

毛细管电泳法快速测定洛美沙星*

范华均¹, 翟海云¹, 陈缙光², 黄宝美¹, 王建伟¹, 蔡沛祥¹

(1. 中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275;

2. 中山大学药学院, 广东 广州 510089)

摘要: 采用毛细管电泳高频电导法检测了洛美沙星。探讨了背景电解质溶液的种类、浓度、添加剂以及操作电压和进样时间等因素对分离的影响。选择 6.0 mmol/L 乳酸- $\varphi=5.0\%$ 乙醇为电泳介质, 分离电压 26.0 kV, 在 2.5 min 内可实现洛美沙星的分离检测。在优化条件下, 洛美沙星的线性范围为 5.0~120.0 $\mu\text{g/mL}$, 检出限达 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 。在该条件下, 胶囊中的辅料不干扰测定, 可成功测定胶囊中的洛美沙星, 方法快速、简便, 样品回收率 98.2%~101%。

关键词: 毛细管电泳; 高频电导检测; 非接触式电导检测; 洛美沙星

中图分类号: O657.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2005) 05-0049-04

洛美沙星 (Lomefloxacin) 是一新型长效含氟喹诺酮类抗菌药物, 其化学名称为 1-乙基-6, 8-二氟-1, 4-二氢-7-(3-甲基-1-哌嗪基)-4-氧代-3-喹啉羧酸盐, 结构见图 1。具有抗菌谱广、抗菌作用强、临床疗效好、口服易吸收、不良反应弱等特点。该药物含量的分析方法, 文献报道较多的有分光光度法^[1-3]、荧光法^[4]、化学发光法^[5]、间接原子吸收法^[6]、电化学法^[7]和高效液相色谱法^[8,9]等。高效液相色谱法和原子吸收法的所用仪器昂贵, 原子吸收法测定该药物的灵敏度并不高, 普通光度法对该药物的测定专属性不强, 干扰因素较多。有文献 [10-12] 采用毛细管电泳 (CE) 光学检测的方法测定了洛美沙星。与光学检测法相比, CE 电化学检测不存在光程受限问题, 具有装置简便易行、价廉、检测灵敏度较高的优点。毛细管电泳高频电导法, 即非接触式电导检测方法, 避免了电极与溶液直接接触, 有效地消除了分离电场对检测的干扰和电极中毒的问题, 电极寿命长, 仪器成本低, 检测灵敏度较高、使用非常方便, 可广泛用于荷电成分的检测^[13]。在弱酸性条件下, 洛美沙星带正电荷, 便于分离和电导检测, 本文首次采用毛细管电泳非接触高频电导法对洛美沙星胶囊中的有效成分进行了快速分析, 辅料不干扰测定, 方法简便易行, 与上述文献方法比较, 本方法简便、快速、准确、线性范围较宽、灵敏度较高。

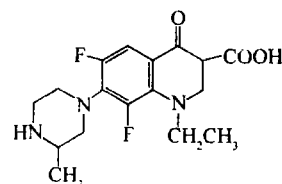


图 1 洛美沙星的结构

Fig.1 Structure of lomefloxacin

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

高压电源 (自制^[14]), 高频电导检测器 (自制^[13])。石英毛细管 (150 μm , id), 河北永年锐沅色谱器件有限公司生产。数据工作站, 中山大学化学与化学工程学院研制, 信号采集使用台湾 EVOC 出品的 PCL-711B 型 A/D 卡; 数据记录与处理在普通 P4 微机上完成。洛美沙星对照品 (中国药品生物制品检定所), 乙醇、柠檬酸、柠檬酸钠、乳酸、醋酸、醋酸铵、醋酸钠均为国产, AR; 所用水为去离子水经二次蒸馏。

洛威盐酸洛美沙星胶囊 (常州兰陵制药有限公司, 批准文号: 国药准字 H10950032 号)。

1.2 对照品溶液和样品溶液的制备

称取洛美沙星对照品 0.010 0 g, 加适量水溶解并定容于 10.0 mL 棕色容量瓶中, 得浓度 1.00 mg/

* 收稿日期: 2005-02-21

基金项目: 广东省自然科学基金重点资助项目 (021808)

作者简介: 范华均 (1963 年生), 男, 在职博士研究生; 通讯联系人: 陈缙光; E-mail: chenzz@gzsums.edu.cn

mL 的对照品溶液。

取洛美沙星胶囊 10 粒, 研细, 精密称取适量(约相当于洛美沙星 0.100 0 g), 用适量水溶解并定容于 100.0 mL 棕色容量瓶中, 摇匀, 过滤, 量取 1.00 mL 于 10.0 mL 棕色容量瓶中, 用水定容至刻度, 即得待测样品溶液。

1.3 实验方法

毛细管柱在使用前, 依次用 0.1 mol/L NaOH、H₂O 和运行缓冲液分别洗 15、5 和 5 min。采用重力虹吸方式进样, 进样高度 20.0 cm, 进样时间 10.0 s。分离电压 26.0 kV。检测器的输出信号经 A/D 卡转换, 由数据工作站采集到微机进行实时数据处理、图形显示和数据文件存储。实验在恒温(25 ℃)、恒湿(相对湿度 65%)的条件下进行。

2 结果与讨论

2.1 实验条件的优化

2.1.1 背景电解质溶液的选择 背景电解质溶液的组成和浓度直接影响待测物质的荷电状态, 对选择性、分离度和样品的检测灵敏度的影响明显, 是获得较好分离检测效果的关键。从洛美沙星结构式可以看出, 在酸性条件下, 结构中的叔胺基氮原子可以经质子化而带正电荷, 其迁移方向与电渗流的方向一致, 可在较短时间内得到分离。实验比较了醋酸-醋酸铵、醋酸-醋酸钠、柠檬酸-柠檬酸钠、醋酸-柠檬酸、乳酸等酸性背景电解质体系对分离效果的影响。结果发现, 醋酸-醋酸铵和醋酸-醋酸钠体系中, 洛美沙星峰形很差, 且峰展宽严重, 出峰较慢, 见图 2 (a); 柠檬酸-柠檬酸钠体系中, 洛美沙星峰形差, 灵敏度低, 出峰较慢, 见图 2 (b); 柠檬酸和醋酸体系中, 洛美沙星灵敏度有所改善, 但峰形不佳, 峰有拖尾, 且出峰较慢, 见图 2 (c)。实验证明在乳酸体系中, 洛美沙星出峰较快, 峰形较好, 检测灵敏度较高, 故实验选择乳酸作为分离背景电解质溶液比较理想。

在毛细管电泳中, 背景电解质溶液的浓度对分离和检测的效果有很大的影响。提高背景电解质溶液的浓度会适当提高分离度, 但过高的背景电解质溶液浓度条件下往往将产生较高的焦耳热而影响峰形和分析的重现性。实验优化了背景电解质乳酸的最佳浓度。用适量的乳酸储备液分别配制不同浓度乳酸的背景电解质体系, 考察了浓度为 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 和 10.0 mmol/L 的乳酸背景电解质溶液(对应的 pH 值依次为 4.1, 3.9, 3.7, 3.6 和 3.5)对分离检测效果的影响, 浓度小于 2.0 mmol/L 时, 峰形极差, 甚至出现畸形峰, 超过 6.0 mmol/L 后, 随着乳

酸浓度增加, 洛美沙星与水峰分离度逐渐加大, 但峰高降低, 基线噪音变大, 不利于测定。选择 6.0 mmol/L 作为最佳浓度, 在该条件下出峰较快, 检测灵敏度较高。

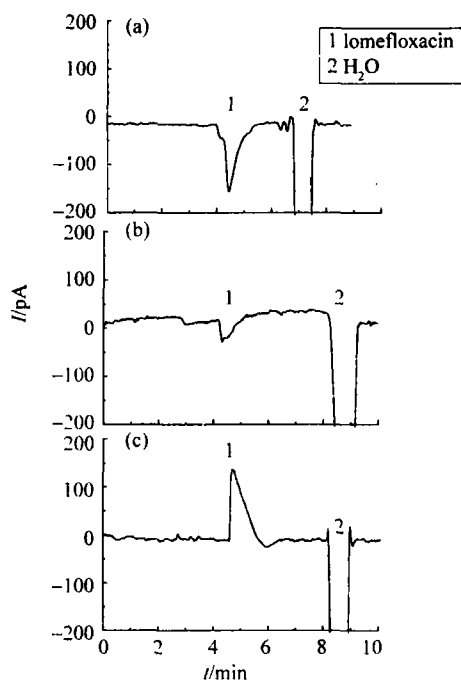


图2 洛美沙星在不同背景电解质溶液中的毛细管电泳图

Fig.2 Electropherograms of lomefloxacin standard in different kinds of electrolyte solutions

分离电压: 26.0 kV; 进样时间: 10.0 s;

进样高度: 20.0 cm; 背景电解质溶液:

(a) 6.0 mmol/L HAc - 3.0 mmol/L NaAc (pH = 4.8);

(b) 6.0 mmol/L 柠檬酸 - 3.0 mmol/L 柠檬酸钠 (pH = 3.8);

(c) 6.0 mmol/L 柠檬酸 (pH = 3.5)

2.1.2 有机添加剂的影响 添加适量的有机溶剂可以优化分离, 改善电渗流和提高检测灵敏度。实验选择乙醇作为有机溶剂添加剂, 考察了乙醇的加入比例对体系分离检测效果的影响。结果发现随着乙醇比例增加, 电渗流变小, 分离度增加, 但出峰延迟; 少量乙醇的加入的确可以提高灵敏度, 但较高比例乙醇的加入反而会导致体系检测灵敏度的降低, 过多有机溶剂的加入更会使得峰形变差, 拖尾严重。综合比较, 选择乙醇的体积比例为 5.0%。

2.1.3 分离电压、进样时间和进样高度的选择 分离电压对分离时间和分离效果通常有较大的影响。在一定范围内, 随着分离电压的增大, 组分迁移加快, 分析时间缩短, 分离度提高。实验考察了 14.0 ~ 30.0 kV 分离电压下的洛美沙星的迁移速度。结果表明, 较高的分离电压可以加快分析速度, 迁移时间随着分离电压的升高而缩短, 同时峰形变窄; 但过高的分离电压下, 电泳体系产生的热量增加, 引起

峰展宽,基线噪音变大等负面影响;如果分离电压过小,则会延长分析时间,达不到快速分离的目的。为了获得较高的分离效率,加快分析速度,综合考虑,选择分离电压为 26.0 kV,在该条件下,洛美沙星在 2.5 min 内即可获得很好的分离检测。

进样量的多少直接影响检测的灵敏度。在试验条件下,进样量同时受进样时间和进样高度影响。进样高度固定为 20.0 cm,在其它影响因素相同的条件下,比较了进样时间 5.0 ~ 20.0 s 的分离效果。结果表明,随着进样时间的延长,峰高及峰面积呈增大趋势。进样时间过长,导致区带展宽,峰拖尾严重,影响分离效果。10.0 s 后峰高的增加幅度不大,考虑选择进样时间为 10.0 s。进样时间固定为 10.0 s,考察进样高度为 10.0 ~ 30.0 cm 的分离检测效果,随着虹吸进样高度增大,进样量增大,峰高和峰面积也变大,分离效果变差。进样高度 20.0 cm 较为合适。

2.2 分析方法的有效性评价

2.2.1 最佳实验条件、线性范围 综上所述,实验选择的最佳条件为:毛细管总长 55.0 cm,有效长度 49.0 cm,分离介质为 6.0 mmol/L 乳酸 - $\varphi = 5.0\%$ C_2H_5OH (pH = 3.7),分离电压 26.0 kV,20.0 cm 位差虹吸进样 10.0 s。在优化条件下,洛美沙星对照品和胶囊样品溶液的毛细管电泳图见图 3(a)和图 3(b)。

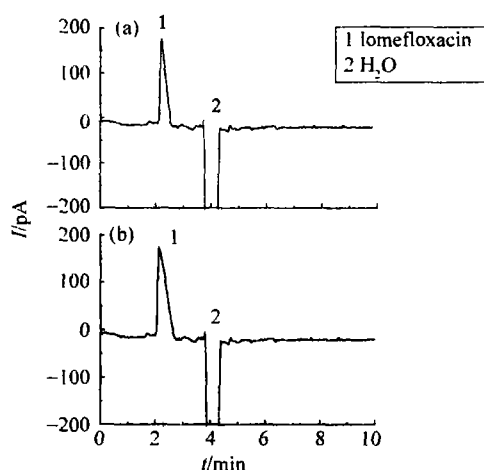


图3 洛美沙星对照品(a)和胶囊样品(b)溶液的毛细管电泳图

Fig.3 Electropherograms of lomefloxacin standard (a) and lomefloxacin capsules(b) solutions

分离电压: 26.0 kV; 进样时间: 10.0 s; 进样高度: 20.0 cm; 背景电解质溶液: 6.0 mmol/L 乳酸 - $\varphi = 5.0\%$ C_2H_5OH (pH = 3.7)

配制一系列不同浓度的洛美沙星标准溶液,在优化的条件下考察线性范围和检出限,结果表明,

洛美沙星的峰面积 (Y) 和含量 ($X, \mu g/mL$) 在 5.0 ~ 120 $\mu g/mL$ 范围内线性关系良好,线性方程为 $Y = -19.6 + 188X, r = 0.9994$,检出限为 1.0 $\mu g/mL$ ($S/N = 3$)。在优化条件下,以浓度为 50.0 $\mu g/mL$ 的洛美沙星标准溶液重复进样 6 次测定相应的峰面积, RSD 为 2.0% ($n = 6$)。

2.2.2 样品分析和加标回收实验 在选定的实验条件下,取胶囊样品溶液适当稀释后进样测定,毛细管电泳图见图 3 (b),根据线性回归方程计算出胶囊含量为 0.100 g/粒。将对照品溶液与适当稀释的样品溶液按不同比例混合,测定标准加入回收率,测得样品的回收率为 98.2% ~ 101%,结果如表 1 所示。

表1 回收实验结果

Tab.1 Results of recovery tests

样品	测得值 ($mg \cdot L^{-1}$)	加入量 ($mg \cdot L^{-1}$)	总量 ($mg \cdot L^{-1}$)	回收率 %	RSD($n = 6$) %
1	31.2	25.0	56.5	101	2.0
2	31.2	50.0	80.6	98.2	2.4
3	31.2	75.0	106	98.7	2.3

参考文献:

- [1] 谭峰,郎惠云,李媛. 萃取分光光度法测定盐酸洛美沙星[J]. 分析化学,2001,29(5):561-564.
- [2] 杜黎明,许庆琴,曹玺珉,等. 胶束增稳荷移反应紫外分光光度法测定洛美沙星[J]. 分析化学,2003,31(1):44-47.
- [3] 张龙,张成. 盐酸洛美沙星胶囊的紫外分光光度测定法[J]. 药物分析杂志,1999,19(3):201-202.
- [4] 许庆琴,杜黎明,王静萍. 导数-同步荧光光谱法直接测定尿样中的洛美沙星[J]. 光谱学与光谱分析,2002,22(3):444-445.
- [5] 刘二保,卫洪清,韩素琴,等. 化学发光法测定药物中的洛美沙星[J]. 分析化学,2004,32(7):902-904.
- [6] 李媛,郎惠云,谢志海. 间接原子吸收法测定药物中盐酸洛美沙星含量[J]. 西北大学学报,2000,30(1):39-42.
- [7] 高朋,黎拒难,毛勋,等. 碳糊电极阳极吸附伏安法测定洛美沙星[J]. 分析实验室,2004,23(10):1-4.
- [8] GOLET E M, ALDER A C, HARTMANN A, et al. Trace determination of fluoroquinolone antibacterial agents in urban wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography with fluorescence detection[J]. Anal Chem, 2001, 73(15):3632-3638.
- [9] YORKE J C, FROC P. Quantitation of nine quinolones in chicken tissues by high performance liquid chromatography with fluorescence detection[J]. J Chromatogr A, 2000, 882

- (1-2):63-77.
- [10] HERNANDEZ M, BORRULL F, CALULL M. Determination of quinolones in plasma samples by capillary electrophoresis using solid-phase extraction[J]. J Chromatogr B, 2000, 742:255-265.
- [11] SUN S W, CHEN L Y. Optimization of capillary electrophoretic separation of quinolone antibacterials using the overlapping resolution mapping scheme[J]. J Chromatogr A, 1997, 766:215-224.
- [12] 尹茶, 吴玉田. 高效毛细管电泳法同时测定 4 种喹诺酮类药物[J]. 药物分析杂志, 1997, 17(6):371-373.
- [13] 陈绩光, 莫金垣. 毛细管电泳高频电导检测器的研制[J]. 高等学校化学学报, 2002, 23(5):801.
- [14] CHEN Z G, MO J Y, YANG X Y, et al. A new capillary electrophoresis apparatus with piezoelectric ceramics high voltage source and amperometric detector[J]. Chin Chem Lett, 1999, 10(3):231.

Rapid Determination of Lomefloxacin by Capillary Electrophoresis

FAN Hua-jun¹, ZHAI Hai-yun¹, CHEN Zuan-guang²,
HUANG Bao-mei¹, WANG Jian-wei¹, CAI Pei-xiang¹

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;

2. School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510089, China)

Abstract: A method based on capillary electrophoresis with high frequency conductivity detection was developed for determination of lomefloxacin. The key factors for separation and determination were studied and the best analysis conditions were obtained. In the buffer of 6.0 mmol/L lactic acid and φ 5.0% C₂H₅OH at separation voltage of 26.0 kV, lomefloxacin in the sample could be separated and detected within 2.5 min. The linear concentration of lomefloxacin ranged from 5.0 to 120 μ g/mL and the limit of detection reached 1.0 μ g/mL. The method was used for analysis of lomefloxacin in lomefloxacin capsules satisfactorily with a recovery of 98.2% ~ 101%, the dressing in the capsules did not interfere the determination. The method was simple, rapid and highly reliable for drug analysis.

Key words: capillary electrophoresis; high frequency conductivity detection; contactless conductivity detection; lomefloxacin