

双波长叠加吸收光谱法测定奥扎格雷钠

庞向东, 丁世敏, 李 浩, 杨贵媛, 江 虹*

(长江师范学院化学化工学院, 武陵山片区绿色发展协同创新中心,
三峡库区环境监测与灾害防治工程研究中心, 重庆 408100)

摘要:建立了一种快速、准确测定药物中奥扎格雷钠的双波长吸收光谱法。在弱酸性的 Tris-盐酸介质中, 奥扎格雷钠与维多利亚蓝 B 反应生成具有 2 个明显正吸收峰的蓝色离子缔合物, 最大正吸收波长位于 668 nm, 次大正吸收波长位于 512 nm, 表观摩尔吸光系数(κ)分别为 $2.14 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ (668 nm) 和 $1.95 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ (512 nm), 奥扎格雷钠的质量浓度在 0.1~5.0 mg/L 范围内服从朗伯-比尔定律。当采用双波长叠加法测定奥扎格雷钠时, 其表观摩尔吸光系数(κ)可达 $4.09 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ 。该方法用于市售奥扎格雷钠药物中奥扎格雷钠含量的测定, 结果满意。

关键词:奥扎格雷钠; 双波长; 维多利亚蓝 B; 吸收光谱法

中图分类号: O657.3

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2018)02-0219-03

DOI: 10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2018.02.053

Determination of ozagrel sodium by dual wavelength superposition absorption spectrometry

PANG Xiang-dong, DING Shi-min, LI Hao, YANG Gui-yuan, JIANG Hong*

(Collaborative Innovation Center for Green Development in Wuling Mountain Areas, Research Center for Environmental Monitoring and Hazard Prevention of Three Gorges Reservoir, Yangtze Normal University, Chongqing 408100, China)

Abstract: A new dual wavelength superposition absorption spectrometry is established for determining fast and accurately the content of ozagrel sodium in drug. In weakly acidic Tris-hydrochloric acid media, ozagrel sodium can react with Victoria blue B to form a blue ionic association complex with two obvious positive absorption peaks. The maximum positive absorption wavelength locates at 668 nm and the second largest positive absorption wavelength arises at 512 nm. The apparent molar absorptivities (κ) are $2.14 \times 10^4 \text{ L} \cdot (\text{mol} \cdot \text{cm})^{-1}$ at 668 nm and $1.95 \times 10^4 \text{ L} \cdot (\text{mol} \cdot \text{cm})^{-1}$ at 512 nm, respectively. The mass concentration of ozagrel sodium obeys Lombard Beer's law in the definite range of 0.1~5.0 mg $\cdot \text{L}^{-1}$. When the dual wavelength superposition absorption spectrometry is used to determine the concentration of ozagrel sodium, its apparent molar absorptivity (κ) can be achieved $4.09 \times 10^4 \text{ L} \cdot (\text{mol} \cdot \text{cm})^{-1}$. Satisfactory results can be obtained when this method is applied to determine the content of ozagrel sodium in commercially available ozagrel sodium-containing medicines.

Key words: ozagrel sodium; dual wavelength; Victoria blue B; absorption spectrometry

奥扎格雷钠是一种新型、高效的抗血小板聚集药物, 主要用于治疗急性血栓性脑梗死及脑梗死所伴随的运动障碍, 临床上应用广泛。由于使用过程中可能出现出血性脑梗塞、颅内出血、硬膜外血肿、消化道出血、皮下出血等严重的副作用。为了提高用药质量, 减小其对人体产生的副作用, 对药物中奥扎格雷钠的含量进行分析显得很有必要。目前国内外对奥扎格雷钠的研究分析方法主要有滴定分析法^[1]、高效液相色谱法^[2-7]和核磁共振法^[8]等。笔者以维多利亚蓝 B 作探针, 采用单波长法和双波长法分析研究药物中奥扎格雷钠的检测方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

U-4100 型紫外-可见-近红外分光光度计, 日本日立生产; pHs-3C 精密酸度计, 上海虹益仪器仪表有限公司生产。

奥扎格雷钠(OZA, 100.0%, 中国食品药品检定研究所生产, 批号: 100837-201102)标准溶液: 准确称取适量的 OZA 标准品, 用水溶解后配成 250.2 mg/L 贮备液, 冰箱中 4℃ 保存; 操作液为 25.02 mg/L, 临用时取贮备液配制; 维多利亚蓝 B (VTB; 上海源叶

收稿日期: 2017-07-21

基金项目: 重庆市教委科技基金资助项目 (KJ1401226); 重庆市教委科技项目 (KJ1401202); 长江师范学院科技基金资助项目 (2017CXX088)

作者简介: 庞向东 (1962-), 男, 理学学士, 副教授, 研究方向为分子光谱分析, cspxdfxsch123456@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。

生物科技有限公司生产) 溶液: 1.00×10^{-3} mol/L。缓冲溶液: 取适量盐酸配成 0.10 mol/L, 取适量三羟甲基氨基甲烷(简称为 Tris), 用水溶解配成 0.20 mol/L; 取适量 0.10 mol/L 盐酸和适量 0.20 mol/L Tris 溶液混合, 用酸度计测定, 配成 pH 为 3.0~9.5 的 Tris-盐酸溶液。

上述试剂除奥扎格雷钠为生化试剂外, 其他均为分析纯, 水为二次蒸馏水。

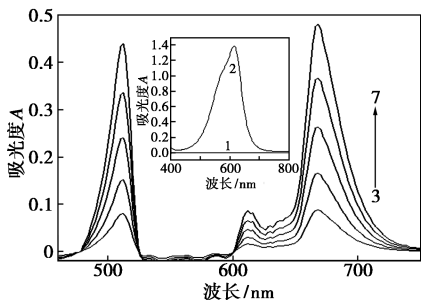
1.2 实验方法

用移液管准确移取适量奥扎格雷钠标准溶液或样液于 10 mL 具塞比色管中, 加入 2.50 mL pH 6.88 Tris-盐酸缓冲溶液及 3.00 mL 1.00×10^{-3} mol/L 维多利亚蓝 B 溶液, 用二次蒸馏水稀至 10 mL, 摇匀, 5 min 后, 以试剂空白作参比, 用双波长叠加法测定溶液的吸光度(A)。

2 结果与讨论

2.1 吸收光谱特征

按实验方法配制溶液并扫描得到其吸收光谱, 如图 1 所示。由图 1 中可以看出, 在 400~800 nm 的可见光区, 奥扎格雷钠几乎无吸收(谱线 1); 维多利亚蓝 B 的弱酸性溶液有较强吸收, 最大吸收波长位于 616 nm(谱线 2)。当在奥扎格雷钠的弱酸性溶液中加入 VTB 溶液后, 吸收曲线上出现 2 个明显的正吸收峰, 最大正吸收峰位于 668 nm, 红移 52 nm, 次大正吸收峰位于 512 nm, 蓝移 104 nm, 结果表明, VTB 与奥扎格雷钠在弱酸性条件下能够发生显色反应, 生成的新物质在 668 nm 和 512 nm 波长处有较强吸收, 吸光度 A_{668} 和 A_{512} 与一定质量浓度范围的奥扎格雷钠的质量浓度呈线性关系(谱线 3~谱线 7), 服从朗伯-比尔定律。当用双波长叠加法测定时, 由于吸光度的加和性, 生成的新物质的吸光度 $A_{668+512}$ 与一定质量浓度范围的奥扎格雷钠的质量



1—2.50 mg/L OZA, 水作参比; 2— 3.00×10^{-5} mol/L VTB, 水作参比; 3—7—(1.00, 2.00, 3.00, 4.00, 5.00 mg/L) OZA— 3.00×10^{-4} mol/L VTB, 试剂空白作参比; pH 6.88

图 1 吸收光谱

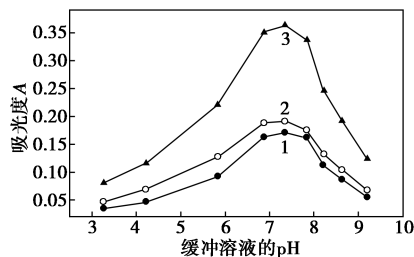
浓度仍呈线性关系并服从朗伯-比尔定律, 且灵敏度约为单波长法的 2 倍。故选用双波长法来定量分析奥扎格雷钠的含量。

奥扎格雷钠在溶液中以阴离子形式存在, 维多利亚蓝 B 以阳离子形式存, 二者在溶液中以静电引力作用生成二元离子缔合物。

2.2 反应条件的影响

2.2.1 pH 的影响

室温下, 考察了用双波长法测定时, Tris-盐酸和 HAc-NaAc 缓冲溶液对 VTB 与 OZA 显色反应灵敏度的影响, 结果表明, 用 Tris-盐酸的显色效果相对更好。于是考察了不同 pH 的 Tris-盐酸溶液对 VTB 与 OZA 显色反应灵敏度的影响, 结果如图 2 所示。图 2 表明, 显色反应适宜的酸度范围是 pH 6.8~7.8, 即 VTB 与 OZA 的显色反应在弱碱性或弱酸性条件下均可进行。用 pH 6.88 Tris-盐酸缓冲溶液, 继续考察了所选定的 pH 的缓冲溶液在不同用量时对显色反应灵敏度的影响, 结果表明, 适宜用量为 2.50 mL。故选用 2.50 mL pH 6.88 的 Tris-盐酸缓冲溶液。从图 2 可以看出, 用双波长法测定的吸光度比单波长法高。

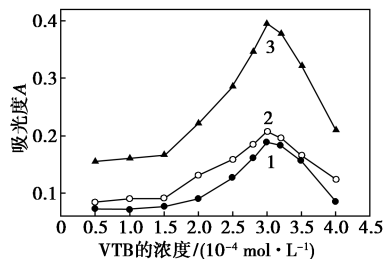


1—512 nm; 2—668 nm; 3—(512+668) nm

图 2 pH 的影响

2.2.2 VTB 溶液的浓度的影响

室温下, 用双波长法测定时, 不同浓度的 VTB 溶液对 VTB 与 OZA 显色反应的灵敏度的影响如图 3 所示。由图 3 可以看出, VTB 的适宜浓度为



1—512 nm; 2—668 nm; 3—(512+668) nm

图 3 VTB 溶液浓度的影响

3.00×10^4 mol/L, 当 VTB 溶液浓度小于 3.00×10^4 mol/L 时, 显色反应不完全, 故吸光度值有所降低; 当 VTB 溶液浓度大于 3.00×10^4 mol/L 时, 因 VTB 自身的聚集作用会影响缔合物的形成, 因此吸光度值也有所降低。故选用 3.00 mL 1.00×10^3 mol/L VTB 溶液。同样条件下, 采用双波长法测定的灵敏度比单波长法高。

2.2.3 试剂加入顺序的影响

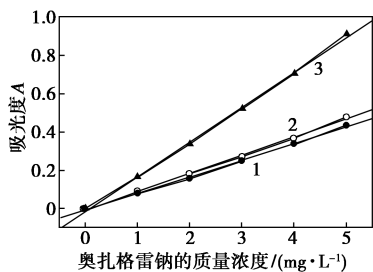
在与上述条件相同的情况下, 用双波长法测定时, 考察奥扎格雷钠、维多利亚蓝 B 及 Tris-盐酸溶液在不同加入顺序时对 VTB 与 OZA 显色反应灵敏度的影响。结果表明, 按任意顺序加入试剂, 对显色反应的灵敏度几乎无影响。故实验可按任意顺序加入各试剂溶液。

2.2.4 反应时间的影响

在与上述条件相同的情况下, 用双波长法测定时, 考察不同反应时间对 VTB 与 OZA 显色反应灵敏度的影响。结果表明: VTB 与 OZA 的显色反应在 5 min 内即可完全, 5~70 min 范围内, 吸光度基本处于同一平台上, 即稳定时间至少 1 h。所以实验选在 5 min 后测定。

2.3 标准曲线

按 1.2 中所述的实验方法配制标准系列溶液并扫描吸收光谱。以奥扎格雷钠的质量浓度为横坐标, 以吸光度为纵坐标绘制 $A-\rho$ 标准曲线, 结果如图 4 所示。该方法的一元线性回归方程、相关系数、线性范围、表观摩尔吸光系数等如表 1 所示。由表 1 可以看出, 668 nm 和 512 nm 波长下, 单波长法有较高的灵敏度, 而双波长叠加法的灵敏度约是单波长法的 2 倍。



1—512 nm; 2—668 nm; 3—(512+668) nm

图 4 标准曲线

2.4 干扰试验

按 1.2 中所述的实验方法用双波长法进行测定, 相对误差在 $\pm 5\%$ 时, 考察某些常见共存物质对奥扎格雷钠 (2.502 mg/L) 测定的影响。结果表明,

表 1 标准曲线相关参数

方法	波长 λ/nm	回归方程 $\rho/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	回归 系数/ r	线性 范围 $\rho/$ ($\text{mg}\cdot$ L^{-1})	表观摩尔 吸光系数 $\kappa/[\text{L}\cdot$ ($\text{mol}\cdot\text{cm})^{-1}]$
单波 长法	668	$A_{668} = -0.00522 +$ 0.09461ρ	0.9994	0.1~5.0	2.14×10^4
单波 长法	512	$A_{512} = -0.00731 +$ 0.08661ρ	0.9989	0.1~5.0	1.95×10^4
双波 长法	668+512	$A_{668+512} = -0.01253 +$ 0.1812ρ	0.9993	0.1~5.0	4.09×10^4

200 倍的葡萄糖、蔗糖、 K^+ 、 Na^+ ; 100 倍的 L-色氨酸、L-赖氨酸、L-组氨酸、L-白氨酸、 NH_4^+ 、 Cl^- 、 NO_3^- ; 80 倍的麦芽糖、乳糖、L-亮氨酸、谷氨酸、甘氨酸、D-果糖、D-甘露糖、 Mn^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Sr^{2+} 、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 、 Ac^- ; 40 倍的 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Mg^{2+} 、 SO_3^{2-} ; 20 倍的 DL-苹果酸、柠檬酸三钠、尿素、 Sn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Hg^{2+} 、 $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$; 10 倍的 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Al^{3+} 、 SO_4^{2-} ; 3 倍的 Fe^{3+} 对测定没有干扰。可见, 除 Fe^{3+} 允许量较小外, 其他常见阴、阳离子及常见氨基酸、糖类等不干扰奥扎格雷钠的测定。 Fe^{3+} 的干扰可加 2.0 mL 1:2 的三乙醇胺予以掩蔽。故该方法有良好的选择性。

3 分析应用

3.1 样液的制备

基于目前市场上只有奥扎格雷钠注射液或注射用奥扎格雷钠(无药片), 特对某制药厂生产的奥扎格雷钠注射液(1[#]和 2[#])及注射用奥扎格雷钠(3[#])的含量进行研究。取 1[#]~3[#]样品各 1 支, 将 1[#]和 2[#]注射液及已用水溶解的 3[#]粉针剂溶液分别置于 1 000 mL 容量瓶中, 用水稀至刻度, 1[#]定容液就是 1[#]待测液; 再分别取上述已定容的 2[#]和 3[#]定容溶液各 5.00 mL, 用水稀至 100 mL, 即得 2[#]和 3[#]待测液。

3.2 样液的测定

取待测液 1[#] 0.4 mL, 2[#]和 3[#]各 0.50 mL, 分别按 1.2 中所述的实验方法用双波长测定法测定各待测样液中奥扎格雷钠的含量, 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, 最后求出原始注射液及粉针剂中奥扎格雷钠的含量, 并与标示量比较, 结果如表 2 所示。同时做

(下转第 223 页)

位检测法(P/S)^[10]、密间距电位测试法(CIPS)^[11]、Pearson 检测法(PS)^[12]、直流电压梯度测试法(DCVG)^[13],以上检测技术普遍应用于天然气、油田等领域^[14]。

当前所有埋地管道的检测方法中,直流电压梯度测试技术对地下管线的破损定位最为准确,其他的方法也有其自身的特点和适用场合。表1^[15-19]就以上所述的检测方法的优缺点进行了总结。

表1 管道外腐蚀检测技术优缺点

检测技术名称	代表仪器	检测内容	精度	优点	缺点
多频管中电流法	英国雷迪 RD8000、A 字架	探测管线走向、埋深,检测防腐层绝缘性能	±1.0 m	可快速检测整个管道的腐蚀状况,也可在短间距内对破损点进行定位;属于非接触式地面测量,受地面环境的影响较小	测量结果不明确,不能判别阴极保护效率以及涂层剥离,容易受到外界干扰
标准管/地电位检测法	数字万用表与 Cu/CuSO ₄ 电极	阴极保护效率	±1.0 m	能快速测量管线的阴极保护效果	不能确定缺陷大小及其位置,不能指示涂层剥离
密间距电位测试法	密间隔管地电位检测仪	检测阴检保护效果和防腐层失效范围	±0.5 m	可找出缺陷的位置、尺寸,指示阴极保护效率,能指出缺陷的严重性,可计算机化自动取样	不能判别涂层剥离,容易受到外界干扰,同时需要牵拉电缆,从而限制了其使用场合
直流电压梯度测试法	高灵敏度的电压表与 Cu/CuSO ₄ 电极	涂层缺陷	±0.5 m	可以确定缺陷大小和涂层缺陷的位置,不受外界电流干扰,受地貌影响小	不能指示管道的阴极保护效率以及不能判别涂层剥离

由表1所述可知,每种检测技术只能检测某1种或2种缺陷内容,而不能全面检测。2010年,安徽省特种设备检测院沈沉等^[20]针对城市天然气埋地钢质管道防腐层绝缘性能,综合现有多种埋地钢质管道外防腐层检测技术,构成一套综合检测和评估方法,实

现了对天然气管道防腐层破损点快速且精确的定位,并开发了防腐层安全状况等级评定系统,打破了现有埋地管道非开挖检测方法的局限性。目前此方法已在合肥、马鞍山、芜湖、蚌埠等地展开了现场实践,进行了300 km非开挖实验,结果表明使用效果良好。

(上接第221页)

加标回收试验(各平行测定6份),以判断方法的准确度和精密度。

表2 样品分析及回收试验

样品	1#	2#	3#
每支标示量/mg	80	40	40
每支测得值/mg	79.66	40.47	39.82
取样量/(mg·L ⁻¹)	3.186	2.024	1.991
加入标准量/(mg·L ⁻¹)	1.251	2.502	2.002
测得平均值/(mg·L ⁻¹)	4.455	4.502	4.020
回收率/%	101.4	99.04	101.3
相对标准偏差/%	0.8	1.0	1.0

4 结论

利用奥扎格雷钠与VTB的显色反应,采用双波长叠加法测定药物中奥扎格雷钠的含量,该方法简便、快速,有较高的准确度、精密度、较宽的线性范

围、较高的灵敏度及良好的选择性,可用于市售奥扎格雷钠注射液及粉针剂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] 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.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 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.■