

基于溶解氧乙酰螺旋霉素极谱平行催化氢波的研究

王福民*

(渭南师范学院 化学化工系, 陕西 渭南 714000)

摘要: 目的 提出一种极谱测定乙酰螺旋霉素 (ASPM) 的新方法。方法 应用单扫描极谱法, 在含溶解氧的 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NH}_4\text{Cl}-\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (pH 8.9) 缓冲液中 ASPM 产生 1 个灵敏的平行催化氢波 [峰电位 $E_p = -1.63 \text{ V}$ (νSCE)]。结果 该平行催化氢波的二阶导数峰峰电流 i_p'' 与 ASPM 浓度在 $1.74 \times 10^{-3} \sim 3.48 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 呈良好线性关系 ($r=0.9979, n=13$), 检出限为 $5.80 \times 10^{-4} \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (3σ)。对 $0.871 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ASPM 溶液进行 13 次平行测定, RSD 为 1.24%。结论 本方法可用于 ASPM 片剂中 ASPM 含量的测定。

关键词: 乙酰螺旋霉素; 平行催化氢波; 溶解氧; 单扫描极谱法

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0513 - 4870(2005)12 - 1135 - 04

Parallel catalytic hydrogen wave of acetylspiramycin caused by dissolved oxygen and its application

WANG Fu-min*

(Department of Chemistry and Chemical Engineering, Weinan Normal College, Weinan 714000, China)

Abstract: **Aim** To propose a novel polarographic method for the determination of acetylspiramycin (ASPM) is proposed. **Methods** In $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NH}_4\text{Cl}-\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (pH 8.9) buffer containing dissolved oxygen, ASPM yielded a sensitive parallel catalytic hydrogen wave with the peak potential of -1.63 V (νSCE) by single sweep polarography. **Results** The 2nd order derivative peak currents (i_p'') of the parallel catalytic hydrogen waves of ASPM showed a linear relationship with its concentrations in the range from $1.74 \times 10^{-3} \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ to $3.48 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9979, n=13$). Its detection limit was $5.80 \times 10^{-4} \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (3σ) and RSD ($n=13$) was 1.24% at the concentration level of $0.871 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. **Conclusion** The proposed method could be applied to the determination of ASPM in ASPM tablets.

Key words: acetylspiramycin; parallel catalytic hydrogen wave; dissolved oxygen; single sweep polarography

乙酰螺旋霉素 (acetylspiramycin, ASPM) 为大环内酯类抗生素, 其抗菌机制及适应症均与红霉素类似, 但不良反应少, 毒性低。ASPM 的主要成分为单乙酰螺旋霉素 II、单乙酰螺旋霉素 III、双乙酰螺旋霉素 II 及双乙酰螺旋霉素 III 等 4 个组分。中国药典规定为微生物法测定原药及片剂的 ASPM 含

量^[1], 该法能反映抗菌活性, 但检测周期长。目前已报道的测定乙酰螺旋霉素的方法除荧光法^[2]、分光光度法^[3]、HPLC 法^[4] 等外, 电分析化学方法有陈勇等^[5] 用二阶导数单扫描示波极谱法在 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaOH}$ 介质中测定 ASPM 含量, 线性范围为 $5.0 \sim 90 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 检测限为 $2.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。杨运发等^[6] 研究了 ASPM 在玻碳电极上的电氧化行为, 发现电极反应不可逆, 检测的线性范围为 $0.5 \sim 100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

有机化合物的极谱催化波是在氧化剂存在下,

收稿日期: 2005-04-08.

基金项目: 陕西省教育厅专项科研基金资助项目 (03JK216).

* 通讯作者 Tel: 86 - 913 - 2135130,

E-mail: wnwfm@wntc.edu.cn

氧化剂氧化有机化合物可还原基团被还原中间体自由基,再生成可还原基团而产生的。因此,它可用于提高有机化合物的分析灵敏度和研究其自由基反应动力学。目前,这种有机化合物极谱催化波已用于一些药物的测定^[7-9]。催化氢波是较灵敏的极谱电流,常用于测定铂族金属离子和含氮、硫等原子的有机化合物如蛋白质、生物碱、药物等。近年来的研究表明,当加入合适的氧化剂时,催化氢波被进一步催化,表现为峰电流显著增加而峰电位几乎不变,产生更灵敏的平行催化氢波。如蛋白质^[10,11]、表面活性剂^[12,13]等在含 KIO_3 , $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, H_2O_2 以及溶解氧等氧化剂的介质中产生的平行催化氢波能显著地提高分析灵敏度。本文观察到在 $\text{NH}_4\text{Cl-NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (pH 8.9) 缓冲溶液中,溶解氧对 ASPM 的催化氢波有明显的催化作用,产生的平行催化氢波比原催化氢波的峰电流增大了近 10 倍,提高了 ASPM 分析灵敏度,从而建立了 ASPM 含量测定的新方法。

材料与amp;方法

仪器及试剂 JP-303 型示波极谱仪 (四川成都仪器厂),三电极系统:滴汞电极为工作电极作线性扫描 (303A 静汞电极为工作电极作循环伏安研究),饱和甘汞电极为参比电极,铂电极为辅助电极。TU-1221 型紫外可见分光光度计 (北京通用仪器设备公司)。

ASPM 标准品 (中国药品生物制品检定所,每 1 mg 相当于 1 357 u), ASPM 片剂 (西安大庆制药厂市售品,标示量 0.1 g),其他试剂均为分析纯,实验用水均为二次蒸馏水。

0.871 0 g · L⁻¹ ASPM 储备液 准确称取 ASPM 标准品 0.087 1 g,用少量乙醇溶解,用水定容于 1 000 mL 量瓶中,避光保存。其他 ASPM 标准液由其标准储备液用水稀释到所需浓度。

ASPM 片剂供试品溶液的制备 取本品 20 片,除去糖衣,准确称量,研细,取适量细粉,准确称取后,加少量乙醇溶解,用水定容至 100 mL 量瓶中,摇匀,过滤,作为供试品溶液。

分取一系列 ASPM 标准工作溶液或测试液于 25 mL 量瓶中,再依次加入 0.25 mol · L⁻¹ $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 8 mL 及 0.25 mol · L⁻¹ NH_4Cl 溶液 (0.1 mol · L⁻¹, pH 8.9) 2 mL,然后用水定容至刻度,摇匀,转移部分于极谱池中,在 JP-303 型示波极谱仪上,做阴极化扫描,起始电位 -1.0 V (vs SCE),扫描速率为 250 mV · s⁻¹,记录了 ASPM 峰电位 E_p -1.63 V 处的峰

电流 i_p 值。

结果与amp;讨论

1 支持电解质的选择

在 HAc-NaAc, Na_2HPO_4 - KH_2PO_4 , $\text{NH}_4\text{Cl-NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 及 Britton-Robinson 等缓冲体系中,考察了 ASPM 在 -1.0 ~ -2.0 V 电位范围内的极谱行为。结果表明:在 HAc-NaAc, $\text{NH}_4\text{Cl-NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 和 B-R 中均有极谱峰产生,但以 $\text{NH}_4\text{Cl-NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 溶液中的 ASPM 产生的峰电流 i_p 值较大,峰形对称且稳定 (图 1b),因此,选取 $\text{NH}_4\text{Cl-NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 缓冲溶液作为支持电解质。

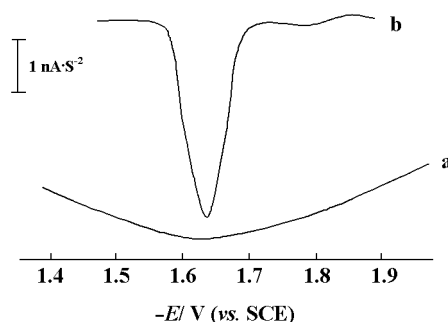


Figure 1 Second order derivative polarogram of ASPM. a: 0.1 mol · L⁻¹ $\text{NH}_4\text{Cl-NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (pH 8.9); b: a + 0.871 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ASPM

2 缓冲溶液 pH 变化的影响

在不同 pH 的 $\text{NH}_4\text{Cl-NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 缓冲溶液中,考察了 pH 变化对 ASPM 峰电位 E_p 及峰电流 i_p 的影响,结果表明:pH 在 8.0 ~ 8.9 时, i_p 随 pH 的升高而逐渐增大;pH 在 8.9 ~ 11.0 时, i_p 随 pH 的升高而逐渐减小;当 pH 为 8.6 ~ 9.1 时,峰电流 i_p 值最大, E_p = -1.63 V (vs SCE) (图 2)。因而,选用 $\text{NH}_4\text{Cl-NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 溶液的 pH 为 8.9。此外, E_p 随 pH 的增高而负移,且 E_p 和 pH 呈线性关系, E_p 和 pH 的关系为: $-E_p = 1.30 + 0.04\text{pH}$ ($r = 0.9935$, $n = 11$),表明质子参与了电极还原过程。

3 缓冲液总浓度的影响

在 pH 8.9 的 $\text{NH}_4\text{Cl-NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 缓冲液中,考察了缓冲液总浓度对 ASPM 峰电位 E_p 及峰电流 i_p 的影响,结果表明,当缓冲液的浓度在 0.01 ~ 0.25 mol · L⁻¹ 变化时, E_p 随缓冲液浓度的增大而正移;当缓冲液的浓度在 0.01 ~ 0.09 mol · L⁻¹ 变化时, i_p 随缓冲液浓度的增大而增大,而在 0.12 ~ 0.25 mol · L⁻¹ 变化时, i_p 随缓冲液浓度的增大而减小。当的浓度为 0.09 ~ 0.12 mol · L⁻¹ 时,峰电位 E_p =

- 1.63 V (vs SCE), i_p 值最大, 峰形对称且稳定。故选取 $\text{NH}_4\text{Cl-NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 缓冲液 (pH 8.9) 浓度为 $0.10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

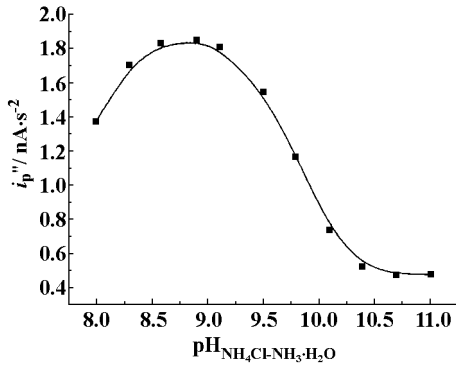


Figure 2 Effect of pH on the peak current of $0.871 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ASPM in $\text{NH}_4\text{Cl-NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (pH 8.9) buffer

4 稳定性及重复性实验

实验结果表明, 12 h 内 ASPM 峰电流 i_p 和峰电位 E_p 基本不变, 稳定性良好。13 次平行测量 $0.871 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ASPM 峰电流 i_p 的相对标准偏差 RSD 为 1.24%, 重现性良好。

5 校准曲线及检出限

在选定的最佳试验条件下, ASPM 的峰电流 i_p (nA·s⁻²) 与其浓度在 $1.74 \times 10^{-3} \sim 3.84 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内呈良好线性关系, 其线性回归方程为 $i_p = 2.92 \times 10^4 C_{\text{ASPM}} + 3.32$ ($r = 0.9979$, $n = 13$)。检测限为 $5.8 \times 10^{-4} \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

6 干扰试验

在试验所选取最佳条件下, 在 $0.871 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ASPM 中, 进行干扰试验 (以影响峰电流 i_p 大小的 $\pm 5\%$ 为判据), 实验表明, K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Ni^+ , Cd^+ , Cu^{2+} , SO_4^{2-} , 谷氨酸、葡萄糖、蔗糖、淀粉、硫脲等对 ASPM 的极谱法测定不产生干扰; 而等量的 Mn^{2+} , Cr^{3+} 等在 ASPM 的峰电位 $E_p = -1.63 \text{ V}$ (vs SCE) 附近出现还原峰, 而产生严重的干扰, 加入 NaF 或 EDTA 时可以消除这些金属离子产生的干扰。

7 样品分析及回收率试验

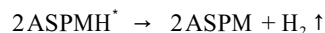
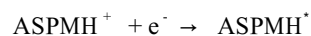
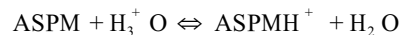
准确移取一定量的样品溶液, 按试验方法测量样品液中 ASPM 的峰电流 i_p , 由标准曲线求得样品中 ASPM 的含量。同时作回收率试验 (25 mL 溶液中), 结果见表 1。

8 机制

从 ASPM 的结构可知, 该分子中除了叔氨基外还有酯基及醛基, 酯基的还原波只能在有机质子介质中于 -2.0 V 左右才能观察到, 在水溶液中由于底液氢波的干扰, 观察不到酯基还原波。至于醛基, 文献^[14]报道, 在 LiOH 支持电解质中, 醛基还原的半波电位在 -1.9 V 左右, 通过 ASPM 中的醛基与硫酸联氨反应后生成 ASPM 醛腙后, ASPM 的峰形及峰电流 i_p 值不变, 说明 ASPM 在峰电位 $E_p = -1.63 \text{ V}$ 处的还原峰不是醛基还原引起的。Smyth 研究认为大环内酯抗生素的电活性基团是叔氨基团, 因此, ASPM 的极谱还原波可能是由于 ASPM 分子结构中含有叔氨基团而产生的极谱催化氢波。

采用恒电位电解法于峰电位 $E_p = -1.70 \text{ V}$ 处, 恒电位电解除氧 15 min 后的 ASPM 溶液 2 h, 峰电流没有明显的下降。另外, 在滴汞电极上观测到有大量气泡放出。结合 ASPM 的循环伏安图 (图 3b), 可知, 在含 $8.71 \times 10^{-4} \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ASPM 的 $\text{NH}_4\text{Cl-NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (pH 8.9) 的缓冲液除氧 15 min 后, 正扫时 ASPM 在阴极支上产生 1 个还原峰, 其峰电位 $E_p = -1.63 \text{ V}$, 而反扫时在阳极支上无相应的氧化峰出现。说明除氧 15 min 后 ASPM 产生的是催化氢波。

根据催化氢波的理论^[15], 在不含溶解氧时, ASPM 催化氢波的产生包括以下步骤:



溶解氧存在下的循环伏安法实验 (图 3c) 表明, 正扫时 ASPM 在阴极支上产生一还原峰, 其峰电位基本不变, 但峰电流值比除过溶解氧时的增大了几

Table 1 Analytical result of samples ($n = 5$)

Sample	Weight per tablet / g		RSD / %	Added / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	Found / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	Recovery / %
	UV method	Proposed method				
1	0.0969	0.0992		0.871	0.891	102.3
2	0.0953	0.0964		0.871	0.884	101.5
3	0.0999	0.0973	1.2	1.742	1.748	100.3
4	0.0982	0.0985		1.742	1.759	101.0
5	0.0932	0.0978		1.742	1.735	99.60

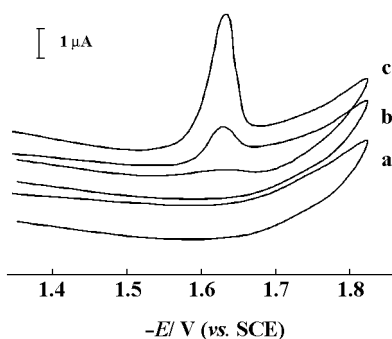
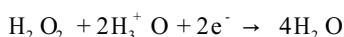
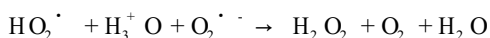
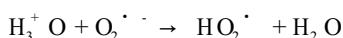
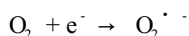


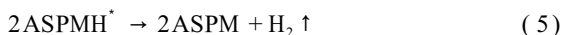
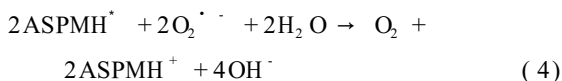
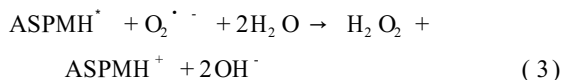
Figure 3 Cyclic voltammogram of ASPM. a: $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4\text{Cl-NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (pH 8.9); b: a + $8.71 \times 10^{-4} \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ASPM (deoxygenated); c: a + $8.71 \times 10^{-4} \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ASPM (without deoxygenated); Potential scan rate $v = 250 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$

乎 10 倍, 而反扫时阳极支上在出现 1 个极小的还原峰, 这是典型的平行催化氢波特征。

溶解氧在滴汞电极上实际还原过程为^[16]:



$\text{O}_2^{\cdot -}$, HO_2^{\cdot} 及 H_2O_2 这些中间体有更强的氧化能力, (实验证实了 H_2O_2 可使 ASPM 的峰电流增大)。因此, 这些中间体一定也参加了氧化 ASPMH⁺ 的反应。以 $\text{O}_2^{\cdot -}$ 为例, 其反应过程如下:



由于, 化学反应 (3) 或 (4) 与电极反应 (2) 平行, 再生的 ASPMH⁺ 又在电极上还原, 导致 ASPM 催化氢波峰电流进一步增加, 从而产生了 ASPM 的平行催化氢波。

References

- [1] Pharmacopoeia Committee of PRC. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [S]. Part II. 2000 Ed. Beijing: Chemical Industry Press, 2000. 6 - 9.
- [2] Chen K, Sun XF, Wu JM, et al. Synchronized fluorimetric determination of acetylspiramycin by color reaction of sulfuric [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 1998, **26**(12): 1471 - 1473.
- [3] Hao ZF, Zhu ZJ, Zhang ZL. Direct determination of acetylspiramycin by derivative absorption spectrophotometry [J]. *Chin J Spectrosc Lab* (光谱实验室), 1999, **16**(1): 105 - 107.
- [4] Shalini J. HPLC separation of antibiotics present in formulated and unformulated samples [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2002, **28**(5): 795 - 809.
- [5] Chen Y, Han FM, Yuan ZB. Single-sweep oscillogpolarography for the determination of acetylspiramycin [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 1995, **23**(6): 659 - 661.
- [6] Yang YF, Wang B. Electroanalytical study of pharmaceutical molecules on a glassy carbon electrode: IV. Voltammetric determination of acetylspiramycin [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 1995, **23**(5): 547 - 550.
- [7] Song JF, He P, Guo W. Study on the polarographic catalytic wave of vitam in P in the presence of persulfate and its application [J]. *Anal Biochem*, 2002, **304**: 212 - 219.
- [8] Guo W, He YY, Song JF. Polarographic determination of berberine in the presence of H_2O_2 in medicinal plants [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2002, **28**(3): 355 - 363.
- [9] Guo W, He P, Song JF. Progress in the study on the polarographic catalytic wave of organic compound [J]. *Acta Chim Sin* (化学学报), 2004, **62**(10): 924 - 934.
- [10] Guo W, Liu LM, Lin H, et al. Polarographic catalytic wave of hydrogen-parallel catalytic hydrogen wave of bovine serum albumin in the presence of oxidants [J]. *Sci China*, 2002, **45**(2): 158 - 165.
- [11] Liu LM, Guo W, Song JF. Parallel catalytic hydrogen wave of human serum albumin in the presence of potassium persulfate [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2002, **20**(1): 46 - 49.
- [12] Liu B, Guo W, Song JF. Rapid determination of cation surfactant tetrabutylammonium halide using its parallel catalytic hydrogen wave of hydrogen peroxide [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2002, **30**(10): 1210 - 1213.
- [13] Guo W, He YY, Song JF. High selective determination of anionic surfactant using its parallel catalytic hydrogen wave [J]. *Chin J Chem*, 2003, **21**(12): 1630 - 1635.
- [14] Smyth MR. Voltammetric methods for the determination foreign organic compounds of biological significance [J]. *Analyst*, 1978, **103**(1227): 529 - 567.
- [15] Mairanovskii SG. The theory of catalytic hydrogen waves in organic polarography [J]. *J Electroanal Chem*, 1963, **6**: 77 - 118.
- [16] Chevalet J, Rouelle F, Gierst L, et al. Electrogeneration and some properties of the superoxide ion in aqueous solutions [J]. *J Electroanal Chem*, 1972, **39**(1): 201 - 216.