol/L 高氯酸 0.1ml 混合,离心后,以 Ultropac Lichrosorb Rp-18 柱高效液相色谱分析 10~50 $\mu\text{l}$  上清液,0.4mol/L 乙腈:柠檬酸(1:5)作流动相,于 340nm 检测了萘啶酸。

#### 吡哌酸(Pipemidic Acid)

我国已将吡哌酸列为国家基本药物之一,90 版药典上收载有原料药及片剂。原料药的测定采用非水滴定法,片剂的测定采用对照品法,0.04% 氢氧化钠为溶媒,在 273nm 波长处测吸收值。

买尔旦<sup>[5]</sup>报道了吡哌酸片的荧光分光光

度测定法,以 0.5mol/L 醋酸为溶剂,在  $E_x/E_m$  327/446nm 处测定荧光强度  $F$ ,从工作曲线上换算出浓度,从而求得含量。并与紫外分光光度法<sup>[6]</sup>比较,结果一致。Bergisadi N 等<sup>[7]</sup>建立了胶囊药物中吡哌酸的比色测定法,钱春梅等<sup>[8]</sup>在考察吡哌酸胶囊剂的溶出度及生物利用度时,用紫外分光光度法对其含量进行了测定,这两种方法简单易行,结果可靠。申庆亮等<sup>[9]</sup>研制了吡哌酸栓剂并采用紫外分光光度法对其含量进行了测定,1~6 $\mu\text{g}/\text{ml}$  浓度范围内呈线性相关,水溶性基质不干扰测定。张乃吉等<sup>[10]</sup>在考察吡哌酸片溶出度时,建立了吡哌酸血药浓度的高效液相色谱测定方法,流动相为甲醇:水:醋酸钠缓冲液(pH3.6)(37:28:37),检测波长 275nm,以非那西丁为内标,在 0.075~8.75 $\mu\text{g}/\text{ml}$  浓度范围内有良好线性关系,回收率为 98.08%,RSD 为 6.58%,日间及日内精密度分别为 7.80%和 7.26%,最小检出量为 90ng/ml。毛磊<sup>[11]</sup>对吡哌酸微囊体外溶出及人体内生物利用度进行了研究,建立了尿中吡哌酸浓度的高效液相色谱测定方法,流动相为甲醇:乙腈:0.02mol/L 磷酸二氢钾水溶液(100:100:120),检测波长 280nm,外标法定量。Telting-Diaz M 等<sup>[12]</sup>以悬汞滴电极,用线性扫描、差示脉冲和方波伏安法研究吡哌酸的电化学行为。人尿经 Seppak  $C_{18}$  固相萃取后以吸附溶出伏安法测定吡哌酸,线性范围为 2.5~200nmol/L。Tamer A<sup>[13]</sup>用差示脉冲极谱法测定了吡哌酸代谢物乙酰一、甲酰一、氧一吡哌酸的含量,其线性范围分别为 0.99~42.50、0.99~37.50 和 0.99~39.10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

### 3. 氟哌酸(Norfloxacin)

氟哌酸及制剂美国药典 22 版和中国药典 90 版均有收载,原料药的含量测定都采用高氯酸非水滴定,但前者的终点确定采用电位法,后者采用橙黄 IV 指示剂。片剂美国药典 XXII 版采用高效液相色谱法测定,流动相为 1/1000 磷酸液:乙腈(850:150),检测波长

275nm。氟哌酸胶囊中国药典 90 版采用非水滴定法。

张海澄等<sup>[14]</sup>用紫外分光光度法测定了氟哌酸的含量,溶媒为 0.05mol/L 氢氧化钠,测定波长 273nm,  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  为 1095。黄林清等<sup>[15]</sup>应用差示扫描电位法测定了氟哌酸的含量,并与紫外分光光度法进行了比较,结果表明,差示扫描电位法测定结果准确可靠、方法重现性好,既克服了常规酸碱滴定法不适用于酸碱太弱的药物的测定,又无非水滴定的刺激性,而且需要的设备简单,是弱酸弱碱性药物含量测定的又一新方法。

非水滴定法测定氟哌酸,一方面,用冰醋酸作溶剂,需用醋酐除去高氯酸和冰醋酸中的水,但氟哌酸易发生乙酰化反应,醋酐加入量需严格控制,故操作繁琐费时,且样品用量大。另一方面,指示剂橙黄 IV 的终点突跃随温度的升高而提早出现,会影响测定结果。李光秀等<sup>[16]</sup>和张君仁等<sup>[17]</sup>分别以 Gran 电位滴定和一阶导数光谱为手段,对上述两方面分别进行了改善。前者用氢氧化钠标准溶液滴定,滴定反应在 0.2mol/L 氯化钾水溶液中进行,测定结果与美国药典法一致。模拟胶囊回收率和标准加入回收率分别为 99.56%和 99.53%。后者以 0.1mol/L 盐酸作溶剂,定量信息为 264nm 波峰与 286nm 波谷之间的振幅,这不但能克服指示剂引起的误差,而且能消除胶囊中辅料对氟哌酸的干扰。本法操作简单、结果准确、重现性好,可作为药典方法改进的参考。

氟哌酸分子内含有一哌嗪基,可作为电子给予体,冯建章等<sup>[18]</sup>选对苯醌为电子接受体,研究了它们之间的荷移反应。实验表明,在乙醇介质中氟哌酸与对苯醌形成稳定的橙红色络合物,其  $\lambda_{\text{max}} = 490\text{nm}$ ,组成为 1:1,表现摩尔吸收系数  $\epsilon = 4.13 \times 10^3$ ,应用拟定的方法测定片剂中氟哌酸含量,获得满意结果。类似地,周旭光等<sup>[19]</sup>在 pH9.0~9.5 硼砂缓冲液中,以四氯对苯醌于 375.2nm 测定了药物中氟哌酸。

氟哌酸结构中碱性较强的仲胺基在酸性条件下,能与四苯硼钠 1:1 定量沉淀。据此沈向忠等<sup>[20]</sup>建立了四苯硼钠法测定氟哌酸及制剂,该法简单快速,取样量小,测定结果与药典法一致。

靳建中<sup>[21]</sup>鉴于喹啉类衍生物分子结构具有荧光特性,制订了测定胶囊药物中氟哌酸的荧光分光光度法。辅料对测定无干扰。拟定的条件(溶剂为 0.05mol/L 盐酸,Ex/Em 为 280/449nm)应用于样品测定与非水滴定法测得结果基本一致。

基于氟哌酸为两性化合物,分子中有三个氮原子和一个羧基,在适当的 pH 下,它可以与 H<sup>+</sup> 结合成阳离子,何献伟<sup>[22]</sup>选用酸性染料溴麝香草酚蓝与氟哌酸阳离子定量地结合成有色离子对络合物,用氯仿提取进行比色测定。虽本法专属性不强,但因氟哌酸较稳定,分解物少,线性关系和重现性良好,操作简便,可用于快速测定工作中。

Rao G. R. 等<sup>[23]</sup>用 3-甲基苯并噻唑啉酮-乙脞氢氧化物分光光度测定氟哌酸片,测定波长 630nm,1~20 $\mu$ g/ml 氟哌酸的校正曲线为直线,回收率 98.5~101%,RSD 为 0.11%。类似地,Bhowal S. K. 等<sup>[24]</sup>用三氯化铁分光光度法测定了氟哌酸制剂中的氟哌酸。

Sane R. T. 等<sup>[24]</sup>将含 400mg 氟哌酸的片剂溶于 0.1mol/L 氢氧化钠,用 2ml 萘啉酮酸(内标)的 0.1mol/L 氢氧化钠溶液处理,以流动相稀释至 10ml。用高效液相色谱分析 6 $\mu$ l 试液;采用  $\mu$  Bondapak C<sub>18</sub> 柱,以甲醇:水:乙二胺(300:100:1,pH6.5)作流动相(1.5ml/min)和于 271nm 检测。0.02~0.1mg/ml 氟哌酸的校正曲线呈直线,回收率是定量的。Rotar A. 等<sup>[25]</sup>则用聚(苯乙烯-二乙烯基苯)键合固定相稳定性指示高效液相色谱分析了氟哌酸片,以 8%乙酸水溶液:乙腈:甲醇:四氢呋喃(1720:228:39:13)为流动相,进样 20 $\mu$ l,于 Ex/Em 285/440nm 荧光检测时,10~48 $\mu$ g/ml 的响应为直线,日

内和日间的变异系数分别 <1.6% 和 <2% (n=5)。

Veber A. 等<sup>[26]</sup>报道了氟哌酸的差示脉冲极谱测定法,在 0.1mol/L 氯化钾中,诺氟沙星于 -1.56 和 -1.70 伏(相对于 SCE)出现还原峰。在宽浓度范围内校正曲线为直线,RSD 为 2~6%。

氟哌酸制剂除片剂、胶囊剂外,尚有滴眼剂、滴耳剂、注射剂、灌肠剂、糖浆剂等,其含量测定多采用紫外分光光度法。

Avinash N. 等<sup>[27]</sup>采用高效液相色谱的 ODS hypersil C<sub>18</sub> 柱,荧光检测器,Ex/Em 为 280/418nm,流动相为 25% 乙腈磷酸盐缓冲液(pH2.0),以十二烷基硫酸钠作离子对,溴化四丁基铵作反离子,吡哌酸为内标,测得入血浆中氟哌酸线性范围为 0.025~5 $\mu$ g/ml,保留时间为 7.8min,信噪比为 3 时,其检测限为 20ng/ml。目前大部分文献报道氟哌酸血药浓度测定方法采用荧光检测,为了能在一个更加通用的色谱系统中测定其血药浓度,许丹科等<sup>[28]</sup>建立了入血浆中氟哌酸含量的反相离子对高效液相色谱紫外检测测定方法。实验证明本法是可行的,以甲醇沉淀血浆中蛋白上清液浓缩进样。以 Nucleosil C<sub>18</sub> 为固定相,甲醇:0.008mol/L 磷酸盐缓冲液:0.5mol/L 四丁基溴化铵(25:75:4)为流动相,在 286nm 处测定,最低检出量为 20ng/ml,平均回收率为 98.63 $\pm$ 6.74%。

氟哌酸主要以原形由尿中排泄,给药后 48hr 尿中排泄率为 25~40%,故温元祥等<sup>[29]</sup>采用微生物法检定其尿药浓度,并对国产氟哌酸胶囊的药动力学进行了研究。Warlich R. 等<sup>[30]</sup>对经预处理过的血浆(10 $\mu$ l)和尿液(20 $\mu$ l)进行薄层色谱分析,乙醇:甲醇:水(11:6:1)作展开剂。干燥的平板浸入含 5% 石蜡的乙烷溶液-10% 柠檬酸的乙醇溶液(23:2),干燥后于 390nm 荧光扫描(313nm 激发)。血浆和尿分别 50~400ng/ml 和 1~100 $\mu$ g/ml 氟哌酸的校正曲线为直线。

总之,近十年来,喹诺酮类药物随着临床

应用的日益扩大和新剂型的研制成功,其检测手段也不断提高,特别是药物体内动态研究为临床合理用药提供了依据。

#### 参考文献

- [1] Shingbal D. M., et al. *Indian Drugs*, 1989; 26(10): 576-78
- [2] Bhowal S. K., et al. *Anal Lett.* 1991; 24(1): 25-27
- [3] Wu S. M., et al. *J Clin Chem Soc (Taipei)*, 1987; 34(1): 7-11
- [4] Chan C. Y., et al. *J Antimicrob Chemother.* 1989; 23(4): 597-604
- [5] 买尔旦. 荧光分光光度法测定吡哌酸片含量. *药物分析杂志*, 1991; 11(1): 53
- [6] 山东省药品标准. 1986; 376
- [7] Bergisadi N., et al. *Acta Pharm Turc.* 1987; 29(4): 117-20
- [8] 钱春梅, 陈学敏, 程新萍, 等. 紫外分光光度法测定吡哌酸胶囊剂的溶出度及生物利用度. *现代应用药学*, 1989; 6(5): 15
- [9] 申庆亮, 李健华, 马峰, 等. 吡哌酸栓的制备及含量测定. *中国医院药学杂志*, 1990; 10(3): 123
- [10] 张乃吉, 魏玲, 宋景政, 等. 吡哌酸片溶出度方法学的确立与研究. *药物分析杂志*, 1992; 12(2): 76
- [11] 毛磊, 张汝华. 吡哌酸微囊体外溶出及人体内生物利用度研究. *沈阳药学院学报*, 1993; 10(1): 67
- [12] Teting-Diaz M., et al. *Analyst (London)*, 1990; 115(9): 1215-17
- [13] Tamer A. *Acta Pharm Turc.* 1990; 32(4): 141-147
- [14] 张海澄. 紫外分光光度法测定诺氟沙星的含量. *药物分析杂志*, 1990; 10(1): 56-57
- [15] 黄林清, 徐传福, 等. 差示扫描电位法测定诺氟沙星的含量. *中国医院药学杂志*, 1993; 13(4): 168
- [16] 李光秀, 郑荣庆, 等. Gran 电位滴定法测定诺氟沙星及其胶囊的含量. *中国药学杂志*, 1992; 27(1): 24
- [17] 张君仁, 刘新泳, 庞华, 等. 诺氟沙星胶囊的一阶导数分光光度测定法. *中国医药工业杂志*, 1993; 24(9): 413
- [18] 冯建章, 童沈阳, 周旭光, 等. 荷移分光光度法测定诺氟沙星含量. *中国抗生素杂志*, 1992; 17(5): 359
- [19] 周旭光, 冯建章, 童沈阳, 等. 荷移反应及其在分析化学中的应用 III. 氟哌酸测定方法研究. *分析化学*, 1993; 21(2): 184-86
- [20] 沈向忠等. *药物分析杂志*, 1993; 13(2): 107, 115
- [21] 靳建中. 荧光分光光度法测定氟哌酸胶囊的含量. *药物分析杂志*, 1990; 10(6): 362
- [22] 何献伟. 离子对比色法测定氟派酸胶囊含量. *药物分析杂志*, 1992; 12(2): 107
- [23] Rao G. R., et al. *Indian Drugs*, 1989; 26(10): 580-81
- [24] Sane R. T., et al. *Indian Drugs*, 1989; 26(9): 497-99
- [25] Rotar A., et al. *Acta pharma Jugosl.* 1989; 39(2): 123-28
- [26] Veber A., et al. *Acta pharma Jugosl.* 1989; 39(4): 321-22
- [27] Avinash N., et al. *J pharm Sci*, 1990; 79(11): 988-91
- [28] 许丹科, 袁倚盛, 等. 反相离子对色谱法测定人血中氟哌酸. *药物分析杂志*, 1990; 10(5): 265
- [29] 温元祥, 王毅, 杨盛, 等. 诺氟沙星在健康人体内的药动学. *中国医院药学杂志*, 1992; 12(9): 416
- [30] Warlich R., et al. *Arzneim Forsch*, 1989; 39(6): 656-58

(上接 71 页)

39%靠氧维持。47 名新生儿在出院前死亡(其中 40 例伴有早产和 RDS),余下的存活新生儿平均入院治疗了 70.5d。估计监护成本为 52500 元/存活新生儿,24500 元/死亡新生儿(表面活化剂成本以 2000 元/新生儿计算除外)。

有意义的是,新西兰新生儿与其他 OSIRIS 人群相比,死亡率较低。很大一部分新西兰新生儿接受了产前留体(46%)和表面活化剂的治疗;因此研究者们认为这两个治疗的效果是有相加性的。

#### 国际 OSIRIS 试验的结论

根据 OSIRIS 试验发现,在高危险性新生儿中,出生后立即用表面活化剂的新生儿与得了 RDS 后再用表面活化剂的相比,死亡危险性和长期的氧依赖性都降低了。因此,新西兰研究者说“似乎早期给药的方案是有成本效果的”。而且给予 4 个剂量的表面活化剂并没有比给 2 个剂量的增加效果。

现在已有大量关于在新生儿重症监护中应用昂贵的高技术的文献,然而研究者认为:OSIRIS 试验的结果“必须代表急症药物中的较有成本效果的投资中的一种。”

[摘自 INPHARMA 1994,(945):7]