

## 分光光度法和比色法测定 具有邻苯二酚结构的药物的含量

### II、儿茶酚胺类药物的测定

韦世秀\* 于如瑕

## Spectrophotometric and Colorimetric Determination for Drugs Containing Ortho Dihydroxyl Phenolic Structure

### II. Determination of Catechol Amine Drugs

Wei Shi Xiu Yu Rugu

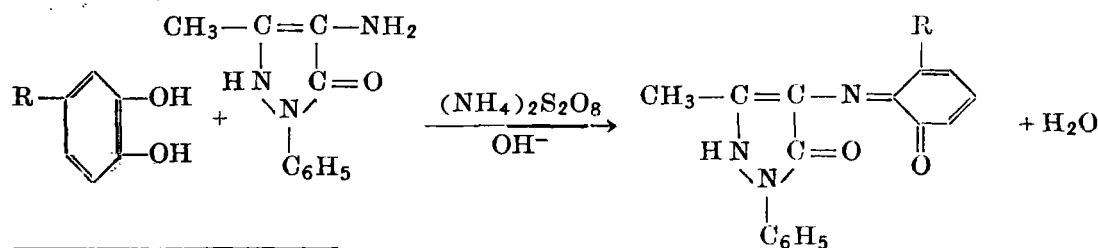
#### 提 要

应用紫外分光光度法和比色法测定了儿茶酚胺类药物多巴、多巴胺、肾上腺素及其制剂的含量，并与非水滴定法作了比较。

儿茶酚胺类药物如多巴、多巴胺、肾上腺素等，它们的分子中既具有氨基，又具有邻苯二酚结构，故可用非水滴定法（测定其氨基）、紫外分光光度法和比色法（测定其邻苯二酚结构）测定其含量。

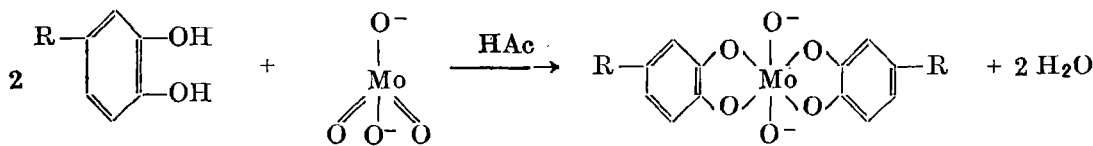
在比色法中，参照有关文献，可以用下述三种比色法测定儿茶酚类药物的含量。

应用4-氨基安替比林作为显色剂，在氧化剂及硷性条件下，与邻苯二酚类化合物形成稳定的红色络合物<sup>[1][2]</sup>。反应如下：

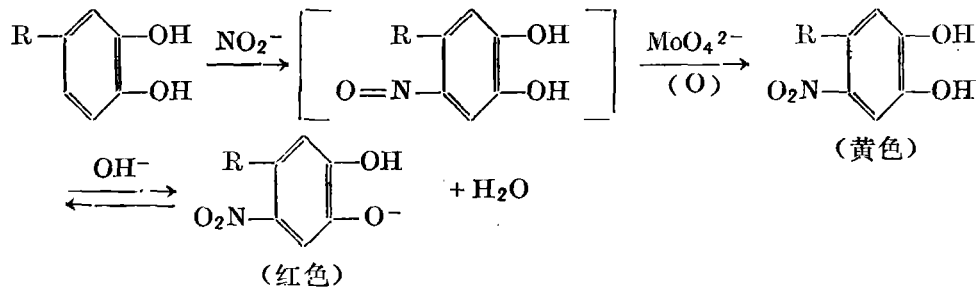


\* 我院1975届毕业生，现在广西医学院

应用亚硝酸盐—钼酸盐作为显色剂，在醋酸酸性条件下，与邻苯二酚类化合物形成稳定的黄色络合物<sup>[2]</sup>。反应如下：



应用亚硝酸钠—钼酸钠作为显色剂，在硷性条件下，与邻苯二酚类化合物形成稳定的红色化合物<sup>〔3〕〔4〕〔5〕</sup>。反应如下：



本文对采用上述第三种方法测定儿茶酚胺类药物的含量的实验条件和结果报告如下。

## 实验部分

### 一、仪器和试剂

仪器牌号和试剂规格同前文〔2〕。

## 二、波长选择

精密吸取儿茶酚胺类化合物溶液(0.2毫克/毫升)4毫升,置50毫升容量瓶中,精密加醋酸-醋酸钠缓冲溶液5毫升、显色剂溶液2.5毫升、氢氧化钠溶液(6M)2.5毫升,加水至刻度,摇匀。以试剂作空白,置1cm石英吸收池中,在200~600nm波长范围,测绘吸收曲线。

### 三、盐酸酸度对吸收值的影响

精密吸取儿茶酚胺类化合物溶液 2 毫升，共 4 份，分别置 25 毫升容量瓶中，1 号容量瓶不加盐酸，在 2、3、4 号容量瓶中分别加 1 N 盐酸 0.25、1.25、2.5 毫升，使酸度分别为 0.01、0.05、0.1 N，加水至刻度，摇匀。置 1cm 石英吸收池中，测绘吸收曲线。

#### 四、硝化反应时间对吸收值的影响

精密吸取儿茶酚胺类化合物溶液 1 毫升，六份，分别置 6 个 25 毫升容量瓶中，各精密加醋酸—醋酸钠缓冲溶液 3 毫升、显色剂 0.5 毫升，待硝化反应进行 0、5、10、20、30 分钟后，加氢氧化钠 2.5 毫升，加水至刻度，摇匀。以试剂作空白，置 1cm 吸收池中，在  $498 \pm 1\text{nm}$  处测吸收值。

### 五、显色溶液的稳定性

精密吸取儿茶酚胺类化合物溶液 4 毫升，置 50 毫升容量瓶中，精密加醋酸—醋酸钠缓冲溶液 5 毫升、显色剂 2.5 毫升、氢氧化钠液 2.5 毫升，加水至刻度，摇匀。以试剂作空白，置 1cm 吸收池中，在波长  $\lambda_{\max} \pm 1$  处，在 0、10、30、40、50、60、90、120 分钟时，测

定吸收值。

#### 六、醋酸—醋酸钠缓冲溶液加入量的影响

分别精密吸取儿茶酚胺类化合物溶液 1 毫升, 4 份, 分别置 4 个 25 毫升容量瓶中, 精密加醋酸—醋酸钠缓冲溶液分别为 1、3、5、8 毫升, 加显色剂 2.5 毫、氢氧化钠 2.5 毫升, 加水至刻度, 摇匀。以试剂作空白, 置 1cm 吸收池中, 在  $\lambda_{\max} \pm 1\text{nm}$  处, 测定吸收值。

#### 七、显色剂加入量对吸收值的影响

精密吸取儿茶酚胺类化合物溶液 1 毫升, 8 份, 分别置 8 个 25 毫升容量瓶中, 各精密加醋酸—醋酸钠缓冲溶液 5 毫升、显色剂溶液分别为 0.5、0.75、1.0、2.0、2.5、3.0、5.0、8.0 毫升, 待硝化反应 10 分钟, 加氢氧化钠液 5 毫升, 加水至刻度, 摇匀。以试剂作空白, 置 1cm 吸收池中, 在  $\lambda_{\max} \pm 1\text{nm}$  波长处, 测定吸收值。

#### 八、氢氧化钠加入量对吸收值的影响

精密吸取儿茶酚胺类化合物溶液 1 毫升, 6 份, 分别置 6 个 25 毫升容量瓶中, 精密加醋酸—醋酸钠溶液 3 毫升、显色剂 0.75 毫升、氢氧化钠溶液分别为 1、3、5、7、9 毫升, 加水至刻度, 摇匀。以试剂作空白, 置 1cm 吸收池中, 在  $\lambda_{\max} \pm 1\text{nm}$  波长处测定吸收值。

#### 九、焦亚硫酸钠对肾上腺素吸收值的影响

精密吸取肾上腺素标准溶液 2 毫升, 3 份, 分别置 3 个 25 毫升容量瓶中, 分别加 0.1% 焦亚硫酸钠溶液 1、3、5 毫升, 使含焦亚硫酸钠 0.04、0.12、0.20 毫克/毫升, 加水至刻度, 摇匀。置 1cm 石英吸收池中, 以试剂作空白, 在 200~600nm 波长范围测绘吸收曲线。

#### 十、氯化钠溶液对肾上腺素吸收值的影响

精密吸取肾上腺素标准溶液 2 毫升, 4 份, 分别置 4 个 25 毫升容量瓶中, 分别加 0.8% 氯化钠溶液适量, 使含氯化钠 0、1.6、3.2、6.4 毫克/毫升, 加水至刻度, 摇匀。置 1cm 石英吸收池中, 以试剂作空白, 在 200~600nm 波长范围绘制吸收曲线。

#### 十一、儿茶酚胺类化合物标准溶液的浓度与吸收值的关系。

分别精密吸取儿茶酚胺类化合物标准溶液 0.25、0.5、0.75、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 毫升, 分置 25 毫升容量瓶中, 精密加醋酸—醋酸钠缓冲溶液 5 毫升, 加显色剂 0.75 毫升, 待硝化一定时间后, 加氢氧化钠溶液 5 毫升, 加水至刻度, 摇匀。以试剂作空白, 置 1cm 吸收池中, 在  $\lambda_{\max} \pm 1\text{nm}$  波长处测定吸收值。

#### 十二、样品测定

##### 1. 分光光度法和比色法

(1) 取干燥至恒重的儿茶酚胺类化合物适量, 精密称重, 按标准溶液配制法配制成溶液, 精密吸取一毫升, 置 25 毫升容量瓶中, 加醋酸—醋酸钠缓冲溶液 5 毫升、显色剂 0.75 毫升, 待硝化反应完全, 加氢氧化钠 5 毫升, 加水至刻度, 摇匀。置 1cm 吸收池中, 以试剂作空白, 在  $\lambda_{\max} \pm 1\text{nm}$  波长处测定吸收值, 计算含量。

样品如为制剂, 可按各剂型常规取样法取样, 参照原料药品测定法进行操作。

##### 2. 非水滴定法

取已干燥至恒重的儿茶酚胺类化合物约 40~50 毫克, 精密称定, 置小烧杯中, 加甲酸 1 毫升(多巴)或醋酸汞冰醋酸溶液 2 毫升(卤氢酸盐), 加冰醋酸 10 毫升, 使样品溶解, 加

结晶紫指示剂 1~2 滴, 在 pH 计上以玻璃-甘汞电极,  $\frac{N}{20}$  高氯酸标准溶液滴定, 开始时每加 1 毫升标准液, 读取一次毫伏值, 近终点时, 每加入 0.10 毫升读取一次毫伏值, 并观察指示剂的颜色变化。终点后继续滴定, 至电位变化很小时为止。作滴定曲线并计算结果。

## 结果与讨论

### 一、分光光度法和比色法的实验条件

#### (一) 波长选择

多巴、多巴胺及肾上腺素显色液的吸收曲线见图 I。由图 I 可见, 它们在可见光区的  $\lambda_{\max}$  分别为:

化合物	$\lambda_{\max}$ (nm)
多巴	498
多巴胺	501
肾上腺素	502

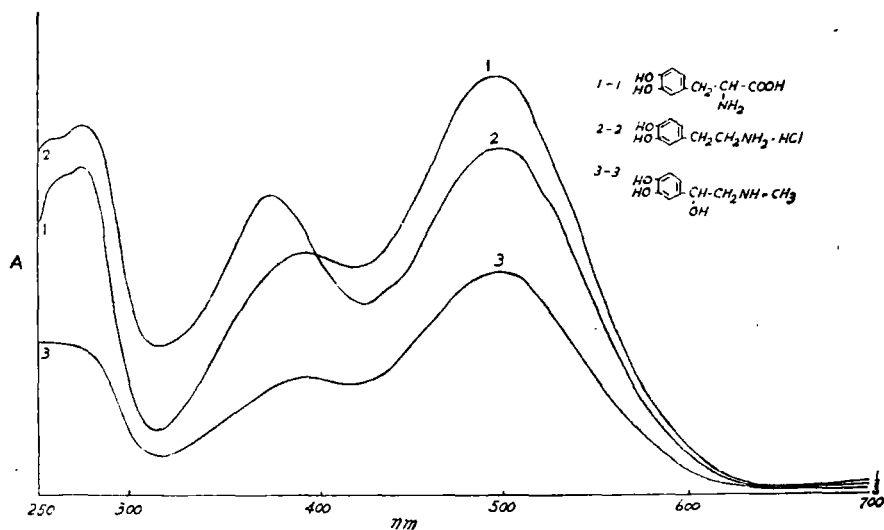
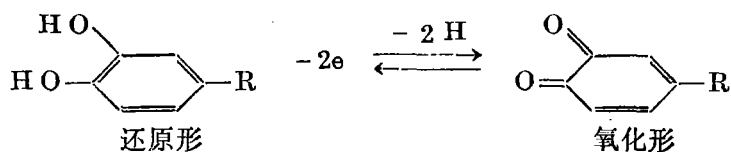


图 I 多巴、多巴胺及肾上腺素显色液的吸收曲线

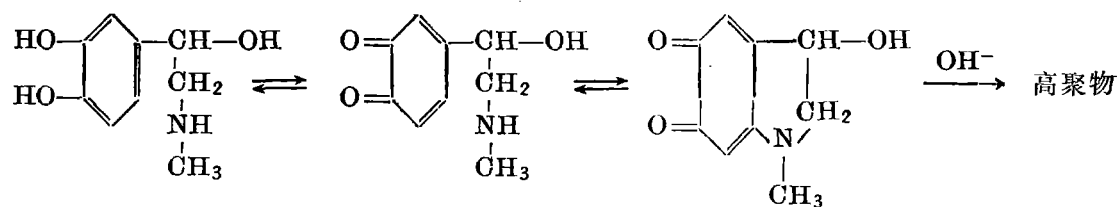
#### (二) 盐酸酸度对吸收值的影响

在溶液中, 儿茶酚胺类化合物在酸性条件下比较稳定, 因为儿茶酚胺类化合物是较强的还原剂, 如多巴、肾上腺素的氧化还原电位分别为 -0.800 伏、-0.809 伏, 在溶液中很容易被氧化。反应如下:



加盐酸也可增加溶解度。在高 pH 时不稳定, 因为儿茶酚胺类化合物在 pH 低的溶液中氧化是

可逆性的, 在 pH 高的溶液中氧化因发生后继反应而是不可逆的。如肾上腺素:



我们在配制儿茶酚胺类化合物溶液时都加入一定量的盐酸, 使溶液呈酸性。盐酸对吸收值有否影响, 以肾上腺素为例, 实验结果见图 II。从图 II 中看出, 0.01 N、0.05 N、0.10 N 盐酸对吸收值几乎没有影响, 对  $\lambda_{\max}$  也未移动。

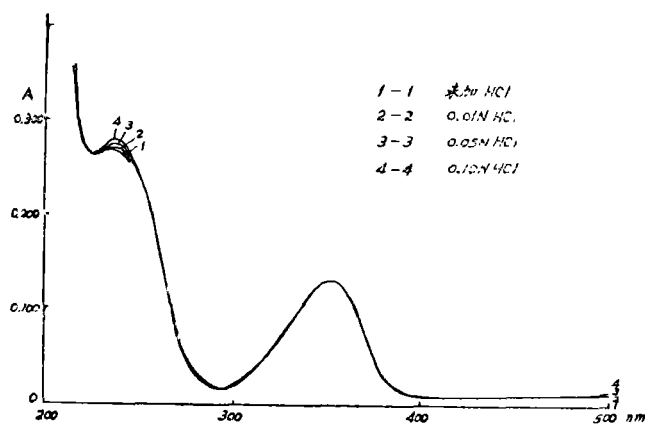


图 II 盐酸浓度对肾上腺素吸收值及  $\lambda_{\max}$  的影响

### (三) 硝化反应时间对吸收值的影响

儿茶酚胺类化合物显色溶液(红色)的颜色深浅, 取决于硝化时间, 因而吸收强度也取决于反应时间。以多巴为例, 实验结果见图 III。从图 III 中可以看出, 硝化时间在 0 ~ 5 分钟时吸收值稍有增高, 5 ~ 30 分钟吸收值稳定。所以我们在多巴的实验中采取的硝化时间为 10 分钟, 与文献一致。肾上腺素、多巴胺的硝化时间也都经实验选定。

化 合 物	硝化时间(分)	缓冲溶液 pH
多 巴	10	5.1
多 巴 胺	15	5.2
肾 上 腺 素	10	4.2

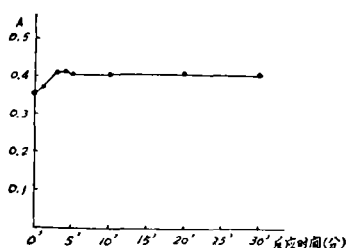
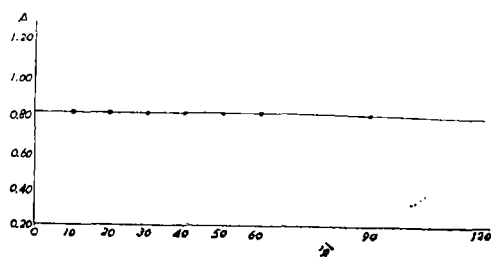


图 III 化硝反应时间对吸收值的影响

### (四) 显色溶液的稳定性

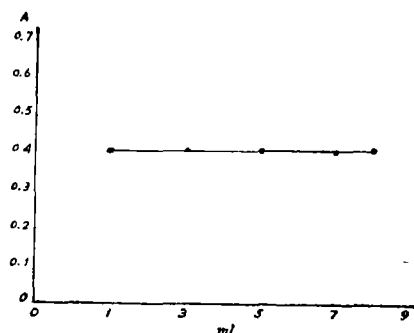
实验结果见图 IV。从图 IV 中看出, 儿茶酚胺类化合物, 以多巴为例, 显色溶液从 0 ~ 60 分钟吸收值稳定, 60 ~ 90 分钟吸收值微有降低(约降低 0.6%), 90 ~ 120 分钟吸收值降低约 1.2%。所以在吸收值的测定中, 都应在加氢氧化钠溶液 1 小时内完成。



图Ⅳ 显色液的稳定性

## (五) 缓冲溶液加入量对吸收值的影响

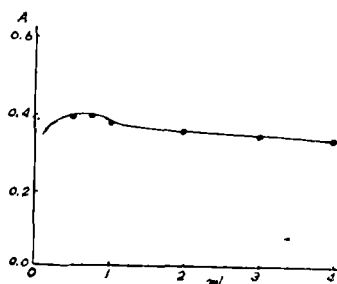
实验结果见图Ⅴ。从图Ⅴ中看出，当加入缓冲溶液1~3毫升时，吸收值稍有增高，(约1.2%)，3~5毫升时，吸收值降低约0.7%，5~8毫升时吸收值稳定。因此，我们在实验中加入缓冲溶液为5毫升。



图Ⅴ 缓冲溶液加入量对吸收值的影响

## (六) 显色剂加入量对吸收值的影响

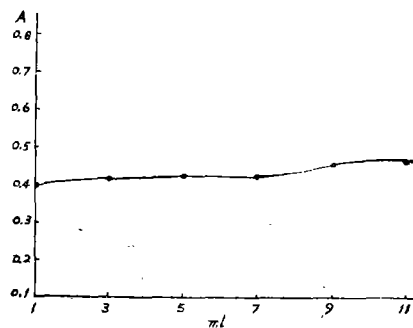
实验结果见图Ⅵ。从图Ⅵ中看出，当加入显色剂0.5毫升时，吸收值稍低，加入0.75毫升时，吸收值最高，加入1~5毫升时，吸收值逐渐降低。



图Ⅵ 显色剂加入量对吸收值的影响

## (七) 氢氧化钠加入量对吸收值的影响

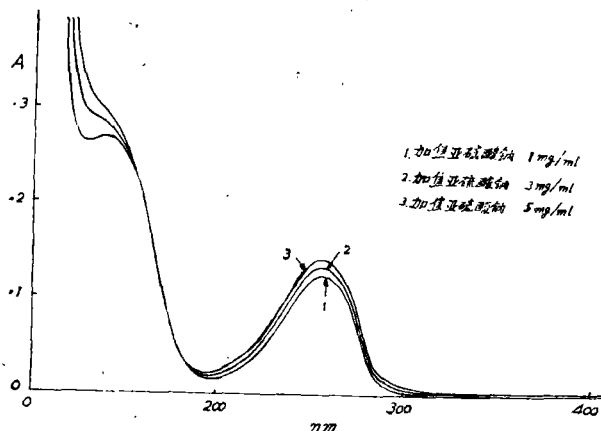
实验结果见图Ⅶ。从图Ⅶ中看出，当加入氢氧化钠溶液1~3毫升时，吸收值增高约4%，加入3~7毫升时，吸收值稳定，加入7~11毫升时，吸收值又有增高。我们在实验中加入氢氧化钠溶液5毫升。



图Ⅶ 氢氧化钠加入量对吸收值的影响

#### (八) 焦亚硫酸钠对肾上腺素吸收值的影响

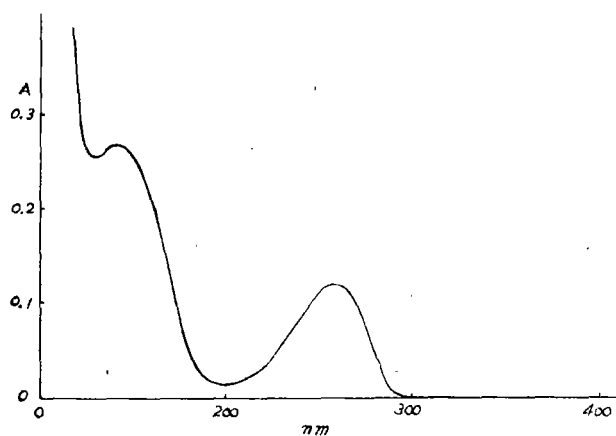
由于肾上腺素在空气中易被氧化，故在盐酸肾上腺素注射液的配方中，加入焦亚硫酸钠作抗氧化剂，以防止肾上腺素氧化变色。实验结果见图Ⅷ。从图Ⅷ中看出，加入焦亚硫酸钠的量越增大，吸收值就越高。因此，焦亚硫酸钠对测定有干扰，增加了测定误差。故在测定中应以同样量的焦亚硫酸钠溶液作空白，以消除一部分误差。



图Ⅷ 焦亚硫酸钠量对肾上腺素吸收值的影响

#### (九) 氯化钠加入量对肾上腺素吸收值的影响

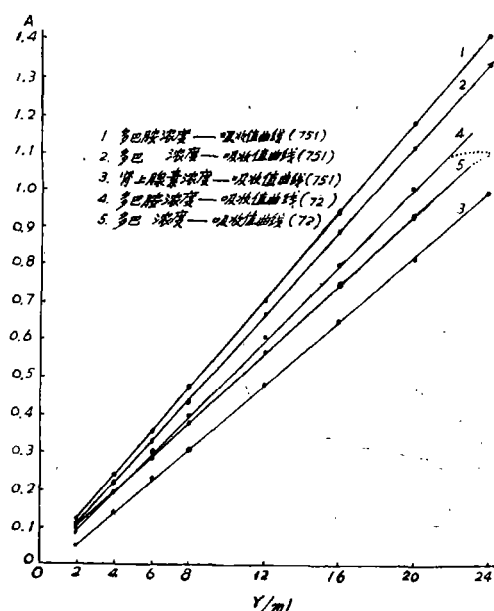
由于盐酸肾上腺素注射液中有氯化钠，所以做了氯化钠加入量对吸收值的影响实验。实验结果见图Ⅸ。从图Ⅸ中看出，加入氯化钠的量从1.6~6.4毫克/毫升对吸收值都没有影响。



图Ⅸ 氯化钠对肾上腺素吸收值的影响

## (十) 浓度与吸收值的关系

实验结果见图X。从图X看出, 儿茶酚胺类化合物的浓度在 2~24 微克/毫升范围, 浓度与吸收值成直线关系。



图X 多巴、多巴胺及肾上腺素的浓度——吸收值曲线

用回归法可得直线方程, 如下所示:

化 合 物      直线方程

多    巴       $A = 0.001 + 0.056 C$

多 巴 胺       $A = 0.001 + 0.059 C$

肾上腺素       $A = 0.021 + 0.042 C$

A 为校正吸收值, C 为标准溶液浓度。其校正吸收值如下表所示。

表 1 儿茶酚胺类化合物的吸收测得值与校正值的比较

化 合 物	多            巴		多    巴    胺		肾    上    腺    素	
标    准    液 (微克/毫升)	测得值	校正值	测得值	校正值	测得值	校正值
2	0.106	0.112	0.117	0.119	0.064	0.063
4	0.223	0.223	0.237	0.237	0.147	0.147
6	0.330	0.334	0.355	0.355	0.230	0.230
8	0.444	0.446	0.470	0.472	0.309	0.351
12	0.676	0.668	0.710	0.708	0.484	0.483
16	0.892	0.890	0.941	0.943	0.660	0.651
20	1.110	1.113	1.200	1.179	0.823	0.819
24	1.330	1.330	1.400	1.410	0.980	0.987

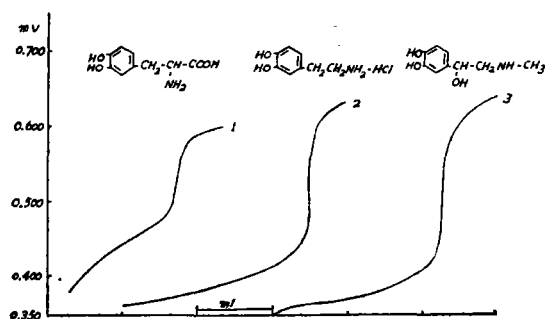


## 二、肾上腺素吸收系数值 ( $E_{1\%}^{1\text{cm}} 502$ ) 的测定

在三台不同牌号的分光光度计上进行了测定。所得数据与前文<sup>[2]</sup>同样方法处理, 得到肾上腺素的吸收系数的平均值为  $E_{1\%}^{1\text{cm}} 502 = 382.2$

## 三、非水滴定

儿茶酚胺类分子中都具有氨基, 在酸性溶剂冰醋酸中显较强的硷性, 故可用  $\text{HClO}_4$  标准溶液滴定。滴定曲线见图Ⅱ。其半中和电位、突跃范围及指示剂的终点颜色见表 2。



图Ⅱ 多巴、多巴胺及肾上腺素的滴定曲线

表 2 儿茶酚胺类药物的非水滴定

化 合 物	式	半中和电位(mv)	突跃范围(mv)	指示剂 终点色
多 巴	$\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	444	478~564	兰 绿
多 巴 胺	$\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2\cdot\text{HCl}$	377	442~615	兰 绿
肾 上 腺 素	$\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})-\underset{\text{OH}}{\text{CH}}-\text{CH}_2\text{NH}\cdot\text{CH}_3$	375	412~610	兰 绿

## 四、样品测定

儿茶酚胺类药品, 多巴、多巴胺及肾上腺素用非水滴定法、比色法及分光光度法测定了含量。原料药的测定结果见表 3。

表3 多巴、多巴胺及肾上腺素的测定结果

样品名称	编号	分光光度法(%)		比色法(%)		非水滴定法(%)		与非水法的偏差(%)	
		测得值	平均值	测得值	平均值	测得值	平均值	分光法	比色法
多巴	1	98.91		100.0		99.31			
		—	98.91	99.85	99.93	99.66	99.49	-0.58	+0.51
	2	97.60		98.00		97.70			
		98.60	98.10	101.7	99.85	98.53	98.11	-0.01	+1.74
	3	98.90		98.30		97.70			
		99.60	99.25	99.50	98.90	98.34	98.02	+1.23	+0.88
	4	100.3		—		98.95			
		101.4	100.8	—	—	99.18	99.06	+1.79	—
	5	98.40		100.8		99.80			
		98.40	98.40	100.8	100.8	98.23	99.01	-0.61	+1.79
	6	100.1		101.3		99.47			
		100.1	100.1	101.9	101.6	99.50	99.49	+0.61	+2.11
多巴胺	1	97.74		98.74		96.97			
		97.01	97.38	96.25	97.49	97.10	97.03	+0.35	+0.46
	2	98.13		100.0		98.97			
		100.0	99.06	101.3	100.6	98.10	98.54	+0.51	+2.06
肾上腺素	1	100.2		102.0		99.42			
		100.2	100.2	101.0	101.5	—	99.42	+0.78	+2.08
	2	102.5		—		98.80			
		101.5	102.0	—	—	99.58	99.19	+2.81	—
	3	98.82		—		99.42			
		—	98.82	—	—	—	99.42	-0.60	—

制剂的含量测定

分光光度法和比色法测定儿茶酚胺类药物制剂的结果见表4。

表4 制剂的测定结果

样品名称	编号	分光光度法			比色法			二法偏差(%)
			平均值(%)	极差(%)		平均值(%)	极差(%)	
多巴片	1	105.0			105.7			
		105.1	105.1	0.10	105.0	105.4	0.66	0.30
	2	93.99			95.63			
		93.11	93.55	0.94	95.33	95.48	0.31	1.93

续上

盐酸多巴胺注射液	1	97.74			97.40			
		97.01	97.38	0.75	96.87	97.14	0.54	0.24
	2	94.77			94.90			
		94.39	94.58	0.40	95.90	95.40	1.05	0.84
	3	93.76			94.17			
		93.46	93.61	0.32	94.30	94.20	0.14	0.63
盐酸肾上腺素注射液	1	97.81			100.8			
		97.50	97.66	0.30	100.8	100.8	0.00	3.14
	2	99.38			102.0			
		100.0	99.69	0.62	103.4	102.7	1.36	3.01
	3	98.74			102.0			
		100.0	99.37	1.26	—	102.0	—	2.63

多巴和多巴胺的含量测定, 中国药典采用非水滴定法。我们采用非水电位滴定法测定多巴、多巴胺和肾上腺素的含量。滴定的突跃范围肾上腺素最大, 多巴胺次之, 多巴为最小。但都能获得满意结果, 指示剂终点很锐敏。原料药品的含量测定, 分光光度法与非水滴定法结果偏差的最大值为2.81%, 比色法与非水滴定法结果偏差的最大值为2.11%。制剂测定分光光度法与比色法二者的偏差最大为3.14% (肾上腺素注射液)。

## 参 考 文 献

- [1] Larve T A, Blakley E R: Anal Chim Acta 31:400, 1964
- [2] 孟 怡 于如暇: 药检工作通讯, 1979, 排印中
- [3] Arnow L E: J Bio Chem 118:531, 1937
- [4] 周恒铎: 职业中毒检验, 390页, 人民卫生出版社, 1976
- [5] Barnum D W: Anal Chim Acta 89:157, 1977