

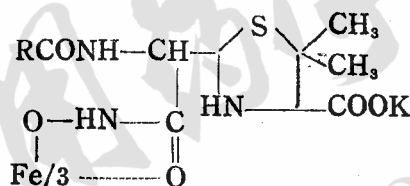
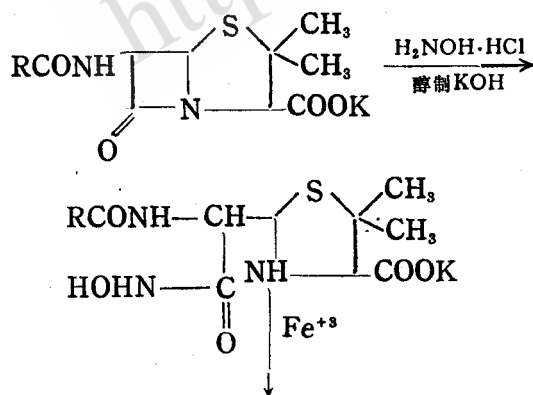
## 羟胺—三氯化铁法测定青霉素皮试液含量

浙江省药品检验所 沈云骥

**提要** 本文提出一个简单、灵敏的利用青霉素与羟胺作用，而后与高铁离子络合的反应测定皮试液中青霉素含量的分光光度法，测定结果其平均回收率为 $100.0\% \pm 0.06$ 。方法准确、快速，无需昂贵的试剂和特殊仪器，适于基层医疗单位采用。

**关键词** 青霉素 羟胺—三氯化铁法

被广泛应用于临床的青霉素类药物主要副作用是过敏反应，病人用药前需作过敏试验，因此青霉素皮试液成为各医疗单位常用的必备制剂。中国药典(1985年版，下同)规定其浓度为 $500 \text{ u/ml}$ ，(给药 $0.1 \text{ ml}$ )<sup>[1]</sup>。浙江省医院制剂规范(1988年版，下同)并规定在 $2 \sim 10^\circ\text{C}$ 保存，有效期 $5 \sim 7$ 天<sup>[2]</sup>。对于如此低的含量和短的使用期限，常规的化学或微生物法都不能满足准确和快速测定的要求<sup>[3]、[4]</sup>。有人介绍紫外分光光度法<sup>[4]、[5]</sup>、钼兰法<sup>[6]、[5]</sup>测定，但需使用较昂贵的仪器、有毒的试剂，或测定费时。笔者利用青霉素与羟胺作用，使内酰胺环破裂，定量地转化成羟肟酸，而后与高铁离子反应生成红色络合物的原理，设计了羟胺—三氯化铁法测定皮试液的含量，获得满意结果。反应式为：



### 实验方法和结果

药物和试剂

盐酸羟胺、三氯化铁 均为试剂级

青霉素G钾 注射用苏州第二制药厂

盐酸羟胺试液 取盐酸羟胺 $3.5 \text{ g}$ ，加 $60\%$ 乙醇 $80 \text{ ml}$ 溶解后，加适量 $0.5 \text{ mol/L}$ 醇制氢氧化钾试液调节至 $\text{pH}$ 约为 $8$ ，再加适量的 $60\%$ 乙醇使成 $100 \text{ ml}$ 。

三氯化铁试液 按中国药典配制。

生理盐水  $0.9\%$ 的氯化钠水溶液。

皮试用青霉素溶剂 含 $0.3\%$ 枸橼酸钠与 $0.85\%$ 氯化钠的水溶液。

青霉素G钾标准液 分别精密称取青霉素G钾 $33 \text{ mg}$ ，置 $100 \text{ ml}$ 量瓶中，如下配制成 $500 \text{ u/ml}$ ：

(a) 加水溶解并稀释至刻度，摇匀。

(b) 加生理盐水溶解并稀释至刻度，摇匀。(中国药典处方<sup>[1]</sup>)。

(c) 加皮试用青霉素溶剂溶解并稀释至刻度，摇匀。(浙江省医院制剂手册处

方)。

仪器

岛津 uv-265型、751型分光光度计,721型、72型光电比色计。

测定波长的选定

量取青霉素G 钾标准液(a)0.0, 6.0 ml, 分别置于15 ml 具塞刻度试管中, 各精密加入盐酸羟胺试液 1 ml, 摇匀, 放置 2 分钟, 各再精密加入三氯化铁试液 1 ml, 并用水稀释至总量为10.0 ml, 摇匀, 放置 10 分钟后, 以水为空白, 在440~550 nm 波长范围内进行光谱扫描, 结果表明络合物在 488.4 nm 波长处有最大吸收, 试剂空白液在此处仅有0.006的吸收(见图 1)。本文选定 488 nm 作测定波长。

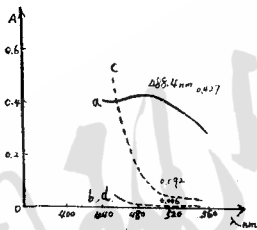


图 1 吸收光谱

- a. 青霉素G 钾标准液(a) + 试剂
- b. 生理盐水 + 试剂
- c. 皮试用青霉素溶剂 + 试剂
- d. 水 + 试剂

制剂中其它组分的干扰情况

取生理盐水、皮试用青霉素溶剂 各 6.0 ml, 分别置于15 ml 具塞刻度试管内, 同前操作作光谱扫描。中国药典规定皮试液的溶剂为生理盐水, 经试验氯化钠在本测定中不干扰(488 nm 波长处无吸收), 但亦有按各地处方配制的皮试液溶剂, 如浙江省医院制剂手册为每100 ml 含氯化钠 0.85 g 和枸橼酸钠0.3 g, 经试验其中枸橼酸钠与试剂反应的产物为黄色, 在488 nm 波长处有吸收。(见图 1)。

标准曲线制备

精密量取青霉素G 钾标准液 0, 2,

3, 4, 5, 6 ml, 分别置于15 ml 具塞刻度试管中, 精密加入盐酸羟胺试液 1 ml, 摇匀, 放置 2 分钟, 精密加入三氯化铁试液 1 ml, 并用水稀释至总量为10.0 ml, 摇匀, 放置10分钟, 以第一管为空白, 在488nm 波长处分别测定各溶液的吸光度, 它们的最终稀释浓度及测得吸光度见表 1。结果表明本方法青霉素含量的最终稀释浓度在 300 u 范围内中国药典处方回归方程为:

$C = 732.1A - 8.344$ ,  $r = 1.0000$ ; 浙江省医院制剂手册处方为  $C = 574.6A - 15.70$ ;  $r = 0.9999$ 。

表 1 不同浓度的青霉素G 钾吸收值

| 编号   | 取 样 量<br>V(ml) | 最终稀释浓度<br>(u/ml) | 吸 收 度                   |                         |
|------|----------------|------------------|-------------------------|-------------------------|
|      |                |                  | A <sub>a</sub>          | A <sub>b</sub>          |
| 1    | 0.0            | 0                | 0                       | 0                       |
| 2    | 2.0            | 100              | 0.148                   | 0.200                   |
| 3    | 3.0            | 150              | 0.216                   | 0.288                   |
| 4    | 4.0            | 200              | 0.285                   | 0.378                   |
| 5    | 5.0            | 250              | 0.353                   | 0.464                   |
| 6    | 6.0            | 300              | 0.421                   | 0.547                   |
| 回归方程 |                |                  | $C_a = 732.1 A - 8.344$ | $C_b = 574.6 A - 15.70$ |
| r    |                |                  | 1.0000                  | 0.9999                  |

a: 中国药典处方 b: 浙江省医院制剂手册处方

供试品测定

(1) 标准曲线法 精密量取青霉素皮试液 4 ml, 置15 ml 具塞刻度试管中, 按标准曲线制备项下所述进行。测得之吸光度从标准曲线计算皮试液之青霉素含量。

(2) 标准对比法 分别精密量取青霉素G 钾标准液和皮试液 4 ml, 各精密加入盐酸羟胺试液 1 ml, 摇匀, 放置 2 分钟, 各精密加入三氯化铁试液 1 ml 和水 4 ml, 摇匀, 放置10分钟, 以试剂空白为对照, 于 488 nm 波长处测定各自的吸光度, 计算, 即得。

回收率试验

## 讨 论

按中国药典和浙江省制剂手册处方精密配制每毫升含青霉素G钾量为400 u、450 u、500 u、550 u、600 u的试验液,分别以本法测定四次。其中青霉素G钾标准液按中国药典处方配制者采用(a)和(b),按浙江省医院制剂手册处方配制者采用(c)。平均回收率为 $100.0\% \pm 0.06$ 、 $100.0\% \pm 0.06$ 、 $100.0\% \pm 0.05$ 。

### 青霉素皮试液测定

取省、市级医院青霉素皮试液样品2批及模拟自配皮试液样品4批用本法测定,结果见表2。

表2 青霉素皮试液测定结果

| 编 号 | 测 得 值 (u/ml) |       |       |       |       | $\bar{x} \pm SD$ |
|-----|--------------|-------|-------|-------|-------|------------------|
| 1   | 454.7        | 454.7 | 454.6 | 454.6 | 454.7 | $454.7 \pm 0.06$ |
| 2   | 502.6        | 502.5 | 502.5 | 502.6 | 502.6 | $502.6 \pm 0.06$ |
| 3   | 504.7        | 504.6 | 504.6 | 504.7 | 504.7 | $504.7 \pm 0.06$ |
| 4   | 509.2        | 509.2 | 509.2 | 509.3 | 509.2 | $509.2 \pm 0.05$ |
| 5   | 494.4        | 494.4 | 494.5 | 494.5 | 494.5 | $494.5 \pm 0.06$ |
| 6   | 474.9        | 475.0 | 474.9 | 474.9 | 474.9 | $474.9 \pm 0.05$ |

药典处方中氯化钠对本测定法无干扰,浙江省医院制剂手册处方中的枸橼酸钠虽亦与试剂反应产生在测定波长处略有吸收的产物,但若以配制皮试液相同的溶剂配制青霉素G钾标准液,按本法测定仍有良好的线性关系,回收率好,呈色后室温放置一小时内吸收度无明显变化,且经试验用uv—265及751型分光光度计和721、72型光电比色计均获得满意结果。因此,盐酸羟胺—三氯化铁法为基层医疗单位提供了一种简便、灵敏、快速、经济的测定青霉素皮试液含量的方法。

## 参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国药典 二部 1985:210
- [2] 浙江省卫生厅:医院制剂规范 浙江科技出版社 1988:328
- [3] E. Lester Smith et al, Analyst 1952, 77, 29.
- [4] 沈建中:中国医院药学杂志 1987, 7(3):131.
- [5] 南京药学院药物分析教研室编:药物分析 江苏科学技术出版社 1981:792
- [6] 马会君:中国医院药学杂志 1987, 7(4):179
- [7] P. B Baker et al, Analyst 75, 651, 1950
- [8] 南京药学院主编:药物化学 人民卫生出版社 1978:617