

# 灿烂绿探针瑞利光散射技术 快速测定药物中的奥扎格雷钠

张淑琼, 何小琴, 李浩, 刘璐瑶, 赵燕, 江虹\*

(长江师范学院化学化工学院, 长江师范学院武陵山片区绿色发展协同创新中心, 重庆 408100)

**摘要:**在 pH 8.11 的 Tris-盐酸溶液中, 奥扎格雷钠与灿烂绿反应生成离子缔合物, 使瑞利光散射 (RLS) 信号大大增强, 最大瑞利散射峰位于 370 nm, 奥扎格雷钠的质量浓度在 0.007~0.25 mg/L 范围内与体系的瑞利光散射增强强度  $\Delta I_{\text{RLS}}$  呈线性关系, 检出限为 0.006 8 mg/L, 据此建立了测定奥扎格雷钠的瑞利光散射新方法。该方法简便、快速、灵敏, 可用于市售奥扎格雷钠药物中奥扎格雷钠含量的测定。

**关键词:**奥扎格雷钠; 药物; 瑞利散射; 灿烂绿

中图分类号: O657.3

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2018)01-0210-03

DOI: 10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2018.01.050

## Fast determination of ozagrel sodium in drug by Rayleigh light scattering technique with brilliant green probe

ZHANG Shu-qiong, HE Xiao-qin, LI Hao, LIU Lu-yao, ZHAO Yan, JIANG Hong\*

(Collaborative Innovation Center for Green Development in Wuling Mountain Areas, Yangtze Normal University, Chongqing 408100, China)

**Abstract:** In a Tris-hydrochloric acid buffer solution of pH 8.11, ozagrel sodium reacts with brilliant green to form an ionic association, which causes Rayleigh light scattering (RLS) signal to enhance greatly. The maximum Rayleigh scattering peak locates at 370 nm. The mass concentration of ozagrel sodium in the range of 0.007-0.25 mg·L<sup>-1</sup> has a linear relation with the RLS enhanced intensity  $\Delta I_{\text{RLS}}$  of the system, and the detection limit is 0.006 8 mg·L<sup>-1</sup>. Based on these results, a new RLS method for the determination of ozagrel sodium is established, which is simple, rapid and highly sensitive, and can be used to determine the content of ozagrel sodium in commercial available ozagrel sodium medicament.

**Key words:** Ozagrel sodium; drug; Rayleigh scattering; brilliant green

奥扎格雷钠是一种新型抗血小板聚集药物, 强力血栓素合成酶特异性抑制剂, 具有安全性高, 无明显毒性, 临床上主要用于治疗脑梗死及其伴随的运动障碍。其可能出现的副作用有恶心、呕吐、心律失常、血压下降等, 较为严重的不良反应为消化道出血、皮下出血、颅内出血或出血性脑梗塞、硬膜外血肿等。目前, 国内外检测奥扎格雷钠的方法主要有滴定分析法<sup>[1]</sup>、高效液相色谱法<sup>[2-9]</sup>和核磁共振法<sup>[10]</sup>等, 其中高效液相色谱法报道较多。笔者主要以近年新发展起来的高灵敏瑞利散射 (RLS) 技术对药物中奥扎格雷钠的含量进行测定, 该方法简便、快速、准确、灵敏, 迄今未见文献报道。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

F-2500 型荧光分光光度计, 日本日立公司生

产; pH S-3C 精密酸度计, 上海虹益仪器仪表有限公司生产。

$1.0 \times 10^{-4}$  mol/L 灿烂绿溶液 (bright green, BRG), 成都市科龙化工试剂厂生产; 奥扎格雷钠标准溶液 (ozagrel sodium, OZA, 100.0%, 批号: 100837-201102), 中国食品药品检定研究所生产; 准确称取适量的奥扎格雷钠标准品于小烧杯中, 用少量水溶解后配成 25.02 mg/L 贮备液, 取贮备液 10.0 mL 稀释至 100.0 mL, 即配成 2.502 mg/L 操作液, 冰箱 4℃ 保存; pH 3.0 ~ 9.5 的缓冲溶液: 取适量 0.20 mol/L Tris (三羟甲基氨基甲烷) 溶液和适量 0.10 mol/L 盐酸溶液于小烧杯中, 混合、搅拌, 用酸度计测定其酸度; 除奥扎格雷钠为生化试剂外, 其余试剂均为分析纯, 水为二次蒸馏水。

### 1.2 实验方法

准确移取适量 2.502 mg/L 奥扎格雷钠标准溶

收稿日期: 2017-07-18

基金项目: 重庆市教委科技基金资助项目 (KJ1401226); 长江师范学院科技基金资助项目 (2017XKY088)

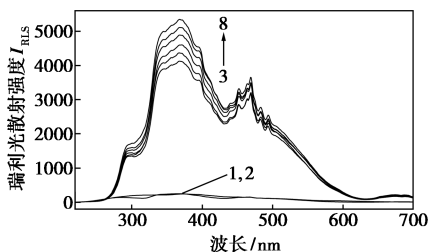
作者简介: 张淑琼 (1963-), 女, 理学学士, 副教授, 研究方向为分子光谱分析, zhangshuqiong2017@163.com; 江虹 (1956-), 女, 理学学士, 教授, 研究方向为分子光谱分析, 通讯联系人, jianghongch@163.com)

液(或样液)于 10 mL 比色管中,依次准确加入 2.00 mL  $1.00 \times 10^{-4}$  mol/L 灿烂绿溶液及 3.00 mL pH 8.11 Tris-盐酸缓冲溶液,再加入二次蒸馏水稀释至刻度,摇匀,25 min 后,在荧光光度计上同步扫描 RLS 光谱( $\lambda_{\text{ex}} = \lambda_{\text{em}} = 220$  nm,测定狭缝为 5.0 nm),记录最大散射波长处试剂空白及体系溶液的 RLS 强度  $I_0$  及  $I_{\text{RLS}}$ ,计算  $\Delta I_{\text{RLS}} = I_{\text{RLS}} - I_0$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 OZA-BRG 的 RLS 光谱特征

OZA 与 BRG 的 RLS 光谱图如图 1 所示。从图 1 中曲线 1~2 可知,奥扎格雷钠和灿烂绿自身的 RLS 十分微弱;当在灿烂绿溶液中加入 Tris-盐酸缓冲介质后,溶液的 RLS 信号大大增强(如图 1 中曲线 3 所示),最大瑞利散射峰位于 370 nm,RLS 强度  $I_0 = 4127$ ,在 467 nm 波长处还有 1 个小的散射峰;当在灿烂绿的 Tris-盐酸溶液中加入不同浓度的奥扎格雷钠标准溶液后,体系溶液的 RLS 信号随着奥扎格雷钠浓度的增加呈线性增强,最大散射波长仍为 370 nm(如图 1 中曲线 3~8 所示),在此波长处,奥扎格雷钠在一定浓度范围内的质量浓度与体系的 RLS 增强强度  $\Delta I_{\text{RLS}}$  呈线性关系,故该方法可用于奥扎格雷钠的定量分析。



1—OZA (0.250 mg/L); 2—BRG ( $2.00 \times 10^{-5}$  mol/L);  
3~8—OZA (0.0, 0.0500, 0.100, 0.150, 0.200, 0.250 mg/L) -  
BRG ( $2.00 \times 10^{-5}$  mol/L), pH 8.11

图 1 灿烂绿与奥扎格雷钠的 RLS 光谱

反应机理:奥扎格雷钠分子结构上的  $\text{Na}^+$  离去后变为带羧酸根离子的奥扎格雷阴离子,而灿烂绿是一种三苯甲烷类碱性染料,在溶液中以阳离子形式存在,故二者可以静电引力结合生成离子缔合物。

### 2.2 反应条件

#### 2.2.1 溶液酸度

室温下,考察了 pH 3.0~9.5 范围内的 Tris-盐酸溶液对奥扎格雷钠-灿烂绿体系 RLS 增强强度的影响,结果如图 2 所示。由图 2 可以看出,pH 7.0~9.2 范围内,体系的 RLS 增强强度  $\Delta I_{\text{RLS}}$  较大,灵敏

度较高,试验选用 pH 8.11 的 Tris-盐酸缓冲溶液。继而考察了不同用量的 pH 8.11 缓冲溶液对奥扎格雷钠-灿烂绿体系 RLS 增强强度的影响,结果显示,当用量为 1.00 mL 时, $\Delta I_{\text{RLS}} = 1094$ , $\Delta I_{\text{RLS}}$  相对最高,故用 pH 8.11 Tris-盐酸溶液 1.00 mL。

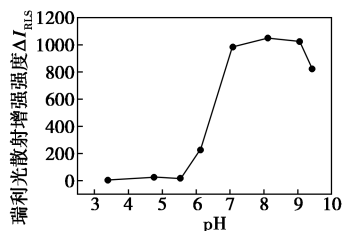


图 2 pH 的影响

#### 2.2.2 灿烂绿溶液的浓度

室温下,考察了灿烂绿溶液浓度不同时对奥扎格雷钠-灿烂绿体系 RLS 增强强度的影响,结果如图 3 所示。由图 3 可以看出,灿烂绿溶液浓度为  $1.8 \times 10^{-5} \sim 2.5 \times 10^{-5}$  mol/L 时,体系的 RLS 增强强度  $\Delta I_{\text{RLS}}$  相对较大,灵敏度较高。实验选用 2.00 mL  $1.00 \times 10^{-4}$  mol/L 灿烂绿溶液。

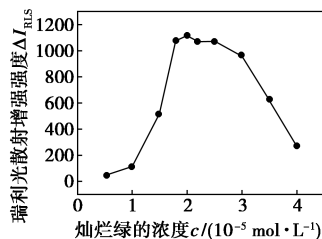


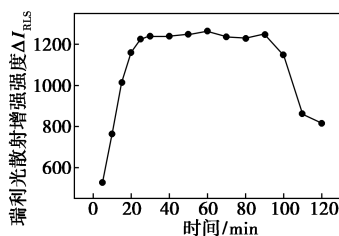
图 3 灿烂绿溶液浓度的影响

#### 2.2.3 试剂加入顺序

室温下,考察了最大散射波长处 BRG 溶液、缓冲溶液及 OZA 溶液的加入顺序对奥扎格雷钠-灿烂绿体系 RLS 增强强度的影响。结果表明,加入顺序为 OZA 溶液、BRG 溶液、缓冲溶液时,体系的  $\Delta I_{\text{RLS}} = 1172$ ,其他 2 种加入顺序的  $\Delta I_{\text{RLS}}$  分别为 1148 和 1160。故选用相对最佳的 OZA、BRG、缓冲溶液加入顺序进行实验。

#### 2.2.4 反应时间

室温下,考察了不同反应时间对奥扎格雷钠-灿烂绿体系 RLS 增强强度的影响,结果如图 4 所示。由图 4 可以看出,25 min 前,反应进行不完全,随着反应时间的增加, $\Delta I_{\text{RLS}}$  为随之增大的一条斜线;25 min 后,反应不仅进行完全,曲线处于同一平台上,且稳定时间可达 1 h。实验选在 25 min 后进行测定。

图 4 时间对  $\Delta I_{\text{RLS}}$  的影响

## 2.3 标准曲线

按 1.2 所述的实验方法配制奥扎格雷钠标准系列溶液,并扫描瑞利散射光谱,作  $\Delta I_{\text{RLS}}-\rho$  标准曲线,结果如图 5 所示。由图 5 可以看出,奥扎格雷钠的质量浓度在 0.007~0.25 mg/L 内与体系的  $\Delta I_{\text{RLS}}$  呈线性关系,检出限为 0.006 8 mg/L,一元线性回归方程为  $\Delta I_{\text{RLS}} = -1.884 8 + 4 920\rho$ ,回归系数  $r = 0.999 5$ 。

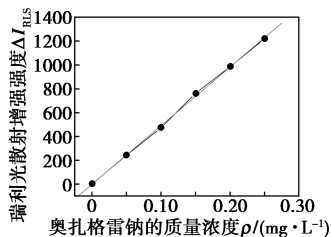


图 5 奥扎格雷钠标准曲线

## 2.4 共存物质的影响

在最优条件下,考察了 370 nm 处,相对误差  $\leq \pm 5\%$  时,常见共存物质对测定 0.250 mg/L 奥扎格雷钠的影响。实验结果表明,200 倍的蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、L-丙氨酸、L-谷氨酸、L-异亮氨酸、L-白氨酸、L-赖氨酸、L-组氨酸、L-亮氨酸、L-色氨酸、甘氨酸、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Sr}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{I}^-$ ; 40 倍的  $\text{Sn}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ 、尿素、柠檬酸三钠等不干扰测定。可见,该方法有较好的选择性。

## 3 分析应用

### 3.1 样液的制备

取某制药厂生产的奥扎格雷钠注射液(1<sup>#</sup>)和注射用奥扎格雷钠(2<sup>#</sup>)各 1 支,将 1<sup>#</sup> 注射液置于 1 000 mL 容量瓶中,用水稀至刻度;将 2<sup>#</sup> 粉针剂的内容物全部转入小烧杯中,用少量水溶解后转入 1 000 mL 容量瓶中,并用水稀释至刻度。取 1<sup>#</sup> 和 2<sup>#</sup> 定容液各 5.00 mL,分别用水稀释至 100.0 mL,即为待测液。

### 3.2 样液的测定

取 1<sup>#</sup> 和 2<sup>#</sup> 待测液各 0.50 mL,分别按实验方法加入其他试剂溶液并进行分析测定(各平行测定 6 份),根据标准曲线或回归方程求出各待测液中奥扎格雷钠的含量,再推至原始样品中奥扎格雷钠的含量。同时进行加标回收试验(各平行测定 6 份),判断该方法的准确度和精密性,结果如表 1 所示。

表 1 样品分析结果及回收试验

样品	1 <sup>#</sup>	2 <sup>#</sup>
标示量/(mg·支)	40	40
测得值/(mg·支)	40.6	39.6
取样量 $m/(10^{-3} \text{ mg})$	1.02	0.99
加标量 $m/(10^{-3} \text{ mg})$	1.21	1.00
测得平均值 $m/(10^{-3} \text{ mg})$	2.26	1.98
回收率/%	102	99.0
相对标准偏差/%	1.1	1.0

## 4 结论

以灿烂绿为探针,利用瑞利光散射技术建立了奥扎格雷钠的测定方法,该方法具有灵敏度高、方法简便、快速、准确(加标回收率为 99.0%~102%),也有较好的精密性(相对标准偏差为 1.0%~1.1%)及选择性。可用于药物中奥扎格雷钠含量的测定。

## 参考文献

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典(二部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 1405.
- [2] 张斌, 钱叶飞, 闵春燕, 等. 超高效液相色谱法同时测定化妆品中 7 种美白成分[J]. 日用化学工业, 2016, 46(2): 118-122.
- [3] 徐小梅, 程庆兵. HPLC 法测定注射用奥扎格雷钠的含量[J]. 安徽卫生职业技术学院学报, 2013, 12(5): 84-85, 79.
- [4] 张勇, 陈玉威, 高桂花. 内标法测定奥扎格雷钠颗粒的含量[J]. 实用药物与临床, 2013, 16(6): 517-518, 519.
- [5] 孟玉玲, 孟祥军, 葛欣. HPLC 法测定奥扎格雷钠注射液含量[J]. 中国现代药物应用, 2010, 4(21): 32-33.
- [6] 唐坤, 付翔. RP-HPLC 法测定人血浆中奥扎格雷的浓度[J]. 中国药房, 2009, 20(32): 2519-2520.
- [7] 翁升. 反相高效液相色谱法测定奥扎格雷的含量[J]. 右江民族医学院学报, 2008, 30(4): 538-539.
- [8] 沈晓筱. HPLC 法测定注射用奥扎格雷钠的含量[J]. 中国药师, 2007, 10(4): 348-350.
- [9] 颜琳琦, 姚国灿, 刘可, 等. 高效液相色谱法测定盐酸奥扎格雷片的含量[J]. 西北药学杂志, 2006, 21(6): 243-244.
- [10] 佟健, 郭兴家, 张鹏. 核磁共振法测定奥扎格雷钠含量[J]. 光谱实验室, 2006, 23(3): 475-478. ■