

刚果红分光光度法测定盐酸环丙沙星^①

潘自红^② 陈丽华 段晓辉

(平顶山学院化学化工学院 河南省平顶山市建设路西段 240 号 467000)

摘 要 在 pH 4.39 的乙酸钠-盐酸缓冲溶液中, 盐酸环丙沙星与刚果红发生离子缔合反应, 其最大吸收波长位于 500nm 处, 表观摩尔吸光系数 $\epsilon = 9.46 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$, 盐酸环丙沙星浓度在 0.8—3.2mg/L 范围内呈良好的线性关系, 线性回归方程为 $A = 0.3635 + 0.01113C(\text{mg/L})$, 相关系数 $r = 0.9966$; 检出限为 9ng/L; RSD 为 1.6%, 据此建立了测定盐酸环丙沙星的新方法。优化了对盐酸环丙沙星的测定条件。本法仪器设备简单, 操作简便, 体系稳定, 回收率测定结果较满意。

关键词 分光光度法; 盐酸环丙沙星; 刚果红

中图分类号: O657.32

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2011)02-0732-03

1 引言

盐酸环丙沙星又名盐酸环丙氟哌酸 (CPFX, Ciprofloxacin hydrochloride), 属于第三代喹诺酮类药物, 抗菌能力强, 临床广泛用于革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌引起的感染。目前, 测定盐酸环丙沙星的分析方法比较多, 主要有高效液相色谱法^[1-4]、毛细管电泳法^[5]、电位法^[6,7]、荧光法^[8,9]、流动注射-化学发光法^[10-12]等。紫外可见吸收光度法在药物分析方面得到广泛应用, 但迄今为止, 尚未见到运用刚果红分光光度法测定环丙沙星的报道。实验发现在酸性条件下, 盐酸环丙沙星与刚果红通过静电等作用, 生成缔合物, 引起体系吸光度的变化, 据此建立了盐酸环丙沙星测定的新方法。该法快速、简便、不需昂贵的仪器设备, 具有较好的应用价值。

2 实验部分

2.1 试剂与仪器

盐酸环丙沙星对照品(中国药品生物制品鉴定所): 配成 1.0mg/mL 的储备液(4℃避光保存), 临用时稀释到所需浓度; 刚果红溶液: 配成 $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 的水溶液; pH 4.39 乙酸钠-盐酸缓冲溶液调节体系的酸度。所用试剂均为分析纯。实验用水均为二次蒸馏水。

722 型光栅分光光度计(四川仪表九厂); FA-1604 型电子天平(上海天平仪器厂)。

2.2 实验方法

准确移取 $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 的刚果红溶液 5.00mL 于 25mL 容量瓶中, 并依次加入一定量的盐酸环丙沙星标准溶液或样品溶液和 2.5mL 的 pH 4.39 的乙酸钠-盐酸缓冲溶液, 用水稀释至刻度, 摇匀。室温下, 用 1cm 比色皿, 以试剂空白为参比, 在波长 500nm 处测定吸光度。

① 平顶山学院高层次人才科研启动经费资助项目(No. 2008009)

② 联系人, 电话: (0375) 4910185; 传真: (0375) 4910185; 手机: (0) 13782424267; E-mail: zhpan80@163.com

作者简介: 潘自红(1980—), 女, 河南省信阳市人, 讲师, 硕士, 主要从事蛋白质及药物分析工作。

收稿日期: 2010-07-10; 接受日期: 2010-08-05

3 结果与讨论

3.1 吸收曲线

在酸性条件下, 刚果红与盐酸环丙沙星通过静电作用结合生成咖啡色离子缔合物, 使得体系在波长为 500nm 处产生最大吸收。故该实验在波长 500nm 下进行药物含量的测定。

3.2 实验条件的优化

3.2.1 试剂加入顺序的影响

按实验方法, 实验了以下 3 种试剂添加顺序: 刚果红+ 盐酸环丙沙星+ 缓冲溶液; 刚果红+ 缓冲溶液+ 盐酸环丙沙星; 盐酸环丙沙星+ 缓冲溶液+ 刚果红, 对体系吸光度的影响。实验表明, 试剂加入顺序不同, 对体系的吸光度有影响, 其中试剂加入顺序为刚果红+ 盐酸环丙沙星+ 缓冲溶液时, 体系的吸光度值最高。

3.2.2 反应时间及稳定性的影响

在所选的实验条件下, 刚果红与盐酸环丙沙星反应迅速。室温条件下, 体系吸光度值在 70min 内基本保持稳定。

3.2.3 酸度的影响

实验了乙酸钠-盐酸缓冲溶液在 pH 为 0.65—5.20 范围内, 对刚果红-盐酸环丙沙星体系吸光度的影响。结果表明, 当 pH 为 4.39 时该体系的吸光度值最大, 故实验选用 2.5mL pH 4.39 乙酸钠-盐酸缓冲溶液控制体系的酸度。

3.2.4 染色剂用量的影响

实验考察了染色剂刚果红的浓度在 4.0×10^{-6} — 2.8×10^{-5} mol/L 范围时对体系吸光度值的影响。当刚果红的浓度在 4.0×10^{-6} — 2.0×10^{-5} mol/L 的范围内时, 体系吸光度值随染色剂浓度的增大呈良好的直线上升关系, 当刚果红用量增大至超过 2.0×10^{-5} mol/L 时, 直线开始产生弯曲, 可能是由于染料自身产生的自聚作用造成的。由此可见, 染料自聚会对体系实际吸光度值的测定造成很大的干扰影响, 为了减小甚至排除染料自聚对实验吸光度值变化的影响, 染色剂用量不宜过大, 但是染色剂用量过小又会造成体系反应不完全, 所以综合考虑, 实验选用刚果红染色剂的浓度为 2.0×10^{-5} mol/L。

3.3 校准曲线、检出限及精密度

在以上优化的实验条件下, 按照实验方法绘制了刚果红测定盐酸环丙沙星的校准曲线。实验发现, 盐酸环丙沙星浓度在 0.8—3.2mg/L 范围内与吸光度呈良好线性关系, 其线性回归方程为 $A = 0.3635 + 0.01113C$ (mg/L, $r = 0.9966$), 表观摩尔吸光系数 $\epsilon = 9.46 \times 10^4$ L/(mol · cm); 以 3S/斜率(S 为 11 份空白溶液的标准偏差) 计算方法的检出限为 9ng/L。对 2.4mg/L 的盐酸环丙沙星按分析步骤平行测定 11 份试液, 其相对标准偏差为 1.6%。

3.4 样品中盐酸环丙沙星的测定

分别取 5 片盐酸环丙沙星并准确称量, 用研钵研细、混匀。平行取 2 份, 质量分别为 0.3955g 和 0.4078g, 用水溶解, 过滤, 再用水定容至 250mL 作为样品溶液, 用标准加入法测得的平均回收率如表 1 所示。

表 1 样品回收率的测定结果

(*n*= 3)

样品含量 ($\mu\text{g}/25\text{mL}$)	加标量 ($\mu\text{g}/25\text{mL}$)	加标后测得量 ($\mu\text{g}/25\text{mL}$)	回收率 (%)	RSD (%)
34. 08	10	43. 93	98. 5	0. 42
33. 89	10	43. 67	97. 8	0. 59

4 结论

实验建立了测定药物中盐酸环丙沙星的新的分光光度法。该法简便、快速、样品处理简便,具有实用意义。

参考文献

[1] Sowinski K M, Kays M B. Determination of Ciprofloxacin Concent Rations in Human Serum and Urine by HPLC with Ultraviolet and Fluorescence Detection[J]. *Journal of Clinical Pharmacy Therapeutics*, 2004, **29**(4): 381—387.

[2] Olutosin R I, James O P. Simple Rapid Determination of Enrofloxacin and Ciprofloxacin in Bovine Milk and Plasma by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection [J]. *Journal of Pharmacy Biomedical Analysis*, 2004, **35**(1): 143—153.

[3] Tyczkowska K, Hedeem K M, Aucoin D P *et al.* High-Performance Liquid Chromatographic Method for the Simultaneous Determination of Enrofloxacin and Its Primary Metabolite Ciprofloxacin in Canine Serum and Prostatic Tissue[J]. *Journal of Chromatography B*, 1989, **493**(2): 337—346.

[4] 张小华, 张龙, 李生其等. 反相高效液相色谱法测定阿莫西林、盐酸环丙沙星可溶性粉[J]. *色谱*, 2004, **22**(3): 293.

[5] Michalska K, Pajchel G, Tyski S. Determination of Ciprofloxacin and Its Impurities by Capillary Zone Electrophoresis[J]. *Journal of Chromatography A*, 2004, **1051**(122): 267—272.

[6] 修荣, 黄超伦, 王伟等. 酸碱双点电位法测定盐酸环丙沙星的含量[J]. *分析化学*, 2005, **21**(3): 351—352.

[7] 黄超伦, 栗瑞芬, 修荣. 氟离子选择电极法测定药物中的氟喹诺酮[J]. *分析化学*, 2004, **32**(3): 364—365.

[8] 杜黎明, 王静萍, 刘艳红. 环丙沙星荷移反应及荧光光谱性质研究[J]. *分析化学*, 2002, **30**(6): 658—660.

[9] 吴淑清, 曹秋娥, 赵云昆等. 钽-环丙沙星体系的荧光特性及环丙沙星的测定[J]. *分析化学*, 2000, **28**(12): 1462—1466.

[10] 梁耀东, 李建中, 章竹君. 流动注射-化学发光测定盐酸环丙沙星[J]. *分析化学*, 1997, **25**(11): 1307—1310.

[11] 连宁, 王建朝, 冷文红等. 流动注射化学发光法测定环丙沙星[J]. *光谱学与光谱分析*, 2005, **25**(7): 1038—1041.

[12] 李银环, 吕九如. 流动注射化学发光法测定 3 中氟喹诺酮类药物[J]. *分析化学*, 2007, **35**(5): 743—746.

Determination of Ciprofloxacin Hydrochloride by Spectrophotometry
with Congo Red

PAN Zi-Hong CHEN Li-Hua DUAN Xiao-Hui

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Pingdingshan College, Pingdingshan, Henan 467000, P. R. China)

Abstract A simple and rapid spectrophotometric method for the determination of ciprofloxacin hydrochloride was developed based on the interaction between congo red and ciprofloxacin hydrochloride in the buffer solution of NaAc-HCl for pH of 4. 39. Under the optimal conditions of determination, there were good linear relationship in the range of 0. 8—3. 2mg/L for ciprofloxacin hydrochloride at the maximum absorption wavelength of 500nm, with ϵ of $9. 46 \times 10^4 \text{L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$. The equation of linear regression was $A = 0. 3635 + 0. 01113C(\text{mg/L}, r = 0. 9966)$, and the limit of detection was 9ng/L, while RSD was 1. 6%. This method is applied to the analysis of ciprofloxacin hydrochloride samples with the simple instrument, convenient operates and the better recovery.

Key words Spectrophotometry; Ciprofloxacin Hydrochloride; Congo Red