

痢菌净注射液含量的比色测定法

邱永军¹ 韦芳霞¹ 闫光鲁¹ 刘炳琪¹ 邵红¹ 祁秀英²

(1 西北农业大学兽药厂, 2 西北农业大学兽医院, 陕西杨陵·712100)

摘要 对兽用抗菌剂痢菌净注射液含量的分析方法进行了探讨, 建立了一种快速、准确、低耗的比色测定法, 比其原来的非水溶液滴定法缩短分析时间 2 h 以上, 节约试剂消耗费 90% 以上。

关键词 抗菌素, 比色法, 非水滴定, 痢菌净

中图分类号 S859.2, O657.32

痢菌净(3-甲基-2-乙酰基-N-1, 4-二氧喹恶啉)是中国农业科学院中兽医研究所研制的抗菌新药, 有较广的抗菌谱和较强的体内外抗菌活性, 目前国内已广泛使用。

痢菌净注射液含量的测定, 采用高氯酸(非水溶液)滴定法^{〔1〕}, 其测定手续繁杂(包括分四次进行的氯仿提取、低温蒸干、乙酸酐溶解及高氯酸滴定), 繁琐费时, 在生产上不适合对该产品中间体质量控制和快速分析的要求, 而且每次测定要消耗较多的氯仿等试剂, 测试费用高, 对检验人员伤害刺激性大。根据痢菌净化学结构特点(见本文结论), 我厂经过反复试验, 建立了一种简便、快速、低耗、重复性好的比色测定法, 其结果与高氯酸滴定法基本一致。

1 材料和方法

1.1 仪器与试剂

721-分光光度计由上海第三分析仪器厂制造。痢菌净由中国农业科学院中兽医研究所附属药厂提供, 批号 900821, 含量 99.00%, 经我厂以高氯酸滴定法复核, 结果相符; 2, 4-二硝基苯胍及氢氧化钠均为国产分析纯试剂。

1.2 测定方法

①参照样溶液的制备 精确称取痢菌净注射液 2.000 g, 加适量水杨酸钠(助溶剂)于 50 mL 蒸馏水中(水温 60℃), 搅拌至全溶, 冷至室温后, 移入 100 mL 容量瓶中, 稀释至刻度, 摇匀。测定时, 准确吸取此液 5 mL 于 50 mL 容量瓶中, 加蒸馏水至刻度, 摇匀(含痢菌净 1.980 mg/mL)。

②分析样溶液的制备 精确吸取痢菌净注射液一定量, 加蒸馏水稀释, 使其含量约为 2 mg/mL。

③测定方法 精确吸取参照样稀释液与分析样稀释液各 1 mL 于两只容量瓶中, 各

加 2, 4-二硝基苯肼溶液 2.5 mL, 摇匀后置沸水浴中 10 min, 取出冷却至室温后, 再各加 0.5 mol/L 的氢氧化钠溶液 10 mL, 充分混匀, 5 min 后, 用蒸馏水稀释至刻度, 摇匀(同时作空白试验)。静置 10 min 后, 以空白调“零点”, 于 520 nm 波长处(或绿色滤光板)^[2] 比色测定。

2 实验条件的选择

2.1 显色反应温度、时间及稳定性试验

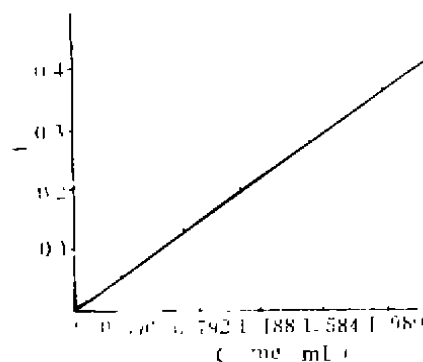
试验结果表明, 该反应在沸水浴中保持 10~15 min, 反应生成的棕红色化合物的吸光率在 2 h 内基本稳定(见表 1)。

表 1 显色复合物稳定性试验结果

观测时间 (min)	吸光率		
	煮沸 5 min	煮沸 10 min	煮沸 15 min
10	0.155	0.290	0.290
30	0.164	0.290	0.290
60	0.182	0.291	0.290
120	0.220	0.300	0.292

2.2 浓度与吸光率关系

配制不同浓度的痢菌净参照样溶液、显色后绘制标准曲线, 得直线回归方程式为 $A=0.002+0.1828C$ 、相关系数 $r=0.9988$ (见附图)。



附图 痢菌净浓度与吸光率关系

2.3 回收试验

准确吸取分析样稀释液与参照样稀释液各 5 mL, 混合均匀, 每次取此混合液 1 mL, 按同法测定 6 次, 同时分别取分析样稀释液及参照样稀释液 1 mL, 在同一条件下测定, 结果如表 2。

表 2 回收试验结果($n=6$)

测定值(mg/mL)			回收率 (%)
混合样	分析样	参照样	
1.975	0.9875	0.9875	99.75
1.975	0.9875	0.9875	99.75
1.970	0.9875	0.9825	99.24
1.980	0.9900	0.9900	100.0
1.980	0.9875	0.9925	100.2
1.975	0.9925	0.9825	99.24

注: 1) 平均回收率 = 99.70%; $cv=0.4\%$;

2) 参照样加入量为 0.9900 mg/mL。

表 3 比色测定法与高氯酸滴定法结果比较

序号	mg/mL	
	比色测定法	高氯酸滴定法
1	1.958	1.970
2	1.962	1.970
3	1.974	1.959
4	1.959	1.970
5	1.974	1.960

同一批号痢菌净注射液(批号 910627)、用本法和高氯酸滴定法, 分别重复测定 5 次, 两种方法的测定结果经 t 检验, 无显著差异, 见表 3($t=0.6051$, $P>0.05$)。

3 结 论

本文介绍的痢菌净注射液含量的比色测定法与高氯酸滴定法相较,测定结果基本一致,但由于比色法取样量少、操作简便、快速、试剂消耗量大大降低,适用于一般制药厂对该产品中间体的质量检测控制和快速分析,并可节约分析费用。

该比色法所基于的反应原理可能是:在沸水浴条件下,痢菌净与 2,4-二硝基苯肼缩合一种有色复合物,反应生成物在碱性条件下显棕红色⁽²⁻⁵⁾。反应生成的棕红色物质有待进一步证实。

本文数据处理由王彩兰副教授协助,特此致谢。

参 考 文 献

- 1 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典(第2部, 1990年版). 北京: 农业出版社, 附录43~44
- 2 北京农业大学主编. 动物生物化学实验指导. 北京: 农业出版社, 1986; 64~67
- 3 (美) Shriner R L, Fuson R C, Curtin D Y *et al* 著; 丁新腾等译. 有机化合物系统鉴定法. 上海: 复旦大学出版社, 1987; 117~136
- 4 Fritz F 著; Ralph E 译. 有机分析点滴试验. 北京: 燃料化学工业出版社, 1972; 144~161
- 5 (捷) 瓦茨拉夫, 谢迪维奇, 扬·夫列克著; 吴贤澄, 李世瑛, 牛荣珍译. 有机溶剂分析手册. 北京: 化学工业出版社, 1984; 217~234

A Rapid Colorimetric Method of Injection Lijunjing

Qiu Yongjun Wei Fanxia Yang Guanglu Liu Binqi Shao Hong Qi Xiuying

(Experimental Veterinary Pharmaceutical Factory, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

Abstract This paper discusses the analytical method of contents of veterinary-use injection Lijunjing—antibiotics. A fast, accurate and low-cost colorimetric method was established, which can shorten more than 2 hours in analytical time than those by non-aqueous titration and save over 90% of cost spent on reagents.

Key words antibiotics, colorimetric method, non-aqueous titration