

· 药物分析 ·

二阶导数光谱法测定尿中呋喃妥因浓度

万新祥 张 立 陈楚成 夏志祥

(解放军广州医学高等专科学校 广州 510315)

摘要 本文采用有酸性条件下用乙酸乙酯萃取呋喃妥因后,通过二阶导数光谱法测定尿中呋喃妥因的浓度。该法定量信息为 374~377nm 处的峰谷之间距离,最低检出浓度为 1.5mg/L,回收率为 98%,相对标准差小于 3%;本法与 HPLC 法进行了对照性研究。两法具有明显的相关性($r=0.9991$)。本法可用于呋喃妥因药动学的研究。

关键词 呋喃妥因;二阶导数光谱法;尿药浓度

Determination of nitrofurantoin in urine by second derivative spectrophotometry

Wan Xinxiang, Zhang Li, Chen Chucheng, Xia Zhixiang

(Guangzhou Medical College of PLA, Guangzhou 510315)

ABSTRACT The paper reported the determination of nitrofurantoin in urine by second derivative spectroscopy. The method consists of direct extraction of the drug by the use of ethyl acetate from the acidic urine and determination of the nitrofurantoin concentration by measuring the amplitude between the maximum and minimum of the second derivative signal at 374-377nm. The method had a detection limit of 1.5mg/L with recovery of 98% and RSD was less than 3%. The both methods of second derivative and HPLC had notable relativity. The method could apply to the pharmacokinetics study of nitrofurantoin.

KEY WORDS Nitrofurantoin, Second derivative spectroscopy, Urinary

呋喃妥因(Nitrofurantoin, NFT)是治疗泌尿道感染的有效药物。NFT 吸收后,分布和排泄很快,生物半衰期约 20min。该药的主要消除途径是肾脏,约 40%的 NFT 以原形很快从肾排出^[1]。所以 NFT 的尿药浓度与尿药排泄量是该药生物利用度的重要指标。

NFT 尿药浓度的测定方法,国内曾报道了紫外分光光度法^[2],此法在 $\lambda 375\text{nm}$ 处直接测定 NFT 尿药浓度,但干扰因素较多,专一性差。随后又报道了 HPLC 法^[3],该法灵敏度高,专一性强。本文采用二阶导数光谱法

测定 NFT 尿药浓度获得成功,该法具有灵敏度高、准确、快速等优点,并与 HPLC 法进行了对照性比较。结果满意,适用于 NFT 药动学的研究。

一、试剂与仪器

NFT 对照品(湖北制药厂提供);NFT 肠溶片(广州侨光制药厂,批号 930601);二甲亚砜(AR);乙酸乙酯(AR);盐酸(AR);DU-7 Beckman 分光光度计(美国)

二、试验方法

(一)测定条件的选择 量取 50mg/L

NFT 溶液 1ml 于有塞离心管中,加入 10% 盐酸溶液 1ml,乙酸乙酯 5ml,充分振摇混合 2min,离心分离出上层乙酸乙酯溶液。以乙酸乙酯为空白,分别测定零阶、二阶导数光谱。

测定条件:扫描范围 300~500nm,扫描速度 500nm/min,上限 0.02,下限 0.02, $\Delta\lambda = 2\text{nm}$ 。结果见图 1 和图 2 所示。

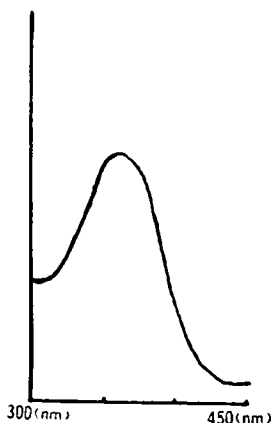


图 1 NFT 醋酸乙酯溶液的紫外吸收光谱图



图 2 NFT 醋酸乙酯溶液的二阶导数光谱图

(二) NFT 贮备液与标准液的配制 精密称取干燥至恒重的 NFT 对照品 50mg,置 50ml 棕色容量瓶中,加二甲基亚砷至刻度 (1mg/L),于冰箱保存备用。

取上述对照品贮备液 10ml 用蒸馏水稀释成 100ml (100mg/L),然后配制工作用标准液,即取 5 只 10ml 标准容量瓶,分别加入上述对照品溶液 (100mg/L) 1, 2, 3, 4, 5ml,再加正常人稀释尿液 (1→20) 至刻度,分别得到 10, 20, 30, 40, 50mg/L 的 NFT 工作用标准溶液。

(三) 标准曲线的建立 取上不同浓度的标准液各 1ml 于有盖离心管中,加入 1ml 10% 盐酸溶液,再加入 5ml 乙酸乙酯,将试管用力振摇约 2min,于离心机 (3000rpm) 离心 5min,分离出有机溶剂层。以乙酸乙酯为空白,在 350~400nm 范围内测定二阶导数光谱。测量两相峰谷之间的距离 (D),以距离 (D) 与浓度 (C) 进行线性回归,得线性方程: $C = 3.59D + 3.32$, $r = 0.9992$ 。

(四) 尿样测定 6 名健康志愿者空腹条

件口服 NFT 肠溶片 100mg,服药后分别于 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 24h 收集尿液,记录各次尿液量,置冰箱保存供测定用。

尿样按上述标准曲线的方法处理和测定,将测量数据代入标准回归方程,即得尿药浓度,见表 1。

表 1 健康志愿者口服 NFT 肠溶片 100mg 各阶段的尿药浓度和排药量 (n=6)

时间 (h)	尿药浓度 (mg/L)	尿药量 (mg)
0—1	5.0(±3.5)	0.22(±0.15)
1—2	59.0(±26.0)	4.02(±1.42)
2—3	105.0(±52.0)	6.12(±2.60)
3—4	51.0(±22.0)	2.72(±1.00)
4—5	21.0(±10.0)	1.00(±0.55)
5—6	4.5(±2.5)	0.42(±0.30)
6—8	0.5(±1.0)	0.30(±0.20)
8—10	0.3(±0.7)	0.03(±0.05)
10—12	0(±0)	0(±0.02)
12—24	0(±0)	0(±0)

三、分析方法的适用性指标

(一) 最低检出浓度和回收率 该法的最

低检出浓度为 1.5mg/L,其回收率见表 2。

表 2 回收率和精密度(n=5)

加入量 (mg/L)	测得量 (mg/L)	回收率 (%)	RSD (%)
10	9.92(±0.28)	99.2	1.8
20	19.25(±0.38)	96.3	2.1
30	29.37(±0.45)	97.9	1.5
40	38.96(±0.48)	97.5	1.2
50	48.95(±0.52)	98.0	1.1

(二)尿中 NFT 的乙酸乙酯萃取率 在盐酸酸化的尿液中用乙酸乙酯萃取 NFT 量,通过与直接将 NFT 加入醋酸乙酯中比较分析,其醋酸乙酯萃取率为 80.2±2.1% (n=5)。

(三)两种分析方法的比较 本法与 HPLC 法^[3]进行了对照性比较,结果如下。

1. HPLC 的色谱条件 流动相,甲醇:0.01mol/L 醋酸钠(20:80),用冰醋酸调 pH = 5,再用乙二胺调 pH = 6.69;检测波长 254nm;流速 1.2ml/min。

样品测定:精密量取尿样 1ml 与内标溶液(呋喃唑酮)20μl,混匀。用微量进样器进样,每次 4~10μl,用峰高法定量,同时做标准曲线。

2. 两种方法测定样品的结果 二阶导数光谱法与 HPLC 法共测定 5 种不同浓度的样品,每个样品测三次,结果见表 3。两种方法有很好的相关性(r=0.9991)。

表 3 二阶导数光谱法与 HPLC 法测定结果的比较(n=3)

加入量 (mg/L)	二阶导数光谱法 测得量(mg/L)	HPLC 法 测得量(mg/L)
10	9.92(±0.28)	10.06(±0.12)
20	19.25(±0.38)	19.91(±0.28)
30	29.37(±0.45)	29.82(±0.33)
40	38.96(±0.48)	39.50(±0.41)
50	48.95(±0.52)	49.30(±0.46)

四、讨论

本文报道的二阶导数光谱法测定尿中 NFT 浓度,首先将定量的尿液用盐酸酸化,

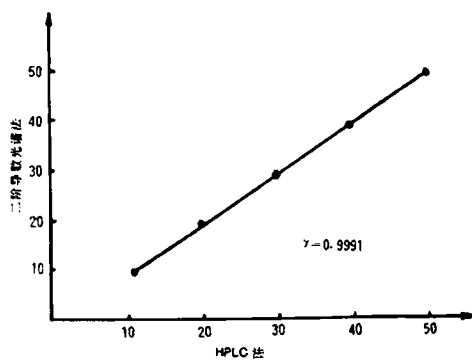


图 3 二阶导数光谱法与 HPLC 法的相关性图示

再用乙酸乙酯萃取后,进行二阶导数光谱法定量,目的是排除尿中其他成分对测定的干扰。

NFT 分子中有酰亚胺的结构,呈弱酸性(pKa 为 7.2)。在酸性条件有利于乙酸乙酯从水溶液中萃取 NFT,故需酸化尿液。

若将含 NFT 尿溶液直接进行二阶导数光谱测定,其尿中成分可干扰结果的准确性,本法采用乙酸乙酯的萃取液,再通过二阶导数光谱法测定,可消除尿中其它成分干扰且可提高灵敏度。

虽然乙酸乙酯从酸化的 NFT 尿中萃取率是 80.2±2.1%,但由于萃取率恒定,故对尿中 NFT 的浓度测定的准确性影响很小。本法的特点是,灵敏度高,准确,操作方便;其线性范围是 1.5~100mg/L,适用于 NFT 尿药浓度的测定,本文已成功进行了人体尿样的测定。

参考文献

[1]Martindale: The Extra Pharmacopoeia 28 the London 1982:1048
 [2]戴养厚·呋喃唑酮尿药浓度紫外测定法,中国医院药学杂志,1986;6:535
 [3]张智耀,万新祥·HPLC 法测定尿中呋喃唑酮浓度·中国药学杂志,1992;27:162