

荷移分光光度法测定阿奇霉素含量

李华侃, 张扬, 康剑锋(锦州医学院化学教研室, 辽宁 锦州 121001)

摘要:目的 建立测定阿奇霉素(阿泽红霉素)制剂含量的方法。方法 利用阿泽红霉素与茜素红在水-醇介质中发生电荷转移反应,形成电荷转移络合物,采用可见分光光度法测定。结果 荷移反应生成的荷移络合物在 525 nm 处有最大吸收,表观摩尔吸光系数是 $1.26 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$, 药物浓度在 5 ~ 55 mg/L 内服从比耳定律,方法平均回收率在 97.0 % 以上, RSD 为 0.95 % ($n=6$)。结论 方法稳定、准确、灵敏、快速,对样品的测定结果令人满意。

Spectrophotometric determination of azithromycin based on the charge transfer reaction between azithromycin and alizarin red

LI Hua-kan, ZHANG Yang, KANG Jian-feng(Department of Chemistry, Jinzhou Medical College, Jinzhou 121001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for rapid determination of azithromycin. **METHOD** To utilize visible spectrophotometry based on the charge transfer reaction between azithromycin as donor and alizarin red as acceptor in alcohol-water solution. **RESULTS** The apparent molar absorptivity of complex was $1.26 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ at 525 nm. The composition was 1:1. Beer law was obeyed in the range of 5 ~ 55 mg/L of azithromycin. The average recovery was over 97.0%. The average standard deviation of six determinations was 0.95%. **CONCLUSION** The proposed method is stable, accurate, sensitive and rapid. It has been applied to the determination of azithromycin in preparation with satisfactory results.

KEY WORDS: charge transfer reaction; alizarin red; azithromycin; spectrophotometry

阿奇霉素(阿泽红霉素)是具有15元环的氮杂内酯环的半合成大环内酯抗生素。化学结构上系在红霉素A酯环的9a位内插一个含有取代甲基的氮原子,经修饰后成为新一代大环内酯抗生素。阿泽红霉素在酸性环境中具有较高的稳定性,具有吸收好、生物利用度高、半衰期长、感染部位组织及细胞浓度高、能向病灶定向转化、毒性低、及耐受性好等特点。目前已报道的分析方法主要有:半琼脂固体稀释法^[1]、电分析法^[2]、HPLC^[3,4]、薄层色谱法^[5]、微生物检定法^[6]等。本实验首次利用阿泽红霉素与茜素红间的电荷转移反应建立了简便、快捷的分光光度法,用于测定制剂中阿泽红霉素的含量,结果与文献方法一致,回收率在97.0%以上。同时测定了荷移络合物的组成,并探讨了反应机制。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

1590型UV-VIS单光束自动扫描分光光度计(山东高密分析仪器厂);721型分光光度计(上海第三分析仪器厂);超级恒温器(重庆实验设备厂)。

1.2 试剂

$3 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 茜素红(中国医药公司北京采购供应站)溶液(精称茜素红216 2溶于200 mL去离子水中);0.5 g/L阿泽红霉素(对照品,纯度98.23%,锦州九天药业有限责任公司提供)乙醇溶液(精称阿泽红霉素50.9 2溶于100 mL乙醇中)。所用其它试剂均为分析纯,实验用水为去离子水。

2 实验方法

取阿泽红霉素溶液适量($\leq 0.275 \text{ mg}$)置于5 mL比色管中,加入茜素红溶液1.0 mL,用溶剂稀释至刻度(茜素红水溶液的用量为1.0 mL,再加水2.5 mL,视阿泽红霉素乙醇溶液的用量,补加适量乙醇至5.0 mL,控制乙醇和水的体积比为3:7),摇匀,以试剂空白为参比,在525 nm波长处测定吸收度。

3 结果与讨论

3.1 最佳实验条件选择

3.1.1 吸收光谱 取茜素红溶液0.2 mL于5 mL具塞比色管中,用乙醇和去离子水将其稀释至刻度(控制乙醇和水的

体积比为3:7),用乙醇和水的体积比为3:7的溶液作空白;另取阿泽红霉素乙醇溶液0.4 mL于5 mL具塞比色管中,依次加入茜素红溶液1.0 mL,乙醇1.1 mL,去离子水2.5 mL,以试剂空白(加入茜素红溶液1.0 mL,乙醇1.5 mL,去离子水2.5 mL)加入茜素红溶液1.0 mL,乙醇1.1 mL,去离子水2.5 mL)为参比,摇匀,静止后分别在分光光度计上扫描,由光谱图得知,阿泽红霉素在可见光区没有吸收,茜素红的最大吸收峰是429 nm,阿泽红霉素与茜素红反应生成的电荷转移络合物的最大吸收波长在525 nm处,且在525 nm处的吸收度与阿泽红霉素的浓度成正比,据此拟定测定阿泽红霉素的分析方法,实验证明该方法可行。

3.1.2 反应时间的影响及荷移络合物稳定性 取阿泽红霉素乙醇溶液0.4 mL于5 mL比色管中,加入茜素红溶液1.0 mL,用溶剂稀释至刻度(控制乙醇和水的体积比为3:7),以试剂空白为参比,分别放置5,10,15,20,25,30,60,120,130 min后测定吸收度,分别为0.780,0.782,0.782,0.785,0.775,0.778,0.780,0.775,0.760,说明产物吸收度基本不随反应时间的变化而变化,配好溶液后可比色,并且2 h内体系吸收度基本不变。

3.1.3 反应温度的影响 按实验方法配制溶液,分别在10,15,20,25,30,35 °C的水浴中保10 min后冷却至室温,测得溶液吸收度是0.412,0.422,0.418,0.413,0.415,0.408,可见吸收度基本不随反应时间的变化而变化,因此,在室温下配好溶液即可测定溶液吸收度。

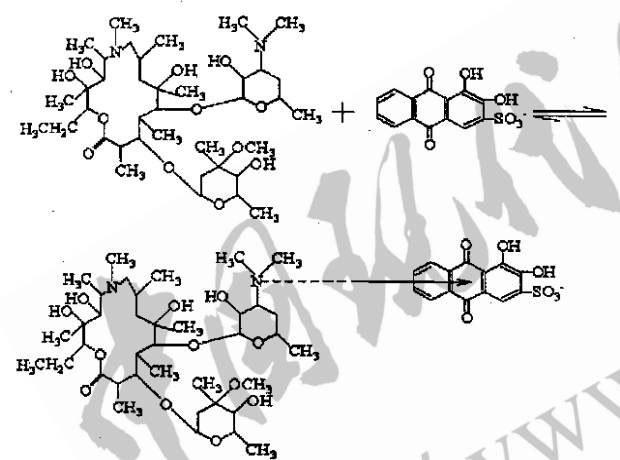
3.1.4 溶剂的影响 按实验方法配制溶液,只是改变溶剂。分别选用水、甲醇、乙醇、异丙醇、丙酮、二氯甲烷作溶剂,测得溶液吸收度为0.495,0.450,0.425,0.398,0.420,混浊,结果表明水作溶剂最佳。由于阿泽红霉素标准溶液是用乙醇配制的,为了操作安全、方便,本方法选用水和乙醇混合溶剂。水和乙醇的体积比对反应也有影响,保持其它条件不变,只是改变体系中水和乙醇的体积比。当乙醇和水的体积比分别是7/3,6/4,5/5,4/6,3/7,2/8,1/9时,溶液吸收度分别为0.430,0.485,0.505,0.515,0.530,0.520,0.510,以上数据说明,乙醇和水体积比为3:7(茜素红水溶液的用量为

1.0 mL,再加水 2.5 mL,视阿泽红霉素乙醇溶液的用量,补加适量乙醇至 5 mL)时反应灵敏度最高。实验还证明,如果向体系中加入酸、碱或缓冲溶液,会使反应灵敏度大大下降。

3.1.5 试剂用量的影响 按实验方法配制溶液,只是改变茜素红溶液的用量,当茜素红用量分别是 0.5、1.0、1.5、2.0 mL 时,反应液的吸收度是 0.715、0.765、0.720、0.705,说明茜素红用量为 1.0 mL 时,反应可以进行完全,茜素红的用量超过 1.0 mL 时,随着试剂空白颜色的加深,吸收度值反而下降。茜素红溶液的用量确定为 1.0 mL。

3.2 荷移络合物组成的测定

应用等摩尔连续变换法和斜率比法测得阿泽红霉素与茜素红作用生成的荷移络合物的组成比为 1:1。根据荷移络合物的组成和两种反应物的结构推断,此荷移反应可表示为:



3.3 比耳定律线性范围

按实验确定的最佳条件配制反应液,实验得出:阿泽红霉素浓度在 5 ~ 55 μg/L 内符合比耳定律,检出限是 0.2 mg/L,回归方程为 $A = 0.01657C + 0.01123$ (浓度单位是 mg/L),相关系数是 0.9996,表观摩尔吸光系数是 $1.26 \times 10^4 \text{ L} / (\text{mol} \cdot \text{cm})$ 。

3.4 回收率实验

精密称取阿泽红霉素片辅料,精密加入对照用阿泽红霉素适量,然后照 2 实验方法,实验结果代入回归方程,求得阿泽红霉素的平均回收率为 98.3%,RSD 为 0.95% ($n = 6$)。

3.5 试样分析

3.5.1 试样制备(1)试样 1:取阿泽红霉素片[批准文号是 (98)卫药准字 X50-4,标示量是 250 mg/粒]10 粒,剥去糖衣,

准确称重,研细混匀后再取总质量的 1/50,加适量乙醇,温热使其溶解完全,冷却后过滤,滤液用乙醇定容至 100 mL(浓度约为 0.5 g/L)。(2)试样 2:取注射用阿泽红霉素[批准文号是国药准字 X20010118,标示量是 250 mg/瓶]10 瓶,倾尽内容物,混匀后,准确称重后,再取总质量的 1/50,加适量乙醇,温热使其溶解完全,用乙醇定容至 100 mL(浓度约为 0.5 g/L)。

3.5.2 试样分析 取试样适量于 5 mL 比色管中,分别以本法和文献法进行测定,同时采用在样品中加入已知标准的方法作回收率实验,结果见表 1。

表 1 样品中阿泽红霉素的测定结果($n = 3$)

样品	本法	文献法
	相当标示量(%)	回收率(%)
(98)卫药准字 X50-4	97.9	98.4
国药准字 X20010118	98.5	97.5

4 结语

与文献方法相比,本方法具有简便、快速、灵敏度高的特点。

参考文献

[1] Kobayashi I, Hasegawa M, Saika T, et al. A new semi-solid agar dilution method for determination amoxycillin, clarithromycin and azithromycin MICs for Helicobacter pylori isolates[J]. J Antimicrob Chemother.1997,40(5):713.

[2] Tur & # 269; inov T, Pepeljnjak S. Azithromycin potency determination: Optimal conditions for microbiological diffusion method assay[J]. J Pharm Biomed Anal, 1998,17(4-5):903.

[3] Fouda HG, Schneider RP. Quantitative determination of the antibiotic azithromycin in human serum by (HPLC)-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry: correlation with a standard HPLC-electrochemical method[J]. Ther Drug Monit, 1995,17(2):179.

[4] 关倩明,李子熊,张秋莲. HPLC 法测定阿奇霉素[J]. 药物分析杂志,1998,18(5):300.

[5] 徐先艳,周英兰,姜小平. 注射用阿奇霉素磷酸二氢钠稳定性考查[J]. 中国抗生素杂志,2002,27(3):183.

[6] 王实,夏书月,王鲁宁,等. 阿齐霉素在肺炎患者支气管灌洗液中的浓度测定[J]. 中国医院药学杂志,1999,19(8):457.