

^{19}F -NMR 测定甲磺酸帕珠沙星样品中的氟

黄娟娟^① 杨明生^a

(湖南公安高等专科学校刑事科学技术系 长沙市 410006)

a(湖南师范大学分析测试中心 长沙市 410081)

摘要 研究了 ^{19}F -NMR 技术测定甲磺酸帕珠沙星药物样品中氟的检测条件。优化了实验参数, 选用三氟乙酸钠作为内标, 重水与去离子水混合液作为溶剂的内标绝对法进行定量分析。测定了甲磺酸帕珠沙星药物样品中氟含量。实验表明, 氟的加标回收率在 99.2%—100.9% 之间, 标准偏差为 0.00446%—0.0652%, 相对标准偏差小于 1.459%。

关键词 ^{19}F , 核磁共振, 甲磺酸帕珠沙星, 氟。

中图分类号: O657.2

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2006)04-0782-04

1 前言

甲磺酸帕珠沙星又名帕珠沙星, 是由日本富山化学公司和绿十字公司联合开发的广谱氟喹诺酮抗菌剂, 于 2002 年 4 月在日本上市, 是国际公认的第三代喹诺酮类产品中的一个优秀品种^[1,2]。英文名: Pazufloxacin mesilate, 商品名: Pasil 或 Pazucross, 化学名: (S)-(-)-10-(1-氨基环丙基)-9-氟-3-甲基-7-氧代-2,3-二氢-7H-吡啶并[1,2,3-de][1,4]苯并噻嗪-6-羧酸甲磺酸盐。化学结构式如下:



本品具有广谱活性, 主要用于细菌感染, 其中尤以呼吸道细菌性感染、泌尿道细菌性感染及皮肤、软组织、骨、关节的细菌性感染疗效较好, 某些性传染疾病(淋球菌、衣原体、软下疳感染)和骨盆感染亦有疗效^[3]。

帕珠沙星是在 7-氧吡啶并[1,2,3-de][1,4]苯并噻嗪-6-羧酸的 C-10 位上取代了 1-氨基环丙基, 以左氟沙星中间体(S)-9,10-二氟-3-甲基-7-氧代-2,3-二氢-7H-吡啶[1,2,3-de][1,4]苯并噻-

① 联系人, 电话: (0731) 4684158(宅); 手机: (0) 13873191968; E-mail: hnhjlp@tom.com

作者简介: 黄娟娟(1975—), 女, 湖南省怀化市人, 讲师, 硕士, 主要从事药物分析及毒物分析工作。

杨明生(1953—), 男, 湖南省永州市人, 副教授, 主要从事核磁共振波谱分析及其他仪器分析方法的研究。

收稿日期: 2006-02-23; 接受日期: 2006-03-20

6-羧酸乙酯为原料,经与氰乙酸乙酯缩合、脱羧、环合、水解及Hoffman降解制得^[4,5]。文献[6]报道,有机物中氟含量的测定需采用氧瓶燃烧法破坏有机质,然后测定吸收液中氟的量,操作较复杂。本文首次成功采用 ^{19}F -NMR法测定甲磺酸帕珠沙星中氟的含量,操作简单,测定快速,不破坏样品,且不需甲磺酸帕珠沙星纯品作对照。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

AC-80核磁共振谱仪(80MHz, FT变换,瑞士Bruker公司);氟探头,ME215S精密电子天平(1/10万,德国塞多利斯公司);烘箱;500 μL 高精度连续可调移液器。

三氟乙酸钠(中国医药集团上海化学试剂公司);氟化钠(长沙市延风化学试剂厂);重水(北京市巨化工科贸有限责任公司)。以上均为分析纯试剂。实验用水为去离子水。

样品为某公司提供的甲磺酸帕珠沙星标准品。

2.2 样品的纯度分析公式

因为同一类自旋核给出的NMR吸收峰面积只与产生NMR信号的核数目有关而与它在分子中所处的化学环境无关,样品中氟的百分含量 $W\%$ 可按下式计算:

$$W\% = \frac{A_x W_s}{m} \times 100\% \quad (1)$$

式中: A_x 与 A_s 分别代表未知样品和内标物吸收峰面积, W_s 代表内标中氟的重量, m 代表样品的重量。

2.3 实验参数

用5mm ^{19}F 探头检测信号,氟核磁共振频率(SF)=75.389MHz;数据采集参数:谱宽(SW)=8064.516Hz,数据点(SI)=16K;脉冲宽度(PW)=8,弛豫延迟时间(RD)=0.5s;样品体积约为0.5mL。累加次数与样品浓度有关,试验均在室温下进行。

3 结果与讨论

3.1 弛豫延迟时间RD的确定

当用90°脉宽进行观测并需要累加时,必要条件是 $\text{RD} > 5T_1$ 。若RD很短,被激发到高能态的核,不能通过 T_1 弛豫达到玻尔兹曼平衡,从而使累加的信号失去提高信噪比和定量积分的目的。选用RD为0.0.5、1.2、4.8、12、20s进行实验。实验结果表明,在0—0.5s之间,RD的改变对实验结果有一定影响;当 $\text{RD} > 0.5\text{s}$ 以后,RD的改变对实验结果无明显影响。说明样品在水中有一定弛豫间隔,为在相同的实验时间内获得更好的信噪比或缩短实验时间,选择 $\text{RD} = 0.5\text{s}$ 进行实验。RD的改变对实验结果无影响。

3.2 内标及测定方法的选择

先取少量样品及氟化钠分别进行定性分析,确定样品氟谱的峰位,加入少量三氟乙酸钠,将三氟乙酸钠的中心峰定为50ppm,从样品的结构式可知,甲磺酸帕珠沙星样品中含有一个F原子,由于受1-H的偶合而裂分为双峰。谱图见图1,氟化钠的氟谱见图2。从图中可见,甲磺酸帕珠沙星的化学位移 δ 为14.389ppm,偶合常数 $J_{\text{F-H}} = 13.0\text{Hz}$;氟化钠中氟离子的化学位移 δ 为4.510ppm。

从实验结果可知,甲磺酸帕珠沙星的峰与三氟乙酸钠及氟化钠的峰都能较好地分开,故若用外标法进行定量分析时,两者都可作为甲磺酸帕珠沙星样品的内标。

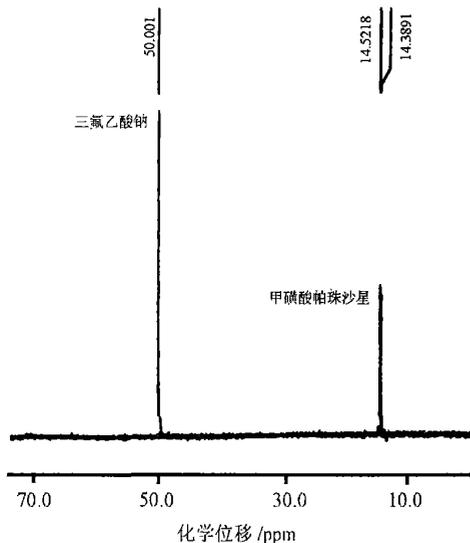


图 1 甲磺酸帕珠沙星氟谱

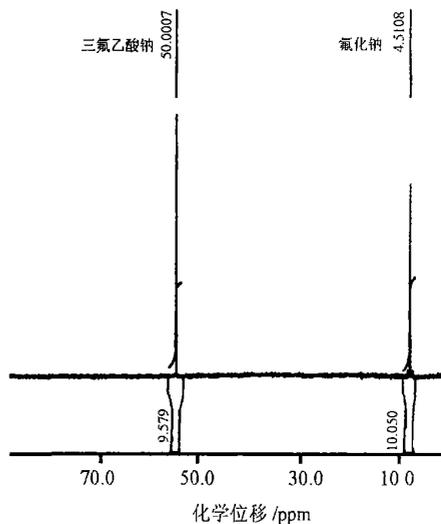


图 2 氟化钠的氟谱

将甲磺酸帕珠沙星样品加去离子水充分溶解,一份加入氟化钠,另一份加入三氟乙酸钠,室温下旋转一段时间后观察:加入氟化钠的溶液有白色沉淀出现,加入三氟乙酸钠的溶液仍为透明状。因此,按内标选择原则,氟化钠不合作内标,若选用内标法进行定量分析,应用三氟乙酸钠作内标。

使实验步骤尽量简单,对于样品选用内标绝对法进行测定,三氟乙酸钠作为内标。

3.3 精密度实验

分别准确称取适量的内标与甲磺酸帕珠沙星标样与重水配成不同浓度的样品,在同一条件下进行测定。同一样品测定5次,同一测定结果反复积分3次,相对误差 E_r 为-2.02%—3.33%,标准偏差 S 为0.030—2.84,相对标准偏差(RSD)小于4.06%。从实验结果可知,本法测定准确度精密度均很高。

3.4 稳定性实验

准确称取一定量甲磺酸帕珠沙星标样于重水中,配制成10mg/mL浓度溶液,室温下放置,分别于0、2、4、6、8、12、24h后测定,结果RSD=0.07%,表明甲磺酸帕珠沙星溶液在室温下放置,可稳定24h。

3.5 最小检出量

用配制的一系列已知浓度的氟离子溶液按实验方法测定含氟量,为保证有较高的准确度,使得 $S > 2.5N$ (S 代表氟信号峰的高度, N 代表噪音的高度)。通过实验测得,利用本台仪器(80MHz)采样1024次时,对氟离子的检出限可达 2×10^{-4} g/L。随着超导核磁共振仪的发展,检出限会大大地降低。

3.6 样品分析

准确称取甲磺酸帕珠沙星样品约32mg,加入0.5mL重水溶解,准确称取三氟乙酸钠约2mg加入到样品管中作内标,充分溶解,至溶液透明。

对试样分别作 ^{19}F -NMR 测试, 每份样品测5次, 对每份谱图连续作3次积分, 根据公式(1), 以氟的3次积分值平均值算出样品中的氟含量。计算5次测量的平均值作为最后结果(见表1)。

表1 甲磺酸帕珠沙星样品中的氟含量测定结果 ($n=5$)

m (mg)	W_s (mg)	A_s	A_x	W (%)	S (%)	RSD (%)
32.18	0.926	18.314	28.746	4.506	0.00446	0.099
32.46	0.909	16.891	26.901	4.467	0.0652	1.459
32.31	0.985	20.192	29.657	4.488	0.0417	0.930
32.02	0.864	20.957	35.325	4.560	0.0284	0.623
32.11	0.826	16.424	28.566	4.485	0.0121	0.270

从表1中可算出: 样品的氟含量 $W\%$ 为4.501%, 标准偏差 S 为0.00446%—0.0652%, 相对标准偏差RSD小于1.459%。从数据可见, 本法的精密度很高。

3.7 回收率实验

通过加标回收试验测定总氟含量, 来考察该分析方法的准确度。分别准确称取甲磺酸帕珠沙星样品约35mg, 加 F^- 1500 μg , 按3.7节样品分析中的操作处理, 所测回收率见表2。以5次测定的平均值计算出: 甲磺酸帕珠沙星样品的平

表2 甲磺酸帕珠沙星样品加标回收结果 ($n=5$)

样重 (mg)	样品含氟量 (μg)	加入氟量 (μg)	测得总氟量 (μg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)
37.53	1689	1500	3192	100.2	
38.15	1717	1500	3200	99.2	
38.97	1754	1500	3268	100.9	100.2
37.02	1666	1500	3171	100.3	
36.42	1639	1500	3147	100.5	

均回收率为100.2%, 可见该法测定的准确度高。

4 结论

^{19}F -NMR法可用于测定甲磺酸帕珠沙星药物样品中的氟含量。本文采用三氟乙酸钠做内标, 根据药品的理化性质, 选用内标法进行测定。测得样品中氟含量为4.501%, 标准偏差 S 为0.00446%—0.0652%, 相对标准偏差RSD小于1.459%, 平均回收率为100.2%。结果表明, 这种定量方法准确、可靠、回收率高, 简便易行。同时, 该法具有测定快速的优点, 其测定过程只需5—10min, 操作方便、抗干扰性好, 还可消除判断不准等人为造成的误差。同时, 还可以节约大量试剂, 可供医院药剂分析选用。

参考文献

- [1] 胡欣, 闫小燕, 曹国颖等. RP-HPLC法测定甲磺酸帕珠沙星及有关物质[J]. 中国新药杂志, 2001, 11(11): 862—865.
- [2] 张致平. 喹诺酮类抗菌药研究的新进展[J]. 中国抗生素杂志, 1999, 24(1): 61—68.
- [3] 张兰桐, 刘伟娜. 喹诺酮类药物含量测定方法[J]. 河北医科大学学报, 1998, 19(5): 318—320.
- [4] 金熔, 王尔华. 甲磺酸帕珠沙星的合成[J]. 药学进展, 2002, 26(5): 284—286.
- [5] 梁毅恒. 帕珠沙星的合成研究[J]. 中国医药工业杂志, 2001, 32(12): 529—530.
- [6] 卫生部药典委员会编. 中华人民共和国药典[M]. 九五版. 北京: 化学工业出版社, 1995. 附录: 53.

Determination of Fluorine in Pazufloxacin Mesilate Sample by ^{19}F Nuclear Magnetic Resonance

HUANG Juan-Juan YANG Ming-Sheng^a

(Department of Criminal Science and Technology, Hunan Public Security College, Changsha 410006, P. R. China)

(^aAnalysis and Testing Centre, Hunan Normal University, Changsha 410081, P. R. China)

Abstract The amount of fluorine in pazufloxacin mesilate medicine was determined by ^{19}F -NMR technology with sodium trifluoroacetate as an internal standards and the mixture of deutoxide and deionized water as solvent. The experimental conditions were optimized. The average recoveries are in the range of 99.2%—100.9% with the standard deviation of 0.00446%—0.0652% and the relative standard deviation less than 1.459%.

Key words ^{19}F , Nuclear Magnetic Resonance, Pazufloxacin Mesilate, Fluorine.