

阿奇霉素含量的荷移光谱法测定

黄薇¹, 刘雪静¹, 赵凤林²

1 枣庄学院化学系, 山东 枣庄 277100

2 北京大学化学学院, 北京 100871

摘要 用分光光度法分别研究了阿奇霉素与7,7,8,8-四氰基对二次甲基苯醌(TCNQ)和氯冉酸(CL)之间的荷移反应。实验表明:阿奇霉素与TCNQ间的反应在丙酮介质中进行,形成的络合物在743和842 nm有两个吸收峰,表观摩尔吸光系数分别是 $2.7 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 和 $5.0 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$;阿奇霉素与氯冉酸的反应在丙酮介质中进行,形成的络合物在530 nm处有吸收峰,表观摩尔吸光系数 $2.4 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。用摩尔比法和等摩尔连续变化法测得荷移络合物中阿奇霉素与配体的摩尔比均为1:2。用以上两种方法测定了阿奇霉素片剂中阿奇霉素的含量,相对标准偏差为1.0%~1.4%($n=6$),回收率为97%以上,与标准方法比较结果准确。

主题词 阿奇霉素; 7,7,8,8-四氰基对二次甲基苯醌; 氯冉酸; 荷移反应; 分光光度法

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2006)05-0913-04

引言

阿奇霉素是一种广谱抗菌素,主要用于呼吸系统、泌尿系统及皮肤、软组织感染的治疗。目前测定阿奇霉素的方法有效价法^[1]、分光光度法^[2]、高效液相色谱法^[3-6]等,用荷移光谱法测定阿奇霉素片剂中阿奇霉素的含量未见报道。阿奇霉素是一种富电子物质,其氮原子上的孤对电子能够与缺电子的TCNQ或CL作用生成荷移络合物。本文研究了TCNQ、CL与阿奇霉素的荷移反应,确定了利用该反应测定阿奇霉素含量的实验条件。该方法简便、快速,试剂稳定,重现性好。

1 实验部分

1.1 主要试剂与仪器

7,7,8,8-四氰基对二次甲基苯醌(Sigma)丙酮溶液: $5.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$;氯冉酸(化学纯,北京化学试剂厂)的丙酮溶液: $3.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$;标准阿奇霉素(阿奇霉素对照品,购自中国药物生物制品检定所): $0.10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 丙酮溶液, $0.50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 丙酮溶液;甲醇、无水乙醇、丙酮、氯仿等有机试剂均为分析纯。阿奇霉素片(江西汇仁药业有限公司,批号0303010;石家庄制药集团有限公司,批号030601)。

UV-2401PC型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);HHS-2F Ni型恒温水浴(北京靖卫科学仪器厂)。

1.2 实验方法

1.2.1 TCNQ法

准确移取一定量阿奇霉素($0.10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 丙酮溶液)于10 mL比色管中,加入 $5.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 7,7,8,8-四氰基对二次甲基苯醌丙酮溶液4.0 mL。用丙酮稀释至刻度,摇匀后于40℃下反应30 min,冷却至室温,以相同方法制备试剂空白作为参比,用1 cm比色皿分别在743和842 nm处测量其吸光度。

1.2.2 氯冉酸法(CL法)

准确移取一定量的阿奇霉素($0.50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 丙酮溶液)于10 mL比色管中,加入 $3.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯冉酸丙酮溶液2.0 mL。用丙酮稀释至刻度,摇匀后于室温(15℃)下放置10 min,以试剂空白为参比,用1 cm比色皿在530 nm处测量其吸光度。

2 结果与讨论

2.1 吸收光谱

分别按1.2.1节、1.2.2节实验方法配制溶液,以相应的试剂空白为参比,绘制吸收光谱。试验表明,阿奇霉素与7,7,8,8-四氰基对二次甲基苯醌(TCNQ)形成的络合物分别

收稿日期:2004-12-17,修订日期:2005-05-04

基金项目:山东省教育厅科技计划项目(J02H57)资助项目

作者简介:黄薇,女,1964年生,枣庄学院化学系教授

在波长 743, 842 nm 处有两个吸收峰, 与氯冉酸形成的络合物在波长 530 nm 处有吸收峰, 试剂在此波长范围内吸收较小, 阿奇霉素在此波长范围内无吸收, 见图 1、图 2。

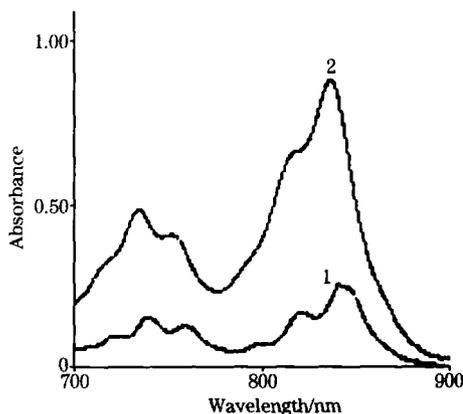


Fig 1 Absorption spectra

1: TCNQ; 2: TCNQ-Azithromycin charge transfer complex
 $c(\text{TCNQ}) = 2.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$;
 $c(\text{Azithromycin}) = 2.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

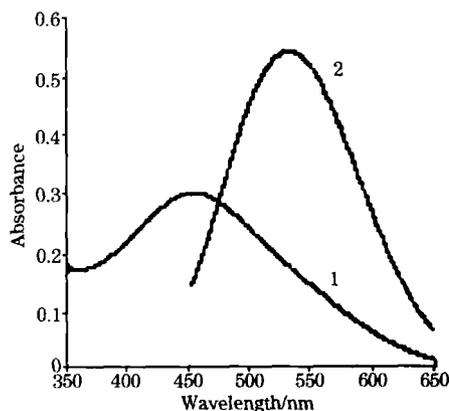


Fig 2 Absorption spectra

1: Chloranilic acid;
 2: Chloranilic acid-Azithromycin charge transfer complex
 $c(\text{CL}) = 6.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$;
 $c(\text{Azithromycin}) = 2.3 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

2.2 反应温度的影响

分别在 10~60 °C 恒温一定时间后测量荷移络合物的吸光度, 研究温度对荷移反应的影响。试验表明, TCNQ 法的最佳反应温度为 40 °C; 氯冉酸法基本不受温度影响, 为便于操作, 选择在室温(15 °C)下反应。

2.3 反应时间的影响

在上述适宜温度下, 分别选择反应时间为 10~50 min, 测定溶液吸光度, 研究反应时间对生成络合物的影响。试验表明, TCNQ 法反应的最佳时间为 30 min, 氯冉酸法 10 min 即可反应完全。络合物在室温下放置, 120 min 内溶液的吸光度稳定。

2.4 试剂用量的影响

改变试剂用量, 研究试剂用量对反应的影响。实验表

明, 随着试剂用量的增加, 荷移络合物的吸光度增大, 当试剂用量达到一定时, 溶液的吸光度基本保持不变, 说明荷移反应趋于完全。试验表明: 7, 7, 8, 8 四氰基对二次甲基苯醌法的适宜试剂用量为 4.0 mL, 氯冉酸法的适宜试剂用量为 2.0 mL。

2.5 溶剂的影响

分别用甲醇、无水乙醇、丙酮、氯仿等作溶剂, 研究溶剂对反应的影响。实验表明: TCNQ 法、氯冉酸法均以丙酮

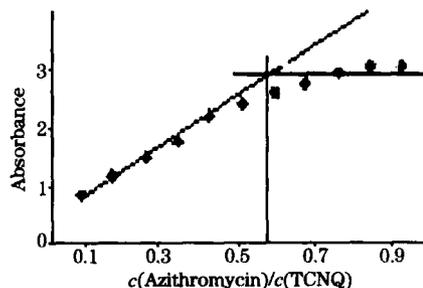


Fig 3 Determination of the complex formation by mole ratio method (TCNQ)

$c(\text{Azithromycin}) = 1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$;
 $c(\text{TCNQ}) = 2.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

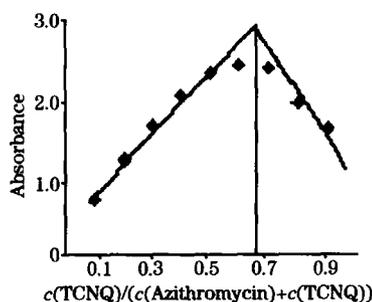


Fig 4 Determination of the complex formation by continuous variation method of equivalent mole (TCNQ)

$c(\text{Azithromycin}) + c(\text{TCNQ}) = 1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

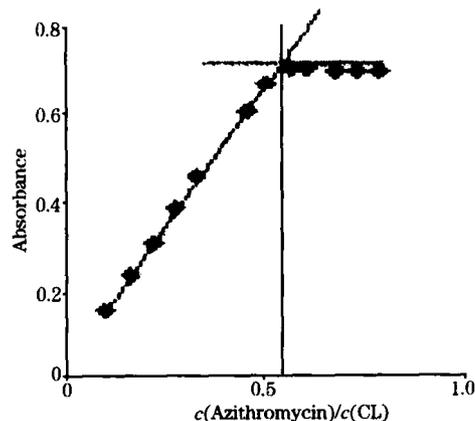


Fig 5 Determination of the complex formation by the mole ratio method (CL)

$c(\text{Azithromycin}) = 6.7 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$;
 $c(\text{CL}) = 3.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

作溶剂为好, 其荷移络合物吸光度最大且稳定。

2.6 方法的重现性

平行取 6 份阿奇霉素进行测定, 用统计方法计算相对标准偏差。TCNQ 法中, 取 $0.10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 阿奇霉素溶液 1.00 mL , 测定的相对标准偏差为 1.4% ; CL 法中, 取 $0.50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 阿奇霉素溶液 3.00 mL , 测定的相对标准偏差为 1.0% 。说明上述方法重现性较好。

2.7 络合物组成的测定

应用等摩尔连续变化法和摩尔比法测得阿奇霉素与 7,7,8,8-四氰基对二次甲基苯醌、氯冉酸反应生成的荷移络合物的组成比均为 $1:2$ (见图 3~ 图 6)。

2.8 反应机理

7,7,8,8-四氰基对二次甲基苯醌和氯冉酸都是缺电子试剂, 阿奇霉素是一种富电子物质, 其氮原子上的孤对电子能够与 7,7,8,8-四氰基对二次甲基苯醌或氯冉酸形成 $n-\pi$ 型荷移络合物, 根据测得络合物组成比为 $1:2$, 推测其形成机

理可能如图 7 所示。

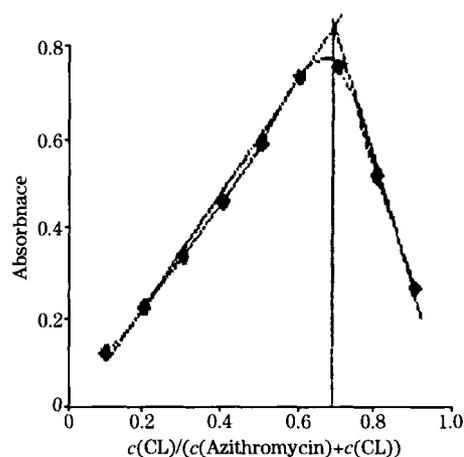


Fig 6 Determination of the complex formation by continuous variation method of equivalent mole (CL)

$$c(\text{Azithromycin}) + c(\text{CL}) = 1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

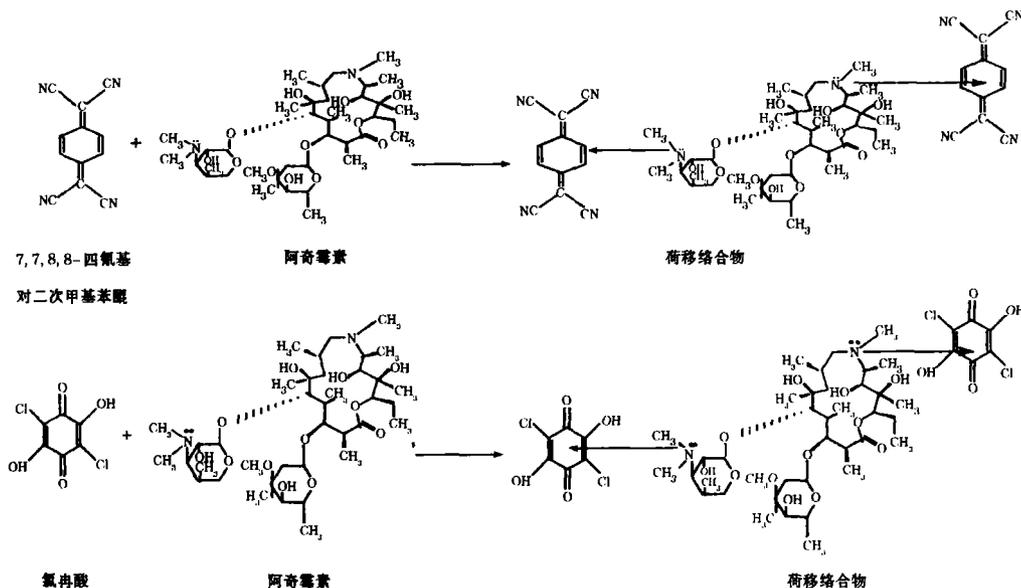


Fig 7 The forming mechanism

2.9 标准曲线

按实验确定的最佳条件配制溶液并进行反应, 在各自的最大吸收波长下测定荷移络合物的吸光度, 将测得的数据作统计处理, 绘制工作曲线, 得到回归方程及线性范围, 结果

见表 1。

比较两种测定方法可知, TCNQ 法的灵敏度高, 为氯冉酸法的 $10 \sim 20$ 倍; 氯冉酸法的线性范围宽, 且反应迅速, 温度易控制。因此可以根据样品的浓度选择更适宜的方法。

Table 1 Results of data processing

方法	测定波长 λ_{nm}	回归方程	线性范围/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	摩尔吸光系数/ $(\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$	相关系数 r
TCNQ	743	$A = 0.0359c - 0.0716$	0~30	2.7×10^4	0.9989
	842	$A = 0.0659c - 0.1332$	0~30	5.0×10^4	0.9996
CL	520	$A = 0.003c + 0.0022$	5~225	2.4×10^3	0.9998

3 样品的测定

3.1 样品的准备

取不同厂家生产的标示量均为 250 mg/片的阿奇霉素各 10 片, 精确称量后研磨混匀, 然后准确称取总量的十分之一, 用丙酮溶解, 过滤, 弃去不溶物。滤液于 100 mL 容量瓶

中定容备用。

3.2 样品的测定

取上述制备好的样品试液适量于 10 mL 比色管中, 按实验方法在 λ_{\max} 处进行测定, 另按药典方法测定相同药物制剂含量, 并用标准加入法作回收率实验。结果表明制剂中辅料对测定基本无影响, 数据见表 2。

Table 2 Results of determination ($n=3$)

方法	批号	测得值/ mg/片	相当标示量 Labelled/ %	回收率/ %
TCNQ 法	030601	248.9	99.6	97.8
	0303010	247.8	99.1	97.2
CL 法	030601	247.9	99.2	98.6
	0303010	250.1	100.0	96.7
药典法[1]	030601	253.2	101.3	
	0303010	250.9	100.4	

参 考 文 献

- [1] Pharmacopoeia Committee of Ministry of Public Health, P. R. China (中华人民共和国药典委员会), Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Part II) (中华人民共和国国家药典·二部). Beijing: Chemical Industry Press (北京: 化学工业出版社), 2000. 335.
- [2] WU Lir lin, GUO Ji rong, JIANG Jur de (吴琳琳, 郭吉蓉, 蒋均德). Chinese Journal of Hospital Pharmacy (中国医院药学杂志), 2001, 21(9): 530.
- [3] LI Sen (李 森). Foreign Medical Sciences (Section of Pharmacy) (国外医学·药学分册), 2002, 29(4): 255.
- [4] ZHANG Lir ying, LI Qing-cui (张林英, 李青翠). Journal of Shanxi Medical College for Continuing Education (山西职工医学院学报), 2002, 2(3): 2.
- [5] LI Hai ying, CHEN Yue (李海英, 陈 悦). Journal of Northwest Pharmacy (西北药学杂志), 2003, 18(4): 147.
- [6] JIANG Jian guo, ZHANG Xi ru, YANG Lian g, WU Rui jin (姜建国, 张西如, 杨 梁, 吴如金). Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy (中国现代应用药学), 2003, 20(5): 395.

Spectrophotometric Determination of Azithromycinbase by Charge Transfer Reaction

HUANG Wei¹, LIU Xue jing¹, ZHAO Feng lin²

1. Zaozhuang College, Zaozhuang 277100, China

2. Department of Chemistry, Peking University, Beijing 100871, China

Abstract The charge transfer interactions of Azithromycin and 7,7,8,8-tetracyanoquinodimethane (TCNQ) or chloranilic acid (CL) were investigated by spectrophotometry. The apparent molar absorptivity of TCNQ complex is $2.7 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ at 743 nm, and $5.0 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ at 842 nm; and that of CL complex is $2.4 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Beers law is obeyed in the concentration range of 0-30 mg $\cdot \text{L}^{-1}$ for TCNQ method, and 5-225 mg $\cdot \text{L}^{-1}$ for CL method. The relative standard deviations of the two methods are 1.0% and 1.4% ($n=6$), respectively. The composition of complex of Azithromycin with 7,7,8,8-tetracyanoquinodimethane or chloranilic acid is 1:2. This proposed method has been applied to the determination of Azithromycin in tablets with satisfactory results.

Keywords Charge transfer reaction; Spectrophotometry; 7,7,8,8-tetracyanoquinodimethane (TCNQ); Azithromycin; Chloranilic acid (CL)

(Received Dec. 17, 2004; accepted May 4, 2005)