

硝普钠分光光度法测定头孢他啶

孙 瑶 吴呈珂 李全民*

(河南师范大学化学与环境科学学院,河南省环境污染控制重点实验室 新乡 453007)

摘 要 建立了硝普钠分光光度法测定头孢他啶的方法。实验结果表明,在碱性条件下,头孢他啶与硝普钠以1:2的化学计量比反应形成一种红褐色产物,其最大吸收波长为528 nm。头孢他啶在2.50~810 mg/L浓度范围内与吸光度呈良好线性关系,线性回归方程为 $A = 0.02704 + 0.00218\rho(\text{mg/L})$,线性相关系数 $r = 0.9987$,表观摩尔吸收系数 $\varepsilon_{528} = 1.2 \times 10^3 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$,检测限($3\sigma/k$)为1.38 mg/L。本方法操作简便、快速,成功用于药品中头孢他啶含量的测定。

关键词 硝普钠, 头孢他啶, 分光光度法

中图分类号: O655

文献标识码: A

文章编号: 1000-0518(2012)09-1082-05

DOI: 10.3724/SP.J.1095.2012.00458

头孢他啶又名头孢噻甲羧肟,具有抗菌谱广、抗菌作用强、耐酶的特点,是临床上常用的一类重要 β -内酰胺类抗生素^[1]。目前报道检测头孢他啶含量的方法主要有高效液相色谱法^[2,4]、化学发光法^[5]、电分析化学法^[6-7]和流动注射法^[8]等。但采用硝普钠体系分光光度法测定头孢他啶还未见报道。本文根据硝普钠分子中的亚硝基—NO具有亲电性^[9-10],研究了硝普钠与头孢他啶显色反应的条件及反应机理,据此建立了分光光度法测定头孢他啶的新方法。与上述方法相比,该方法具有简便、快速、分析成本低、所使用的仪器价格便宜和易于常规实验室普遍使用等特点,具有较好的应用价值。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

T6型双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);CS-501型超级恒温仪(重庆实验设备厂)。

硝普钠溶液:将10%硝普钠(北京化工厂)、10%铁氰化钾(天津市化学试剂一厂)及10%氢氧化钠(天津市瑞金特化学有限公司)溶液与蒸馏水按体积比1:1:1:3于塑料瓶中均匀混合(4℃避光保存),配制好的溶液中硝普钠和NaOH浓度分别为 5.6×10^{-2} 和0.42 mol/L;注射头孢他啶(纯品,上海新先锋药业有限公司):配成500 mg/L溶液(4℃避光保存);所用试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

准确移取2.00 mL 500 mg/L头孢他啶于12.5 mL比色管中,加入5.00 mL硝普钠溶液,用蒸馏水稀释至刻度,摇匀后于40℃反应20 min,以试剂空白做参比,于528 nm处测定吸光度。

2 结果与讨论

2.1 吸收光谱

按照分析步骤,以蒸馏水为参比,分别测得头孢他啶(a)、硝普钠(b)的吸收光谱以及以试剂空白为参比测得产物的吸收光谱(c)如图1所示。反应产物的最大吸收波长位于528 nm,比硝普钠的最大吸收波长393 nm红移了135 nm。而在450~700 nm范围,头孢他啶与硝普钠几乎没有吸收。

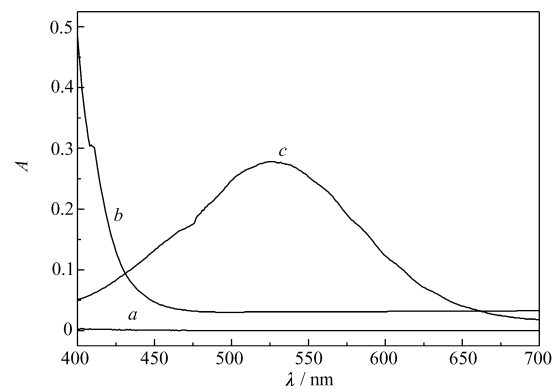


图1 吸收光谱

Fig. 1 Absorption spectra

a. cefotaxime; b. sodium nitroprusside; c. product(cefotaxime + sodium nitroprusside); cefotaxime (500 mg/L); 2. 00 mL; sodium nitroprusside (5.6×10^{-2} mol/L); 5. 00 mL

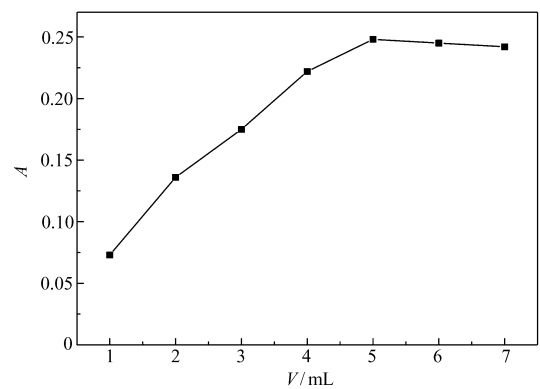


图2 硝普钠用量的影响

Fig. 2 Effect of sodium nitroprusside

2.2 硝普钠用量的影响

按照实验方法,固定头孢他啶的用量不变,硝普钠用量对溶液吸光度的影响见图2。当加入量为5.00 mL时,吸光度达到最大,继续增加硝普钠用量,吸光度保持不变。为保证测定具有较高的灵敏度,又节约试剂,试验选择硝普钠溶液的加入量为5.00 mL。

2.3 反应温度和时间的影响

固定反应时间20 min,测定温度20、30、35、40、45、50和60℃头孢他啶与硝普钠反应生成物的吸光度分别为0.106、0.168、0.198、0.250、0.243、0.214和0.450。结果表明,当反应温度40℃时,吸光度较大,继续升高温度,吸光度逐渐降低,当温度达到60℃时,吸光度又大幅度增加。这是因为温度升高时硝普钠溶液不稳定,开始分解,导致吸光度降低,温度继续升高时,其继续分解形成了不溶物 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ^[11],从而发生光散射使吸光度增大,这与溶液中出现红棕色沉淀现象相一致。

固定反应温度为40℃,实验当反应时间为10、15、20、25、30和35 min,生成物的吸光度分别为0.166、0.207、0.248、0.250、0.247和0.250,当反应时间为20 min,吸光度随着反应时间增加基本不变。因此,设置反应温度40℃,反应时间20 min为佳。

2.4 NaOH 用量的影响

按分析步骤,考察了NaOH用量对吸光度的影响,结果见图3。吸光度随NaOH用量的增加而下降。这是由于具有亲核性的 OH^- 可与硝普钠阴离子 $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{2-}$ 的缺电子中心基团($-\text{NO}$)反应生成 $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}_2\text{H}]^{3-}$ ^[12]。当溶液中NaOH浓度增大时,硝普钠与 OH^- 反应的量随之增加,从而降低了硝普钠与头孢他啶反应的量,溶液吸光度降低。

2.5 共存组分的影响

控制测量误差在±5%之内,对药物的一些常见赋形剂(淀粉、柠檬酸、谷氨酸)进行了干扰影响的测定。结果表明,淀粉(2%)、柠檬酸(10 mg/L)的存在对头孢他啶的测定没有干扰,谷氨酸(20 mg/L)对头孢他啶(80 mg/L)的测定有干扰,这是因为谷氨酸与硝普钠发生反应生成了N-亚硝基胺(以上各组均未进行更高倍数的干扰试验)。

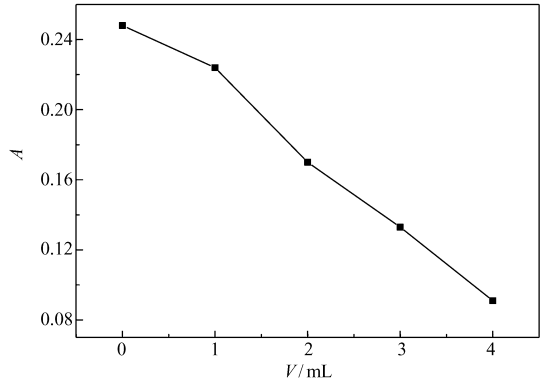


图3 NaOH 用量的影响

Fig. 3 Effect of NaOH
 $c(\text{NaOH}) = 1 \text{ mol/L}$

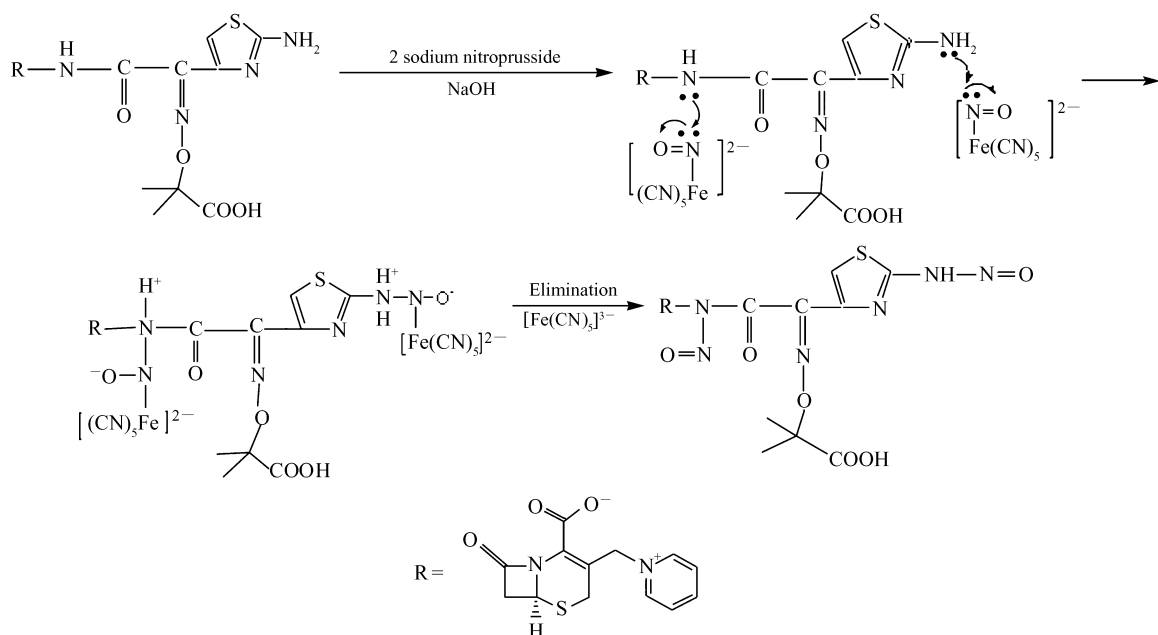
2.6 标准曲线的绘制

按照实验方法,配制头孢他啶标准系列溶液,分别测定其吸光度,以吸光度对头孢他啶的浓度进行线性回归。头孢他啶的浓度在 2.50 ~ 810 mg/L 范围内与吸光度呈良好线性关系,线性回归方程为 $A = 0.02704 + 0.00218\rho$ (mg/L), 线性相关系数 $R = 0.9987$, 表观摩尔吸收系数 $\varepsilon_{528} = 1.2 \times 10^3 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ 。按照试验方法平行测定 11 份试剂空白溶液,相对标准偏差 $\text{RSD} = 0.49\%$, 检测限 ($3\sigma/k$) 为 1.39 mg/L。

2.7 反应产物组成及机理推断

应用摩尔比法和斜率比法测定头孢他啶与硝普钠反应产物的组成,结果表明,头孢他啶与硝普钠的反应摩尔比为 1:2。

硝普钠分子结构中含有的亚硝基(—NO)具有亲电性,可与亲核试剂反应生成有颜色的 *N*-亚硝基类化合物^[9-10]。根据摩尔比法和斜率比法测得的首他啶与硝普钠反应的摩尔比为 1:2,可知 1 分子头孢他啶与 2 分子硝普钠发生亲核取代反应,生成有色的 *N*-亚硝基化合物。由此推测其反应机理如 Scheme 1 所示。



Scheme 1 Proposed reaction mechanism

2.8 动力学性质、表观速率常数和活化能的计算

根据文献^[13],分别控制温度 40 和 20 °C,采用初始速率法测定硝普钠与头孢他啶不同反应时间 (t/min) 所对应产物的吸光度 (A),以 $\ln(A_{\max} - A)/A_{\max}$ 对 t 作图并进行线性回归,线性方程分别为: $\ln(A_{\max} - A)/A_{\max} = 0.12986 - 0.08963t$ (相关系数 $r = 0.9991$) 和 $\ln(A_{\max} - A)/A_{\max} = 0.21368 - 0.05616t$ (相关系数 $r = 0.9933$)。而反应时间以“s”为单位的反应速率常数则分别为 $k'_{40\text{ }^\circ\text{C}} = 1.49 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 和 $k'_{20\text{ }^\circ\text{C}} = 9.36 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 。根据 40 和 20 °C 分别测得速率常数均表明,硝普钠与头孢他啶为一级动力学反应。由于反应中硝普钠远远过量于头孢他啶的量,其浓度变化可视为常数,故此反应又可视作假一级反应。其相应的速率方程可表示为 $d[\text{生成物}]/dt = k'[\text{头孢他啶}]$,这表明反应速率主要取决于头孢他啶的浓度。

根据 40 和 20 °C 分别所对应的表观速率常数 (k'_2 和 k'_1) 及 Arrhenius 公式,将各对 k - T 数据代入公式 $E_a = RT_2T_1/(T_2 - T_1) \cdot \ln k'_2/k'_1$ 中,计算硝普钠与头孢他啶反应的活化能 (E_a) 为 17.74 kJ/mol。由于 E_a 小于 40 kJ/mol^[13],表明硝普钠与头孢他啶之间的亲核取代反应易于发生,故可以利用它们之间的显色反应进行头孢他啶的测定。

2.9 样品制备与分析

准确称取头孢他啶粉状针剂 62.5 mg 于小烧杯中用去离子水溶解后,定量转移至 250 mL 容量瓶,再将其稀释成所需要的不同浓度。采用标准加入法,按本实验方法对头孢他啶样品进行加标回收测定,结果见表 1。

表 1 样品及回收率的测定
Table 1 Determination results of samples and recovery

Sample	Samples contents/ (mg·L ⁻¹)	Proposed method/ (mg·L ⁻¹)	Added/(mg·L ⁻¹)	Found/(mg·L ⁻¹)	Recovery/%	RSD/% (n = 5)
1	10.00	9.98	100.0	109.7	99.7	0.89
2	25.00	25.05	5.00	30.11	102.2	0.59
3	25.00	24.98	10.00	34.74	97.4	0.76
4	25.00	25.01	45.00	70.19	100.4	0.45
5	50.00	50.00	40.00	89.91	99.8	0.66
6	100.0	99.97	5.00	105.0	100.0	0.94

3 结 论

建立了以硝普钠为显色剂分光光度法测定头孢他啶的新方法。该方法所测定的线性范围比文献^[3,8]所报道的宽,而 RSD(小于 1%)优于文献^[7],与所引用文献中的其它方法相当。该方法具有简便、快速、结果可靠和分析成本低等特点,可直接用于针剂样品中头孢他啶含量的测定。

参 考 文 献

[1] Pharmacopoeia Committee of the Ministry of Public Health of People's Republic of China. Pharmacopeia of People's Republic of China[M]. Beijing:Chemical Industry Press,2005:144-145(in Chinese).
中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:化学工业出版社,2005:144-145.

[2] Ehrlich M, Daschner F D, Kümmerer K. Rapid Antibiotic Drug Monitoring: Meropenem and Ceftazidime Determination in Serum and Bronchial Secretions by High-performance Liquid Chromatography-integrated Sample Preparation[J]. *J Chromatogr B*, 2001, **751**(2):357-363.

[3] Moreno A D, Salgado H R N. Development of A new High-performance Liquid Chromatographic Method for the Determination of Ceftazidime[J]. *J AOAC Int*, 2008, **91**(4):739-743.

[4] JIANG Enzhu, HU Changqin. Determination of Ceftazidime and Impurities Using High Performance Liquid Chromatography[J]. *Chinese J Chromatogr*, 2008, **26**(1):75-79(in Chinese).
姜恩铸, 胡昌勤. 高效液相色谱法测定头孢他啶的含量及杂质[J]. 色谱, 2008, **26**(1):75-79.

[5] Du J X, Li H. Sensitive Chemiluminescence Determination of Thirteen Cephalosporin Antibiotics with Luminol-Copper(II) Reaction[J]. *Appl Spectrosc*, 2010, **64**(10):1154-1159.

[6] Barbosa A M J, de Araujo T A, Trindade M A G, et al. A New Indirect Method Based on Square-wave Voltammetry Ceftiofur Determination in Bovine Milk Using an Alkaline Degradation Product[J]. *Microchem J*, 2011, **98**(2):297-302.

[7] El-Maali N A. Voltammetric Analysis of Ceftazidime after Preconcentration at Various Mercury and Carbon Electrodes; Application to Sub-ppb Level Determination in Urine Samples[J]. *Talanta*, 2000, **51**(5):957-968.

[8] Rodenas V, Garcia M S, Sanchez-Pedreno C, et al. Spectrophotometric Methods for the Determination of Cephadrine or Ceftazidime in Human Urine Using Batch and Flow-injection Procedures[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 1997, **15**(11):1687-1693.

[9] Leeuwenkamp O R, Van Benneekom W P, Bult A, et al. Analytical Profile of Drug Substances[M]. New York:Academic Press, 1986, 15:782-789.

[10] Rucki R. In: Florey K. Analytical Profile of Drug Substances[M]. New York:Academic Press, 1977, **6**:488-513.

[11] China Pharmaceutical Group Shanghai Chemical Reagent Company. Handbook of Reagents[M]. Shanghai:Shanghai Science and Technology Press, 2002:1190-1191(in Chinese).
中国医药集团上海化学试剂公司. 试剂手册[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2002:1190-1191.

[12] Néstor E Katz, Miguel A Blesa, José A Olabe, et al. The Mechanism of the Reactions of Pentacyanonitrosylferrate(II) with Ammonia and Ethylenediamine[J]. *Inorg Nucl Chem*, 1980, **42**:581-585.

[13] FU Xiancai, SHEN Wenxia, YAO Tianyang. Physical Chemistry[M]. 4th Ed. Beijing:Higher Education Press, 2000:176-178;751-752(in Chinese).

傅献彩,沈文霞,姚天扬. 物理化学[M]. 第 4 版. 北京:高等教育出版社,2000:176-178;751-752.

Spectrophotometric Determination of Ceftazidime Using Sodium Nitroprusside

SUN Yao, WU Chengke, LI Quanmin*

(Henan Key Laboratory for Environmental Pollution Control, College of Chemistry and
Environmental Science, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract A new method is proposed to determine ceftazidime using sodium nitroprusside. In an alkaline solution, a brown product is formed by the reaction of ceftazidime with sodium nitroprusside with the stoichiometric ratio of 1:2. The amount of ceftazidime can be determined owing to the absorbance of the colored product. Absorbency is linear with the concentration of ceftazidime in the range of 2.50 ~ 810 mg/L, and the regression equation is $A = 0.02704 + 0.00218\rho(\text{mg/L})$ with a correlation coefficient of 0.9987. The apparent molar absorption coefficient and the detection limit are $1.2 \times 10^3 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ and 1.38 mg/L, respectively. This method is simple and fast, the study indicated that the method could be applied to the determination of ceftazidime in injection with satisfactory results.

Keywords sodium nitroprusside, ceftazidime, spectrophotometry

《应用化学》2013 年征订启事

《应用化学》创刊于 1983 年,是经国家科委批准向国内、国外公开发行的学术性期刊。由中国科学院主管,中国化学会和中国科学院长春应用化学研究所主办,科学出版社出版。为中国科技核心期刊。

《应用化学》设有综合评述、研究论文、研究简报、研究快报栏目。出版周期短,报道新成果快。

《应用化学》期刊被 14 家国内外重要检索机构、文摘收录。

《应用化学》面向科研单位、大专院校和化学化工领域的科研技术人员。

本刊承揽各类化学、化工材料、分析测试仪器及各类化学产品介绍和相关领域科技信息等广告业务。

《应用化学》投稿全部采用网上投稿方式(<http://yyhx.ciac.jl.cn> 点击“网上投稿”或“投稿注册”,按照提示步骤操作)。

- 中国科学院主管,中国化学会和中国科学院长春应用化学研究所主办。
- 多次获国家、省、部级奖励,发行量大,广告宣传效果好。
- 国内外公开发行,月刊,每月 10 日出版。
- 国内统一刊号 CN 22-1128/O6; 国际标准刊号 ISSN 1000-0518。
- 全国各地邮局订阅,国内邮发代号 8-184; 每册定价 30.00 元,全年定价 360 元
- 广告经营许可证号:吉工商广字 206 号
- 中国国际图书贸易总公司办理国外订阅(国外发行代号 BM809)
- 如未能在邮局订阅,可与编辑部联系订阅。

《应用化学》编辑部地址:吉林省长春市人民大街 5625 号 邮编:130022

电话:0431-85262016,85262330 传真:0431-85685653

E-mail: yyhx@ciac.jl.cn

网址: <http://yyhx.ciac.jl.cn>