

## 分析测试

# 甲酚红探针双波长负吸收分光光度法 测定酒石酸美托洛尔

张淑琼, 李浩, 秦丽容, 丁世敏, 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,  
长江师范学院三峡库区环境监测与灾害防治工程研究中心, 重庆 408100)

**摘要:**在弱碱性 Tris-盐酸介质中, 酒石酸美托洛尔与甲酚红反应生成具有 2 个负吸收峰的红色离子缔合物, 最大负吸收波长位于 556 nm, 次大负吸收波长位于 584 nm, 表观摩尔吸光系数 ( $\kappa$ ) 分别为  $4.22 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$  (556 nm) 和  $3.74 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$  (584 nm), 酒石酸美托洛尔的质量浓度在 0.06 ~ 4.1 mg/L 范围内服从比尔定律, 检出限分别为 0.045 mg/L (556 nm) 和 0.052 mg/L (584 nm)。当采用双波长叠加负吸收分光光度法测定时, 其表观摩尔吸光系数 ( $\kappa$ ) 可达  $7.96 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ , 检出限为 0.024 mg/L。探讨了吸收光谱特征、适宜显色反应条件及共存物质的影响。该方法的加标回收率和相对标准偏差  $RSD(n=5)$  分别为 98.60% ~ 102.8% 和 1.9% ~ 2.3%, 该方法适于市售酒石酸美托洛尔药物中酒石酸美托洛尔的测定。

**关键词:** 酒石酸美托洛尔; 甲酚红; 双波长; 负吸收; 分光光度法

中图分类号: O657.3; R917

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2018)03-0229-04

DOI: 10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2018.03.051

## Determination of metoprolol tartrate by dual-wavelength negative absorption spectrophotometry with cresol red as probe

ZHANG Shu-qiong, LI Hao, QIN Li-rong, DING Shi-min, JIANG Hong\*

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Yangtze Normal University, Chongqing 408100, China)

**Abstract:** In a weak alkaline Tris-hydrochloric acid medium, metoprolol tartrate reacts with cresol red to form an red ionic association complex with two obvious negative absorption peaks. The maximum negative absorption wavelength locates at 556 nm and the second largest negative absorption wavelength locates at 584 nm. Their apparent molar absorptivity ( $\kappa$ ) are  $4.22 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$  (556 nm) and  $3.74 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$  (584 nm) respectively. Metoprolol tartrate obeys Beer's law in definite mass concentration range of 0.06 to 4.1  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  and the detection limits are 0.045  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (556 nm) and 0.052  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (584 nm) respectively. When the dual-wavelength superposition negative absorption spectrophotometry is used to determine the concentrations of metoprolol tartrate, its apparent molar absorptivity ( $\kappa$ ) can achieve  $7.96 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$  and the detection limit is 0.024  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . The absorption spectral characteristics, suitable chromogenic reaction conditions and effects of the coexistence material are studied. The standard addition recovery and  $RSD(n=5)$  are in the ranges of 98.60% - 102.8% and 1.9% - 2.3% respectively when this method is applied to determine the content of metoprolol tartrate in drug. This method is suitable for the determination of metoprolol tartrate in commercially available metoprolol tartrate medicine.

**Key words:** metoprolol tartrate; cresol red; dual-wavelength; negative absorption; spectrophotometry

酒石酸美托洛尔又叫倍它乐克, 是临床上治疗心血管疾病应用最为广泛的药物之一, 属第 2 代选择性肾上腺  $\beta_1$  受体阻滞剂, 适于高血压、心绞痛的治疗, 可以减少心肌梗死的发生率, 降低心肌梗死后的死亡率<sup>[1-2]</sup>。酒石酸美托洛尔有一定的毒副作用, 用药过量会引起低血压和心率减慢, 已被国际反兴奋剂组织列为运动员禁用的药品之一。由此可见, 研究药物中酒石酸美托洛尔的检测方法具有一定意义。目前, 国内外对酒石酸美托洛尔的检测方

法主要有高效液相色谱法<sup>[3-6]</sup>、电化学法<sup>[7-9]</sup>、液相色谱-质谱联用法<sup>[10-11]</sup>、核磁共振波谱法<sup>[12]</sup>、滴定法<sup>[13]</sup>、荧光法<sup>[14]</sup>及少数紫外-可见分光光度法<sup>[15-16]</sup>等。紫外-可见分光光度法灵敏度低, 文献[15]中所述方法得到的表观摩尔吸光系数为  $6.83 \times 10^3 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ , 文献[16]中所述方法得到的表观摩尔吸光系数只有  $1.92 \times 10^3 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ 。笔者以甲酚红作探针, 采用双波长叠加负吸收分光光度法研究酒石酸美托洛尔的定量分析方法, 目前尚未见

收稿日期: 2017-08-12

基金项目: 重庆市教委科技基金资助项目 (KJ1401226); 重庆市教委科技基金资助项目 (KJ1401202); 长江师范学院科技基金资助项目 (2017XKY093)

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。

文献报道,该方法有较高的灵敏度,用于药物中酒石酸美托洛尔测定的结果满意。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

U-3010 型紫外-可见分光光度计,日本日立公司生产;pHS-3C 精密酸度计,上海虹益仪器仪表有限公司生产。

甲酚红(CRE,分析纯,武汉易泰科技有限公司上海分公司生产)溶液: $1.00 \times 10^{-3}$  mol/L;酒石酸美托洛尔(MPT,质量分数 $\geq 99\%$ ,中国食品药品检定研究所生产,批号:100084-201403)标准溶液:准确称取适量的酒石酸美托洛尔对照品,用水溶解后配成 342.4 mg/L 贮备液,冰箱 4℃ 保存;操作液为 34.24 mg/L,临用时取贮备液配制。三羟甲基氨基甲烷(Tris;分析纯,齐一生物科技(上海)有限公司生产);盐酸(分析纯,重庆华东化工有限公司生产)缓冲溶液:称取适量的 Tris 配成 0.20 mol/L 溶液,取适量盐酸配成 0.10 mol/L 溶液,再将适量 Tris 溶液和盐酸溶液混合,用酸度计测定,配成 pH 3.0~9.8 的溶液。试验用水为二次蒸馏水。

样品:酒石酸美托洛尔片(1<sup>#</sup>,阿斯利康药业(中国)有限公司生产,产品批号:1609A20;2<sup>#</sup>,江苏常州四药制药有限公司生产,产品批号:20160614;3<sup>#</sup>,烟台巨先药业有限公司生产,产品批号:161004)。

### 1.2 样品处理

取 1<sup>#</sup>~3<sup>#</sup>酒石酸美托洛尔片各 5 片,分别置于小烧杯中,用适量水溶解后过滤,滤液盛于 1 000 mL 容量瓶中,用水定容。准确移取该定容液 10.00 mL 于 100 mL 容量瓶中,用水定容、摇匀,即为各待测液。

### 1.3 实验方法

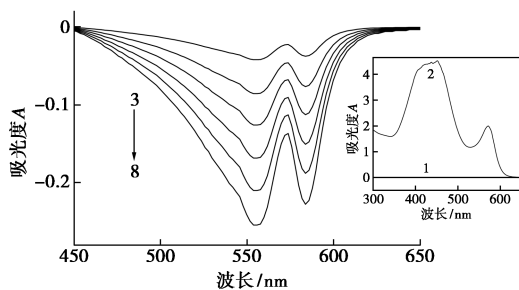
用移液管准确移取适量的 34.24 mg/L 酒石酸美托洛尔标准溶液于 10 mL 具塞比色管中,加入 1.00 mL pH 8.63 Tris-盐酸溶液和 3.50 mL  $1.00 \times 10^{-3}$  mol/L 甲酚红溶液,用水稀释至刻度,摇匀,10 min 后,在 U-3010 分光光度计上进行扫描,用双波长(556 nm+558 nm)负吸收分光光度法求体系溶液的吸光度  $A$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 甲酚红-酒石酸美托洛尔的吸收光谱

CRE-MPT 的吸收光谱图如图 1 所示。从图 1 中曲线 1 可知,酒石酸美托洛尔溶液在可见光区几乎无吸收。从图 1 中曲线 2 可知, $3.50 \times 10^{-5}$  mol/L

甲酚红(pH 8.63)溶液在可见光区有强吸收,最大吸收波长位于 450 nm,吸光强度  $A=4.495$ 。当在酒石酸美托洛尔的弱碱性溶液中加入甲酚红溶液后,体系溶液颜色变浅(相对于甲酚红溶液),在可见光区,出现 2 个明显的负吸收峰,最大负吸收波长位于 556 nm,红移 106 nm,次大负吸收波长位于 584 nm,红移 134 nm。波移表明,甲酚红与酒石酸美托洛尔在弱碱性溶液中确实发生了褪色反应。由于甲酚红是一种酸性染料,而酒石酸美托洛尔分子结构上的氮原子有孤对电子,可以接受质子变成阳离子,因此甲酚红可以与酒石酸美托洛尔以静电引力结合生成二元离子缔合物。从曲线 3~8 可知,在可见光区 556 nm 和 584 nm 波长处,随着酒石酸美托洛尔浓度的不断增加,体系溶液的吸光度绝对值  $|A|$  逐渐增大,在酒石酸美托洛尔一定浓度范围内,酒石酸美托洛尔的质量浓度与反应生成的缔合物的吸光度绝对值  $|A|$  呈线性关系并服从朗伯-比尔定律。当用双波长(DWO)叠加负吸收法测定时,由于吸光度的加和性,酒石酸美托洛尔在一定浓度范围内的质量浓度与缔合物的吸光度绝对值  $|A|$  仍呈线性关系并服从比尔定律,且其灵敏度 [ $\kappa=7.96 \times 10^4$  L/(mol·cm)] 是单波长(SWO)负吸收法的 1.8~2.1 倍;是文献[15]中所述方法灵敏度的 11 倍和文献[16]中所述方法灵敏度的 40 倍。故选用双波长负吸收法来定量检测酒石酸美托洛尔的含量。



1—3.42 mg/L MPT,水作参比;2— $3.50 \times 10^{-5}$  mol/L CRE,水作参比;3~8—0.685、1.37、2.05、2.74、3.42、4.11 mg/L MPT— $3.50 \times 10^{-4}$  mol/L CRE,试剂空白作参比;pH:8.63

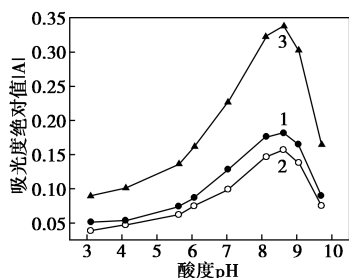
图 1 MPT-CRE 的吸收光谱

### 2.2 反应条件

#### 2.2.1 溶液酸度

室温下不同 pH 的 Tris-盐酸溶液对 CRE-MPT 褪色反应灵敏度的影响如图 2 所示。结果表明:缓冲溶液 pH 为 8.63 时,褪色反应的  $|A|$  较大,表明其灵敏度较高,故实验用 pH 8.63 的缓冲溶液。继而又考察了不同用量的 pH 8.63 的缓冲溶液对褪色反

应灵敏度的影响,结果表明,缓冲溶液用量为1.00 mL时,褪色反应灵敏度较高。故实验用pH 8.63的Tris-盐酸溶液1.00 mL。从图2可以看出,双波长负吸收法的灵敏度比单波长法高。

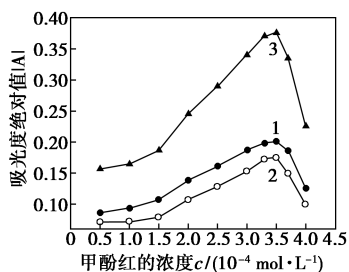


1—单波长(556 nm)负吸收法;2—单波长(584 nm)负吸收法;  
3—双波长(556 nm+584 nm)负吸收法

图2 pH的影响

### 2.2.2 显色剂溶液的浓度

室温下不同浓度的甲酚红溶液对CRE-MPT褪色反应灵敏度的影响如图3所示。由图3可以看出,甲酚红溶液浓度为 $3.50 \times 10^{-4}$  mol/L时,缔合物的吸光度绝对值|A|相对最大,表明褪色反应灵敏度最高。当甲酚红溶液的浓度大于或小于 $3.50 \times 10^{-4}$  mol/L,其缔合物的|A|均有所降低,原因是当甲酚红溶液浓度小于 $3.50 \times 10^{-4}$  mol/L时,甲酚红与酒石酸美托洛尔间的反应不完全;当甲酚红溶液浓度大于 $3.50 \times 10^{-4}$  mol/L时,因显色剂的聚集作用影响缔合物的吸光度,从而使|A|降低。故实验中选用3.50 mL  $1.00 \times 10^{-3}$  mol/L甲酚红溶液。从图3可以看出,双波长负吸收法的灵敏度比单波长法高。



1—单波长(556 nm)负吸收法;2—单波长(584 nm)负吸收法;  
3—双波长(556 nm+584 nm)负吸收法

图3 甲酚红浓度的影响

### 2.2.3 试剂加入顺序

室温下各试剂不同加入顺序对CRE-MPT褪色反应灵敏度的影响如表1所示。由表1可以看出,按标准溶液、缓冲溶液、显色剂溶液的顺序加入各试剂,褪色反应的灵敏度相对较高。故实验按此最佳加入顺序加入各试剂溶液。

表1 试剂加入顺序的影响

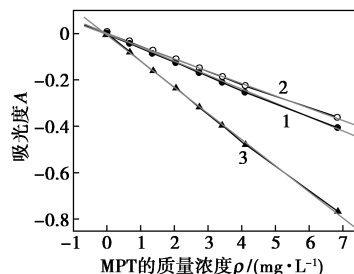
试剂加入顺序	A	
	556 nm	584 nm
标准溶液-显色剂-缓冲溶液	2.02	1.76
标准溶液-缓冲溶液-显色剂	2.11	1.87
显色剂-缓冲溶液-标准溶液	1.96	1.73

### 2.2.4 反应时间

考察了室温下反应时间对CRE-MPT褪色反应灵敏度的影响。结果表明:反应从开始至10 min, |A|-t 曲线表现为随着时间的增加|A|逐渐增大的一条斜线,表明这段时间内甲酚红与酒石酸美托洛尔的反应并未完全;10 min后,随着反应时间的增加,|A|-t 曲线基本处于同一平台上,说明甲酚红与酒石酸美托洛尔的反应已进行完全,缔合物稳定时间至少1 h。故实验选在10 min后进行测定。

### 2.3 酒石酸美托洛尔标准曲线

在选定的最佳条件下,按1.3中所述实验方法配制MPT标准系列溶液并扫描吸收光谱。以吸光度A为纵坐标,MPT的质量浓度 $\rho$ 为横坐标作 $A_{556}-\rho$ 、 $A_{584}-\rho$ 及 $A_{556+584}-\rho$ 标准曲线,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、检出限等如表2所示。



1—556 nm;2—584 nm;3—(556+584) nm

图4 标准曲线

表2 标准曲线相关参数

方法	回归方程 $\rho$ / ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	回归 系数/ $r$	线性 范围/ ( $\text{mg} \cdot$ $\text{L}^{-1}$ )	表观摩尔 吸光系数 $\kappa$ / [ $\text{L} \cdot$ ( $\text{mol} \cdot$ $\text{L}^{-1}$ ) $\text{cm}^{-1}$ ]	检出限/ ( $\text{mg} \cdot$ $\text{L}^{-1}$ )
SWO	$A_{556} =$ $-0.00348 - 0.05953\rho$	-0.9997	0.06~ 4.1	$4.22 \times 10^4$	0.045
SWO	$A_{584} =$ $-0.00288 - 0.05312\rho$	-0.9997	0.06~ 4.1	$3.74 \times 10^4$	0.052
DWO	$A_{556+584} =$ $-0.00635 - 0.1127\rho$	-0.9997	0.06~ 4.1	$7.96 \times 10^4$	0.024

## 2.4 共存物质的影响

考察了常见共存物质在相对误差  $\leq \pm 5\%$  时,对测定 3.424 mg/L 酒石酸美托洛尔的影响。结果表明 100 倍的  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、*L*-色氨酸、*L*-赖氨酸、*L*-亮氨酸、*L*-白氨酸、*L*-组氨酸、甘氨酸、*L*-异亮氨酸、*L*-谷氨酸; 50 倍的  $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{Ba}^{2+}$ 、 $\text{Sr}^{2+}$ 、 $\text{Sn}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 、 $\text{SO}_3^{2-}$ ; 20 倍的淀粉、尿素、柠檬酸三钠、 $\text{I}^-$ 、 $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ ; 5 倍的  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$  等不干扰测定。由此可见,常见阴、阳离子及糖类、氨基酸不干扰测定,虽然  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$  的允许量较小,但药物中金属离子一般很少存在。故该方法有良好的选择性。

## 3 分析应用

取 1.2 中所得各待测液 1.00 mL, 分别置于 10 mL 比色管中,按实验方法配制溶液并用双波长负吸收法测定各待测液中酒石酸美托洛尔的含量,最后求出原始样品中酒石酸美托洛尔的含量,各平行测定 6 份。继而作各样品 3 个不同加标梯度的回收试验,各平行测定 6 份,求出回收率及相对标准偏差。结果如表 3 所示。

表 3 样品分析及回收试验 ( $n=5$ )

样品	测得值/ ( $\text{mg} \cdot \text{片}^{-1}$ )	标示量/ ( $\text{mg} \cdot \text{片}^{-1}$ )	取样量 $\rho/$ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	加标量 $\rho/$ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	测得值 $\rho/$ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	平均 回收 率/%	RSD/ %
1 <sup>#</sup>	24.38	25	1.219	0.6848	1.895	98.71	2.3
				1.370	2.575	98.98	2.1
				2.054	3.250	98.88	2.2
2 <sup>#</sup>	23.98	25	1.199	0.3424	1.551	102.8	2.2
				1.027	2.242	101.6	2.0
				2.397	3.621	101.0	2.0
3 <sup>#</sup>	26.14	25	1.307	1.027	2.325	99.12	1.9
				1.370	2.662	98.91	2.0
				1.712	2.995	98.60	2.1

## 4 结论

在弱碱性条件下,用甲酚红作探针测定酒石酸美托洛尔的双波长负吸收光度法简便、快速,较一般光度法具有更高的灵敏度,该方法的准确度(回收率为 98.60%~102.8%)和精密性(相对标准偏差为 1.9%~2.3%)完全满足痕量分析要求,并有较宽的线性范围和良好的选择性,测定结果与标示量接近,符合允许误差要求。该方法适于市售酒石酸美托洛尔片剂中酒石酸美托洛尔含量的定量测定。

## 参考文献

- [1] Perreault S, Denus S, White M, *et al.* Risk of mortality and hospital readmission among older adults with heart failure treated with carvedilol, bisoprolol or metoprolol tartrate [J]. *Value in Health*, 2016, 19(7): A637-A637.
- [2] 邓碧霞, 叶茂清. 酒石酸美托洛尔控释片治疗老年慢性充血性心力衰竭的临床疗效研究 [J]. *海峡药学*, 2016, 28(4): 187-188.
- [3] 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: 1189.
- [4] Sylwia M, Anna K, Jacek B. Salting-out assisted extraction method coupled with hydrophilic interaction liquid chromatography for determination of selected  $\beta$ -blockers and their metabolites in human urine [J]. *Journal of Chromatography B*, 2016, 1022: 93-101.
- [5] 程彪平, 李来生, 周仁丹, 等.  $\beta$ -环糊精类手性液相色谱固定相拆分和测定药片中美托洛尔对映体 [J]. *分析试验室*, 2014, 33(10): 1151-1155.
- [6] 李沙, 王兴立, 符少莲, 等. 高效液相色谱-紫外法检测家兔血浆美托洛尔的浓度及药动学 [J]. *中国医院药学杂志*, 2012, 32(10): 741-744.
- [7] Carlos A R S N, Ana P P E, Vitória G R, *et al.* Differential pulse voltammetric method for the individual and simultaneous determination of antihypertensive drug metoprolol and its association with hydrochlorothiazide in pharmaceutical dosage forms [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2016, 230: 630-638.
- [8] Engin E, Hüseyin Ç, Nevin E. A novel electrochemical nano-platform based on graphene/platinum nanoparticles/nafion composites for the electrochemical sensing of metoprolol [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2017, 238: 779-787.
- [9] Minh D L, Hong A D, Manh H N, *et al.* Screening determination of pharmaceutical pollutants in different water matrices using dual-channel capillary electrophoresis coupled with contactless conductivity detection [J]. *Talanta*, 2016, 160: 512-520.
- [10] Thomas H M, Nicolas R B, Stewart F O, *et al.* Uptake, biotransformation and elimination of selected pharmaceuticals in a freshwater invertebrate measured using liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Chemosphere*, 2017, 183: 389-400.
- [11] 陈美玲, 张礼金, 周杰兆, 等. LC-MS/MS 同时测定比格犬血浆中非洛地平和美托洛尔 [J]. *解放军药学报*, 2016, 32(3): 202-205, 210.
- [12] 张爱君, 陶闰红, 毕洪书, 等. 核磁共振波谱法测定盐酸卡替洛尔等 9 种洛尔类药物对照品的绝对含量 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2015, 32(1): 40-44.
- [13] 高学鹏, 张云. 多元校正滴定法测定酒石酸美托洛尔 [J]. *分析科学学报*, 2010, 26(1): 97-99.
- [14] Jing C, Bao Q L, Min L X, *et al.* Krawtchouk image moment method for the simultaneous determination of three drugs in human plasma based on fluorescence three-dimensional spectra [J]. *Talanta*, 2016, 161: 99-104.
- [15] 于丽丽, 刘佳川, 康剑锋, 等. 荷移分光光度法测定酒石酸美托洛尔 [J]. *分析试验室*, 2010, 29(10): 84-86.
- [16] 于丽丽, 刘佳川, 穆伟, 李华侃. 氯再酸荷移分光光度法测定酒石酸美托洛尔 [J]. *化学试剂*, 2010, 32(11): 1003-1005. ■