

衍生化紫外分光光度法测定新霉素含量

曾令高, 范能全, 曾杰, 刘映倩 (重庆市药品检验所, 重庆 400015)

摘要:目的 建立硫酸新霉素中新霉素的含量测定方法。方法 以乙酰丙酮-甲醛为衍生化试剂的紫外分光光度法, 检测波长为 285 nm。结果 新霉素在 $2.69 \sim 14.34 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度范围内吸收度与浓度呈良好线性关系, $r = 0.9997$, 平均回收率为 98.63%。结论 该法准确、快速, 结果满意。

关键词: 衍生化; 紫外分光光度法; 新霉素; 含量

中图分类号: R917.795.2 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2006)06-0494-02

Determination of neomycin by derivatization with UV-spectrophotometry

ZENG Ling-gao, FAN Neng-quan, ZENG Jie, LIU Ying-qian (Chongqing Institute for Drug Control, Chongqing 400015, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the method for determination of neomycin. **METHODS** A UV-spectrophotometry method by derivatization was used. The derivative reagent was acetylacetone-formaldehyde. **RESULTS** The wavelength of detection was 285 nm. The calibration curve was linear within the range of $2.69 \sim 14.34 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r = 0.9997$). The average recovery was 98.63% ($n = 5$). **CONCLUSION** This method is simple and rapid.

KEY WORDS: derivatization; UV-spectrophotometry; neomycin; content

新霉素 (neomycin) 为氨基糖苷类抗生素, 主要用于敏感需氧革兰阴性杆菌所致严重全身感染, 包括胆道感染、骨和关节感染、肺炎、败血症、尿路感染、皮肤软组织感染等。特别用于结肠手术前准备、肝昏迷时作为辅助治疗^[1]。中国药典 2000 年版、美国药典第 26 版均采用微生物检定法测定含量。笔者参考文献^[2]应用乙酰丙酮-甲醛为衍生化试剂, 紫外分光光度法对新霉素含量测定方法进行了研究。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

UV-2201 紫外分光光度计 (日本岛津)。

1.2 试剂

1.2.1 新霉素标准品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 0309-9310, 每毫克相当于 709 单位); 硫酸新霉素 (乐山三九长征药业股份有限公司生产); 水为重蒸馏水, 其他试剂为化学纯。

1.2.2 衍生化试剂 量取 pH7.6 磷酸盐缓冲液 10 mL, 加入乙酰丙酮 0.8 mL, 甲醛 2.0 mL, 充分混匀, 放置, 用水稀释至 30 mL, 临用前新鲜配制。

2 实验条件的选择

2.1 检测波长选择

将新霉素标准品及样品按“3.1”项测定法处理后, 以磷酸盐缓冲液 (pH 7.6) 为溶剂, 在 200 ~ 400 nm 波长范围内扫描, 新霉素衍生物在 285 nm 波长处有最大吸收。空白溶液在 285 nm 波长处基本无吸收, 方法专属性良好。因此选择 285 nm 为检测波长。

2.2 衍生化试剂用量确定

分别精密量取“3.1”项标准品溶液 4 mL 置 10 mL 量瓶中, 精密加入衍生化试剂 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.7, 2.0 mL, 密闭, 置沸水浴中加热 30 min 使充分衍生化。放冷至室温, 摇匀。以磷酸盐缓冲液 (pH 7.6) 为溶剂, 在 285 nm 波长处分别测定各溶液的吸光度。衍生化试剂用量大于 0.8 mL 时, 吸光度值基本不变, 因此确定衍生化试剂用量为 1.0 mL。

2.3 反应时间及产物的稳定性

考察了反应时间在 5 ~ 40 min 范围内对吸收值的影响, 结果当反应时间大于 30 min 时, 吸收值基本保持不变, 故将反应时间确定为 30 min。将同一份样品溶液在 1, 2, 3, 5 h 分别测定。结果溶液在 3 h 内其吸光度值基本不变。

2.4 样品测定

精密称取硫酸新霉素约 15 mg, 置 25 mL 量瓶中, 按“3.1”项自“加 pH7.6 磷酸盐缓冲液溶解并稀释至刻度”起操作。另同法配制约 $7 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的新霉素标准品溶液。在 285 nm 波长处分别测定上述溶液的吸光度。计算新霉素含量 (按干燥品计算), 三批样品每 1 mg 的效价分别为 673 单位, 671 单位, 669 单位, 按现有国家标准^[3]方法测定, 其结果分别为 675 单位, 673 单位, 673 单位。经 t 检验, 两种方法的结果在统计学上无显著性差异, 提示两种方法的测定结果具有可比性。

3 方法与结果

3.1 线性关系

精密称取新霉素标准品 11.2 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加 pH7.6 磷酸盐缓冲液溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 1 mL 置 25 mL 量瓶中, 加上述溶剂稀释至刻度, 摇匀, 作为标

准品溶液。分别精密量取标准品溶液 1.5, 2, 4, 6, 8 mL 置 10 mL 量瓶中,精密加入衍生化试剂 1 mL,密闭,置沸水浴中加热 30 min 使衍生化。放冷至室温,摇匀。以磷酸盐缓冲液 (pH 7.6) 为溶剂,在 285 nm 波长处分别测定各浓度溶液的吸光度。以吸光度 A 和浓度 $C(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ 建立回归方程为:

$$C = 0.2972A + 0.03156 \quad r = 0.9997$$

结果表明新霉素在 $2.69 \sim 14.34 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度范围内,与吸光度呈良好的线性关系。

3.2 精密度试验

精密量取“2.4”项下供试品溶液,在 285 nm 波长处连续 6 次重复测定溶液的吸光度,以回归方程测得新霉素含量的 $\text{RSD} = 0.87\% (n = 6)$ 。

3.3 回收率试验

在已知含量的样品 (675 单位) 中,加新霉素标准品适量,配成模拟样品 5 份,按样品测定项下方法测定,结果平均回收率为 98.63% , RSD 为 $1.2\% (n = 5)$ 。

4 讨论

新霉素是氨基糖苷类抗生素,其中的伯胺基可与乙酰丙

酮-甲醛衍生化试剂反应,生成二氢吡啶^[2],具有紫外吸收。据此,建立了新霉素的衍生化紫外分光光度法测定方法。

考察了溶液 pH 值的最佳条件。通过对不同 pH 值的磷酸盐缓冲液溶剂中样品溶液进行了试验,结果表明溶液 pH 值以在 7.2 ~ 8.0 范围内的吸收度较为稳定,故选用 pH 7.6 的磷酸盐缓冲液为稀释剂。

本法与《中国药典》2000 年版方法相比较,方法简便快速,可作为新霉素一种简便快速的产品质量控制方法。

参考文献

- [1] Clinical Guide to the ChP (中国药典临床用药须知) [M]. Vol II (二部). 2000: 649.
- [2] ZHANG Y Q, LIU Y J, *et al.* Determination of ribostamycin by UV-spectrophotometry [J]. J Hubei Med Univ (湖北医科大学学报), 1993, 14(3): 235.
- [3] ChP(中国药典). 1995. Vol II (二部): 898.

收稿日期: 2005-07-18