doi:10.11751/ISSN.1002 - 1280.2020.01.07

曙红 Y 与马波沙星相互作用的分光光度法研究及应用

李华岑,徐 坤,巩 丹

(河南省兽药饲料监察所,郑州 450008)

[收稿日期] 2019 - 08 - 30　[文献标识码]A　[文章编号]1002 - 1280 (2020) 01 - 0037 - 04　[中图分类号]S859.79

[摘　要]　采用分光光度法研究了曙红 Y 与马波沙星的相互作用,并应用于样品测定。在 10 mL 容量瓶中依次加入 1.00 mL 曙红 Y 溶液、适量马波沙星标准溶液或待测液、1.0 mL 0.01% 聚乙烯吡咯烷酮溶液,加 0.1mol/L 盐酸 0.6 mL,用水稀释至刻度,摇匀,以水为参比立即进行光谱扫描或固定波长为 536 nm 进行吸光度测定。在约 0.01mol/L 盐酸中,曙红 Y 与马波沙星主要通过静电引力形成复合物。复合物最大吸收峰位于 536 nm,比曙红 Y 本身红移 20 nm。方法的线性范围为 10.2 ~50.8 mg · L^{-1},检出限为 3 mg · L^{-1}。回归方程为:$A = 0.0057c(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}) + 0.4349$,相关系数为 0.9947。

[关键词]　曙红 Y;马波沙星;分光光度法;相互作用

Spectrophotometric Study and Application of the Interaction between Eosin Y and Marbofloxacin

LI Hua - cen, XU Kun, GONG Dan

(*Henan Provincial Supervisory Institute of Veterinary Drug and Feed, Zhengzhou, Henan* 450008, *China*)

Abstract: The interaction between eosin Y and marbofloxacin has been studied with spectrophotometry. The assay of marbofloxacin in the sample has been determined. Adding 1.00 mL eosin Y solution, appropriate marbofloxacin standard solution or tested solution, 1.0 mL 0.01% polyvinylpyrrolidone solution, 0.6 mL 0.1mol/L hydrochloride solution in 10 mL volumetric flask, dilute to scale with water and shake well, and scan the spectrums immediately as reference as with purified water or determine the absorbance at 536 nm. In the about 0.01mol/L hydrochloride solution, the complexes of eosin Y and marbofloxacin are formed mainly by electrostatic attraction. The maximum absorption wavelength of the complex is 536 nm. The peak of the complex has "red shift" of 20 nm as compared with that of the reagent. The linear range is 10.2 ~ 50.8 mg · L^{-1}, and the detection limit is 3 mg · L^{-1}. The regression equation is $A = 0.0057c(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}) + 0.4349$, and the correlation coefficient is 0.9947.

Key words: eosine Y; marbofloxacin; spectrophotometry; interaction

作者简介:李华岑,硕士研究生,高级兽医师,从事药物分析研究工作。E - mail:13939057823@163.com

马波沙星(MBLX)为新一代氟喹诺酮类抗菌药,主要用于敏感菌引起的犬阴道炎、包皮炎以及由肺炎链球菌等敏感菌引起的犬呼吸道感染,母猪乳房炎－子宫炎－无乳综合症(MMA)的治疗。氟喹诺酮类药物报道的测定方法有分光光度法[1-4],荧光法[5-6],原子吸收法[7],高效液相色谱法[8-10]等。在原有研究基础上[11],进行了曙红 Y(EY)与马波沙星相互作用的分光光度法研究,建立了曙红 Y 测定马波沙星的新方法,用于马波沙星注射液中马波沙星含量的测定,结果满意。

1　材料与方法

1.1　材料　PE 公司 lamda35 型双光束紫外光谱仪;BT 224S 分析天平(Sartorius 公司);马波沙星(中国兽医药品监察所,批号 H0801511,含量 99.8%):50.8 mg · L^{-1};5.0 × 10^{-4} mol · L^{-1}曙红 Y 溶液;0.01% 聚乙烯吡咯烷酮(PVP)溶液;0.1% 十六烷基三甲基溴化铵(CTMAB);0.1% 十二烷基苯磺酸钠(SDBS);马波沙星注射液(河北远征药业有限公司,批号为 DN2180302,规格:50 mL:5g);所用水为纯化水;其它试剂为分析纯。

1.2　方法　在 10 mL 容量瓶中依次加入 1.00 mL 曙红 Y 溶液、适量马波沙星标准溶液或待测液、1.0 mL 0.01% PVP 溶液,加 0.1 mol/L 盐酸 0.6 mL,用水稀释至刻度,摇匀,以水为参比立即进行光谱扫描或固定波长为 536 nm 进行吸光度测定。

2　结果与分析

2.1　吸收光谱　以水为空白,对体系进行光谱扫描,结果见图 1。由图 1 可知,马波沙星(10 mg · L^{-1})在 400 ~ 600 nm 范围内几乎没有吸收,曙红 B(5.0 × 10^{-5} mol · L^{-1})在 516 nm 有最大吸收峰,加入马波沙星后体系最大吸收红移到 536 nm,红移 20 nm,且吸光度明显增加。说明体系中应该有马波沙星与曙红 Y 的复合物生成。

2.2　酸度对体系的影响　在 10 mL 容量瓶中,依次加入 1.00 mL 曙红 Y 溶液、2.0 mL 马波沙星标准溶液,分别用 1、0.1、0.01、0.001 mol/L 盐酸稀释至刻度,摇匀,以水为参比立即进行光谱扫描,结果发现用 0.01 mol/L 盐酸稀释后体系最大吸收波长红移最大。随后考察了 0.1 mol/L 盐酸加入体积的影响,结果发现体系中加入 0.4 ~ 0.8 mL 0.1 mol/L 盐酸时,最大吸收波长红移波长最大,且最大吸收波长稳定在 536 nm 波长处,选择 0.1 mol/L 盐酸加入量为 0.6 mL。

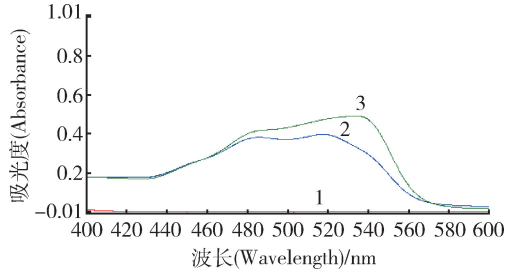

图 1　吸收光谱图

1 MBLX　2 EY　3 MBLX－EY

Fig 1　Absorption spectrum

1 MBLX　2 EY　3 MBLX－EY

2.3　体系吸光度的稳定性　体系的吸光度随时间减小,10 min 后溶液变浑浊并慢慢产出沉淀,为了提高体系的稳定性考察了非离子表面活性剂对吸光度的影响,结果发现加入 0.01% PVP 1.0 mL 后体系不再发生浑浊、吸光度非常缓慢的变小,2 h 内体系吸光度仅减小 3%。为提高测定准确性,选择体系混匀后立即测定。

2.4　表面活性剂的影响及反应机理探讨　加入 0.01% PVP 1.0 mL,体系吸光度有一定的增大。加入阴离子表面活性剂 0.1% SDBS 0.3mL,体系最大吸收波长由 536 nm 变为 515 nm,并且吸收光谱图和曙红 Y 本身的吸收光谱图相似。加入阳离子表面活性剂 0.1% CTMAB 0.02 mL,体系的吸光度增大。

非离子表面活性剂 PVP 的存在可能会聚集体系中 MBLX 与 EY 的复合物,形成胶束增敏体系使体系的吸光度增大。

在 EY 溶液中加入 MBLX 或 CTMAB,对体系进行光谱扫描,结果见图 2。由图可知,MBLX (20 mg · L^{-1})与 CTMAB(2 mg · L^{-1})的加入均能使 EY(5.0 × 10^{-5} mol · L^{-1})的最大吸收波长发生红移,推测

MBLX、CTMAB 与 EY 的结合方式是相似的。CTMAB 与 EY 的结合可能主要是 CTMAB 分子中的季铵 N^+ 正电荷与 EY 分子中的羧酸基 $-COO^-$ 负电荷间的作用。MBLX 分子中有叔胺,在酸性条件下,容易形成季铵 N^+ 正电荷,可以和 EY 分子中的羧酸基 $-COO^-$ 负电荷结合生成离子复合物(MBLX 和 EY 分子结构图见图 3)。

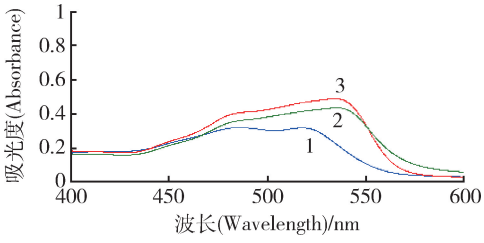

图 2　吸收光谱图

1 EY　2 EY – CTMAB　3 EY – MBLX

Fig 2　Absorption spectrum

1 EY　2 EY – CTMAB　3 EY – MBLX

体系中加入 30mg/L 的 SDBS 时,体系最大吸收波长由 536 nm 变为 515 nm,并且体系的吸收光谱图和曙红 Y 本身的吸收光谱图相似。大量 SDBS 的存在会抑制 EY 与 MBLX 复合物的形成,因为静电引力是一种非定向性的作用力,在大量 SDBS 阴离子的存在下,MBLX 大部分可能会与 SDBS 结合,生成 MBLX 与 SDBS 的复合物,从而抑制 MBLX 与 EY 复合物的生成,而 MBLX 与 SDBS 的复合物在 536 nm 没有吸收或有很弱的吸收,从而使体系的吸光谱图和曙红 Y 本身的吸收光谱图相似。

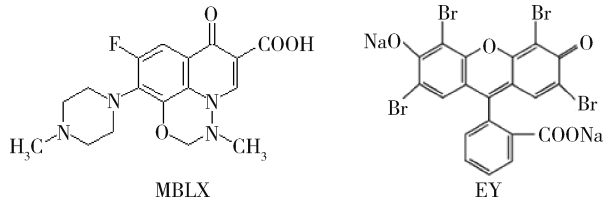

图 3　马波沙星与曙红 Y 的分子结构图

Fig 3　Molecular structures of marbofloxacin and eosin Y

因而,推测马波沙星与曙红 Y 主要通过静电引力结合,形成离子复合物。

2.5　线性范围、检出限和精密度　马波沙星在10.2 ~50.8 mg · L^{-1} 浓度范围内服从比尔定律;回归方程为:$A = 0.0057c(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}) + 0.4349$,相关系数为 0.9947。按 $c_L = 3S/K$ 得方法检出限为 3 mg · L^{-1}。对浓度为 20 mg · L^{-1} 的马波沙星标准溶液进行平行测定求得相对标准偏差 $RSD = 1.6\%$ ($n = 6$)。

2.6　样品测定　精密量取马波沙星注射液 1 mL,置 200 mL 容量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀;取适量供试品溶液按实验方法对样品进行分析,结果见表 1。

表 1　马波沙星注射液的测定和回收($n = 6$)

Tab 1　Determination and recovery of marbofloxacin injection ($n = 6$)

标示含量 Labeled content /%	测得含量 Measured content /%	相对标准偏差 *RSD* /%	加入量 Addition amount /μg	测得平均量 Average measurement /μg	平均回收率 Average recovery rate /%	相对标准偏差 *RSD* /%
10	9.76	1.2	152.4	155.9	102.3	1.8

3　讨论与结论

马波沙星和曙红 Y 在酸性条件下主要通过静电引力结合生成复合物,由于复合物分子表面不带净电荷会凝聚生成沉淀,为了增加体系的稳定性,体系经过考察后加入非离子表面活性剂聚乙烯吡咯烷酮。加入聚乙烯吡咯烷酮后体系不再生成沉淀,吸光度稳定性大大增强。测定样品时为提高精密度和准确度,对照品和供试品应同时配置,并应注意试剂加入顺序,盐酸溶液应最后加入,体系混合均匀后应立即测定其吸光度。

参考文献:

[1]　罗 毅,张先洲,姚 琰,等. 紫外分光光度法测定司帕沙星胶囊的含量[J]. 广东药学院学报,2000,16 (4):310 – 311.

Luo Y, Zhang X Z, Yao Y, *et al*. Determination of sparfloxacin capsules by UV spectrophotometry [J]. Academic Journal of Guangdong College of Pharmacy, 2000, 16 (4): 310 – 311.

[2] 张 龙,张 成. 盐酸洛美沙星胶囊的紫外分光光度法测定[J]. 药物分析, 1999, 19(3): 201 – 202.
Zhang L, Zhang C. Determination of lomefloxacin hydrochloride capsules by UV spectrophotometry[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 1999, 19(3): 201 – 202.

[3] 谭 峰,郎惠云,李 媛. 萃取分光光度法测定盐酸洛美沙星[J]. 分析化学, 2001, 29(5): 561 – 564.
Tan F, Lang H Y, Li Y. Determination of lomefloxacin hydrochloride by extraction spectrophotometry[J]. Chinese Journal of Analytieal Chemistry, 2001, 29(5): 561 – 564.

[4] 冯 琳,储秋萍,邵志高. 萃取分光光度法测定盐酸洛美沙星[J]. 中国抗生素杂志, 1996, 21(1): 17 – 19.
Feng L, Chu Q P, Shao Z G. Determination of lomefloxacin hydrochloride by extraction spectrophotometry[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 1996, 21(1): 17 – 19.

[5] 杜黎明,晋卫军,董 川,等. 司帕沙星金属络合物在胶束体系中的荧光特性研究及应用[J]. 分析化学, 2000, 28(4): 403 – 406.
Du L M, Jin W J, Dong C, *et al*. Fluorescence properties of sparfloxacin metal complex in micelle system and its application[J]. Chinese Journal of Analytieal Chemistry, 2000, 28(4): 403 – 406.

[6] 杜黎明,范哲峰,郭全娥. 司帕沙星与卤素反应产物的荧光特性及其应用[J]. 分析化学, 2001, 29(3): 249 – 252.
Du L M, Fan Z F, Guo Q E. Fluorescence characteristics and application of reaction products of sparfloxacin and halogen[J]. Chinese Journal of Analytieal Chemistry, 2001, 29(3): 249 – 252.

[7] 李 媛,郎惠云,谢志海. 间接原子吸收法测定药物中盐酸洛美沙星含量[J]. 西北大学学报(自然科学版), 2000, 30(1): 39 – 42.
Li Y, Lang H Y, Xie Z H. Determination of lomefloxacin hydrochloride in medicine by indirect atomic absorption spectrometry [J]. Journal of Northwest University (Natural Science Edition), 2000, 30(1): 39 – 42.

[8] 杜黎明,卫洪清,郜 艳,等. 反相高效液相色谱法测定人尿中的司帕沙星[J]. 分析化学, 2001, 29(9): 1108.
Du L M, Wei H Q, Gao Y, *et al*. Determination of sparfloxacin in human urine by RP – HPLC[J]. Chinese Journal of Analytieal Chemistry, 2001, 29(9): 1108.

[9] 孙雨安,王国庆,崔泉中. 司帕沙星含量的 HPLC 测定[J]. 分析测试学报, 2000, 19(1): 62 – 64.
Sun Y A, Wang G Q, Cui Q Z. Determination of Sparfloxacin by HPLC[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2000, 19(1): 62 – 64.

[10] 王 建,黄宗玉. 盐酸洛美沙星及其胶囊的 HPLC 测定[J]. 中国医药工业杂志, 1999, 30(5): 218 – 219.
Wang J, Huang Z Y. HPLC determination of lomefloxacin hydrochloride and its capsules[J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 1999, 30(5): 218 – 219.

[11] 李华岑. 喹诺酮类药物和人血清白蛋白的光谱分析研究[D]. 郑州:郑州大学, 2004.
Li H C. The spectral analysis of sparfloxacin, lomefloxacin hydrochloride, and human serum albumin[D], Zhengzhou: Zhengzhou University, 2004.

(编 辑:陈 希)