

借与玫瑰精 B 和孔雀石绿的显色反应 测定阿莫西林

江虹 张华 庞向东

(长江师范学院化学化工学院 重庆市涪陵区李渡聚龙大道 98 号 408100)

摘 要 在弱碱性条件下, 玫瑰精 B (RHOB) 或孔雀石绿 (MALM) 与阿莫西林反应生成红色或绿色离子缔合物, 产生明显的褪色现象。RHOB 体系的最大负吸收波长位于 584nm, MALM 体系产生两个可用于定量分析的褪色峰, 其最大和次大负吸收波长分别位于 634、612nm; 线性范围均为 0—5.5 mg/L, 表观摩尔吸光系数 (ϵ) 分别为 1.11×10^4 (RHOB 体系)、 1.36×10^4 和 $1.23 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (MALM)。阿莫西林在一定浓度范围内遵从比耳定律, 由此建立了测定阿莫西林的可见分光光度法。探讨了适宜的反应条件、主要分析化学性质、方法的精密性及可靠性。方法用于市售阿莫西林药物中阿莫西林的测定, 结果满意。

关键词 阿莫西林; 玫瑰精 B; 孔雀石绿; 显色反应; 分光光度法

中图分类号: O657.32

文献标识码: A

文章编号: 1004-8138(2010)02-0418-05

1 引言

阿莫西林 (Amoxicillin, 简写 AMO) 又叫羟氨苄青霉素, 是第二代青霉素类抗生素药物。由于抗菌谱广、可以口服、使用方便, 因而得到广泛的应用。阿莫西林对革兰阳性球菌和杆菌、革兰阴性细菌、多数厌氧杆菌有较强的抑制作用, 在临床上主要用于敏感菌所致的呼吸道、尿路和胆道感染以及伤寒等的治疗。目前测定阿莫西林的方法主要有: 高效液相色谱法^[1-3], 流动注射化学发光法^[4,5], 紫外分光光度法^[6-8], 红外光谱法^[9], 荧光法^[10], 极谱法^[11], 毛细管电泳法^[12], 原子吸收法^[13]等。其中用得最多的是高效液相色谱法, 它快速、灵敏, 但前处理较复杂, 且仪器不易普及; 而分光光度法因操作简便、快速、仪器价廉等优点得到广泛应用, 目前文献报道的测定阿莫西林的分光光度法主要是紫外分光光度法。本文利用常用试剂玫瑰精 B 和孔雀石绿与阿莫西林的显色反应, 建立了测定阿莫西林的可见褪色分光光度法, 至今未见文献报道。实验发现, 在 pH 9.0—9.9 (RHOB) 和 pH 7.8—9.2 (MALA) 的条件下, 阿莫西林与玫瑰精 B (或孔雀石绿) 发生明显的褪色反应并生成红色 (或绿色) 离子缔合物。AMO-RHOB 体系产生一较强的褪色峰, 而 AMO-MALA 体系在可见光区相继出现两个较强的褪色峰, 在这几个褪色波长下, 阿莫西林的浓度在 0—5.5 mg/L 范围内与褪色强度呈良好的线性关系, 遵从比耳定律, 用于市售阿莫西林药物中阿莫西林含量的测定, 结果满意。

重庆市教委科技基金项目 (No: KJ071304); 长江师范学院科技资助项目 (No: 2008xky39)

联系人, 电话: (023) 72094121; E-mail: jianghongch@163.com

作者简介: 江虹 (1956—), 女, 四川省资中县人, 教授, 主要从事光谱分析研究工作。

收稿日期: 2009-08-18; 接受日期: 2009-09-21



2 实验部分

2.1 主要仪器与试剂

U-4100 型紫外-可见-近红外光度仪(日本日立公司); S20K 型 pH 计[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; EL 104 型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

阿莫西林(AMO, 中国药品生物制品检定所)标准溶液: 储备液浓度 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$, 操作液浓度 $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$; 玫瑰精 B (RHOB, 上海化学试剂三厂) 溶液: $2.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$; 孔雀石绿 (MALA, 上海化学试剂三厂) 溶液: $2.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$; Tris-HCl 缓冲溶液: 0.1 mol/L HCl 和 0.2 mol/L Tris(三羟甲基氨基甲烷) 混合, 用酸度计配成一系列不同 pH 的缓冲溶液; HA c-N aAc 缓冲溶液: 0.2 mol/L HA c 与 0.2 mol/L N aAc 混合, 用酸度计配成一系列不同 pH 的缓冲溶液; Britton-Robinson (BR) 缓冲溶液: 0.04 mol/L H_3PO_4 , H_3BO_3 和 HA c 与 0.2 mol/L N aOH 溶液混合, 用酸度计配成一系列不同 pH 的缓冲溶液; 表面活性剂: 十二烷基硫酸钠(SDS) 10 g/L ; 十二烷基磺酸钠(DBS) 8 g/L ; 溴化十六烷基三甲基铵(CTMAB) 0.5 g/L ; Tween-20 2%; OP(乳化剂) 1%; Triton-X-100 1%; 聚乙烯醇-124(PVA-124) 0.1 g/L ; 阿莫西林为生化试剂, 其余试剂均为分析纯, 实验用水为二次蒸馏水。

2.2 实验方法

于 10mL 比色管中, 依次准确加入 1.5mL $2.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 的玫瑰精 B (或孔雀石绿) 溶液, 一定量的 $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 的阿莫西林(AMO)标准溶液和 2.0mL pH 9.90 (RHOB) 或 pH 8.68 (MALA) 的 Tris-HCl 缓冲溶液, 用水稀至刻度, 摇匀, 10min 后, 以试剂空白为参比, 在 584 (RHOB 体系) 和 634、612nm (MALA 体系) 处以 1cm 比色皿测其吸光度。

3 结果与讨论

3.1 吸收光谱

在 U-4100 型紫外-可见-近红外分光光度计上扫描吸收光谱(图 1 和图 2)。从图可知, AMO 在可见光区几乎无吸收(曲线 1); RHOB 和 MALA 在可见光区产生强烈吸收, 其最大吸收波长分别为 552nm 和 606nm (曲线 2)。当在 RHOB 或 MALA 溶液中加入 AMO 溶液后, 产生明显的褪色现象, 在可见光区, RHOB 体系出现一个较强的褪色峰, 其最大负吸收波长为 584nm, 红移 32nm; MALA 体系相继出现两个较强的褪色峰, 其最大负吸收波长为 634nm, 次负吸收波长为 612nm, 分别红移 28nm 和 6nm; 在 RHOB 体系的最大负吸收波长和 MALA 体系的最大和次大负吸收波长处, 一定浓度范围的阿莫西林与褪色强度呈良好的线性关系, 遵从比耳定律(曲线 3—5)。表 1 列出了体系的吸收光谱特征。

表 1 AMO-RHOB(或MALA)体系的吸收光谱

体系	染料(nm) λ_{max}^b	褪色波长(nm)		其他褪色波长(nm)		
		λ_{max}^f	$\Delta\lambda^f$	λ^f		
AMO-RHOB	552	584	32	316	292	274
AMO-MALA	606	634	28	612		

3.2 反应条件的选择

3.2.1 缓冲溶液 pH 值及用量的选择

试验了 BR、Tris-HCl、N aAc-HAc 等缓冲体系对 AMO-RHOB (或 MALA) 体系灵敏度的影响, 结果表明, pH 在 9.0—9.9 (RHOB 体系) 和 pH 7.8—9.2 (MALA 体系) 的 Tris-HCl 条件下, 体系的

灵敏度相对较好。本实验选用 pH 9.90 (RHOB) 和 pH 8.68 (MALA) 的 Tris-HCl 缓冲溶液, 用量以 2.0 mL 为宜。

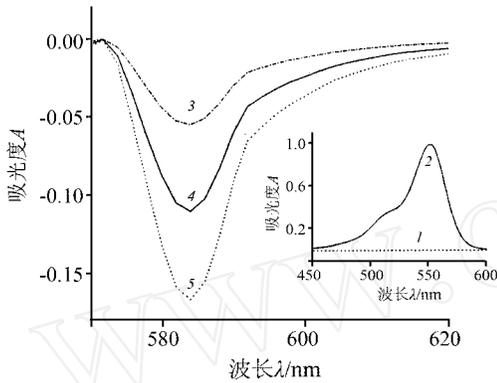


图 1 阿莫西林与玫瑰精 B 的吸收光谱

1—AMO ($1.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$); 2—RHOB ($1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$); 1—2—水作参比; 3—5—AMO (0.5, 1.0, 1.5 mL)-RHOB, 试剂空白作参比, AMO: $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$, RHOB: $3.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$; pH 9.90.

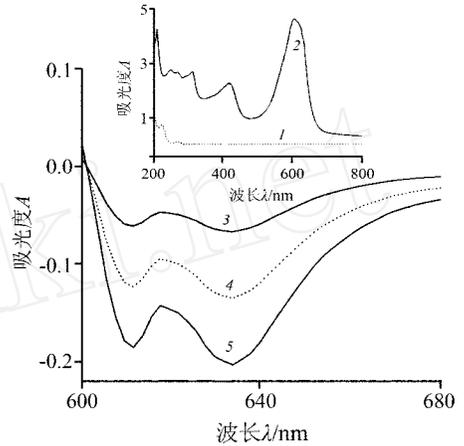


图 2 阿莫西林与孔雀石绿的吸收光谱

1—AMO; 2—MALA; 1—2—水作参比; 3—5—AMO (0.5, 1.0, 1.5 mL)-MALA, 试剂空白作参比, AMO: $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$, MALA: $3.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$; pH 8.68.

3.2.2 显色剂用量的选择

分别试验了不同用量的 RHOB 和 MALA 对体系灵敏度的影响。结果表明, 浓度为 $2.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 的 RHOB 和 MALA 溶液用量在 1.2—2.2 mL 范围时体系的灵敏度较高。实验选用显色剂用量为 1.5 mL。

3.2.3 试剂加入顺序的影响

试验了 AMO、显色剂及体系所用 pH 值的 Tris-HCl 缓冲溶液在不同加入顺序时对体系灵敏度的影响。结果表明, 加入顺序为显色剂、AMO、Tris-HCl 时体系的灵敏度相对较高。实验选用此顺序。

3.2.4 时间的影响

按试验方法配制溶液后, 在 RHOB 体系的最大负吸收波长处和 MALA 体系的最大和次大负吸收波长处每间隔一定时间测其吸光度。结果表明, 开始时, 它们的吸光度均随放置时间的增加而增加, 当 8 min 时, 吸光度值趋于平稳, 说明显色反应已达完全, 其稳定时间可达 1h 以上。实验选在 10 min 后测定。

3.2.5 表面活性剂对吸光度的影响

试验了非离子表面活性剂 OP、Triton-X-100、PVA-124、Tween-20, 阳离子表面活性剂 CTMAB 及阴离子表面活性剂 SDS、DBS 等对体系灵敏度的影响, 结果表明在各体系的测定波长下, 基本无增敏作用。故本实验选择不加表面活性剂。

3.3 方法的精密度

准确移取 $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 的 AMO 标准溶液 1.0 mL, 按试验方法各配制 6 份 AMO-RHOB 和 AMO-MALA 溶液, 在各体系选定的测定波长处以 1 cm 比色皿测定吸光度, 再计算得 RSD 分别为

1. 8% (RHOB 体系) 和 1. 5% (MALA 体系, $\lambda_{\text{测}} = 634\text{nm}$) 及 2. 2% (MALA 体系, $\lambda_{\text{测}} = 612\text{nm}$)。

3. 4 校准曲线

取一系列不同体积的 $1.0 \times 10^{-4} \text{mol/L}$ 的 AMO 标准溶液, 按实验方法配制溶液, 在各体系的测定波长处, 以 1cm 比色皿测其吸光度, 作 A—C 校准曲线, 其相关参数见表 2。

表 2 校准曲线相关参数

体系	测量波长 $\lambda(\text{nm})$	回归方程 (C: mol/L)	相关系数 <i>r</i>	线性范围 (mg/L)	摩尔吸光系数 $\epsilon(\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$
AMO-RHOB	584	$A = 0.00187 + 0.1059 \times 10^5 C$	0.9992	0—5.5	1.11×10^4
AMO-MALA	634	$A = -0.00034 + 0.139 \times 10^5 C$	0.9998	0—5.5	1.36×10^4
AMO-MALA	612	$A = 0.0007 + 0.1194 \times 10^5 C$	0.9996	0—5.5	1.23×10^4

3. 5 反应机理推测

AMO 结构中的羧酸在碱性介质中脱氢后以阴离子形式存在, RHOB 和 MALA 在溶液中以大阳离子形式存在, 这些阴、阳离子均具有较大的疏水基团, AMO 与 RHOB 或 MALA 彼此以静电引力作用形成粒径较大的疏水性离子缔合物。同时 AMO 结构中的四元环不稳定, 环上的酰胺在近中性或弱碱性条件下 C—N 键易断裂, 使四元环开环, 此时 AMO 更易与大阳离子以静电作用和疏水作用形成离子缔合物, 使显色反应能够进行到底。

3. 6 方法的选择性

在选定条件下, 试验了一些常见物质对测定 AMO (3.655mg/L) 的影响, 当相对误差在 $\pm 5\%$ 左右时, 以下共存物质 (倍) 不影响测定:

AMO-RHOB 体系: 葡萄糖、蔗糖、KCl (100); D-苏氨酸、甘氨酸、麦芽糖、乳糖、 NaNO_3 (80); KNO_3 (50); 谷氨酸、柠檬酸、 $\text{Hg}_2(\text{NO}_3)_2$ 、 BaCl_2 、 SrCl_2 (20); $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 、 CuCl_2 、 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 、 Na_2SO_3 、 NH_4NO_3 (5); $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ 、 Na_2CO_3 、 Na_2SO_4 、 $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ 、 $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ (3); $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 、 CaCl_2 、 NaNO_2 (2)。

AMO-MALA 体系 ($\lambda_{\text{测}} = 634\text{nm}$): 葡萄糖、蔗糖 (100); D-苏氨酸、甘氨酸、麦芽糖、 KNO_3 、KCl (80); 乳糖、谷氨酸、 NaNO_3 (50); 柠檬酸、 NH_4NO_3 、 BaCl_2 、 SrCl_2 、 Na_2SO_3 (10); $\text{Hg}_2(\text{NO}_3)_2$ 、 CuCl_2 、 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ 、 Na_2SO_4 、 $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ (5); CaCl_2 、 Na_2CO_3 、 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (3); $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 、 $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ 、 NaNO_2 、 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ (2)。

实验表明, 方法具有良好的选择性。

3. 7 分析应用

3. 7. 1 阿莫西林胶囊中 AMO 的测定

取阿莫西林胶囊 (哈药集团制药总厂) 5 粒, 弃去胶壳后, 将内容物置于小烧杯中, 用水溶解后转入 100mL 容量瓶中, 用水稀至刻度, 摇匀。取该液 2.0mL 置于 100mL 容量瓶中, 用水稀至刻度, 摇匀, 取该液 1.0mL 按实验方法测定, 同时作加标回收试验 (表 3)。

3. 7. 2 注射用阿莫西林钠中 AMO 的测定

取注射用阿莫西林钠 (哈药集团制药总厂; 按阿莫西林计 $0.5\text{g}/\text{支}$) 1 支, 准确称取总量的 $1/50$ (相当于含 AMO 约 10mg), 用水溶解后, 移入 250mL 容量瓶中, 用水稀至刻度, 取该液 1.0mL 按实验方法测定, 同时作加标回收试验 (表 3)。

表 3 样品分析及回收试验

样品	体系	测得平均值	标示量	RSD	取样药含量	加入标准量	测得值	RSD	回收率
		($n=6$, mg/支或粒)	(mg/支或粒)	(%)	(mg/L)	(mg/L)	($n=6$, mg/L)	(%)	(%)
阿莫西林胶囊	AMO-RHOB	238.6	250	1.8	1.193	1.828	2.985	1.6	98.0
	AMO-MALA (634nm)	240.5	250	1.5	1.203	1.828	3.065	1.0	101.9
	AMO-MALA (612nm)	252.5	250	2.3	1.263	1.828	3.020	1.6	96.1
注射用阿莫西林钠	AMO-RHOB	510.2	500	1.2	0.8160	1.828	2.635	1.5	99.5
	AMO-MALA (634nm)	506.8	500	1.3	0.8112	1.828	2.628	0.8	99.4
	AMO-MALA (612nm)	510.0	500	1.8	2.040	1.828	3.922	1.4	103.0

4 结论

借助阿莫西林与玫瑰精 B 或孔雀石绿的显色反应测定药物中阿莫西林的含量, 方法简单、快捷、可靠。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会 中华人民共和国药典(第二部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005. 296—297.
- [2] 陈红, 张丹. RP-HPLC 法测定阿双西林片中阿莫西林和双氯西林的含量[J]. 药物分析杂志, 2003, 23(1): 51—53.
- [3] 李彦威, 勾洪磊, 杨秀花等. 反相高效液相色谱法测定阿莫西林[J]. 理化检验(化学分册), 2008, 44(3): 216—217, 220.
- [4] 范顺利, 张磊, 买文宁等. 流动注射-化学发光法测定阿莫西林[J]. 理化检验(化学分册), 2003, 39(5): 257—258, 262.
- [5] 石杰, 赵开楼, 宋庆国等. 流动注射化学发光法测定阿莫西林的研究[J]. 药物分析杂志, 2004, 24(4): 395—397.
- [6] 侯晓峰, 张爱平, 白小红等. 分光光度法测定阿莫西林钠/克拉维酸钾中阿莫西林的含量[J]. 山西医科大学学报, 2005, 36(2): 187—188.
- [7] 黄薇, 刘雪静, 张莹莹. 阿莫西林的荷移光谱测定方法研究[J]. 光谱实验室, 2005, 22(1): 21—24.
- [8] 赵丽瑞. 阿莫西林-铜络合物光度法测定阿莫西林[J]. 光谱实验室, 1999, 16(2): 189—190.
- [9] 程存归, 应桃开. 漫反射傅里叶变换红外光谱定量分析法测定阿莫西林胶囊的含量[J]. 中国抗生素杂志, 2002, 27(6): 337—340.
- [10] 王峰, 黄薇. 胶束增敏荧光光度法测定阿莫西林的含量[J]. 内蒙古师范大学学报, 2006, 35(2): 204—207.
- [11] 任乃林, 陈宜菲, 韩大雄. 极谱法测定阿莫西林胶囊的含量[J]. 分析测试技术与仪器, 2004, 10(1): 50—52.
- [12] 黄宝美, 莫金垣, 王瑛. 毛细管电泳-电化学法测定阿莫西林含量[J]. 化学研究与应用, 2005, 17(3): 350—351.
- [13] 李媛, 郎惠云, 李会娥等. 流动注射在线过滤稀释-原子吸收分光光度法测定阿莫西林[J]. 分析化学, 2000, 28(10): 1252—1255.

Detem ination of Amoxicillin by Its Color Reaction with Rhodamine B or Malachite Green

J IANG Hong ZHANG Hua PANG Xiang-Dong

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Yangtze Normal University, Chongqing 408100, P. R. China)

Abstract In alkaline condition, amoxicillin reacted with rhodamine B or malachite green to form red or green ion association complexes and bring obvious fading. The maximum negative absorption wavelength of rhodamine B system was at 584 nm. The two fading peaks of malachite green system appeared in quantificational analysis and the maximum and secondly negative absorption wavelengths were at 634 and 612 nm respectively. The linear ranges were 0—5.5 mg/L and their apparent molar absorptivities (ϵ) were 1.11×10^4 (RHOB system) and 1.36×10^4 and 1.23×10^4 L · mol⁻¹ · cm⁻¹ (MALM system) respectively. Amoxicillin obeys Beer's law in definite concentration range. A novel spectrophotometry for the determination of amoxicillin was thus developed. The optimum reaction conditions and the chief properties of analytical chemistry and the methodological precision and reliability were studied. This method has been applied to the determination of amoxicillin in the city sell amoxicillin medicament with satisfactory results.

Key words Amoxicillin; Rhodamine B; Malachite Green; Color Reaction; Spectrophotometry