

阿莫西林与甲基紫的共振瑞利散射及应用

江虹, 庞向东, 周国静(长江师范学院化学化工学院, 重庆 408100)

摘要: 目的 建立测定痕量阿莫西林的共振瑞利散射法。方法 以甲基紫作探针的共振瑞利散射法测定阿莫西林。结果 在 pH 9.90 的 Tris-HCl 溶液中, 阿莫西林和甲基紫相互作用后, 共振瑞利散射显著增强, 在 376 nm 处的 ΔI_{RRS} 最强。阿莫西林的浓度在 $2.0 \times 10^{-8} \sim 1.5 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 内与 ΔI_{RRS} 成正比, 检出限($3S_b/S$)为 $0.042 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。结论 该法简便、快速、灵敏, 可用于痕量阿莫西林的测定。

关键词: 共振瑞利散射; 阿莫西林; 甲基紫

中图分类号: R978.11; R917.102

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)11-1021-04

Resonance Rayleigh Scattering Spectra of Interaction of Amoxicillin with Methyl Violet and Their Analytical Applications

JIANG Hong, PANG Xiangdong, ZHOU Guojing(*College of Chemistry and Chemical Engineering, Yangtze Normal University, Chongqing 408100, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a new sensitive Resonance Rayleigh scattering(RRS) method for the determination of trace amoxicillin. **METHODS** RRS spectra method was used for the determination of amoxicillin with methyl violet as probe. **RESULTS** In pH 9.90 Tris-HCl buffer solution, the RRS intensity of methyl violet was greatly enhanced when amoxicillin was added. And the strongest ΔI_{RRS} was located at 376 nm. The intensity of RRS was in proportion to the concentration of amoxicillin in the range of $2.0 \times 10^{-8} \sim 1.5 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ with a detection limit($3S_b/S$) of $0.042 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. **CONCLUSION** The method showed advantage of convenience, rapidity, high sensitivity and was applied in the determination of trace amoxicillin with suitable results.

KEY WORDS: Resonance Rayleigh scattering; amoxicillin; methyl violet

阿莫西林(AMO)是一种广谱、不耐青霉素酶的半合成青霉素,其作用较氨苄青霉素强,适用于化脓性链球菌引起的咽炎、扁桃体炎,敏感菌引起的中耳炎、鼻窦炎、支气管炎等上呼吸道感染,肺炎链球菌、流感嗜血杆菌以及肺炎支原体所致的肺炎等下呼吸道感染以及皮肤软组织感染和性传播疾病等。目前测定 AMO 的方法主要有:高效液相色谱法^[1-3],荧光法^[4-5],流动注射化学发光法^[6-7],毛细管电泳法^[8],分光光度法^[9-10],红外光谱法^[11],极谱法^[12],原子吸收法^[13]等。近年来,共振瑞利散射(Resonance Rayleigh scattering, RRS)技术用于药物分析的报道较多,但用于 AMO 类药物的报道极少^[14]。本试验以甲基紫(MEV)为探针、利用共振瑞利散射技术,研究了 MEV 与 AMO 相互作用产生的 RRS、反应条件及影响因素,建立

了测定 AMO 的新方法。该法简便、快速、灵敏,可用于药物中 AMO 的测定。

1 仪器与试剂

F-2500 型荧光分光光度计(日本日立); pH 计[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

MEV(上海公私合营新中化学厂); AMO(中国药品生物制品检定所,批号:30409-200609,纯度:86.6%); AMO 胶囊(海南海力制药有限公司,批号:090901,规格:0.25 g·粒⁻¹); 注射用阿莫西林钠(哈药集团制药总厂,批号:A080202116,按 AMO 计 0.5 g·支⁻¹)。其余试剂均为分析纯,试验用水为二次蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 溶液的配制

AMO 标准溶液: 储备液浓度 1.0×10^{-4}

基金项目: 重庆市教委科技基金资助项目(KJ071304); 长江师范学院科研资助项目(2008xky39)

作者简介: 江虹, 女, 教授 Tel: (023)72094121

E-mail: jianghongch@163.com

mol·L⁻¹(准确称取适量的 AMO 对照品, 用水溶解并定容), 操作液浓度 1.0×10⁻⁵ mol·L⁻¹。

MEV 溶液: 1.0×10⁻³ mol·L⁻¹(称取适量, 用水溶解并定容)。

Tris-HCl 缓冲溶液[三羟甲基氨基甲烷(Tris)与盐酸的混合液]: 0.1 mol·L⁻¹ HCl 和 0.2 mol·L⁻¹ Tris 混合, 用酸度计配成一系列不同 pH 的溶液。

AMO 胶囊样液: 取胶囊 5 粒, 弃去胶壳后, 将内容物置于小烧杯中, 用水溶解后转入 1 000 mL 量瓶中, 用水稀至刻度, 摇匀并静置后, 取该液 1.0 mL 置于 1 000 mL 量瓶中, 用水稀至刻度, 摇匀。

注射用阿莫西林钠样液: 取针剂 1 支, 准确称取总量的 1/50(相当于含 AMO 约 10 mg), 用水溶解后, 移入 100 mL 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 取该液 1.0 mL 稀至 100 mL, 摇匀。

2.2 实验方法

于 10 mL 具塞比色管中, 依次准确加入 2.5 mL 1.0×10⁻⁴ mol·L⁻¹ 的 MEV 溶液、2.0 mL pH 9.90 的 Tris-HCl 溶液和一定量的 1.0×10⁻⁵ mol·L⁻¹ 的 AMO 标准溶液, 以二次蒸馏水稀释至刻度并摇匀, 放置 5 min。将溶液于荧光分光光度计上以 λ_{ex}=λ_{em} 方式进行同步扫描(测定狭缝 5.0 nm), 得 RRS 光谱。在最大共振散射波长 376 nm 处分别测定体系

表 1 样品分析结果及回收试验(n=6)

Tab 1 Analytical results and recovery tests of samples(n=6)

样品	标示量	测得平均值	测得值/标示量/%	RSD/%	取样量/mg·L ⁻¹	加入标准量/mg·L ⁻¹	测得平均值/mg·L ⁻¹	RSD/%	平均回收率/%
AMO 胶囊	250 mg·粒 ⁻¹	235 mg·粒 ⁻¹	94.0	1.8	0.118	0.365	0.476	1.6	98.1
注射用阿莫西林钠	500 mg·支 ⁻¹	508 mg·支 ⁻¹	101.6	1.4	0.102	0.365	0.470	1.5	100.8

3 讨论

3.1 AMO 与 MEV 的共振瑞利散射光谱

按“2.2”项下方法分别对 AMO、MEV 及 AMO-MEV 溶液进行同步扫描(Δλ=0), RRS 光谱见图 1。由图可知: AMO 本身的 RRS 较弱(A 图曲线 1), MEV 本身有较强的 RRS 光谱(A 图曲线 2); AMO 与 MEV 在 pH 9.90 的 Tris-HCl 条件下相互作用后, 溶液的 RRS 发生较强变化, 在 319~391 nm 内溶液的散射强度显著增强(A 图曲线 3), 并以 376 nm 处的 ΔI_{RRS} 最强(B 图), 体系在 337 nm 处有一明显的散射峰, 强度稍弱于 376 nm 处, 另在 282 nm 和 658 nm 处同时存在强度更弱的散射峰。

和试剂空白的散射强度 I_{RRS} 和 I₀, 计算 ΔI_{RRS} = I_{RRS}-I₀。

2.3 标准曲线的制备及灵敏度

按“2.2”项下方法, 配制空白溶液及不同浓度的 AMO 标准系列溶液, 然后在荧光仪上以 Δλ=0 扫描 RRS 光谱曲线, 作 ΔI_{RRS}-c 标准曲线, 其线性回归方程为 ΔI_{RRS}=1.674+232.7×10⁶c (mol·L⁻¹), r=0.999 9(n=5), 线性范围为 2.0×10⁻⁸~1.5×10⁻⁶ mol·L⁻¹, 检出限(3S_b/S)为 0.042 μg·mL⁻¹ (n=11)。

2.4 精密度试验

准确移取 1.0×10⁻⁵ mol·L⁻¹ 的 AMO 标准溶液 1.0 mL, 按“2.2”项下方法配制 6 份 AMO-MEV 溶液, 扫描 RRS 光谱, 在 376 nm 处测定溶液的散射光强度, 计算得变异系数为 1.6%。

2.5 样品含量的测定及加标回收试验

取“2.1”中 AMO 胶囊样液和注射用阿莫西林钠样液各 1.0 mL, 按“2.2”项下方法分别配制 6 份溶液后, 在 376 nm 处测定各散射强度 I_{RRS}, 并计算出 ΔI_{RRS}=I_{RRS}-I₀, 再将 ΔI_{RRS} 代入回归方程或在标准曲线上求得样品中 AMO 的含量, 再推算出原样中 AMO 的含量。同时作加标回收试验(n=6), 表明辅料对测定结果基本无影响, 结果见表 1。

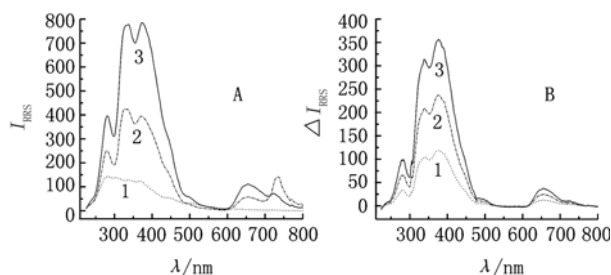


图 1 AMO-MEV 的 RRS 光谱

A-1-AMO; 2-MEV; 3-AMO-MEV(pH 9.90); AMO:1.0×10⁻⁶ mol·L⁻¹; MEV: 2.5×10⁻⁵ mg·L⁻¹

B-1-3-AMO(0.5, 1.0, 1.5×10⁻⁶ mol·L⁻¹)-MEV (2.5×10⁻⁵ mol·L⁻¹), pH 9.90

Fig 1 RRS spectra of amoxicillin(AMO)-methyl violet (MEV) A-1-AMO; 2-MEV; 3-AMO-MEV(pH 9.90); AMO:1.0×10⁻⁶ mol·L⁻¹; MEV: 2.5×10⁻⁵ mol·L⁻¹

B-1-3-AMO(0.5, 1.0, 1.5×10⁻⁶ mol·L⁻¹)-MEV (2.5×10⁻⁵ mol·L⁻¹), pH 9.90

在一定浓度范围内,随着 AMO 浓度的增加,282, 337, 376, 658 nm 处的散射峰强度均在呈线性的逐渐增强,但尤以 376 nm 处的灵敏度最高,故可在 376 nm 处定量测定 AMO 的含量。

3.2 反应条件的优化

3.2.1 溶液酸度的影响 考察了不同 pH 值及用量对体系 RRS 强度的影响。结果表明,空白溶液本身有较强的 RRS,且受溶液酸度影响;体系的 RRS 受酸度影响较大,在 pH 8.2~9.98 的条件下, I_{RRS} 最大且较恒定。当 Tris-HCl 溶液的用量为 2.0 mL 时体系的 ΔI_{RRS} 最大,高于或低于此量, I_{RRS} 均不同程度的降低。因此,本试验用 2.0 mL pH 9.90 的 Tris-HCl 溶液。

3.2.2 MEV 浓度的影响 研究表明,探针的浓度对体系形成适合 RRS 的分子质点有着较大影响。MEV 浓度的改变对其自身的 RRS 强度影响较大(随着 MEV 浓度的增大,RRS 增强),并且对 AMO-MEV 体系的 RRS 强度影响很大。当 MEV 浓度较低时,AMO 与 MEV 作用不完全,形成的 RRS 分子质点不足;当 MEV 浓度较高时,其分子自身的相互作用增强,与 AMO 的作用减弱,使体系 I_{RRS} 值降低。只有当 MEV 溶液加入量为 2.2~2.8 mL 时,体系的散射强度较高且较稳定。因此本试验用 $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 MEV 溶液 2.5 mL。

3.2.3 反应时间及体系的稳定性 考察了每间隔一定时间测定体系的 RRS 强度,结果表明:室温下, I_0 不随时间的变化而变化, I_{RRS} 在 5 min 后稳定,稳定时间至少可达 2 h。故本试验选在 5 min 后测定。

3.2.4 试剂加入顺序的影响 考察了 AMO, MEV 和 Tris-HCl 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 MEV、Tris-HCl 溶液、AMO 时, I_{RRS} 最大。试验选用该加入顺序。

3.2.5 离子强度的影响 考察了不同质量浓度的 NaCl 对体系 RRS 强度的影响。结果表明:当 NaCl 质量浓度低于 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, ΔI_{RRS} 基本不变,说明离子强度对实验的影响不大。

3.3 方法的选择性

考察了一些常见离子、氨基酸、糖类及药物制剂中的常见辅料等对体系 I_{RRS} 的影响,结果表

明:在测定误差小于 $\pm 5\%$ 时,以下共存物质(倍)不影响测定:甘氨酸、蔗糖、L-亮氨酸、 KNO_3 、 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 、 $\text{CaCl}_2(300)$;葡萄糖、麦芽糖、 BaCl_2 、 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 、 Na_2CO_3 、KBr、 $\text{AlCl}_3(150)$;L-组氨酸、L-白氨酸、L-异亮氨酸、L-丙氨酸、谷氨酸、 NH_4NO_3 、 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 、 Na_2SO_4 、 $\text{MnSO}_4(80)$;L-色氨酸、NaAc、 $\text{NaHSO}_3(20)$ 。实验表明:方法具有良好的选择性。

3.4 结论

本法简便、快速,具有较高的灵敏度和选择性,线性范围较宽,试剂消耗少,用于痕量 AMO 的测定,结果满意。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2005)Vol II (中国药典 2005 年版.二部) [S]. 2005: 296-297.
- [2] CHEN H, ZHANG D. RP-HPLC determination of amoxicillin and dicloxacillin in amoxicillin/dicloxacillin sodium tablets [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2003, 23(1): 51-53.
- [3] YE S H, ZHAO F. Determination of amoxicillin in human plasma by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2008, 25(3): 239-240.
- [4] HUANG W, LIU X J, ZHANG Y Y. Study on the spectral determination of amoxicillin with charge transfer reaction [J]. Chin J Spectrosc Lab(光谱实验室), 2005, 22(1): 21-24.
- [5] ZHAO L R. Determination of amoxicillin by amoxicillin-copper complex spectrophotometric method [J]. Chin J Spectrosc Lab(光谱实验室), 1999, 16(2): 189-190.
- [6] CHENG C G, YING T K. Determination of amoxicillin capsules by diffuse reflectance FTIR [J]. Chin J Antibiot(中国抗生素杂志), 2002, 27(6): 337-340.
- [7] WANG F, HUANG W. Determination of amoxicillin by sensitive fluorimetric method with enhancement of micelle [J]. J Inner Mongolia Normal Univ: Nat Sci(内蒙古师范大学学报自然科学版), 2006, 35(2): 204-207.
- [8] FAN S L, ZHANG L, MAI W N, et al. FI-chemiluminescence determination of amoxicillin [J]. Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis(理化检验 化学分册), 2003, 39(5): 257-258, 262.
- [9] SHI J, ZHAO K L, SONG Q G, et al. Chemiluminescence determination of amoxicillin by flow injection analysis [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2004, 24(4): 395-397.
- [10] HOU X F, ZHANG A P, BAI X H, et al. Determination of amoxicillin in amoxicillin sodium and clavulanate potassium in compound injection by ultraviolet spectrophotometry [J]. J Shanxi Med Univ(山西医科大学学报), 2005, 36(2): 187-188.
- [11] REN N L, CHEN Y F, HAN D X. Determination of amoxicillinum in content capsules by polarography [J]. Anal Test Technol Instrum(分析测试技术与仪器), 2004, 10(1): 50-52.
- [12] HUANG B M, MO J Y, WANG Y. Determination of amoxicillin in amoxicillin capsules by capillary electrophoresis

[J]. Chem Res Appl(化学研究与应用), 2005, 17(3): 350-351.

- [13] LI Y, LANG H Y, LI H E, et al. Determination of amoxicillin by flow injection on-line filtration-dilution-atomic absorption spectrometry [J]. Chin J Anal Chem(分析化学), 2000, 28(10): 1252-1255.

- [14] DUAN H, LIU Z F, LIU S P. Resonance Rayleigh scattering spectra of interaction of amoxicillin or ampicillin with palladium(II) and their analytical applications [J]. Acta Chim Sin(化学学报), 2008, 66(8): 969-974.

收稿日期: 2010-02-26