

# 偶氮胍Ⅲ探针双波长可见吸收光谱法 测定药物中乌拉地尔

庞向东, 吴文婕, 丁世敏, 冉茂媛, 李佳芹, 刘春英, 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:**在 pH 7.93 的弱碱性 Tris-盐酸介质中, 乌拉地尔与偶氮胍Ⅲ反应生成具有 1 个明显正吸收峰和 1 个明显负吸收峰的二元离子缔合物, 最大正吸收峰位于 629 nm, 最大负吸收峰位于 521 nm, 其表观摩尔吸光系数( $\kappa$ )分别为  $2.27 \times 10^4$  L/(mol·cm) (629 nm) 和  $1.81 \times 10^4$  L/(mol·cm) (521 nm), 当采用双波长可见吸收光谱法测定时, 其表观摩尔吸光系数( $\kappa$ )可达  $4.08 \times 10^4$  L/(mol·cm), 线性范围均为 0.01~4.2 mg/L, 服从朗伯-比尔定律, 据此建立了测定乌拉地尔的双波长可见吸收光谱法。结果表明, 该方法可用于市售乌拉地尔片剂和针剂药物中乌拉地尔含量的测定。

**关键词:** 乌拉地尔; 偶氮胍Ⅲ; 双波长; 可见光区; 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)05-0224-04

DOI: 10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2018.05.051

## Determination of urapidil in drugs by dual wavelength visible absorption spectrometry with arsenazo III as probe

PANG Xiang-dong, WU Wen-jie, DING Shi-min, RAN Mao-yuan, LI Jia-qin,  
LIU Chun-ying, JIANG Hong\*

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

**Abstract:** In weak alkaline Tris-hydrochloric acid media with a pH value of 7.93, urapidil reacts with arsenazo III to form binary ion association complexes with an obvious positive absorption peak and an obvious negative absorption peak. The maximum positive and negative absorption peaks locate at 629 nm and 521 nm, respectively, and their apparent molar absorptivity ( $\kappa$ ) are  $2.27 \times 10^4$  L/(mol·cm) and  $1.81 \times 10^4$  L/(mol·cm) respectively. When the dual wavelength visible absorption spectrometry is used to determine the concentration of urapidil, its apparent molar absorptivity ( $\kappa$ ) can achieve  $4.08 \times 10^4$  L/(mol·cm). The linear range is always in the 0.01~4.2 mg·L<sup>-1</sup>, which obeys to Lambert-Beer's law. On this basis, a dual wavelength visible absorption spectroscopy method is established for the determination of urapidil. The satisfactory results can be obtained when this method is applied to determine the content of urapidil in commercially available urapidil tablet and injection medicines.

**Key words:** urapidil; arsenazo III; dual wavelength; visible light region; absorption spectrometry

乌拉地尔是一种苯哌嗪取代的咪啉衍生物, 是德国 BYKGULDEN 药厂开发的具有起效快、疗效确切、耐受性好、对心率无明显影响、适于各种类型高血压等的一种特殊降压药物, 也是临床上用于治疗重症高血压、妊娠高血压疾病伴先兆子痫、急性冠脉综合征、高血压危象伴心力衰竭及手术中维持血

压的首选药物。该药物对高血压患者降压效果特别明显, 但对血压正常者无明显降压作用, 因此, 乌拉地尔是一种降压机制不同于其他降压药的安全性相对较高的降压药物。但使用该药的过程中, 可能出现某些副作用, 如恶心、呕吐、烦躁、乏力、心悸、心律不齐、上胸部压迫感或呼吸困难等症状。为了合理

收稿日期: 2017-10-23; 修回日期: 2018-03-13

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 (2017CXX090)

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。

用药,对其药物含量的快速检测显得非常重要和必要。目前,国内外对乌拉地尔的检测方法研究较少,文献报道的主要有高效液相色谱法<sup>[1-5]</sup>、色谱-质谱联用法<sup>[6]</sup>、化学发光法<sup>[7]</sup>及电位滴定法<sup>[8-9]</sup>等。笔者以偶氮胍Ⅲ作探针,采用双波长可见吸收光谱法来研究药物中乌拉地尔的检测方法。

## 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,日本日立公司生产;EL104型电子天平,上海梅特勒-托利多仪器有限公司生产;pHS-3C精密酸度计,上海虹益仪器仪表有限公司生产

乌拉地尔(简称为URD,中国药品生物制品检定所生产,批号:100842-200501)标准溶液:231.7 mg/L贮备液(在电子天平上准确称取适量乌拉地尔对照品于小烧杯中,用少量无水乙醇溶解后转移至100 mL容量瓶中,用水稀释至刻度),冰箱4℃保存;操作液:23.17 mg/L(临用时取适量贮备液用水稀释10倍)。偶氮胍Ⅲ(简称为ARN,成都市科龙化工试剂厂生产)溶液: $1.00 \times 10^{-3}$  mol/L; Tris(三羟甲基氨基甲烷)-盐酸溶液:pH 3.0~9.5(取适量配制好的0.10 mol/L盐酸和适量0.20 mol/L Tris溶液混合,用pH计测定)。样品:乌拉地尔缓释片(1<sup>#</sup>和2<sup>#</sup>;市售);乌拉地尔注射液(3<sup>#</sup>;市售)。所用试剂均为分析纯,水为二次蒸馏水。

### 1.2 样液的制备

取乌拉地尔缓释片1<sup>#</sup>和2<sup>#</sup>各10片,分别用适量无水乙醇溶解,再加适量蒸馏水,搅拌后过滤,滤液置于1000 mL容量瓶中,用二次蒸馏水稀释至刻度,摇匀;取该定容液10.00 mL,用二次蒸馏水稀释至100 mL,摇匀,即配成乌拉地尔缓释片待测液。另取乌拉地尔注射液2支,将内容物置于500 mL容量瓶中,加入适量无水乙醇,再用二次蒸馏水稀至刻度,摇匀;取该定容液10.00 mL,用水稀释至100 mL,摇匀,即配成乌拉地尔注射液的待测液。

### 1.3 实验方法

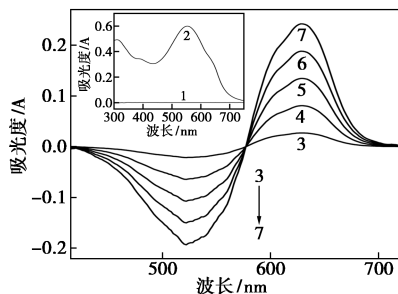
于10 mL具塞比色管中准确加入一定量的23.17 mg/L乌拉地尔标准溶液(或样液),再加入0.50 mL pH 7.93 Tris-盐酸溶液及2.00 mL  $1.00 \times 10^{-3}$  mol/L偶氮胍Ⅲ溶液,用二次蒸馏水稀释至10 mL,摇匀,5 min后,在U-4100型紫外-可见-近红外分光光度计上扫描溶液的紫外-可见吸收光谱,以试剂空白作参比,再以521 nm作参比波长,

629 nm作测定波长,用双波长法测定溶液的吸光度 $A_{521+629}$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 URD-ARN的吸收光谱特征

乌拉地尔与偶氮胍Ⅲ体系的紫外-可见吸收光谱图如图1所示。从图1中可以看出,在可见光区,乌拉地尔溶液几乎无吸收(曲线1),偶氮胍Ⅲ溶液有强吸收(曲线2),最大吸收峰位于554 nm。当在乌拉地尔的弱碱性溶液中加入偶氮胍Ⅲ溶液后,由于乌拉地尔分子结构上有5个具有孤对电子的氮原子,其中6-氨基及哌嗪基上的氮原子表现出一定的碱性,而偶氮胍Ⅲ是一种双偶氮酸性染料,分子结构二磺酸上的氢离子易于离去,使偶氮胍Ⅲ在溶液中以阴离子形式存在,于是乌拉地尔与偶氮胍Ⅲ以静电引力作用生成二元离子缔合物。该二元离子缔合物在光谱曲线上出现1个具有较大吸光度的正吸收峰和1个具有较大负吸光度的负吸收峰。最大正吸收峰位于629 nm,红移75 nm,最大负吸收峰位于521 nm,蓝移33 nm。波移进一步表明,乌拉地尔与偶氮胍Ⅲ确实能反应生成新的物质。在521 nm和629 nm波长处,乌拉地尔在一定浓度范围内,随着乌拉地尔浓度的逐渐增大,URD-ARN体系的吸光度绝对值(|A|)随之增大(曲线3~7),并服从朗伯-比尔定律。当以521 nm为参比波长,629 nm为测定波长,用双波长-可见吸收(DWO-VIS)法测定时,一定浓度范围内的乌拉地尔的质量浓度与吸光度呈线性关系,仍服从朗伯-比尔定律,但灵敏度约是单波长-可见吸收(SWO-VIS)法的2倍。因此选用灵敏度相对较高的双波长法对乌拉地尔进行定量测定。



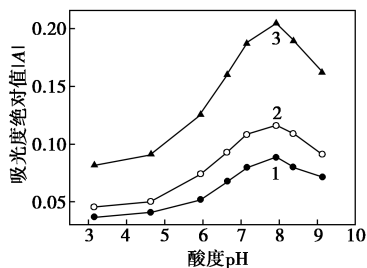
1—2.32 mg/L URD,水作参比;2— $2.00 \times 10^{-5}$  mol/L ARN,水作参比;3~7—0.463、1.39、2.32、3.24、4.17 mg/L URD— $2.00 \times 10^{-4}$  mol/L ARN,试剂空白作参比;pH 7.93

图1 乌拉地尔与偶氮胍Ⅲ体系的紫外-可见吸收光谱

### 2.2 反应条件

#### 2.2.1 溶液酸度及用量

室温下不同 pH 的 Tris-盐酸溶液对 URD-ARN 体系灵敏度的影响如图 2 所示。从图 2 中可以看出,无论是用单波长法还是双波长法进行测定,最佳酸度均为 pH 7.93,但双波长法的吸光度绝对值 |A| 最大,灵敏度最高。继而讨论了 pH 7.93 的最佳用量,结果表明,适宜用量为 0.50 mL。故选择用灵敏度相对更高的双波长法进行测定,使用 0.50 mL pH 7.93 的 Tris-盐酸溶液。

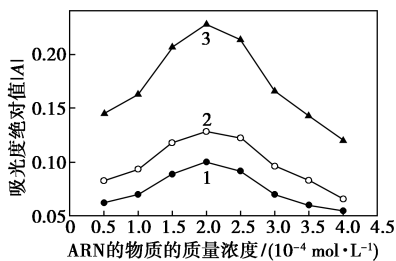


1—521 nm; 2—629 nm; 3—(521+629) nm

图 2 pH 的影响

#### 2.2.2 偶氮胍 III 溶液的浓度

室温下不同浓度的偶氮胍 III 溶液对 URD-ARN 体系灵敏度的影响如图 3 所示。从图 3 可以看出,无论是用单波长法还是双波长法进行测定,偶氮胍 III 溶液的最佳浓度为  $2.00 \times 10^4$  mol/L,此时吸光度绝对值相对最大,灵敏度最高。当偶氮胍 III 溶液浓度大于或小于  $2.00 \times 10^4$  mol/L 时,吸光度绝对值均有不同程度的降低。其原因是当偶氮胍 III 溶液浓度大于  $2.00 \times 10^4$  mol/L 时,偶氮胍 III 自身的聚集会影响到新物质的形成,因此,使吸光度绝对值降低;当偶氮胍 III 溶液浓度小于  $2.00 \times 10^4$  mol/L 时,则由于二物质显色反应不完全,使吸光度值也有所降低。从图 3 中还可以看出,单波长法和双波长法相比较,双波长法有更高的灵敏度。故选用双波长法进行测定,并用 2.00 mL  $1.00 \times 10^3$  mol/L 偶氮胍 III 溶液。



1—521 nm; 2—629 nm; 3—(521+629) nm

图 3 偶氮胍 III 溶液浓度的影响

#### 2.2.3 试剂加入顺序

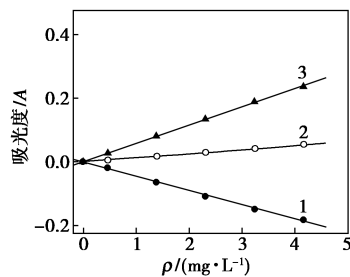
在上述选定的实验条件下,考察了试剂不同加入顺序对 URD-ARN 体系灵敏度的影响。结果表明,试剂加入顺序对体系灵敏度基本无明显影响,因此,该体系可按任意顺序加入各试剂。

#### 2.2.4 反应时间及稳定性

在上述选定的最佳实验条件下,考察了反应时间对 URD-ARN 体系灵敏度的影响。结果表明,乌拉地尔与偶氮胍 III 溶液的显色反应在 5 min 内即可进行完全,5 min 前,曲线表现为一条吸光度随时间逐渐增大的一条斜线,表明此时反应并未完全;5 min 后至 100 min,吸光度基本不随时间而变化,曲线几乎处于同一平台上,表明生成的新物质至少可稳定约 1.5 h。因此,实验中选在 5 min 后进行测定。

### 2.3 标准曲线

用移液管准确移取 23.17 mg/L 乌拉地尔标准溶液 0.00、0.20、0.60、1.00、1.40、1.80 mL,分别置于 10 mL 比色管中,根据选定的最佳实验条件,加入其他试剂溶液,用水稀至 10 mL,摇匀,5 min 后按 1.3 中所述的实验方法扫描各溶液的吸收光谱。再以体系的吸光度为纵坐标,以乌拉地尔的质量浓度为横坐标作  $A_{521}-\rho$ 、 $A_{629}-\rho$  及  $A_{521+629}-\rho$  标准曲线,结果图 4 所示,相关参数见表 1。



1—521 nm; 2—629 nm; 3—(521+629) nm

图 4 标准曲线

表 1 标准曲线相关参数

| 方法   | SWO-VIS                 | SWO-VIS                 | DWO-VIS                  |
|--|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| 波长 $\lambda$ /nm   | 521                     | 629                     | 521+629                  |
| 回归方程 $\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$                          | $A=0.00144-0.04454\rho$ | $A=0.00130+0.05719\rho$ | $A=-0.00014+0.01265\rho$ |
| 相关系数 $r$   | -0.9988                 | 0.9996                  | 0.9987                   |
| 线性范围 $\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$                          | 0.01~4.2                | 0.01~4.2                | 0.01~4.2                 |
| 表观摩尔吸光系数 $\kappa/[\text{L} \cdot (\text{mol} \cdot \text{cm})^{-1}]$ | $1.81 \times 10^4$      | $2.27 \times 10^4$      | $4.08 \times 10^4$       |

## 2.4 干扰试验

考察了双波长法测定时某些常见共存物质对乌拉地尔(2.317 mg/L)测定的影响。结果表明,下列物质不干扰测定(相对误差 $\leq \pm 5\%$ ):100倍的 $K^+$ 、 $Na^+$ 、 $NH_4^+$ 、 $NO_3^-$ 、L-赖氨酸、L-色氨酸、葡萄糖、蔗糖;80倍的麦芽糖、D-甘露糖、D-果糖、乳糖、L-亮氨酸、甘氨酸、L-组氨酸、谷氨酸、L-白氨酸;40倍的 $Ba^{2+}$ 、 $Sr^{2+}$ 、 $Mn^{2+}$ 、 $Sn^{2+}$ 、 $Pb^{2+}$ 、 $S_2O_3^{2-}$ 、 $SO_3^{2-}$ 、 $Ac^-$ 、 $Cl^-$ ;20倍的 $Fe^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Hg^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $C_2O_4^{2-}$ 、淀粉、尿素、柠檬酸钠;10倍的 $Cu^{2+}$ ;5倍的 $Al^{3+}$ ;3倍的 $Fe^{3+}$ 。可见,绝大多数常见阴、阳离子及糖类、氨基酸等不干扰测定。 $Fe^{3+}$ 、 $Al^{3+}$ 允许量虽然较小,但可通过加入1.0 mL 1:2的三乙醇胺予以掩蔽。故该方法具有良好的选择性。

## 3 分析应用

取已制备好的乌拉地尔缓释片待测液1<sup>#</sup>和2<sup>#</sup>各0.60 mL,乌拉地尔注射液待测液3<sup>#</sup>1.50 mL,分别置于10 mL具塞比色管中,按所述实验方法分别加入其他试剂溶液,用二次蒸馏水稀至10 mL,摇匀,5 min后,在U-4100型紫外-可见-近红外分光光度计上扫描各溶液的紫外-可见吸收光谱。根据DWO-VIS法的标准曲线回归方程及样液谱图,求各待测液中乌拉地尔的含量,再进一步求出原始药物中乌拉地尔的质量浓度,各平行测定6份。

加标回收试验:取适量样品,加入一定量的对照品溶液,按1.2中所述的样液制备方法制备

表2 样品分析及回收试验 (n=6)

| 样品                          | 1 <sup>#</sup> | 2 <sup>#</sup> | 3 <sup>#</sup> |
|-----------------------------|----------------|----------------|----------------|
| 标示量                         | 30 mg/片        | 30 mg/片        | 25 mg/支        |
| 测得值                         | 29.12 mg/片     | 28.97 mg/片     | 24.84 mg/支     |
| 取样量/(mg·L <sup>-1</sup> )   | 1.747          | 1.738          | 1.490          |
| 加入标准量/(mg·L <sup>-1</sup> ) | 1.158          | 1.854          | 2.085          |
| 测得平均值/(mg·L <sup>-1</sup> ) | 2.891          | 3.642          | 3.557          |
| 回收率/%                       | 98.79          | 102.7          | 99.14          |
| 相对标准偏差/%                    | 2.7            | 2.5            | 2.2            |

“样+标”待测液,再按1.3中所述方法配制溶液并用双波长法测定各样加标溶液中URD的质量浓度,各平行测定6份,最后求出实际样品中URD的质量浓度,并判断方法的准确度和精密度。结果如表2所示。

## 4 结论

在弱碱性溶液中,以偶氮肿Ⅲ作探针测定乌拉地尔的双波长的可见吸收光谱法具有灵敏度较高、线性范围较宽、操作简便、快速、药品处理简单安全、仪器易于普及等优点,准确度(回收率为98.79%~102.7%)和精密度(相对标准偏差为2.2%~2.7%)满足痕量分析要求,测定结果与标示量相比,药品符合允许误差要求。该方法可用于市售乌拉地尔注射液及片剂中乌拉地尔质量浓度的测定。

## 参考文献

- [1] 邱凯锋,姚少毅,邓丽华.高效液相色谱法测定乌拉地尔缓释胶囊的含量及有关物质[J].中国医院药学杂志,2011,31(23):1983-1984.
- [2] 果崇慧,刘德艳,何国云.高效液相色谱-紫外检测法测定人血浆中乌拉地尔的质量浓度[J].中国药业,2010,19(17):12-13.
- [3] 阎卉,姜峰,王成港.RP-HPLC法测定盐酸乌拉地尔注射液含量及有关物质[J].天津药学,2007,19(4):7-9.
- [4] 任洁,刘茜,王艳娇,等.RP-HPLC法测定乌拉地尔缓释胶囊的含量[J].沈阳药科大学学报,2005,22(5):371-373,382.
- [5] 刘玉真,聂新永,米中茂,等.盐酸乌拉地尔及其注射液中有关注物质的HPLC测定研究[J].药物分析杂志,2005,25(8):978-980.
- [6] Ma J S, Lin G Y, Wang X C. Determination of urapidil hydrochloride in rabbit plasma by LC-MS-MS and its application to a pharmacokinetic study[J]. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 2011, 34(4): 307-316.
- [7] Yue Q, Song Z, Wang C. Rapid determination of subnanogram urapidil using flow injection enhancement chemiluminescence[J]. Journal of Analytical Chemistry, 2006, 61(3): 295-299.
- [8] 耿庆光, 职雪莹, 郭欢迎. 电位滴定法和高效液相色谱法测定乌拉地尔含量的比较[J]. 中国药物警戒, 2016, 13(3): 143-145.
- [9] Zheng L, Song J F. Voltammetric behavior of urapidil and its determination at multi-wall carbon nanotube paste electrode[J]. Talanta, 2007, 73(5): 943-947. ■