DOI:10.13526/j.issn.1006-6144.2014.03.029

硝普钠分光光度法测定头孢克肟

李宜轩[1]，范秉琳[2]，李全民*[1]
(1. 河南师范大学化学化工学院，河南新乡 453007；
2. 河南新乡医学院基础医学院，河南新乡 453003)

摘　要：研究了硝普钠(SNP)与头孢克肟(CEF)之间的显色反应机理，确定了最佳反应条件，建立了一种测定 CEF 的新方法。结果表明：在 NaOH 溶液浓度为 0.17 mol/L 的碱性介质中，控制温度 40 ℃，反应 30 min，CEF 与 SNP 以 1∶2化学计量比生成一种含亚硝基的红褐色化合物，最大吸收波长为 530 nm，表观摩尔吸光系数 $\varepsilon=1.96\times10^3$ L/(mol·cm)。CEF 的浓度在 0.8～400 μg/mL 范围内服从比耳定律，线性相关系数为 0.9991，检测限($3\sigma/k$)为 0.48 μg/mL。

关键词：硝普钠；分光光度法；头孢克肟
中图分类号：O657.32　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1006-6144(2014)03-421-04

头孢克肟(CEF)又名氨噻肟烯头孢菌素，是广谱、高效的第三代抗生素，其对细菌的 β-内酰胺酶十分稳定[1]，在临床上具有广泛的应用。目前报道的测定 CEF 含量的方法主要有高效液相色谱法[2-3]、荧光法[4]、分光光度法[5]、液相色谱-串联质谱、原子吸收光谱法[7]，高效毛细管电泳法[8]等。

本文根据硝普钠(SNP)分子中的亚硝基(－NO)具有亲电性[9]，研究了 SNP 与 CEF 的显色反应条件及机理。结果表明：CEF 与 SNP 反应生成化学计量比为 1∶2的产物，$\lambda_{max}=530$ nm，据此，建立了分光光度法测定 CEF 的新方法。与上述文献方法相比，该方法不需要价格较贵的仪器或设备，适合于常规实验室的普遍推广与应用，具有操作简便、成本低、重现性好等特点，具有一定的应用价值。

1　实验部分

1.1　主要仪器和试剂

T6 型双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司)；CS-501 超级恒温仪(重庆实验设备厂)。

SNP 溶液(其中 SNP 和 NaOH 浓度分别为 5.6×10^{-2} mol/L 和 0.42 mol/L)：将 10%(m/V)SNP(分析纯，北京化工厂)溶液、10%(m/V)铁氰化钾(分析纯，天津市化学试剂一厂)溶液及 10%(m/V)氢氧化钠(分析纯，天津市化学试剂三厂)溶液与水按体积比 1∶1∶1∶3于塑料瓶中均匀混合后，避光保存；其他所用试剂均为分析纯。实验用水为蒸馏水。

CEF 分散片由广东先强药业有限公司提供。

1.2　实验方法

准确移取 1.00 mL 1.00 mg/mL 的 CEF 于 12.5 mL 比色管中，再加入 5.00 mL SNP 溶液，用蒸馏水稀释至刻度，摇匀后放入超级恒温仪中，控制温度 40 ℃，反应 30 min，取出后立即以试剂空白为参比，在光度计上于 530 nm 波长处测定吸光度。

收稿日期：2013-07-08　　修回日期：2013-09-09
基金项目：河南省基础与前沿技术研究计划(No. 122300410412，132300410205)
* 通讯作者：李全民，男，教授，主要从事药物分析研究.

2　结果与讨论

2.1　吸收光谱

按照实验方法，以蒸馏水为参比，分别测得 CEF(a)、SNP(b)的吸收光谱，以及以试剂 SNP 空白为参比测得产物的吸收光谱(c)如图 1 所示。结果表明，反应产物的最大吸收波长位于 530 nm，而在 500～750 nm 范围内，CEF 与 SNP 几乎没有吸收。为消除试剂空白的影响，选择以试剂空白为参比测定吸光度。

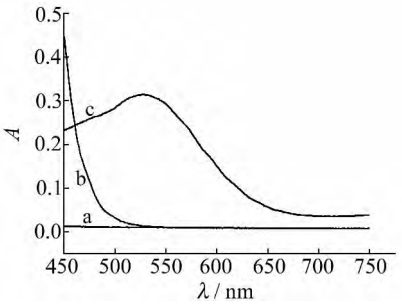


图 1　吸收光谱

Fig. 1　Absorption spectra

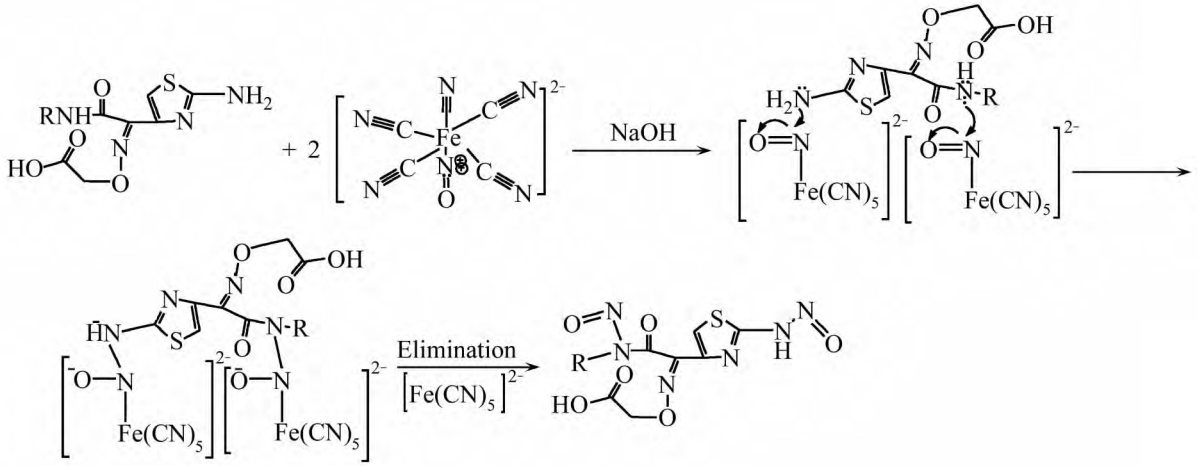
a. CEF；b. SNP；c. Reaction product of CEF and SNP.

2.2　SNP 用量的影响

按 1.2 节测定了显色剂 SNP 用量对吸光度的影响。结果表明，溶液的吸光度随 SNP 的用量增加而呈线性关系增加。当 SNP 用量为 5.00 mL 时，溶液的吸光度已不再随其用量增加而变化，因此选择 SNP 加入量为 5.00 mL。

2.3　反应机理推断及 NaOH 用量的影响

应用摩尔比法和斜率比法测定 SNP 和 CEF 反应物的组成。结果表明 CEF 与 SNP 的反应化学计量比为 1∶2。基于 SNP 分子结构中含有的亚硝基(－NO)具有亲电性[9]，在碱性溶液中，可与亲核试剂反应，最终生成有颜色的 N-亚硝基类化合物[10]。由此可以推断 CEF 和 SNP 的反应机理如下：



由于所配制的显色剂 SNP 溶液中本身含有 0.42 mol/L 的 NaOH，且依据 OH^- 能与 SNP 中缺电子中心基团(－NO)反应形成$[Fe(CN)_5NO(OH)]^{3-}$[11]，为此按照 1.2 节方法，又试验了外加 NaOH 对 SNP 和 CEF 显色反应的影响。结果表明：吸光度随着外加 NaOH 用量的增加而下降。其原因正可能是由于随溶液中 NaOH 浓度增大，OH^- 与 SNP 反应形成$[Fe(CN)_5NO(OH)]^{3-}$的能力增强，降低了 CEF 分子中的亲核基团(胺基)与－NO 发生亲核反应的能力，从而使吸光度降低。

2.4　反应温度和时间的影响

按照 1.2 方法，控制反应时间为 30 min，分别测定 10、20、30、40、50 ℃和 60 ℃时溶液的吸光度值，结果表明当温度为 40 ℃时，吸光度已出现一极大值；对于 50 ℃时吸光度降低的原因可能是由于 SNP 在较高温度下容易分解所致；60 ℃时吸光度又明显增大的原因是由于 SNP 分解形成了 $Fe(OH)_3$[12]沉淀，从而发生光散射使吸光度增大，与观察到比色管中生成了红棕色的沉淀的实验现象相符。

其他条件同上，固定反应温度为 40 ℃，分别测定 CEF 与 SNP 反应(加热)5、10、15、20、25、30、35、40、45、50 min 时的生成物的吸光度，结果表明当反应(加热)时间为 30 min 时，溶液的吸光度至少 20 min 内基本保持不变。因此选择反应时间 30 min，反应温度 40 ℃为最佳反应条件。

2.5　标准曲线的绘制

按照实验方法配制系列浓度的 CEF 标准溶液，按照 1.2 节分别测定其吸光度，以 CEF 的浓度为横坐

标，以吸光度为纵坐标绘制标准工作曲线。结果表明，CEF 浓度在 0.8～400 μg/mL 范围内与吸光度成良好的线性关系，线性回归方程为：$y=-0.01378+0.00463c$(μg/mL)，线性相关系数为 0.9991，检测限($3\sigma/k$)为 0.48 μg/mL。

2.6　共存组分的影响

控制测量误差在±5%之内，对药物的一些常见赋形剂(淀粉、葡萄糖、柠檬酸、精氨酸)进行了干扰影响的测定。结果表明：葡萄糖(5%)，淀粉(2%)，柠檬酸(10 μg/mL)的存在对 CEF 的测定没有干扰；精氨酸(20 μg/mL)对 CEF 的测定有干扰，这是因为精氨酸与 SNP 发生反应生成了 N-亚硝基胺。以上各组分均未进行更高倍数的干扰试验。

2.7　样品制备与分析

准确称取一定量的 CEF 分散片(广东先强药业有限公司提供)相当于 0.1 g CEF，溶解定容于 100 mL 容量瓶中，用蒸馏水稀释至刻度，摇匀，配成 1.0 mg/mL 试液，4 ℃避光保存。采用标准加入法，按照实验方法对 CEF 样品进行加标回收测定。结果见表 1。

表 1　样品及回收率测定($n=5$)

Table 1　Determination results of samples and recovery($n=5$)

Sample	Content (μg/mL)	Determined (μg/mL)	Added (μg/mL)	Found (μg/mL)	Recovery (%)	RSD (%)
1	40.00	39.98	4.00	43.95	99.2	0.81
2	40.00	40.02	8.00	48.17	101.9	0.57
3	40.00	39.99	12.00	41.88	99.1	0.63
4	80.00	79.98	4.00	84.06	102.0	0.78
5	80.00	79.97	8.00	87.93	99.5	0.69
6	80.00	80.10	12.00	92.07	99.8	0.53

3　结论

本文研究了 SNP 与 CEF 之间显色反应的条件及机理，建立了以 SNP 为显色剂分光光度法测定 CEF 的新方法。该方法简便快速，可直接用于药物样品中 CEF 含量的测定，结果满意。

参考文献：

[1] CHEN Xin-qian(陈新谦)，JIN You-yu(金有豫). New Pharmacology(新编药物学)[M]. Beijing(北京)：People's Health Press(人民卫生出版社)，1995：59.

[2] Dhoka M V，Sandage S J，Dumbre S C. Journal of Aoac International[J]，2010，**93**(2)：531.

[3] SHEN Jian(沈　健)，ZHOU Jian-guo(周建国). China Pharmaceuticals(中国医药)[J]，2008，**17**(14)：43.

[4] Bukhari N，Al-Warthan A A，Wabaidur S M，Al Othman，Z，Javid M，Haider S. Sensor Letters[J]，2010，**8**(2)：280.

[5] Dhoka Madhura V，Gawande Vandana T，Joshi Pranav P，Gandhi Santosh V，Patil Neelam G. Hindustan Antibiotics bulletin[J]，2009，**51**(1-4)：29.

[6] Meng F，Chen X Y，Zeng Y L，Zhong D F. Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences[J]，2005，**819**(2)：277.

[7] WANG Shang-zhi(王尚芝)，ZHANG Ping(张　萍)，LIU Yue-cheng(刘月成)，WANG Hai-qing(王海青). Chemical Analysis and Meterage(化学分析计量)[J]，2011，**20**(1)：62.

[8] Honda S，Taga A，Kakehi K，Koda S，Okamoto Y. Journal of Chromatography[J]，1992，**590**(2)：364.

[9] LIU Zhong-quan(柳忠全)，LI Rui(李　锐)，WU Long-min(吴隆民). Chinese Journal of Organic Chemistry(有机化学)[J]，2004，**24**(2)：224.

[10] Leeuwenkamp O R，Van Benneekom W P，Bult A. Analytical Profile of Drug Substances[M]. New York：Academic Press，1986，**15**：782.

[11] Katz N E，Blesa M A，Olabe J A，Aymonino P J. Inorganic and Nuclear Chemistry[J]，1980，**42**(4)：581.

[12] China National Pharmaceutical Group Corporation Shanghai Chemical Reagent Company(中国医药集团上海化学试剂公司). Reagent Manual(试剂手册)[M]. Shanghai(上海)：Science and Technology Press(科学技术出版社)，2002：1190.

Spectrophotometric Determination of Cefixime Using Sodium Nitroprusside

LI Yi-xuan[1], FAN Bing-lin[2], LI Quan-min[*1]

(1. *College of chemistry and chemical engineering*, *Henan Normal University*, *Xinxiang* 453007;
2. *School of Basic Medical Science*, *Xinxiang Medical University*, *Xinxiang* 453003)

Abstract: The chromogenic reaction of cefixime(CEF) and sodium nitroprusside(SNP) was investigated by spectrophotometry. A method for the determination of CEF has been developed. A colored product was formed by the reaction of CEF and SNP with the reaction stoichiometric ratio of 1∶2 in an alkaline solution. The reaction time was 30min at 40 ℃. The apparent molar absorptivity was 1.96×10^3 L/mol·cm at the maximum absorption wavelength of 530 nm. Beer's law was well obeyed when CEF concentration was in a range of 0.8-400 μg/mL with a correlation coefficient of 0.9991 and the detection limit ($3\sigma/k$) was 0.48 μg/mL.

Keywords: Sodium nitroprusside; Spectrophotometry; Cefixime

"2014 中国科学仪器发展年会"在京召开

中国科学仪器行业的"达沃斯论坛"——2014 中国科学仪器发展年会(ACCSI 2014)于 4 月 18 日在北京京仪大酒店召开。共有 300 余位相关政府领导及业内专家、300 余位仪器企业负责人、40 家媒体及 200 余位其他有关机构代表出席了会议。ACCSI 2014 由中国仪器仪表行业协会、中国仪器仪表学会、中国仪器仪表学会分析仪器分会、仪器信息网(www.instrument.com.cn)联合主办,首都科技条件平台、我要测(www.woyaoce.cn)协办。此外,本届年会还得到了中国化学会、中国颗粒学会、中国出入境检验检疫协会、中国检验检疫学会、北京材料分析测试服务联盟、中国设计红星奖、化学试剂杂志的大力支持。

年会主办方特别邀请了中国仪器仪表行业协会秘书长闫增序,中国仪器仪表学会秘书长朱险峰,中科院安徽光学精密机械研究所所长刘文清院士,仪器信息网市场研究中心主任刘向东做大会报告。

"企业高峰论坛"是 ACCSI 多年来倾力打造的一个特色环节,今年的高峰论坛成功邀请到赛默飞、沃特世、耶拿、天美、莱伯泰科、博纳艾杰尔等 6 家国内外知名科学仪器企业的高层,旨在通过领袖企业家们的视角来审视和展望 2014 中国科学仪器行业的机遇与前景,给参会的同行业人士以更多的启示。

ACCSI 2014 精心开设 8 个分论坛,包括仪器及核心零部件研发论坛、国产科学仪器发展论坛、核磁技术论坛、环境监测仪器技术论坛、食品检测标准与前沿技术论坛、化学试剂在分析测试领域的前沿应用论坛、仪器及分析测试行业人才发展论坛、仪器买家供需见面会。

作为 ACCSI 2014 的"重头戏",年会主办方颁布了 13 项大奖,包括:"2013 科学仪器行业优秀新产品"、"2013 科学仪器行业绿色仪器"、"2013 科学仪器行业最受关注仪器"、"2013 科学仪器行业最具影响力厂商"、"2013 科学仪器行业最佳网络营销厂商"、"2013 科学仪器行业新锐企业"及"2013 科学仪器行业企业年度人物"、第一届"科学仪器研发特别贡献奖"。需要特别指出的是,本届 ACCSI 首次特别增设了"人物奖",其中,"科学仪器行业企业年度人物"旨在为表彰奋斗在中国科学仪器产业第一线的企业领袖。"科学仪器研发特别贡献奖"旨在鼓励多年来奋战在仪器研发第一线,为科学仪器行业技术创新做出突出贡献的科研人员、企业研发人员。

(仪器信息网供稿)