

## METODE MODERNE DE ANALIZĂ A CHINOLONELOR

Asist. univ. drd. *Aura Rusu*, prof.univ.dr. *Gyéresi Árpád*, șef lucr. dr. *Gabriel Hancu*  
Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș

### Abstract

Quinolones are a modern class of antibacterial agents that have developed since the discovery of nalidixic acid to compounds with high potency, broad activity spectrum and improved absorption and distribution properties. The major qualitative leap occurred with the introduction of a fluorine atom in the 6th position of the quinoline cycle, resulting in fluoroquinolones, compounds with an increased chemotherapeutic potential. Taking in consideration their great therapeutic importance development of methods for their analysis was and still is a permanent necessity and challenge. Implementations of modern methods of analysis lead to a better understanding of quinolones in terms of chemistry, pharmacodynamics and conditioning. Development of new methods of analysis is closely linked with explosive evolution process of quinolones. The aim of this paper is to present a review regarding the methods used in the quinolones' analysis emphasizing on the modern methods of analysis and the latest developments in this scientific field.

**Key words:** *quinolones, fluoroquinolones, analysis methods*

Chinolonele cuprind o serie de agenți antibacterieni sintetici după modelul acidului nalidixic, un derivat de naftiridină introdus în terapie în anul 1963 pentru tratamentul infecțiilor tractului urinar. Până recent, utilizările clinice ale chinolonelor au fost limitate la tratamentul infecțiilor tractului urinar. Ca rezultat al cercetărilor extinse structură chimică – activitate terapeutică s-a ajuns la compuși cu potență ridicată, spectru de activitate extins, respectiv proprietăți farmacocinetice îmbunătățite (**figura 1**).

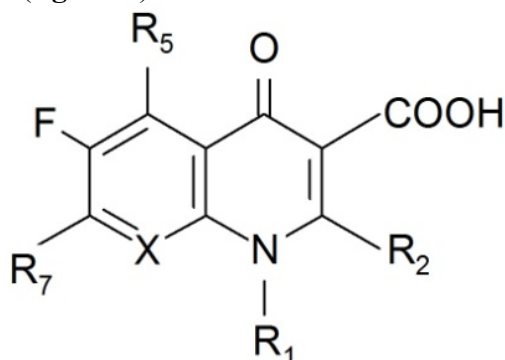


Figura 1. Formula generală a chinolonelor.

Astfel, clasa chinolonelor a evoluat spre punctul în care anumiți noi membri pot fi utilizați pentru tratamentul unei varietăți de infecții sistemice grave. Acești analogi potenți sunt uneori clasificați separat (de agenții specifici tractului urinar) ca fluorochinolone (FQ), deoarece toți membrii grupului au în comun un substituent fluor în poziția 6 a ciclului chinolinic. În funcție de spectru de

activitate chinolonele sunt clasificate în patru generații (tabelul I) [12, 44, 48, 65].

Clasificare	Generația I	Generația a II-a	Generația a III-a	Generația a IV-a
spectru antimicrobian	Enterobacteriaceae	Enterobacteriaceae	Enterobacteriaceae	Enterobacteriaceae
		Unii agenți patogeni atipici;	Agenți patogeni atipici	Agenți patogeni atipici
		Pseudomonas aeruginosa (doar ciprofloxacina)	Streptococcus pneumoniae penicilino-rezistent	Pseudomonas aeruginosa
		Unele microorganisme Gram-pozitive (inclusiv Streptococcus pneumoniae)		Streptococi
				Staphylococcus aureus meticilin-sensibil Agenți patogeni anaerobi
chinolone	Acid nalidixic	Norfloxacină	Levofloxacină	Trovafloxacină
	Cinoxacină	Lomefloxacină	Sparfloxacină	Clinafloxacină
	Flumechină	Enoxacină	Gatifloxacină	Gemifloxacină
	Acid oxolinic	Ofloxacină	Moxifloxacină	Sitafloxacină
	Acid piromidic	Ciprofloxacina	Balofloxacină	Prulifloxacină
	Acid pipemidic	Fleroxacină	Grepafloxacină	Garenoxacină
	Rosoxacină	Nadifloxacină	Pazufloxacină	Ecinoxacină
		Pefloxacină	Temafloxacină	Delafloxacină
		Rufloxacină	Tosufloxacină	

Tabelul I. Clasificarea chinolonelor în generații după spectrul de activitate.

Criteriile de calitate ale fluorochinolonelor sunt stipulate atât în farmacopeele naționale cât și în Farmacopeea Europeană (E.Ph.6). Metodele de analiză folosite în analiza calitativă și cantitativă a chinolonelor sunt:

1. Metode cromatografice (cromatografia pe strat subțire - CSS, cromatografia de lichide de înaltă performanță – CLIP, HPLC, cromatografia de gaze – GC);
2. Metode electroforetice (electroforeza capilară - EC);

3. Metode spectrale (spectrometria în UV și IR, spectrometria atomică de masă, spectrofluorimetria);
4. Metode electrochimice (voltametria stripping, puls polarografia, potențiomertia, conductometria);
5. Metode chimice;
6. Metode microbiologice;
7. Altele metode moderne (RMN, MLC, biosenzori enzimatici etc.) [4, 11, 10].

**Metodele cromatografice** (tabelul II).

**Cromatografia pe strat subțire (CSS), Thin Layer Chromatographic (TLC).** CSS este o metodă de analiză oficială atât în E.Ph.6 cât și în Farmacopeea Română Ediția a X-a (FRX). În E.Ph.6 este o metodă oficială utilizată în analiza calitativă a majorității substanțelor medicamentoase oficinale [99, 100]. Este o tehnică care prezintă o serie de avantaje, fiind o metodă simplă, rapidă, economică și accesibilă, care utilizează cantități mici de substanță și are o bună putere de rezoluție. CSS este utilizată ca metodă oficială (E.Ph.6) de identificare (monografiile: acidul nalidixic, flumechina, pefloxacină mesilat) și în controlul purității (monografiile: acidul nalidixic, acidul oxolinic, ciprofloxacina, clorhidratul de ciprofloxacina, norfloxacina, ofloxacina) derivaților de chinolină. CSS își găsește aplicații și în: identificarea norfloxacinei din reziduuri și de pe suprafețele echipamentelor farmaceutice (norfloxacina); identificarea FQ din diferite forme farmaceutice; studii de stabilitate (acidul nalidixic); determinarea FQ din fluide biologice (norfloxacina, pefloxacină și ciprofloxacina din ser și urină); separarea FQ dintr-un amestec (separarea a șapte fluorochinolone) [10, 17, 38, 88].

Nr. crt.	Chinolone	CSS/TLC	CG/GC	LC/HPLC
1	Acid nalidixic	▲	▲	
2	Acid pipemidic			▲
3	Acid piromidic		▲	▲
4	Acidul oxolinic	▲	▲	▲
5	Amifloxacina			▲
6	Besifloxacina			▲
7	Caderofloxacina			▲
8	Cinoxacina		▲	
9	Ciprofloxacina	▲		▲
10	Clinafloxacina			▲
11	Danofloxacina			▲
12	Difloxacina			▲
13	Enoxacina	▲		▲
14	Enrofloxacina			▲
15	Fleroxacina	▲		▲
16	Flumechina		▲	▲
17	Gatifloxacina			▲
18	Gemifloxacina			▲
19	Grepfloxacina			▲
20	Levofloxacina	▲		▲
21	Lomefloxacina	▲		▲
22	Marbofloxacina			▲
23	Moxifloxacina	▲		▲
24	Norfloxacina	▲		▲
25	Ofloxacina	▲		▲
26	Orbifloxacina			▲
27	Pazufloxacina			▲
28	Pefloxacina	▲		▲
29	Prulifloxacina			▲
30	Rufloxacina			▲
31	Sarafloxacina			▲
32	Sinafloxacina - trial clinic			▲
33	Sparfloxacina	▲		▲
34	Tosufloxacina			▲
35	Trovafloxacina			▲
36	Ulifloxacina			▲

Tabelul II. Metode cromatografice utilizate în analiza chinolonei.

**Cromatografia pe strat subțire de înaltă performanță (CSSIP), High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC)** își găsește aplicații în determinările cantitative și calitative ale următoarelor substanțe: acidul nalidixic din forme farmaceutice și din plasmă, levofloxacina din plasmă, lomefloxacina din comprimate, norfloxacina și ciprofloxacina din forme farmaceutice, rezidurile de acid oxolinic din pește, screeningul rezidurilor de chinolone din țesuturile musculare de porc [10, 51].

**Gazcromatografia (GC), Gas Chromatography (GC)** este o metodă fizico-chimică de separare care poate fi utilizată atât pentru analiza calitativă cât și pentru analiza cantitativă a substanțelor medicamentoase. Utilizarea GC în analiza chinolonei își găsește aplicații în studii de stabilitate al acidului nalidixic, determinarea cinoxacinei din forme farmaceutice, determinarea acidului oxolinic, acidului nalidixic și a acidului piromidic din pește (aici utilizându-se GC cuplată cu spectrometria de masă), determinarea acidului oxolinic, ofloxacinei, enrofloxacinei și danofloxacinei din carnea și rinichii de porc [10, 71].

**Cromatografia de lichide de înaltă performanță (CLIP), High-performance liquid chromatography (HPLC)** este fără discuție cea mai utilizată metodă cromatografică. Avantajele metodei HPLC față de GC sunt legate de creșterea eficacității cromatografice și reducerea timpului de analiză. Încă din 1998, Carlucci descrie utilizarea HPLC la analiza unor FQ: norfloxacină, ofloxacină, ciprofloxacina, pefloxacină, amifloxacină, fleroxacină, difloxacină, lemfloxacină și rufloxacină. După aceasta, HPLC a devenit din ce în ce mai utilizată în analiza chinolonelor cât și a metaboliților lor din fluidele biologice [15, 16, 40, 57, 59, 68, 69, 72, 77, 79, 85, 89, 90, 97].

Odată cu evoluția tehnologiei și a aparaturii s-au dezvoltat metode HPLC care utilizează diferite metode de detecție, pe lângă clasică detecție în UV utilizându-se: HPLC-MS (HPLC cuplat cu spectrometru de masă), HPLC cu detector de fluorescență. Diferite combinații de metode analitice moderne având la bază principiile HPLC au fost dezvoltate în ultimii ani fiind utilizate ulterior cu succes și în analiza derivaților de FQ [5, 14, 22, 23, 36, 64, 91, 93, 102]. Ca și exemplu, putem menționa pe Rambla-Alegre M. și colab. care au dezvoltat și validat o metodă modernă de cromatografie de lichide micelară (MLC, Micellar liquid chromatography) [61].

**Electroforeza capilară (EC), Capillary electrophoresis (CE)** Comparând EC cu HPLC observăm că EC prezintă avantajul evident al costurilor mai scăzute, al timpului de analiză mai scurt și a eficienței remarcabile a separării dar în același timp dezavantajul unei precizii inferioare la injectare și a sensibilității inferioare. De la recenta introducere a acestei metode în laboratoarele de cercetare, EC și-a câștigat un loc bine meritat printre metodele de analiză utilizate la separarea substanțelor medicamentoase. EC nu reprezintă doar o singură metodă de analiză, existând mai multe tehnici: electroforeza capilară zonală (ECZ), electroforeza capilară micelară (ECM), electroforeza capilară pe gel (ECG), electroforeza prin focalizare isoelectrică (ECFI) sau electrocromatografia capilară (ECC). Dezvoltarea de noi metode de detecție, spectrofotometrică, spectrofluorimetrică, conductometrică și mai ales cuplarea cu un

spectrometru de masă (SM) a lărgit și mai mult aria de utilizare a EC.

Electroforeza capilară zonală (ECZ) își găsește numeroase aplicații în grupa FQ: determinarea calitativă și cantitativă [28, 52], separarea enantiomerilor (ofloxacină) [7], determinarea reziduurilor și a metaboliților [8, 34], separarea din medii biologice sau din probe de mediu [27, 58, 75, 78, 94], determinarea din forme farmaceutice ca de exemplu, determinarea rufloxacinăi din comprimate filmate [31] sau separarea ciprofloxacinei, ofloxacinăi și norfloxacinăi dintr-un amestec [76]. ECZ poate fi folosită și în combinații cu alte metode, de exemplu, utilizând polimeri imprimați molecular sau fenomenul de chemiluminiscentă [45, 95].

**Spectrofluorimetria** este o altă metodă utilizată pentru analiza chinolonelor. Drakopoulos și colab. studiază echilibrul acidobazic cât și comportamentul privind fenomenul de complexare cu ajutorul spectrofluorimetriei [18]. Fenomenul de complexare este studiat și de Du L.M. și colab. [19] cu aceeași metodă de lucru. S-au dezvoltat de asemenea metode spectrofluorimetrice utilizate cu succes la determinarea FQ din produse farmaceutice și din fluide biologice [33, 62].

Studii recente au avut ca scop determinarea spectrofluorimetrică a FQ, având la bază fluorescența nativă a acestora [67], elaborarea unei metode sensibile și selective după iradierea UV a FQ [24], determinarea simultană a norfloxacinăi, ofloxacinăi și enoxacinăi din urină pe baza fluorescenței emise de acești compuși în dodecilsulfat de sodiu [25], determinarea FQ din forme farmaceutice sau din probe biologice printr-o metodă care are la bază formarea unui complex stabil cu bromanilul care are rolul de a crește fluorescența compușilor [66] sau o altă metodă bazată pe derivatizarea compușilor cu 4-cloro-7-nitrobenzofurazan [84, 86]. Cañada-Cañada F. și colab. determină danofloxacină din lapte utilizând fenomenul de fluorescență [13].

**Fenomenul de luminiscentă** stă la baza dezvoltării mai multor metode de determinare a FQ sau a complexilor dintre FQ și lantanide (terbium) [42, 54].

**Spectrofotometria în ultraviolet și vizibil (UV - VIS)** este foarte des folosită în determinările chinolonelor. În vizibil, se bazează pe proprietatea acestora de a forma

complecși colorați cu diferiți coloranți (albastru de bromfenol, 2-metil oranj, albastru de bromfenol și bromcrezol, albastru de bromtimol 0, 2,4-dinitrofluorobenzen etc.) sau cu ionii metalici: Fe(II), Fe(III) și o-fenantrolină, Pd(II) și eozină etc. [10, 29, 47, 50, 63, 80].

Ciprofloxacina poate fi determinată spectrofotometric în UV folosind o fază solidă (Sephadex SP C-25), sensibilitatea acestei metode fiind de 40 de ori mai mare decât a metodei corespunzătoare din soluție. Este o metodă rapidă, simplă, ieftină, care poate fi utilizată ca o metodă de rutină pentru determinarea acesteia din forme farmaceutice [55]. Ciprofloxacina și ofloxacina pot fi determinate simultan prin spectrofotometrie în UV din urină, alături de diclofenac și acid mefenamic, după o prealabilă extracție. Aceeași autori au propus o metodă spectrofluorimetrică unde nu mai este necesară o etapă preliminară extractivă [21, 22].

Unele FQ au fost determinate spectrofotometric, pe baza complecșilor formați cu ionul de Fe(III) din sărurile nitrat de fier, clorură ferică și citrat de amoniu fier. Complecșii formați în aceste reacții sunt de culoare brună [73]. S-au dezvoltat metode cantitative de determinare spectrofotometrică în VIS a sparfloxacinei din substanța farmaceutică și forme farmaceutice, pe baza formării unui complex de culoare galbenă, între sparfloxacina și roșu de bromcresol [74]. Asemănător, s-a dezvoltat o metodă de determinare cantitativă a pefloxacinei din substanța farmaceutică și forme farmaceutice, bazată pe extracția indicatorului albastru de bromfenol din combinația pefloxacina-indicator. Această metodă poate fi utilizată la monitorizarea uniformității conținutului comprimatelor și fiolelor precum și puritatea pefloxacinei în materia primă [9].

Rosoxacina poate fi determinată spectrofotometric din substanța farmaceutică și din comprimate pe baza reacției cu nitroprusiatul de sodiu, cu care formează un complex colorat în roșu [6]. La fel și gemifloxacina poate fi determinată cantitativ din forme farmaceutice pe baza complecșilor colorați formați și care apoi au fost extrași în cloroform, cu mai mulți coloranți: safranin O, albastru de metilen, albastru naftol 12BR, ayocaramin G [39].

**Rezonanța magnetică nucleară (RMN)** are ca principală aplicație caracterizarea structurală a materiilor prime și a produselor finite, dar își găsește aplicații și la determinarea impurităților (inclusiv la determinarea purității izomerilor optici) fără separare, până la un nivel de concentrație de 10%, analiza calitativă a amestecurilor, analiza cantitativă a substanțelor farmaceutice din formulări, fără o separare prealabilă [26, 101]. Astfel găsim, o metodă RMN validată pentru determinarea cantitativă a chinolonelor la care informațiile cantitative sunt obținute luând în calcul migrarea protonilor [49]. De asemenea Wetystein H. G. și colab. au identificat metaboliții enrofloxacinii printr-o metodă RMN [92]. Într-un studiu mai amplu, metoda RMN a fost utilizată pentru a determina structurile produșilor de degradare în natură (în ecosistemele acvatice) ai ciprofloxacinei și enrofloxacinii: legăturile atomice, informații despre grupările funcționale și schimbările structurale [41].

**Spectrometria de absorbție atomică (SAA)** se utilizează la determinarea cantitativă a numeroase FQ [67]. Este de menționat că SAA poate fi utilizată la analiza FQ și în combinații cu alte metode [2, 56, 67].

**Metode electrochimice - metode voltametrice.** Puls polarografia (differential pulse polarography - DPP) își găsește utilizare în analiza unor FQ din materiile prime, forme farmaceutice și fluide biologice [35, 60, 98]. **Titrea oscilopolarografică** este utilizată la determinarea norfloxacinei din comprimate și capsule [10]. **Voltametria** poate fi utilizată ca metodă de determinare a feroxacinii din comprimate [37].

De asemenea **voltametria cu redizolvare anodică (adsorbitive stripping voltammetry - ASV)** este o metodă foarte sensibilă utilizată pentru determinarea enrofloxacinii [20]. **Linear sweep stripping voltammetry** este o metodă modernă utilizată de Ni Y. și colab. [10, 53]. **Voltametria stripping puls diferențială adsorbțivă** este oarecum asemănătoare cu voltametria puls diferențială cu redizolvare anodică. S-a utilizat încă din anul 1995 la determinarea rufloxacinei din tablete, plasmă și urină. Această metodă poate fi utilizată la determinarea majorității FQ din fluide biologice și din forme farmaceutice [30, 92].

**Potențimetri**a și **conductometri**a sunt utilizate combinat pentru determinarea levofloxacinii din soluțiile injectabile [3]. **Titra**rea **electrolitică** poate fi utilizată pentru determinarea ciprofloxacinei din forme farmaceutice [1]. Ca metodă chimică, **titra**rea **în mediu neapos** este utilizată la determinarea gatifloxacinii din forme farmaceutice [46].

**Metodele microbiologice** pot fi utilizate pentru determinarea FQ din forme farmaceutice, dar au dezavantajul că necesită echipamente scumpe și un timp îndelungat [10, 70].

**Alte metode moderne de analiză.** Studiul unor asociații complexe care se formează între FQ și Cu (II), care ulterior se leagă de eritrozină au fost cercetate de Wang J. și colaboratorii. [87] **Injec**ția **fluidelor (flow injection - FIA)** și **chemiluminiscen**ța poate fi utilizată la determinarea unor FQ din forme farmaceutice [43]. Astfel, **FIA și spectrofotometria UV** au fost utilizate pentru a determina ciprofloxacina din preparatele farmaceutice [32]. Noile direcții de dezvoltare ale metodelor analitice utilizate în studiul chinolonelor includ utilizarea de biosenzori rotativi și amprenta moleculară a acestora [81, 82, 83, 96].

## Bibliografie

- [1] Abulkibash A.M., Sultan S. M., Al-Olyan A.M., Al-Ghannam S.M., Differential electrolytic potentiometric titration method for the determination of ciprofloxacin in drug formulations, *Talanta*, 2003, 61 (2), 239
- [2] Al-Ghannam S. M., Atomic absorption spectroscopic, conductometric and colorimetric methods for determination of some fluoroquinolone antibacterials using ammonium reineckate, *Spectrochimica Acta Part A*, 2008, 69, 1188–1194
- [3] Altiokka G., Atkosar Z., Can N.O., The determination of levofloxacin by flow injection analysis using UV detection, potentiometry, and conductometry in pharmaceutical preparations, *J. Pharm. Biom. Anal.*, 2002, 30 (3): 881-885
- [4] Andreu V., Blasco C., Pico Y., Analytical strategies to determine quinolone residues in food and the environment, *Trends in Analytical Chemistry*, 2007, 26, 6: 534 - 556
- [5] Arnold D.R., Granvil C.P., Ward K.W., Proksch J.W., Quantitative determination of besifloxacin, a novel fluoroquinolone antimicrobial agent, in human tears by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2008, 867(1):105-110
- [6] Askal H. F., Refaat I. H., Darwish I. A., Marzouq M. A., A selective spectrophotometric method for determination of rosoxacin antibiotic using sodium nitroprusside as a chromogenic reagent, *Spectrochimica Acta Part A* 2008, 69, 1287–1291
- [7] Awadallah B, Schmidt PC, Wahl MA., Quantitation of the enantiomers of ofloxacin by capillary electrophoresis in the parts per billion concentration range for in vitro drug absorption studies, *J Chromatogr A.* 2003, 988(1):135–143
- [8] Baron D., Jimenez-Lozano E., Cano J., Barbosa J., Determination of residues of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in biological materials by capillary electrophoresis, *J. Chromatogr. B.*, 1997, 692, 453
- [9] Basavaiah K., Prameela H. C., Somashekar B. C., Spectrophotometric determination of pefloxacin mesylate in pharmaceuticals, *Acta Pharm.*, 2007, 57, 221–230
- [10] Belal F., Al-Majed A.A., Al-Obaid A.M., Methods of analysis of 4-quinolone antibacterials, *Talanta*, 1999, 50, 765–786
- [11] Blasco C., Torres C. M., Pico Y., Progress in analysis of residual antibacterials in food, *Trends in Analytical Chemistry*, 2007, 26, 9: 895-912
- [12] Block J., Beale J. M., Wilson and Gisvold' s Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry, Lippincott Williams and Wilkins, 2003, 247-252
- [13] Cañada-Cañada F, Espinosa-Mansilla A., Muñoz de la Peña A., Girón A. , González-Gómez D., Determination of danofloxacin in milk combining second-order calibration and standard addition method using excitation-emission fluorescence data, *Food Chemistry*, 2009, 113, 1260–1265
- [14] Cañada-Cañada F, Arancibia J.A., Escandar G.M., Ibanez G.A., Mansilla A. E., Munoz de la Pena A., Olivieri A.C., Second-order multivariate calibration procedures applied to high-performance liquid chromatography coupled to fast-scanning fluorescence detection for the determination of fluoroquinolones, *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216, 4868–4876
- [15] Carlucci G., Analysis of fluoroquinolones in biological fluids by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. A.*, 1998, 812, 343
- [16] Chakrabarty U.S., Das A., Bhaumik U., Chatterjee B., Ghosh A., Bose A., Sengupta

- P., Nandi U., Pal T. K., Rapid and Sensitive LC Method for the Analysis of Gemifloxacin in Human Plasma, *Chromatographia* 2009, 69: 9/10, 853-858
- [17] Dorofeev V. L., Konovalov A. A., Kochin V. Yu., Arzamastsev A. P., TLC Analysis of Drugs of the Fluoroquinolone Group, Translated from *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*, 2004, 38, 9, 45 – 47.
- [18] Drakopoulous A., Ioannou P., Spectrofluorimetric study of the acid–base equilibria and complexation behavior of the fluoroquinolone antibiotics ofloxacin, norfloxacin, ciprofloxacin and pefloxacin in aqueous solution *Anal. Chim. Acta*, 1997, 354, 197
- [19] Du L.M., Yao H. Y., Fu M., Spectrofluorimetric study of the charge-transfer complexation of certain fluoroquinolones with 7,7,8,8-tetracyanoquinodimethane, *Spectrochim. Acta Part A: Molecular and biomolecular spectroscopy*, 2005, 61, 281-286
- [20] Ensafi A. A., Khayamian T., Taei M., Determination of ultra trace amount of enrofloxacin by adsorptive cathodic stripping voltammetry using copper(II) as an intermediate, *Talanta*, 2009, 78 942–948
- [21] Espinosa-Mansilla A., Muñoz de la Peña A., Cañada-Cañada F., González Gómez D., Determinations of Fluoroquinolones and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in urine by extractive spectrophotometry and photo-induced spectrofluorimetry using multivariate calibration, *Analytical Biochemistry*, 2005, 347, 275–286
- [22] Espinosa-Mansilla A., Muñoz de la Peña A., Gomez G. D., Salinas F., Determination of fluoroquinolones in urine and serum by using high performance liquid chromatography and multiemission scan fluorimetric detection, *Talanta*, 2006, 68, 1215–1221
- [23] Espinosa-Mansilla A., Muñoz de la Peña A., Gomez G. D., Salinas F., HPLC determination of enoxacin, ciprofloxacin, norfloxacin and ofloxacin with photoinduced fluorimetric (PIF) detection and multiemission scanning, Application to urine and serum, *Journal of Chromatography B*, 2005, 822, 185–193
- [24] Espinosa-Mansilla A., Muñoz de la Peña A., Gomez G. D., Salinas F., Photoinduced spectrofluorimetric determination of fluoroquinolones in human urine by using three- and two-way spectroscopic data and multivariate calibration, *Analytica Chimica Acta*, 2005, 531, 257–266
- [25] Espinosa-Mansilla A., Muñoz de la Peña A., Salinas F., Gomez G. D., Partial least squares multicomponent fluorimetric determination of fluoroquinolones in human urine samples, *Talanta*, 2004, 62, 853–860
- [26] Fardella G., Barbetti P., Chiappini I., Grandolini G., Quantitative analysis of fluoroquinolones by <sup>1</sup>H- and <sup>19</sup>F-NMR spectroscopy, *Int. J. Pharm.* 1995, 121:1, 123-127
- [27] Ferdig M., Kaleta A., Thanh Vo T. D., Buchberger W., Improved capillary electrophoretic separation of nine (fluoro)quinolones with fluorescence detection for biological and environmental samples, *Journal of Chromatography A*, 2004, 1047, 305–311
- [28] Fierens C., Hillaert. S., Van Den Bossche W., The qualitative and quantitative determination of quinolones of first and second generation by capillary electrophoresis, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2000, 22, 763-772.
- [29] Fratini, L., Schapoval E.E.S., Ciprofloxacin determination by visible light spectrophotometry using iron(III) nitrate, *Int. J. Pharm.*, 1996, 127, 279-282
- [30] Furlanetto S., Gratteri P., Pinzauti S., Leardi R., Dreassi E., Santoni G., Design and optimization of the variables in the adsorptive stripping voltammetric determination of rifloxacin in tablets, human plasma and urine, *J. Phar. Biomed. Anal.*, 1995, 13(4/5), 431-438.
- [31] Furlanetto S., Orlandini S., La Porta E., Coran S., Pinzauti S., Optimization and validation of a CZE method for rifloxacin hydrochloride determination in coated tablets, *J. Pharm. Biomed Anal.*, 2002, 28, 1161
- [32] Garcia M. S., Albero M. I., Sanchez-Pedreno C., Abuherba M. S., Flow injection spectrophotometric determination of ofloxacin in pharmaceuticals and urine, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2005, 61, 87–93
- [33] Giménez D., Grasso D., Sarabia L., Ortiz M.C., Determination of quinolones by fluorescent excitation emission, *Talanta*, 2004, 64, 442–451
- [34] Horskotter C., Blaschke G., Stereoselective determination of ofloxacin and its metabolites in human urine by capillary electrophoresis using laser-induced fluorescence, *J. Chromatogr. B.*, 2001, 754, 169
- [35] Jaber A., Lounici A., Polarographic analysis of certain fluoroquinolones, *Anal. Chim. Acta*, 1994, 291(1-2), 53
- [36] Johnston L., Mackay L., Croft M., Determination of quinolones and fluoro-

- quinolones in fish tissue and seafood by high-performance liquid chromatography with electrospray ionisation tandem mass spectrometric detection, *Journal of Chromatography A*, 2002, 982 (1), 97-109
- [37] Kapetanovic V., Milanovic Lj., Aleksic M., Ignjatovic Lj., Voltammetric methods for analytical determination of fleroxacin in quinodis tablets, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2000, 22, 925
- [38] Kowalczyk D., Hopkała H., Separation of Fluoroquinolone Antibiotics by TLC on Silica Gel, Cellulose and Silanized Layers, *Journal of Planar Chromatography*, 2006, 19, 109, 216-222
- [39] Krishna M.V., Sankar D. G., Spectrophotometric Determination of Gemifloxacin Mesylate in Pharmaceutical Formulations Through Ion-Pair Complex Formation, *E-Journal of Chemistry*, 2008, 5(3), 515-520
- [40] Laban-Djurdjevic A., Jelkic-Stankov M., Djurdjevic P., Optimization and validation of the direct HPLC method for the determination of moxifloxacin in plasma, *Journal of Chromatography B*, 2006, 844, 104-111
- [41] Larive C. K., Harned L., Application of HPLC-NMR, HPLC-MS and MS/MS to Investigate the Environmental Fate of Fluoroquinolone Antibiotics, Conference on Small Molecule Science, CoSMoS, August 8-11, 2005 Bristol, Rhode Island
- [42] Li Junfen, Li Jianqing, Shuang S., Dong C., Study of the luminescence behavior of seven quinolones on a paper substrate, *Analytica Chimica Acta*, 2005, 548, 134-142
- [43] Liang Y-D, Song J-F, Yang X-F., Flow-injection chemiluminescence determination of fluoroquinolones by enhancement of weak chemiluminescence from peroxyntrous acid, *Anal.Chim. Acta*, 2004, 510, 21
- [44] Lodha S. R., Fluoroquinolones: An Overview, *Pharmainfo.net*, 2008, 6/2
- [45] Lombardo-Agüí M., García-Campana A. M., Gámiz-Gracia L., Cruces Blanco C., Laser induced fluorescence coupled to capillary electrophoresis for the determination of fluoroquinolones in foods of animal origin using molecularly imprinted polymers, *Journal of Chromatography A*, 2010, 1217, 2237-2242
- [46] Marona H., Lopes C., Cardoso S. G., Non-aqueous Titration of Gatifloxacin in Pharmaceutical Formulations using Perchloric Acid, *Lat. Am. J. Pharm.*, 2003, 22, 4, 339-42
- [47] Marona H., Schapoval E. E., Spectrophotometric determination of sparfloxacin in pharmaceutical formulations using bromothymol blue, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2001, 26, 501
- [48] Martinez M., McDermott P., Walker R., Pharmacology of the fluoroquinolones: A perspective for the use in domestic animals, *The Veterinary Journal*, 2006, 172, 10-28
- [49] Michaleas S, Antoniadou-Vyza E., A new approach to quantitative NMR: fluoroquinolones analysis by evaluating the chemical shift displacements, *J Pharm Biomed Anal.* 2006, 42, 405-410
- [50] Mostafa S., El-Sadek M., Alla E. A., Spectrophotometric determination of enrofloxacin and pefloxacin through ion-pair complex formation, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2002, 28(1), 173
- [51] Namur S. , Cariño L., González-de la Parra M., Development and validation of a densitometric HPTLC method for quantitative analysis of levofloxacin in human plasma, *Journal JPC - Journal of Planar Chromatography - Modern TLC*, 2008, 21, 3, 209-212
- [52] Navalon A., Araujo L., Prieto A., Vlchez J.L., Determination of grepafloxacin and clinafloxacin by capillary zone electrophoresis, *J. Chromatogr. B.*, 2002, 772, 65
- [53] Ni Y, Wang Y, Kokot S., Simultaneous determination of three fluoroquinolones by linear sweep stripping voltammetry with the aid of chemometrics, *Talanta*, 2006, 69, 216-25
- [54] Ocana J.A., Callejon M., Barragan F.J., Determination of trovafloxacin in human serum by time resolved terbium-sensitised luminescence. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2001, 13(3), 297
- [55] Pascual-Reguera M. I., Perez Parras G., Molina Diaz A., Solid-phase UV spectrophotometric method for determination of Ciprofloxacin, *Microchemical Journal* 2004, 77, 79-84
- [56] Pascual-Reguera M.I., Perez Parras G., Molina Diaz A., A single spectroscopic flow-through sensing device for determination of ciprofloxacin, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2004, 35, 689
- [57] Pellegrino R. M., Segoloni F., Cagini C., Simultaneous determination of Ciprofloxacin and the active metabolite of Prulifloxacin in aqueous human humor by high-performance liquid chromatography, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2008, 47, 567-574
- [58] Pérez-Ruiz T., Martínez-Lozano C., Sanz A., Bravo E., Separation and simultaneous determination of quinolone antibiotics by



- capillary zone electrophoresis, *Chromatographia*, 1999, 49, 7-8, 419-423
- [59] Pistos C., Tsantili-Kakoulidou A., Koupparis M., Investigation of the retention/pH profile of zwitterionic fluoroquinolones in reversed-phase and ion-interaction high performance liquid chromatography, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2005, 39, 438-443
- [60] Ramadan A.A., Mandil H., Determination of gatifloxacin in pure form and pharmaceutical formulations by differential pulse polarographic analysis, *Analytical Biochemistry* xxx (2010) xxx-xxx (In press)
- [61] Rambla-Alegre M., Esteve-Romero J., Carda-Broch S., Validation of a MLC method with fluorescence detection for the determination of quinolones in urine samples by direct injection, *Journal of Chromatography B*, 2009, 877, 3975-3981
- [62] Rizk M., Belal F., Ibrahim F., Ahmed S., el-Enany N., *Pharm. Acta Helv.*, Spectrofluorimetric analysis of certain 4-quinolone in pharmaceuticals and biological fluids, 2000, 74, 37
- [63] Rizk M., Belal F., Ibrahim F., Ahmed S., Sheribah Z. A., Derivative spectrophotometric analysis of 4-quinolone antibacterials in formulations and spiked biological fluids by their Cu(II) complexes, *J AOAC Int.* 2001, 84(2): 368-75
- [64] Roy B, Das A, Bhaumik U, Sarkar AK, Bose A, Mukharjee J, Chakrabarty US, Das AK, Pal TK., Determination of gemifloxacin in different tissues of rat after oral dosing of gemifloxacin mesylate by LC-MS/MS and its application in drug tissue distribution study, *J Pharm Biomed Anal.*, 2010, 52(2), 216-26
- [65] Rusu G., Dănilă Gh., *Medicamente chinolonice - Prezent și viitor în chimioterapia antiinfecțioasă*, Ed. "Gheorghe Asachi Iași", 2001, 22-25, 49-60
- [66] Salem H., Fada L., Khater W., Spectrofluorimetric Determination of Certain Fluoroquinolones Through Charge Transfer Complex Formation, *American Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2007, 2(1): 18-25
- [67] Salem H., Spectrofluorimetric, Atomic Absorption Spectrometric and Spectrophotometric Determination of Some Fluoroquinolones, *American Journal of Applied Sciences* 2005, 2 (3): 719-729
- [68] Samanidou V. F., Demetriou C. E., Papadoyannis I. N., Direct determination of four fluoroquinolones, enoxacin, norfloxacin, ofloxacin, and ciprofloxacin, in pharmaceuticals and blood serum by HPLC, *Anal Bioanal Chem*, 2003, 375 : 623-629
- [69] Santoro M. I. R.M., Kassab N. M., Singh A. K., Kedor-Hackmam E. R. M., Quantitative determination of gatifloxacin, levofloxacin, lomefloxacin and pefloxacin fluoroquinolonic antibiotics in pharmaceutical preparations by high-performance liquid chromatography, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 40, 2006, 179-184
- [70] Schaumann R., Rodloff A.C., Activities of Quinolones Against Obligately Anaerobic Bacteria, *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry*, 2007, 6, 49-56
- [71] Seiji A., Kazumi H., Kazuyuki O., Yoshio N., Takashi N., Confirmation of Quinolone Antibacterials in Porcine Meat and Kidneys by Gas Chromatography/Mass Spectrometry Using Selected Ion Monitoring, *Journal of the Japan Veterinary Medical Association*, 2000, 53, 4: 225-231
- [72] Shervington L. A., Abba M., Hussain B., Donnelly J., The simultaneous separation and determination of five quinolone antibiotics using isocratic reversed-phase HPLC: Application to stability studies on an ofloxacin tablet formulation, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2005, 39, 769-775
- [73] Siddiqui F. A., Arayne M. S., Sultana N., Mirza A. Z., Qureshi F., Zuberi M. H., Facile and manifest spectrophotometric methods for the determination of six quinolone antibiotics in pharmaceutical formulations using iron salts, *Med Chem Res*, DOI 10.1007/s00044-009-9268-7, Published online: 11 November 2009
- [74] Srikar A., Swapna D., Swathi G., Swapna I., Sucharitha D., Spectrophotometric estimation of sparfloxacin in bulk and pharmaceutical dosage forms, *International Journal Of Pharmacy&Technology*, 2010, 2, 16-22
- [75] Sun H., He P., Lv Y., Liang S., Effective separation and simultaneous determination of seven fluoroquinolones by capillary electrophoresis with diode-array detector, *Journal of Chromatography B*, 2007, 852, 145-151
- [76] Sun H., He P., Lv Y., Zhao X., Liang S., Simultaneous determination of ciprofloxacin, ofloxacin and norfloxacin in pharmaceutical preparations by capillary electrophoresis, <http://www.chemistrymag.org/cji/2006/085032pe.htm>, 2006, 8, 5, 32
- [77] Sun H., Qiao F., Recognition mechanism of water-compatible molecularly imprinted solid-phase extraction and determination of



- nine quinolones in urine by high performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography A*, 2008, 1212, 1–9
- [78] Sun H., Zhao W., He P., Effective Separation and Simultaneous Determination of Four Fluoroquinolones in Milk by CE with SPE, *Chromatographia*, 2008, 68, 5/6, 425–429
- [79] Sunderland J., Lovering A. M., Tobin C. M., MacGowan A. P., Roeb J. M., Delsol A. A., A reverse-phase HPLC assay for the simultaneous determination of enrofloxacin and ciprofloxacin in pig faeces, *International Journal of Antimicrobial Agents* 2004, 23, 390–393
- [80] Suslu I., Tamer A., Spectrophotometric determination of enoxacin as ion-pairs with bromophenol blue and bromocresol purple in bulk and pharmaceutical dosage form, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2002, 29, 545
- [81] Torriero A. A. J., Ruiz-Díaz J. J. J., Salinas E., Marchevsky E. J., Sanz M. I., Raba J., Enzymatic rotating biosensor for ciprofloxacin determination, *Talanta*, 2006, 69, 691–699
- [82] Torriero A.A.J., Salinas E., Raba J., Silber J. J., Sensitive determination of ciprofloxacin and norfloxacin in biological fluids using an enzymatic rotating biosensor, *Biosensors and Bioelectronics*, 2006, 22, 109–115
- [83] Turiel E., Martín-Esteban A., Tadeo J. L., Molecular imprinting-based separation methods for selective analysis of fluoroquinolones in soils, *Journal of Chromatography A*, 2007, 1172, 97–104
- [84] Ulu S. T., Highly sensitive spectrofluorimetric determination of lomefloxacin in spiked human plasma, urine and pharmaceutical preparations, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2009, 44, 3402–3405
- [85] Ulu S. T., High-performance liquid chromatography assay for moxifloxacin: Pharmacokinetics in human plasma, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2007, 43, 320–324
- [86] Ulu S. T., Spectrofluorimetric determination of fluoroquinolones in pharmaceutical preparations, *Spectrochimica Acta Part A*, 2009, 72, 138–143
- [87] Wang J., Liu Z.F., Liu S.P., Liu J.T., Shen W., Yi A.E., Study of the absorption and fluorescence and resonance rayleigh scattering spectra of Cu(II)-fluoroquinolone chelates with erythrosine and their applications, *Sci China Ser B-Chem*, Jan. 2008, 51, 1, 31–40
- [88] Wang P. L., Feng Y. L., Chen L. A., Simultaneous determination of norfloxacin, pefloxacin, and ciprofloxacin by TLC-fluorescence spectrodensimetry, *Microchem. J.*, 1997, 56, 229 - 235
- [89] Wang S., Wena J., Cuia L., Zhang X., Wei H., Xie R., Feng B., Wu Y., Fan G., Optimization and validation of a high performance liquid chromatography method for rapid determination of sinifloxacin, a novel fluoroquinolone in rat plasma using a fused-core C18-silica column, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2010, 51, 889–893
- [90] Watabe S., Yokoyama Y., Nakazawa K., Shinozaki K., Hiraoka R., Takeshita K., Suzuki Y., Simultaneous measurement of pazufloxacin, ciprofloxacin, and levofloxacin in human serum by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection, *Journal of Chromatography B*, 2010, 878, 1555–1561
- [91] Wetzstein H.G., Schmeer N., Karl W., Degradation of the Fluoroquinolone Enrofloxacin by the Brown Rot Fungus *Gloeophyllum striatum*: Identification of Metabolites, *Applied and Environmental Microbiology*, 63 (1997), 11, 4272–4281
- [92] Wilchez j.l., Taoufiki J., Araujo L., Navalon A., Determination of the antibacterial trovafloxacin by differential-pulse adsorptive stripping voltammetry, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2003, 31(3), 465
- [93] Yang G., Dong A., Zeng Z., Huang X., Chen Z., Study of danofloxacin depletion in eggs of laying hens after oral administration, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2006, 28, 128–131
- [94] Yang Z., Qin W., Separation of fluoroquinolones in acidic buffer by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection, *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216, 5327–5332
- [95] Yang Z., Wang X., Qin W., Zhao H., Capillary electrophoresis–chemiluminescence determination of norfloxacin and prulifloxacin, *Analytica Chimica Acta*, 2008, 623, 231–237
- [96] Zheng M.-M., Gong R., Zhao X., Feng Y.-Q., Selective sample pretreatment by molecularly imprinted polymer monolith for the analysis of fluoroquinolones from milk samples, *Journal of Chromatography A*, 2010, 1217, 2075–2081
- [97] Zheng W., Xu X., Wang E., Direct chiral separation of caderofloxacin enantiomers by HPLC using a glycoprotein column, *Journal of Analytical Chemistry*, 2006, 61, 1090 - 1092

- [98] Zhou G., Pan J., Polarographic and voltammetric behaviour of ofloxacin and its analytical application, *Anal. Chim. Acta*, 1995, 307, 49
- [99] \*\* - European Pharmacopeia 6th, Council of Europe, Strasbourg, 2007.
- [100] \*\* - Farmacopeea Română, Ediția a X-a, Ed. Medicală, București, 1993
- [101] \*\* - Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology, Vol. 34, Edited by Harry Brittain, Center for Pharmaceutical
- Physics, Milford, NJ, USA, published by Elsevier Inc, 2009, 271, ISSN 1075-6280, DOI: 10.1016/S0099-5428(08)00006-3
- [102] \*\* - US Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service, Office of Public Science, Confirmation of Fluoroquinolone Antibiotics by HPLC Ion Trap Mass Spectrometry, SOP No:CLG-FLQ2.00, 2006