

偶氮氯膦Ⅲ探针吸收光谱法 测定药物中的卡马西平

张淑琼, 李娜, 程丹, 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:建立了简便、快速、准确测定卡马西平的单波长和双波长可见吸收光谱法,探讨了反应条件、共存物质的影响及光谱特征。在弱酸性溶液中,偶氮氯膦Ⅲ与卡马西平以静电引力结合生成具有 2 个正吸收峰的离子缔合物,最大和次大正吸收波长分别为 614 nm 和 666 nm,在此 2 个波长处,卡马西平的质量浓度在 0~4.7 mg/L 范围内与吸光度 A 呈线性关系,服从朗伯-比尔定律,表观摩尔吸光系数(κ)分别为 $1.58 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ (614 nm) 和 $1.20 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ (666 nm)。用双波长叠加法测定时,其表观摩尔吸光系数(κ)达 $2.78 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$,方法的回收率为 98.0%~102%,相对标准偏差 $RSD(n=5)$ 为 2.3%~2.7%。该方法可用于药片中卡马西平的测定。

关键词:卡马西平;偶氮氯膦Ⅲ;吸收光谱;单波长;双波长

中图分类号:O657.3;R917

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2018)10-0240-04

DOI:10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2018.10.054

Determination of carbamazepine in drugs by absorption spectrometry with chlorophosphonazo III as a probe

ZHANG Shu-qiong, LI Na, CHENG Dan, JIANG Hong*

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Collaborative Innovation Center for Green Development in Wuling Mountain Areas, Yangtze Normal University, Chongqing 408100, China)

Abstract: A simple, rapid and accurate new method for the determination of carbamazepine by single wavelength and dual-wavelength visible absorption spectra is developed. The influences brought by reaction conditions and the coexisting substances, and the spectral characteristics are discussed. In a weak acidic solution, chlorophosphonazo III combines with carbamazepine via electrostatic attraction to form an ionic association complex with two positive absorption peaks. The maximum and secondary positive absorption wavelengths are located at 614 nm and 666 nm, respectively. At these two wavelengths, the mass concentration of carbamazepine keeps linear with absorbance A in the range of 0 to 4.7 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, which obeys Lambert-Beer law. The apparent molar absorptivities (κ) are $1.58 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ (614 nm) and $1.20 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ (666 nm) respectively. When the dual-wavelength superposition absorption spectrophotometry is used to determine the concentrations of carbamazepine, its apparent molar absorptivity (κ) can achieve $2.78 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$. The method's recovery and $RSD(n=5)$ are in the ranges of 98.0%–102% and 2.3%–2.7% respectively. The method can be used for the determination of carbamazepine in tablets with satisfactory results.

Key words: carbamazepine; chlorophosphonazo III; absorption spectrum; single wavelength; dual-wavelength

卡马西平是一种常见的精神性药物,其药理作用为抗惊厥、抗癫痫、抗神经性疼痛、抗躁狂-抑郁症、改善某些精神疾病的症状、抗中枢性尿频症等。但其有过敏反应、胃部不适反应、发热、恶心、呕吐、头晕嗜睡、乏力、再生障碍性贫血和中毒性肝炎等副作用。若过量用药,老年患者可能引起精神错乱、激动不安、焦虑、房室传导阻滞或心动过缓等。孕妇和哺乳期妇女会因服用卡马西平通过乳汁分泌或透过

胎盘屏障而影响身体健康。鉴于此,研究药物中卡马西平含量的检测方法有着重要意义。目前,检测卡马西平的主要方法有高效液相色谱法^[1-7]、液质联用^[8-10]、荧光法^[11]、分光光度法^[12]、电化学法^[13-15]等。其中分光光度法灵敏度不高,其表观摩尔吸光系数只有 $10^3 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$,但分光光度法操作简便、仪器价廉、易于普及,长期以来深受人们的青睐^[12]。笔者以偶氮氯膦Ⅲ[结构式如图 1(a)所

收稿日期:2018-04-27;修回日期:2018-08-07

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(2017CXX158)

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。

示]作探针,采用单波长法或双波长法测定药物中的卡马西平[结构式如图1(b)所示],具有较高灵敏度、准确度和精密度^[12]。

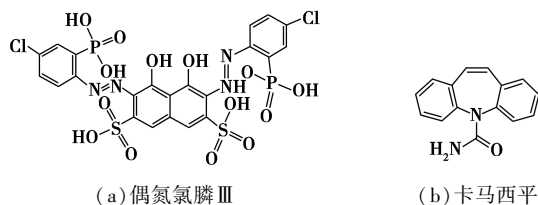


图1 结构式

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

紫外-可见-近红外光谱仪(U-4100型),日本日立公司生产;精密酸度计(pHS-3C型),上海虹益仪器仪表有限公司生产。

卡马西平(CAM,质量分数为99.7%,中国食品药品检定研究院生产,批号:100142-201105)标准溶液:精密称取卡马西平对照品适量,加入少量甲醇溶解后,定量转移到100 mL容量瓶中,用二次蒸馏水定容,配成质量浓度为236.3 mg/L,冰箱保存(4℃),操作液质量浓度为23.63 mg/L;偶氮氯膦Ⅲ(CPN,分析纯,上海琳帝化工有限公司生产)溶液: 1.00×10^{-3} mol/L;缓冲溶液:用酸度计测定0.020 mol/L Tris(三羟甲基氨基甲烷)与0.10 mol/L盐酸(HCl)混合液的pH,配成系列Tris-HCl溶液;水:二次蒸馏水;样品:市售不同厂家的卡马西平片(CAM 1#和CAM 2#)。

1.2 样品处理

取CAM 1#和CAM 2#各5粒,分别用少量无水乙醇溶解后加适量蒸馏水,搅匀、过滤,滤液盛于1 000 mL容量瓶中,用二次蒸馏水定容。精密量取定容液3.00 mL,置于100 mL容量瓶中,用水定容,即配成待测液。

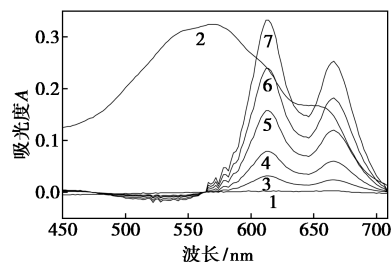
1.3 实验方法

准确移取4.00 mL pH 5.66 Tris-HCl缓冲溶液于比色管中,依次加入1.50 mL 1.00×10^{-3} mol/L CPN溶液和适量23.63 mg/L CAM标准溶液,用二次蒸馏水稀至10 mL,摇匀,15 min后,以试剂空白作参比,在U-4100型光谱仪上扫描吸收光谱,用单波长(614 nm或666 nm)法(SWO)或双波长(614 nm+666 nm)法(DWO)测定溶液的吸光度A。

2 结果与讨论

2.1 CPN-CAM的吸收光谱

CPN-CAM的吸收光谱如图2所示。从图2中可以看出,在450~700 nm范围,2.36 mg/L CAM溶液几乎无吸收(如图2中谱线1所示); 1.50×10^{-5} mol/L CPN的弱酸性溶液有较强吸收,最大吸收峰位于570 nm,吸光度 $A=0.325$ (如图2中谱线2所示)。当在CPN的弱酸性溶液中加入不同质量浓度的CAM溶液后,光谱曲线上呈现2个较强的吸收峰,分别位于614 nm(红移44 nm)和666 nm(红移96 nm),在此二波长处,吸光度A随着CAM溶液质量浓度的增大呈线性增强,并服从朗伯-比尔定律。从波移和图1结构式可知,CAM(在溶液中接受质子后变成阳离子)和CPN(酸根上的 H^+ 离子后变成阴离子)可以发生显色反应(弱酸性溶液中)并以静电引力结合生成缔合物。在614 nm和666 nm处,用DWO叠加法测定时,由于吸光度的加和性,CAM在一定浓度范围内,其质量浓度与CAM和CPN生成的新物质的吸光度A仍服从朗伯-比尔定律,且DWO法的灵敏度 $[\kappa=2.78 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})]$ 是SWO法 $[\kappa_{614}=1.58 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm}), \kappa_{666}=1.20 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})]$ 的1.8~2.3倍,比文献[12]中的高1个数量级。故SWO法和DWO法均可用于定量检测CAM。



1—2.36 mg/L CAM,水作参比;2— 1.50×10^{-5} mol/L CPN,水作参比;3~7—0.473、1.18、2.36、3.55、4.73 mg/L CAM— 1.50×10^{-4} mol/L CPN,试剂空白作参比;pH:5.66

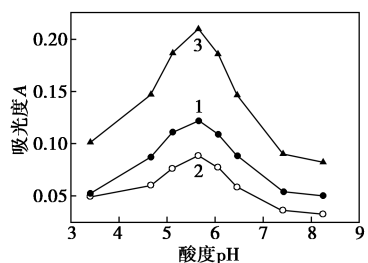
图2 偶氮氯膦Ⅲ-卡马西平的吸收光谱

2.2 反应条件

2.2.1 反应介质、酸度及用量的确定

考察了HAc-NaAc、Tris-HCl及BR缓冲溶液对显色反应的影响,结果显示,用Tris-HCl的效果相对更好,其吸光度A较大,实验选择Tris-HCl作为反应介质。pH对吸光度的影响如图3所示。从图3中可以看出,当Tris-HCl pH为5.66时,无论用

SWO 法还是 DWO 法测定,生成的新物质的吸光度 A 相对较大,方法的灵敏度也较高,当其用量为 4.00 mL 时,灵敏度最佳。故选用 4.00 mL pH 5.66 Tris-HCl 缓冲溶液。由图 3 还可以看出,DWO 法的灵敏度比 SWO 法高。

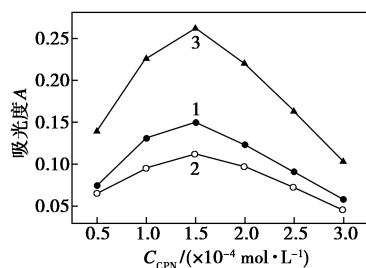


1—614 nm;2—666 nm;3—614 nm+666 nm

图 3 pH 的影响

2.2.2 CPN 溶液的浓度的确定

CPN 溶液的浓度对吸光度的影响如图 4 所示。从图 4 可以看出,CPN 溶液浓度为 1.50×10^{-4} mol/L 时,无论是用 SWO 法还是用 DWO 法测定,生成的新物质的吸光度 A 相对最高,此时,方法的灵敏度最高。故选用 1.50 mL 1.00×10^{-3} mol/L CPN 溶液。可见,DWO 法的灵敏度仍比 SWO 法高。



1—614 nm;2—666 nm;3—614 nm+666 nm

图 4 偶氮氯膦 III 浓度的影响

2.2.3 试剂加入顺序的确定

试剂加入顺序的影响如表 1 所示。由表 1 可以看出,试剂的最佳加入顺序为:Tris-HCl 缓冲溶液、CPN 溶液、CAM 标准溶液。按此顺序加入各试剂,无论在 614 nm 还是在 666 nm 处,生成的新物质的吸光度 A 最大,表明显色反应灵敏度最高。故实验按试剂最佳加入顺序进行。

表 1 试剂加入顺序的影响

试剂加入顺序	A_{614}	A_{666}
CAM-CPN-Tris-HCl	0.114	0.076
Tris-HCl-CPN-CAM	0.145	0.107
CAM-Tris-HCl-CPN	0.138	0.101

2.2.4 反应时间的影响

对反应时间的考察结果表明:无论在 614 nm 还是在 666 nm 处,显色反应在 15 min 内即可进行完全,15 min 后,显色反应的吸光度 A 最大,基本处于同一平台上,这表明在 15 min 后测定,显色反应有相对最高的灵敏度,生成的新物质稳定时间约 1 h。故实验选在 15 min 后进行测定。

2.3 CAM 标准曲线及相关参数

在选定的最佳实验条件下,CAM 与 CPN 反应,方法的一元线性回归方程及相关参数如表 2 所示。由表 2 可以看出,无论用 SWO 法还是用 DWO 法测定,CAM 在 0~4.7 mg/L 范围内与体系的吸光度 A 呈线性关系,回归方程的相关系数均为 0.9994,但用 DWO 法测定的灵敏度最高,约为 SWO 法的 2 倍。

表 2 CAM 标准曲线及相关参数

方法	回归方程 $\rho / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	相关系数 r	表观摩尔吸光系数 $\kappa / [\text{L} \cdot (\text{mol} \cdot \text{cm})^{-1}]$	线性范围/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
SWO	$A_{614} = -0.00369 + 0.06988\rho$	0.9994	1.58×10^4	0~4.7
SWO	$A_{666} = -0.00159 + 0.05282\rho$	0.9994	1.20×10^4	0~4.7
DWO	$A_{614+666} = -0.00528 + 0.1227\rho$	0.9994	2.78×10^4	0~4.7

2.4 共存物质的影响

在相对误差 $\leq \pm 5\%$ 的条件下,采用灵敏度相对更高的 DWO 法考察某些共存物质对 CAM (2.36 mg/L) 测定的影响。结果表明,下列倍数的物质不干扰测定:麦芽糖、葡萄糖、蔗糖、L-赖氨酸、L-色氨酸、L-组氨酸、L-谷氨酸、 Na^+ 、 K^+ 、 NO_3^- 、 Cl^- (200 倍);L-白氨酸、L-亮氨酸、L-异亮氨酸、甘氨酸、 NH_4^+ 、 Fe^{2+} 、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 、 SO_3^{2-} (100 倍); Mn^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Sn^{2+} (50 倍); Ca^{2+} 、 $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ 、淀粉、柠檬酸三钠 (20 倍); Cu^{2+} (10 倍); Al^{3+} 、 Fe^{3+} (4 倍) 等。 Al^{3+} 、 Fe^{3+} 允许倍数虽然较小,但很少存在于药物中,因此该方法有良好选择性。

3 分析应用

取 1.2 中已处理好的 CAM 1#和 CAM 2#待测液各 0.60 mL,在最佳条件下配制溶液并用灵敏度相对更好的 DWO 法测定其 CAM 质量浓度,各平行测

定5份,同时,做不同加标梯度的回收试验,各平行测定5份,考察方法的准确度和精密度。结果如表3所示。

表3 样品分析结果及回收试验($n=5$)

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/ %
CAM 1#	193.7	200	1.74	0.945	2.69	102	2.6
				1.42	3.19	102	2.4
				1.89	3.65	101	2.3
CAM 2#	98.24	100	0.884	0.473	1.35	98.5	2.5
				0.945	1.81	98.0	2.7
				1.18	2.04	98.0	2.5

4 结论

以CPN作探针的单波长和双波长叠加吸收光谱法均可用于CAM质量浓度的测定。该方法有较高灵敏度,良好的选择性、准确度和精密度,满足痕量分析要求,该方法简便、快速,测定结果符合允许误差要求,适于批量卡马西平的快速测定。

参考文献

- [1] Zahra G, Behzad A, Ahmad S. Application of cation-modified sulfur nanoparticles as an efficient sorbent for separation and preconcentration of carbamazepine in biological and pharmaceutical samples prior to its determination by high-performance liquid chromatography [J]. *Journal of Chromatography B*, 2017, 1063: 245-252.
- [2] 姚韵茜, 苗彩云, 毛瑛瑛. HPLC法同时测定人血清中3种抗癫痫药物的浓度[J]. *中国临床药理学杂志*, 2017, 26(3): 195-197.
- [3] 叶云, 陶艳红. 人血浆中卡马西平血药浓度的测定[J]. *抗感染药理学*, 2017, 14(8): 1467-1469.
- [4] 马爱玲, 王漪檬, 段虹飞, 等. 高效液相色谱法检测干血滤纸片中卡马西平的浓度[J]. *中国医院药理学杂志*, 2017, 37(1): 40-42.
- [5] Das S, Fleming D H, Mathew B S, *et al.* Determination of serum carbamazepine concentration using dried blood spot specimens for resource limited settings [J]. *Value in Health*, 2016, 19(7): A874-A874.
- [6] Tuchila C, Bilea E D, Baconi D L. Development of a simple HPLC method for determination of carbamazepine in human plasma with application in therapeutic drug monitoring [J]. *Toxicology Letters*, 2015, 38(2): 149-149.
- [7] Maryam V, Shiva G, Masoumeh S. Chemometrics enhanced HPLC-DAD performance for rapid quantification of carbamazepine and phenobarbital in human serum samples [J]. *Talanta*, 2014, 119: 17-23.
- [8] Qu L H, Fan Y J, Wang W J, *et al.* Development, validation and clinical application of an online-SPE-LC-HRMS/MS for simultaneous quantification of phenobarbital, phenytoin, carbamazepine, and its active metabolite carbamazepine 10,11-epoxide [J]. *Talanta*, 2016, 158: 77-88.
- [9] 梅升辉, 杨莉, 冯卫星, 等. LC-MS/MS法测定人血浆中卡马西平的浓度及其在室间质评中的应用[J]. *中国药房*, 2016, 27(8): 1044-1047.
- [10] 渠岩, 路勇, 冯楠, 等. 基质固相分散-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定畜禽肉中残留的13种镇静药物[J]. *食品科学*, 2012, 33(8): 252-255.
- [11] Valera A L, Graciela M E. Second-order advantage with excitation-emission photoinduced fluorimetry for the determination of the antiepileptic carbamazepine in environmental waters [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2013, 782: 37-45.
- [12] Frag E Y Z, Zayed M A, Omar M M, *et al.* Spectrophotometric determination of carbamazepine and mosapride citrate in pure and pharmaceutical preparations [J]. *Arabian Journal of Chemistry*, 2012, 5(3): 375-382.
- [13] Lavanya N, Sekar C, Ficarra S, *et al.* A novel disposable electrochemical sensor for determination of carbamazepine based on Fe doped SnO₂ nanoparticles modified screen-printed carbon electrode [J]. *Materials Science & Engineering C*, 2016, 62: 53-60.
- [14] Jorge G T, Alfredina V, Alfredo J P C, *et al.* Electro-oxidation of carbamazepine metabolites: Characterization and influence in the voltammetric determination of the parent drug [J]. *Electrochimica Acta*, 2013, 108: 51-65.
- [15] Wu Shuchao, Xu Wei, Suhani Q, *et al.* Ion chromatography combined with online electrochemical derivatization and fluorescence detection for the determination of carbamazepine in human plasma [J]. *Talanta*, 2012, 101: 541-545. ■

《现代化工》欢迎广大作者踊跃投稿, 投稿系统: <http://www.xdhg.com.cn>