

# 阿齐霉素与二甲酚橙的反应研究

赵桂芝 (辽宁医学院, 辽宁 锦州 121001)

**摘要:**目的 通过阿齐霉素与二甲酚橙的显色反应来快速测定阿齐霉素中的阿齐霉素含量。方法 利用分光光度法通过分光光度计测定制剂中有效成分的含量。结果 阿齐霉素与二甲酚橙在乙醇-水介质中发生显色反应,生成了络合物,生成物的颜色发生变化,产物最大吸收波长为 582 nm,表观摩尔吸光系数为  $1.04 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ,稳定常数为  $5.06 \times 10^5$ ,生成络合物的组成为 2:1, RSD 为 0.96% ( $n=8$ ),药物浓度在  $10 \sim 70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内与吸光度值呈线性关系,回收率符合要求。结论 此方法简便易行,便于操作,条件易于控制,在实际工作中具有可应用性。

**关键词:**阿齐霉素;二甲酚橙;分光光度法

中图分类号: R917.795.2 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2007)03-0174-03

## Study on the Determination of Azithromycin Content by Spectrophotometry Reaction

ZHAO Gui-zhi (Liaoning Medical College, Jinzhou 121001, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To determine the content of azithromycin through the reaction between azithromycin and xylenol orange. **METHODS** Utilizing the color reaction between azithromycin and xylenol orange in the ethanol-water solution, a spectrophotometric method was used to the determination of Azithromycin content. **RESULTS** The color reaction between azithromycin and xylenol orange in ethanol-water could form the complex of azithromycin and xylenol orange. The apparent molar absorptivity of complex at 582 nm is  $1.04 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ , stability constant is  $5.06 \times 10^5$ , the composition of the complex between azithromycin and xylenol orange was 2:1. The average standard deviation is 0.96% ( $n=8$ ). Beer's law is obeyed in the range of  $10 \sim 70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  of azithromycin in tablets. **CONCLUSION** The method is simple with easily-controlled reaction conditions and high sensitivity.

**KEY WORDS:** azithromycin; xylenol orange; spectrophotometry

阿齐霉素为 15 环大环内脂类抗生素,其化学名称为 9-脱氧-9a-氮杂-9a-甲基-9a-红霉素 A,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、毒性低及耐受性好等优点。它通过阻碍细菌转肽过程,从而抑制细菌蛋白质的合成。它的药动学特点是半衰期长,组织、体液中分布广,浓度高,维持时间长,因此临床上用于治疗呼吸道的细菌性感染,支原体、衣原体感染,皮肤软组织感染,淋球菌感染等均有较好的疗效。对于阿齐霉素分析方法的报道有:高效液相色谱法<sup>[1-2]</sup>、反相高效液相色谱法<sup>[3]</sup>、微生物法<sup>[4]</sup>等,目前中国药典<sup>[5]</sup>采用微生物法测定其含量,美国药典<sup>[6]</sup>采用高效液相色谱法、反相氧化铝柱、安培电化学检测器。但这些方法有的比较复杂,有的所用仪器价格比较昂贵,有的目前实验室不具备应有的条件。本方法首次利用阿齐霉素和二甲酚橙间的显色反应,建立起简便的分光光度法。此方法简便快捷,反应条件易于控制,灵敏度较高,在可见光区即可完成测定,适宜在实际工作中使用。用拟定的方法测定药物制剂中的含量结果与文献方法<sup>[5]</sup>一致。

### 1 材料与方法

#### 1.1 主要仪器与试剂

7590 型 UV-VIS 单光束自动扫描分光光度计 (山东高

密分析仪器厂); 752S 紫外分光光度计 (上海棱光技术有限公司); HH-S 数显恒温水浴锅 (江苏省金坛市医疗仪器厂); 超级恒温器 (重庆试验设备厂); FA1104N 电子天平 (上海精密科学仪器有限公司)。

$1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  二甲酚橙水溶液:准确称取 0.0369 g 二甲酚橙 (上海化学试剂总厂),用水充分溶解后转移至 200 mL 量瓶中,定容,备用。

$0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  阿齐霉素乙醇液:准确称取阿齐霉素对照品 (浙江金华康恩贝生物制药有限公司) 50 mg 于 100 mL 量瓶中,加入乙醇,充分溶解,定容,备用。

250 mg/片 阿齐霉素片:武汉双龙药业有限公司,批号:060701。

本实验所用试剂均为分析纯。

#### 1.2 实验方法

准确量取  $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  阿齐霉素适量 ( $\leq 0.4 \text{ mL}$ ) 于 5 mL 比色管中,加入二甲酚橙水溶液 2.0 mL,用溶剂稀释至刻度 (控制乙醇—水的体积比为 4:6),溶液混匀,充分反应,以相应的试剂空白作参比,于室温下用 1 cm 比色皿在 582 nm 处测吸光度。

### 2 结果与讨论

作者简介:赵桂芝 (1969 - ),女,高级实验师。研究方向:电荷转移反应

## 2.1 实验条件的选择

2.1.1 吸收光谱 按照“实验方法”所示配制溶液,以相应的试剂空白做参比,将配制好的溶液在 7590 型分光光度计上扫描,测得出络合物的  $\lambda_{\max} = 582 \text{ nm}$ ,二甲酚橙的  $\lambda_{\max} = 434 \text{ nm}$ ,阿齐霉素在可见光区没有吸收。

2.1.2 反应时间的选择 按照实验所确定的方法配制一组溶液,分别于反应后不同时间测定反应液的吸光度值,测定的结果见表 1。数据显示,反应不随反应时间的变化而变化,而且吸光度值可以稳定 2 h 以上。因此,反应液配制好以后即可进行测定。

表 1 反应时间的选择

Tab 1 The selection of the reaction time

时间 / min	吸光度 (A)
3	0.660
5	0.660
10	0.659
15	0.653
20	0.654
25	0.654
30	0.654
40	0.658
50	0.660
120	0.660

2.1.3 反应温度的选择 按照实验方法配制一系列溶液,分别将其放入不同温度的恒温水浴中保温 10 min,取出后以流水冷却至室温,然后测定其吸光度值,结果见表 2。结果表明:当反应温度超过 40℃ 时,反应液的吸光度值出现降低。因此,反应温度以低于 40℃ 为宜,在室温下即可进行比色反应。

表 2 反应温度的选择

Tab 2 The selection of the reaction temperature

温度 /℃	吸光度 (A)
15	0.558
20	0.553
25	0.558
30	0.560
35	0.559
40	0.540
45	0.509

2.1.4 试剂用量的选择 在确定其他反应条件不变的情况下,改变二甲酚橙的用量,分别于一定量的阿齐霉素溶液中加入不同量的二甲酚橙水溶液,配制一系列的反应液,然后测定其相应的吸光度值,结果见表 3。数据表明:当二甲酚橙的用量为 2.0 mL 时,反应进行完全。当试剂用量超过此用量时,由于背景颜色的加深,吸光度值反而随着颜色的加深而降低。

2.1.5 溶剂的选择 分别选用甲醇、乙醇、丙酮、异丙醇、水、二氯甲烷等试剂做此反应体系的溶剂,通过实验发现,选用乙醇与水的混合溶液做溶剂,反应体系的灵敏度增高。又

表 3 试剂用量的选择

Tab 3 The selection of the reagent concentration

试剂用量 / mL	吸光度 (A)
0.5	0.301
1.0	0.414
1.5	0.486
2.0	0.566
2.5	0.494
3.0	0.490

通过进一步的实验证实,当乙醇与水的体积比为 4:6 时,反应的吸光度值最高。因二甲酚橙是酸碱指示剂,加入酸碱即变色,所以整个反应体系尽管用水做溶剂,也无须调节酸度。

## 2.2 方法的重复性考查

按照实验方法所示,平行配制 8 组溶液,于实验确定的最佳条件下反应。当阿齐霉素的浓度为  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , RSD 为 0.96% ( $n=8$ )。

## 2.3 比尔定律线性范围

按实验确定的最佳条件进行反应,分别加入不同浓度的阿齐霉素溶液。实验得出,阿齐霉素的浓度在  $10 \sim 70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内与吸光度呈线性关系,其回归方程为  $A = -0.0234 + 14.3892C$ ,相关系数为 0.9996,表观摩尔吸光系数为  $1.04 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ,桑德尔灵敏度为  $0.072 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ 。

## 2.4 络合物组成的测定

应用摩尔比法和等摩尔连续变换法测得阿齐霉素与二甲酚橙反应生成的络合物的组成比为 2:1,反应体系的稳定常数为  $5.06 \times 10^5$ 。

## 2.5 回收率测定

按照实验方法,取已测得实际含量的适量样品于 5 mL 比色管中,配制反应溶液,然后向反应液中加入 0.4 mg 阿齐霉素标准液,测定其吸光度值,然后根据测定值与实际含量的结果计算回收率。其中样品 1 的回收率为 100.6% ( $n=3$ ),样品 2 的回收率为 99.2% ( $n=3$ )。

## 2.6 试样的测定

2.6.1 试样的制备 取阿齐霉素片 10 片 (250 mg/片),将其充分研细,然后准确加入 100 mL 乙醇溶解,过滤,取滤液 2 mL 稀释至 100 mL (浓度  $\sim 0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )。

2.6.2 试样的测定 取适量试样 ( $\leq 0.4 \text{ mL}$ ) 于 5 mL 比色管中,配制反应液,分别以本法和文献法<sup>[5]</sup>进行测定,结果见表 4。

表 4 样品中阿齐霉素的测定结果 ( $n=3$ )

Tab 4 Determination results of Azithromycin in Tablets ( $n=3$ )

样品	批号	本方法		文献法 <sup>[5]</sup>	
		测得值 / 相当标示量 mg·片 <sup>-1</sup>	%	测得值 / 相当标示量 mg·片 <sup>-1</sup>	%
1	20060823	250.3	100.1	250.2	100.08
2	20061021	249.6	99.8	249.8	99.9

### 3 小 结

阿齐霉素为大环内酯类药物,结构中含有叔丁基团,可与二甲酚橙发生络合反应,颜色发生改变,便于用分光光度法测定。本方法简便快捷,样品处理简便,利用本方法测定样品,测定结果与文献方法基本一致,可用于药品制剂含量的快速测定。

### 参考文献

- [ 1 ] WANG X J, RAN F L, WANG W H. HPLC determination of azithromycin [ J ]. Heilongjiang Med J(黑龙江医学), 2003, 16(2): 84-85.
- [ 2 ] LI F S. Determination of azithromycin in zithromax by HPLC

[ J ]. Chin J Spectrosc Laboratory(光谱实验室), 2001, 18(2): 183-184.

- [ 3 ] LIU H M, LI X, FANG G J. Determination of azithromycin by R-HPLC [ J ]. J Harbin Med Univ(哈尔滨医科大学学报), 2000, 34(3): 225-226.
- [ 4 ] TANG X, QIAN P L, WEN Q, *et al.* Determination of azithromycin in serum by microbiological assay [ J ]. Med J Chin PAPF(武警医学), 2004, 15(11): 806-807.
- [ 5 ] Ch. P(1995) Vol II (中国药典 1995年版 .二部) [ S ]. 1995:附录 XIA.
- [ 6 ] USP. 26.199

收稿日期: 2006-09-20