

文章编号:1671-683X(2002)03-0006-04

四种喹诺酮类药物在水中的无限稀释活度系数

任保增, 李伟然, 李 晨, 雒廷亮, 王福安

(郑州大学化工学院, 河南 郑州 450002)

摘 要:根据固液相平衡理论, 结合反相液相色谱过程特征, 建立了液相色谱直接法测定水中无限稀释活度系数模型. 根据该模型, 采用离子抑制色谱技术测得不同温度下氧氟沙星等四种喹诺酮类药物在水中的无限稀释活度系数, 既为喹诺酮类药物的环境行为评价提供了关键基础数据, 又为探讨喹诺酮类药物的生物活性机理、预测药效提供依据.

关键词:无限稀释活度系数; 喹诺酮; 水; 液相色谱

中图分类号:TQ 013.1 **文献标识码:**A

喹诺酮类药物是近年迅速发展和广泛应用的一类重要的广谱抗菌药物^[1]. 当前对该类药物的研究大多在于新剂型开发、新药合成、临床实验、抗菌活性的生物测定、药物代谢动力学等方面, 迫切需要进行该类药物的生物活性机理、药物分子与受体分子之间的相互作用、环境行为和分子水平上设计新一代喹诺酮类药物等方面的基础研究.

无限稀释活度系数 γ_i^∞ 可用来估算化合物的环境性质(参数), 如水中溶解度、Henry 常数、疏水常数等, 运用这些系数和常数进而可计算化合物的生物降解速率常数、微生物对有机物的富集系数、化合物在固/液相间的分配系数等等. 因此, 测定化合物的无限稀释活度系数 γ_i^∞ 对于研究化合物的环境行为及生物活性具有重要意义^[2].

高效液相色谱(HPLC)法有其独特的优点, 就是不受样品挥发性和热稳定性的限制, 一般为室温下操作, 最高操作温度不超过流动相溶剂的沸点, 只要溶质在流动相中有一定的溶解度便可分析, 因而此方法比较简便、快速、应用范围广. 但目前报道的液相色谱间接法有较大的局限性, 测定结果准确度不高^[3]. 为此, 本文根据化工热力学中的液固相平衡原理, 结合液相色谱过程特征, 建立了无限稀释活度系数的液相色谱直接法测定模型和测试技术. 采用离子抑制液相色谱技术, 测定了四种喹诺酮类药物在水中的无限稀释活度系数.

1 液相色谱直接法测定无限稀释活度系数的热力学模型

高效液相色谱(HPLC)是一个液固动态平衡过程. 溶质 i 在 HPLC 过程中分配达到平衡时有

$$\hat{f}_i^L = \hat{f}_i^S, \quad (1)$$

溶质 i 在液、固相中的分逸度 \hat{f}_i^L, \hat{f}_i^S 均取作以 Lewis-Randall 定则为标准态, 则

$$\hat{f}_i^L = \gamma_i x_i f_i^0 = \gamma_i x_i f_i; \quad (2)$$

$$\hat{f}_i^S = \gamma_s x_s f_i^0 = \gamma_s x_s f_i. \quad (3)$$

式中: $\gamma_i, \gamma_s, x_i, x_s$ 分别为溶质 i 在液、固相中的活度系数和摩尔分率.

将式(1)~(3)结合得

$$x_i/x_s = \gamma_s/\gamma_i. \quad (4)$$

设 $M_1, n_1, V_1, W_1, \rho_1$ 分别是固定相的摩尔质量、摩尔量、体积、重量、密度; $M_3, n_3, V_3, W_3, \rho_3$ 分别为流动相的摩尔质量、摩尔量、体积、重量、密度; n_{i1}, W_{i1} 分别为溶质 i 在固定相中的摩尔量、重量; n_{i3}, W_{i3} 分别为溶质 i 在流动相中的摩尔量、重量; n_{31}, W_{31} 分别为流动相在固定相中的摩尔量、重量; M_i 为溶质 i 的摩尔质量.

则式(4)中,

$$x_i = \frac{n_{i3}}{n_{i3} + n_3}; \quad (5)$$

$$x_s = \frac{n_{i1}}{n_{i1} + n_1 + n_{31}}. \quad (6)$$

收稿日期: 2002-05-25; 修订日期: 2002-07-20

基金项目: 1999 年度河南省杰出青年科学基金资助项目

作者简介: 任保增(1962-), 男, 河南省新野县人, 郑州大学副教授, 博士, 主要从事绿色化工与清洁生产技术方面的

在实际 HPLC 系统中,由于 $n_{i3} \ll n_3$, $n_{i1} \ll (n_1 + n_{31})$, $n_{31} \ll n_1$.
所以

$$x_i = n_{i3}/n_3; \quad (7)$$

$$x_s = n_{i1}/n_1. \quad (8)$$

又因为 $n_{i3} = W_{i3}/M_i$; $n_3 = W_3/M_3 = V_3\rho_3/M_3$;

$$n_{i1} = W_{i1}/M_i; n_1 = W_1/M_1 = V_1\rho_1/M_1,$$

所以

$$x_i = \frac{W_{i3}/M_i}{V_3\rho_3/M_3} = \frac{W_{i3}M_3}{V_3\rho_3M_i}; \quad (9)$$

$$x_s = \frac{W_{i1}/M_i}{V_1\rho_1/M_1} = \frac{W_{i1}M_1}{V_1\rho_1M_i}, \quad (10)$$

式中: W_{i3}/V_3 为单位体积流动相中溶质 i 的量 d_i . 所以, 式(9)可改写为

$$d_i = \frac{x_i M_i \rho_3}{M_3}. \quad (11)$$

同理, W_{i1}/V_1 为单位体积固定相上溶质 i 的量 d_1 , 式(10)可改写为

$$d_1 = \frac{x_s M_i \rho_1}{M_1}. \quad (12)$$

根据 HPLC 过程中分配系数 K 的定义(柱温下):

$$K = \frac{\text{单位体积固定相上溶解(或吸附)溶质的量}}{\text{单位体积流动相中溶质的量}} \\ = \frac{d_1}{d_i} = \frac{x_s M_i \rho_1 / M_1}{x_i M_i \rho_3 / M_3} = \frac{x_s M_3 \rho_1}{x_i \rho_3 M_1}, \quad (13)$$

引入式(4)可得

$$K = \frac{\gamma_i M_3 \rho_1}{\gamma_s \rho_3 M_1}. \quad (14)$$

又根据 HPLC 过程中分配系数 K 与容量因子 k' 、相比 β 间的关系^[4]

$$K = k' / \beta, \quad (15)$$

所以

$$\frac{\gamma_i M_3 \rho_1}{\gamma_s \rho_3 M_1} = k' / \beta. \quad (16)$$

根据热力学相平衡原理, 溶质 i 在固定相中的活度系数 γ_s 定义为

$$\gamma_s = \hat{f}_i / \hat{f}_i^{id}, \quad (17)$$

又由于固定相多是化学键合的高分子化合物, 并且溶质在其中的量很少, 根据高分子固溶物可作为固体理想溶液处理的特点^[5], 溶质在固定相中可看作理想溶液, 即

$$\hat{f}_i = \hat{f}_i^{id}, \quad (18)$$

故式(17)为: $\gamma_s = 1$, 代入式(16)得

$$\text{万方数据} \gamma_i = \frac{\rho_3 M_1}{\beta \rho_1 M_3} k'. \quad (19)$$

溶质在水中无限稀释条件下有: $\rho_3 \approx 1$, $M_3 \approx M_{H_2O}$, 所以式(19)可改写为

$$\gamma_i^\infty = \frac{M_1}{\beta \rho_1 M_{H_2O}} k'_w. \quad (20)$$

式中: k'_w 为无限稀释条件下溶质 i 的容量因子, 即外推容量因子, 可根据专著文献 6 中的如下方程, 外推到流动相中强溶剂(如甲醇)浓度 $C_B \rightarrow 0$ 时而得

$$\ln k' = \ln k'_w + S C_B. \quad (21)$$

式中: S 为作用指数, 反映了一定柱温下溶质与强冲洗剂和弱冲洗剂的作用能之差, 对给定溶质, S 是常数, 不随 C_{18} 柱的不同而变化; k'_w 为外推容量因子, 主要反映了溶质与弱冲洗剂和固定相的作用能之差, 通常又称为疏水指数, 与柱相比和键合量有关.

另外, 相比 β 可按陈农^[7]的办法确定; ρ_1 由所用色谱柱填料的性质确定. 对于给定的反相液相色谱体系, β , ρ_1 , M_1 均为定值, 与溶质无关.

式(20)就是本文建立的无限稀释活度系数 γ_i^∞ 的液相色谱直接法测定模型. 该模型已被实验所验证^[8].

2 实验部分

2.1 实验主要原料

吡哌酸(Pipemidic acid, 缩写 PPA), 化学名称为 2-哌嗪-5-氧-8-乙基-5,8-二氢吡啶[2,3-d]吡啶-6-羧酸, 分子式 $C_{14}H_{17}N_5O_3$, 分子量 303.32. 实验样品由中国药品生物制品检定所提供, 含量 99.99%.

诺氟沙星(氟哌酸)(Norfloxacin, 缩写 NFLX), 化学名称 1-乙基-6-氟-4-氧代-1,4-二氢-7-(1-哌嗪基)-3-喹啉羧酸, 分子式 $C_{16}H_{18}N_3FO_3$, 分子量 319.33. 实验样品由河南安阳晨曦制药厂提供, 含量 99.99%.

氧氟沙星(氟嗟酸)(Ofloxacin, 缩写 OFLX), 化学名称(±)-9-氟-2,3-二氢-3-甲基-10-(4-甲基-1-哌嗪)-7-氧-7-氢-吡啶并[1,2,3-de][1,4]苯并噁嗪-6-羧酸, 分子式 $C_{18}H_{20}FN_3O_4$, 分子量 361.37. 实验样品由河南省药品检验所提供, 含量 99.84%.

环丙沙星(Ciprofloxacin, 缩写 CPLX), 化学名称 1-环丙基-6-氟-1,4-二氢-4-氧-7-(1-哌嗪基)-3-喹啉羧酸, 分子式 $C_{17}H_{18}FN_3O_3$, 分子量 385.82. 由河南省药品检验所提供,

含量 99.99%.

另外,甲醇、柠檬酸、三乙胺等均为分析纯试剂.

2.2 主要仪器设备

岛津 L-200 型,电光分析天平(精度 0.01 mg);LB-801-2 型,超级恒温器;KQ-50 型,超声波清洗器;日本岛津 LC-6A 型,液相色谱仪,ZORBAX-ODS(4.6 mmID×15 cm)色谱柱.

2.3 离子抑制色谱

喹诺酮类药物是具有胺基和羧基的两性化合物,能在水溶液中解离.用常规高效液相色谱法单独以乙腈-水或甲醇-水为流动相洗脱时,常会出现色谱峰滞后拖尾严重、对称性差、分离度低和保留值不稳定等问题.为此,本文采用离子抑制色谱技术.离子抑制色谱是通过流动相的离子抑制化作用获得溶质的最佳分离.可以缓冲溶液控制流动相的 pH 值以抑制溶质离子化,也可在流动相中加入三乙胺、磷酸、甲酸、无机盐、有机盐等离子抑制剂.

2.4 实验操作及说明

2.4.1 样品配制

本实验所用的四种喹诺酮类化合物均为固体,一般配制成质量浓度 0.01%~0.1% 的甲醇溶液.

2.4.2 流动相准备

将流动相用的甲醇瓶和水瓶分别放在超声波震荡消泡器中并打开震荡器以驱赶甲醇和水中溶解的微量气体(小气泡),同时用真空泵将甲醇瓶或水瓶抽成负压状态以加速驱赶甲醇和水中溶解的微量气体,直到甲醇和水中无气泡时停止,然后将准备好的甲醇和水连接到液相色谱系统.

2.4.3 样品保留时间(t_R)测定

打开液相色谱系统,设置柱温、甲醇流量、水流量、吸收波长等控制参数,待系统稳定、基线走平后,自动进样,自动记录色谱保留时间.

2.4.4 死时间(t_0)的测定

死时间是以 NaNO_2 (配置成 0.1% 的甲醇溶液)为示踪物,在与样品保留时间测定完全相同的条件下,于 220 nm 吸收波长下测定.

2.5 实验结果

按前述的方法,在波长为 240 nm 时,实验测得死时间 $t_0=1.53\text{ min}$.

采用上述离子抑制色谱技术实验测得 PPA, NFLX, OFLX, CPLX 在不同柱温、不同流动相组成(以流动相中有机组分体积分数 C_B 表示)下的容

量因子 k' .部分实验数据见表 1.

表 1 四种喹诺酮类药物的离子抑制色谱容量因子

Tab.1 The Capacity factor of IR-HPLC for some quinolones

化合物名称	流动相组成 C_B	容量因子 k'		
		30.0 °C	40.0 °C	50.0 °C
PPA	0.50	0.6711	0.6261	0.5718
	0.40	1.137	0.9098	0.7222
	0.30	1.751	1.216	0.9405
NFLX	0.50	0.8915	0.8013	0.7052
	0.40	1.745	1.458	1.152
	0.30	3.195	2.284	1.685
OFLX	0.50	0.8424	0.7712	0.6947
	0.40	1.559	1.342	1.034
	0.30	2.674	2.101	1.524
CPLX	0.50	0.9562	0.8457	0.7326
	0.40	1.946	1.581	1.259
	0.30	3.818	2.656	2.012

3 结果与讨论

根据上述建立的液相色谱直接法测定化合物在水中的无限稀释活度系数模型和模型参数确定办法就可以实验测得化合物在水中的无限稀释活度系数.

3.1 模型中各参数的数值.

3.1.1 外推容量因子 k'_w 的确定

由表 1 中所示的离子抑制色谱上 PPA, NFLX, OFLX, CPLX 的 $\log k'$ 与 C_B 按式(21)拟合所得 $\log k'_w$, S 及相关系数 r 列入表 2 中,相关系数均大于 0.99.此规律说明在研究范围内,控制保留机理的因素是连续不变的.负的 S 值说明这一因素就是溶质的疏水脱出(Hydrophobic Expulsion).溶质仅在低水含量流动相下,方被洗脱,说明喹诺酮类药物是强疏水性的.

3.1.2 相比 β 的确定

根据陈农^[7]提出的办法,对于同系物,表 2 中每个温度下的 S 与 $\log k'_w$ 间具有如下的定量线性相关关系:

$$S = p \log k'_w + q. \tag{22}$$

式中: $p=1/\varphi_c$, φ_c 为常数; $q=-\log \beta/\varphi_c$; β 是柱相比.

根据式(22)可以由下式计算出所用色谱柱的柱相比:

$$\log \beta = -\frac{q}{p}. \tag{23}$$

按式(22)对表 2 数据关联,结果见表 3,相关系数均大于 0.99,按式(23)计算的相比也示于表 3。

表 2 四种喹诺酮类药物 $\log k'_w$ 与 C_B 的相关性
Tab.2 The correlation of $\log k'_w$ vs. C_B for some quinolones

温度/℃	化合物	$\log k'_w$	S	r
30.0	PPA	0.8687	-2.0635	0.9986
	NFLX	1.3408	-2.7718	0.9995
	OFLX	1.1850	-2.5079	0.9992
	CPLX	1.4863	-3.0062	0.9998
40.0	PPA	0.5229	-1.4404	0.9973
	NFLX	1.0516	-2.2740	0.9966
	OFLX	0.9828	-2.1760	0.9981
	CPLX	1.1774	-2.4849	0.9985
50.0	PPA	0.2952	-1.0803	0.9992
	NFLX	0.8020	-1.8915	0.9973
	OFLX	0.6954	-1.7060	0.9999
	CPLX	0.9666	-2.1930	0.9991

表 3 四种喹诺酮类药物在不同柱温下 $\log k'_w$ 与 S 的相关性
Tab.3 The correlation of $\log k'_w$ vs. S for Some Quinolones

温度/℃	q	p	β	r
30.0	-0.7256	-1.526	0.3345	0.9990
40.0	-0.6080	-1.591	0.4148	0.9999
50.0	-0.5842	-1.643	0.4411	0.9992

3.1.3 固定相分子量的确定

实验用色谱柱是 Du Pont 的 ZORBAX - ODS ,以正十八烷键合在硅胶上,有效基团是—C₁₈H₃₇ ,含碳量为 15% ,因而固定相的分子量为

$$M_1 = \frac{12 \times 18}{15\%} = 1440 .$$

3.1.4 固定相的真密度(相对密度) ρ_1

Du Pont 的 ZORBAX - ODS 键合相填料的对密度是 1.5 g/mL,细孔容积为 0.029 mL/g,填料床层空隙率为 0.35 ;又根据固体颗粒相对密度的定义,计算出固定相的真密度 $\rho_1 = 2.412$ g/mL.

3.2 四种喹诺酮类药物在水中的无限稀释活度系数

根据上述由实验所确定的 $\log k'_w$, ρ_1 , M_1 和相比 β ,按式(20)计算的喹诺酮类药物在水中的无限稀释活度系数示于表 4 中。

4 结论

(1) 根据热力学中的固液相平衡理论 ,

表 4 四种喹诺酮类药物在水中的无限稀释活度系数
Tab.4 The Indefinite dilution activity coefficients for some quinolones in water

化合物	无限稀释活度系数 γ_i^∞		
	30.0 ℃	40.0 ℃	50.0 ℃
PPA	732.8	266.5	148.4
NFLX	2173	900.5	476.6
OFLX	1518	768.6	372.9
CPLX	3038	1203	696.3

针对反相液相色谱过程特征,建立了液相色谱直接法测定水中无限稀释活度系数模型。

(2) 采用离子抑制色谱技术测得不同温度下四种喹诺酮类药物在水中的无限稀释活度系数。

本研究工作不仅为喹诺酮类药物的环境行为评价提供了关键数据,而且为探讨喹诺酮类药物的生物活性机理、预测药效提供依据。

参考文献 :

[1] 陈瑞红,梁建华,张石荣.第四代氟喹诺酮类药物的研究与应用进展[J].中国药房,2001,12(2):114 - 115.

[2] KRUMMEN M,GRUBER D,GMEHLING J. Measurement of activity coefficients at infinite dilution in solvent mixtures using the dilutor technique[J].Ind Eng Chem Res, 2000,39:2114 - 2123.

[3] 王连生.环境化学进展[M].北京:化学工业出版社,1995.

[4] 耿信笃.反相色谱中计量置换模型第二组线性参数和[J].中国科学(B 辑),1995,25(4):364 - 371.

[5] LEE B,DANNER R P. Prediction of polymer-solvent phase equilibria by a modified group-contribution EOS[J].AIChE Journal,1996,42(3):837 - 849.

[6] 卢佩章,戴朝政.色谱理论基础[M].北京:科学出版社,1989.

[7] CHEN Nong,PEKKA Lehtonen,ZHANG Yu - kui. The linear S - $\log k'_w$ correlation (LSLC) analysis for homologous series in reversed-phase high performance liquid chromatography (RP - HPLC) [J].色谱,1995,13(5):373 - 378.

[8] REN Bao - zeng,WANG Fu - an,WANG Wen - chuan. A Model for the Measurement of Infinite Dilution Activity Coefficient with RPLC[A].ZHOU Chuanguang. Proceedings, CKCSST '98,Advances in Separation Science and Technology[C].Beijing:China Enviromental Science Press.1998,89 - 92.

(下转第 18 页)

Abstract : Applied by distribution resistance and volume porous for calculation of fluid flow and heat transfer of the shell-and-tube heat exchanger based on the floating characteristic and the structural characteristic of heat exchanger with longitudinal flow of shellside(HELFS), this paper discusses simplification method problem for numerical simulation of large HELFS , and pus forward the geometry prototype period region model and four tube model calculation method , to solve simulation problem of large HELFS. Further ,by using those simplification method and FLUENT program ,discussed the influence of various structure parameters on the behavior of heat transfer and fluid flow in HELFS , the characteristics of fluid flow and heat transfer , the distribution of fluid flow fields and temperature fields , and the details information of fluid flow and heat transfer in HELFS are obtained. All of them provide the required information for knowing condition of fluid flow and heat transfer and the foundation to improve design of HELFS.

Key words : heat exchanger with longitudinal flow of shellside ; geometry prototype period region model ; four-tube model ; CFD



(上接第 9 页)

**Measurement of the Infinite Dilution Activity Coefficient for
Some Quinolone Compounds in Water**

REN Bao – zeng , LI Wei – ran , LI Chen , LUO Ting – liang , WANG Fu – an

(College of Chemical Engineering , Zhengzhou University , Zhengzhou 450002 , China)

Abstract : Quinolone compounds are rapidly developed and widely applied , which are high active , widely antibacterial and low poisonous. Based on the solid – liquid phase equilibrium theory of chemical engineering thermodynamics and combined with the characteristics of reversed-phase liquid chromatography , an infinite dilution activity coefficient model directly measured by the liquid chromatography is established. The infinite dilution activity coefficient has not been reported yet. Based on the infinite dilution activity coefficient model in this paper , the infinite dilution activity coefficient of some quinolone compounds such as OFLX and others at different temperatures are measured by liquid chromatography with ion suppression. These results for quinolone compounds not only offer some key basic data for the environmental behavior assessment of quinolone compounds , but also play an important role in the exploration of the biological activity mechanism , the prediction of the pharmacology for this type of medicine.

Key words : infinite dilution activity coefficient ;quinolone ;water ;liquid chromatography