

# 玫瑰精 B 与赖诺普利相互作用 及其荧光光谱分析与应用

何树华,冉金凤,王润莲,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:**探讨了玫瑰精 B 与赖诺普利的相互作用,建立了测定药物中赖诺普利的荧光分析新方法。在  $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 556 \text{ nm}/585 \text{ nm}$ 、pH 7.50 Tris-盐酸条件下,玫瑰精 B 与赖诺普利反应生成二元离子缔合物,使体系的荧光强度显著增强,赖诺普利的质量浓度在 0.06~4.1 mg/L 范围内与体系的荧光增强强度 ( $\Delta F$ ) 呈线性关系,检出限 ( $3S_b/S$ ) 为 0.009 2 mg/L。该方法可用于市售赖诺普利片剂和胶囊中赖诺普利的测定,回收率为 98.7%~103%,相对标准偏差  $RSD(n=6)$  为 2.2%~2.8%。

**关键词:**赖诺普利;玫瑰精 B;荧光光谱

**中图分类号:** O657.3;R917

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0253-4320(2019)02-0235-03

**DOI:** 10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2019.02.053

## Interaction between rhodamine B and lisinopril and their fluorescence spectrum analysis and application

HE Shu-hua, RAN Jin-feng, WANG Run-lian, JIANG Hong\*

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

**Abstract:** The interaction action between rhodamine B and lisinopril is discussed and a novel fluorescence analysis method for determination of lisinopril in drugs is established. Under the conditions of  $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 556 \text{ nm}/585 \text{ nm}$  and Tris-hydrochloric acid of pH 7.50, rhodamine B reacts with lisinopril to form a binary ion association complexes, which enhances distinctly the fluorescence intensity of the system. The mass concentration of lisinopril in the range of 0.06 to 4.1  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  is directly proportional to fluorescence enhancement intensity ( $\Delta F$ ) of the system, with a detection limit ( $3S_b/S$ ) of 0.009 2  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . This method can be applied to the determination of lisinopril in commercially available lisinopril tablets and capsules, with recovery between 98.7% and 103%, and the relative standard deviations  $RSD(n=6)$  in the range of 2.2%~2.8%.

**Key words:** lisinopril; rhodamine B; fluorescence spectra

赖诺普利是一种非巯基长效血管紧张素转换酶抑制剂,不仅可以平稳、持久降压,还可降低心脏负荷、缓解心衰症状,并且起效快、耐受性好,临床上主要用于治疗原发性高血压、心力衰竭及急性心肌梗塞<sup>[1]</sup>。但当用药过量时,会给患者带来某些较为严重的副作用,如精神紊乱、肝硬化、胰腺炎、腹部疼痛或支气管痉挛等。为保障用药质量,对赖诺普利药物中含量的快速检测有着重要意义。当前,国内外对赖诺普利在检测方法上的研究并不多,主要有高效液相色谱法<sup>[2-5]</sup>、气相色谱-质谱联用法<sup>[6]</sup>、电化学法<sup>[7]</sup>及液相色谱-质谱联用法<sup>[8-14]</sup>等。笔者在弱碱性条件下,以玫瑰精 B 作探针,采用荧光分析方法来研究药物中赖诺普利含量的检测方法。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

精密酸度计, pH S-3C 型,上海虹益仪器仪表有

限公司生产;荧光分光光度计, F-2500 型,日本日立公司生产。

$1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$  玫瑰精 B 溶液 (RHOB), 国药集团化学试剂有限公司生产;  $405.5 \text{ mg/L}$  赖诺普利 (LNP) 标准溶液, 对照品批号为 100814—201202, 中国食品药品检定研究院生产, 贮于  $4^\circ\text{C}$  冰箱中, 用时取该液稀释 100 倍, 配成  $4.055 \text{ mg/L}$  工作液; Tris-盐酸溶液, pH 3.0~9.5 (取适量  $0.20 \text{ mol/L}$  Tris (三羟甲基氨基甲烷) 与适量  $0.10 \text{ mol/L}$  盐酸混合, 用酸度计测定); 所用试剂均为分析纯, 水为二次蒸馏水; 样品为市售赖诺普利片剂和胶囊。

### 1.2 样品处理

取浙江某药业股份有限公司生产的不同规格的赖诺普利片 (1<sup>#</sup> 和 2<sup>#</sup>) 各 5 片, 取江苏某药业股份有限公司生产的赖诺普利胶囊 (3<sup>#</sup>) 5 粒的内容物, 分别置于小烧杯中, 加适量水, 搅拌、溶解、过滤, 滤液分别置于 1 000 mL 容量瓶中, 用水稀至刻度。取该

收稿日期: 2018-07-18; 修回日期: 2018-12-08

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 (2017CXX172)

作者简介: 何树华 (1971-), 女, 理学学士, 教授, 研究方向为分子光谱分析, heshuhua20182019@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 10.0 mL,用水稀至 100 mL,备测。

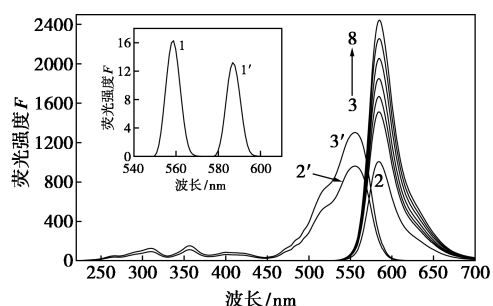
### 1.3 实验方法

准确移取 3.00 mL pH 7.50 的 Tris-盐酸缓冲溶液于 10 mL 具塞比色管中,再加入 2.00 mL  $1.00 \times 10^{-4}$  mol/L RHOB 溶液和适量 4.055 mg/L LNP 标准溶液(或加适量样液),用水定容。15 min 后,在荧光光谱仪上(设光电管负高压为 400 V,激发和发射光谱通带为 5 nm,  $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 556 \text{ nm}/585 \text{ nm}$ )扫描荧光曲线,测定 585 nm 处体系的荧光强度  $F$  和试剂空白的荧光强度  $F_0$ ,计算  $\Delta F$  ( $\Delta F = F - F_0$ )。

## 2 结果与讨论

### 2.1 荧光光谱特征

RHOB 与 LNP 的激发和发射光谱如图 1 所示。从图 1 中可以看出,LNP 溶液自身的激发曲线和发射曲线的峰值均很低(图 1 中曲线 1 和 1'),不能用于定量分析。RHOB 溶液及 RHOB 的弱碱性溶液的激发和发射光谱均有较高峰值(图 1 中曲线 2 和 2'、3 和 3'),当在 RHOB 的弱碱性溶液中加入不同质量浓度的 LNP 标准溶液后,体系的荧光强度随 LNP 浓度的增大而呈线性增强(图 1 中曲线 3~8),故该体系可用于 LNP 的定量分析。



1,1'—0.406 mg/L LNP;2,2'— $2.00 \times 10^{-5}$  mol/L RHOB;  
3,3'— $2.00 \times 10^{-5}$  mol/L RHOB, pH 7.50;  
3~8—0.0,0.406,0.811,1.22,1.62,2.03 mg/L  
LNP— $2.00 \times 10^{-5}$  mol/L RHOB, pH 7.50

图 1 玫瑰精 B 与 LNP 的激发和发射光谱  
注:曲线 1~8—发射光谱;1'~3'—激发光谱。

反应机理:RHOB 是一种碱性染料,在溶液中以阳离子形式存在,而 LNP 分子结构中含 2 个羧酸根离子,二者可以通过静电作用结合生成二元离子缔合物。

### 2.2 反应条件的优化

#### 2.2.1 溶液酸度及用量

改变体系溶液酸度对二元缔合物荧光增强强度  $\Delta F$  的影响如图 2 所示。从图 2 中可以看出,反应的

最佳酸度为 pH 7.50,此时荧光增强强度  $\Delta F$  相对最大且基本稳定。当溶液酸度大于或小于 pH 7.50 时,荧光增强强度均有不同程度降低。故用 pH 7.50 Tris-盐酸缓冲溶液控制溶液的酸度,用量以 3.00 mL 为宜。

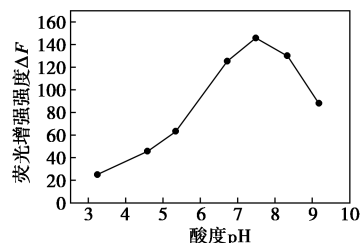


图 2 pH 的影响

#### 2.2.2 RHOB 溶液的浓度

RHOB 溶液浓度对二元缔合物荧光增强强度  $\Delta F$  的影响如图 3 所示。从图 3 中可以看出,最适宜的 RHOB 溶液的浓度为  $2.00 \times 10^{-5}$  mol/L,此时体系的荧光增强强度  $\Delta F$  相对最大且基本稳定,灵敏度相对最高。当 RHOB 溶液浓度小于或大于  $2.00 \times 10^{-5}$  mol/L 时,体系的荧光增强强度均有不同程度的减弱,即灵敏度有所降低。故选用 2.00 mL  $1.00 \times 10^{-4}$  mol/L RHOB 溶液。

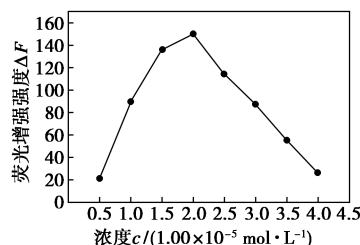


图 3 RHOB 浓度的影响

#### 2.2.3 试剂加入顺序

改变试剂的加入顺序,考察其对二元缔合反应荧光增强强度  $\Delta F$  的影响。结果表明,不同的试剂加入顺序对二元缔合反应的荧光增强强度  $\Delta F$  基本无影响(即  $\Delta F$  基本不变)。因此无需控制试剂加入的顺序。

#### 2.2.4 反应时间

室温下,改变反应时间( $t$ ),考察其对二元缔合物荧光增强强度  $\Delta F$  的影响。结果表明:15 min 前, $\Delta F$  随反应时间  $t$  的增加而增大,在  $\Delta F-t$  曲线为一条斜线,表明此段时间内 LNP 与 RHOB 的反应并未进行完全;15 min 后, $\Delta F$  值达最大且基本稳定,即基本不随反应时间的增加而增大。实验表明,反应在 15 min 内可以进行完全,缔合物的稳定时间至少

1 h。故实验选在 15 min 后进行测定。

### 2.3 标准曲线

按实验方法配制标准系列溶液并扫描荧光光谱,以体系的荧光增强强度  $\Delta F$  对 LNP 的质量浓度作图得标准曲线,如图 4 所示。由图 4 可以看出,该方法的线性范围为 0.06~4.1 mg/L,一元线性回归方程  $\Delta F = -10.24 + 450.0\rho$  ( $\rho$ : mg/L),相关系数  $r = 0.9993$ ,检出限 ( $3S_b/S$ ) 为 0.0092 mg/L。

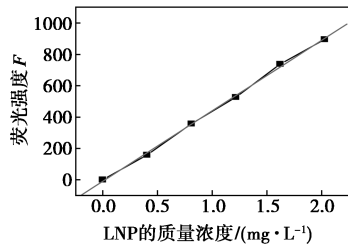


图 4 标准曲线

### 2.4 共存物质的影响

按实验方法考察了某些共存物质在相对误差  $\leq \pm 5\%$  时对测定 0.406 mg/L LNP 的影响。结果表明,下列倍数的共存物质不干扰测定:250 倍的  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Ba}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Sr}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 、 $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{SO}_3^{2-}$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{I}^-$ 、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、柠檬酸三钠、尿素、L-谷氨酸、L-丙氨酸、L-赖氨酸、L-异亮氨酸、L-白氨酸、L-色氨酸、L-亮氨酸、L-组氨酸;25 倍的  $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Sn}^{2+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、淀粉。因此,常见的氨基酸、糖类、阴、阳离子均不干扰 LNP 的测定,故该方法具有良好的选择性,能用于 LNP 的定量测定。

### 3 分析应用

取 1<sup>#</sup>~3<sup>#</sup>待测液各 1.00 mL,按实验方法测定各样液中 LNP 含量,各平行测定 5 份,根据回归方程求得各样液中 LNP 的含量,最后计算赖诺普利片剂及胶囊中 LNP 的准确含量。同时做 3 种加标梯度的回收试验 ( $n=5$ ),根据回收率和相对标准偏差判断方法的准确度和精密度,结果如表 1 所示。

表 1 样品分析结果及回收试验 ( $n=6$ )

样品	LNP 1 <sup>#</sup>	LNP 2 <sup>#</sup>	LNP 3 <sup>#</sup>
测得值	10.3 mg/片	4.84 mg/片	9.78 mg/粒
标示量	10 mg/片	5 mg/片	10 mg/粒
取样量 $\rho$ / (mg·L <sup>-1</sup> )	0.515	0.242	0.489
加标量 $\rho$ / (mg·L <sup>-1</sup> )	0.243 0.568 1.22	0.122 0.243 0.406	0.243 0.568 1.22

测得平均值 $\rho$ / (mg·L <sup>-1</sup> )	0.766	0.363	0.729
	1.10	0.482	1.05
	1.76	0.644	1.69
平均回收率/%	103	99.0	98.7
RSD/%	2.8	2.4	2.2

### 4 结论

建立了以玫瑰精 B 作探针测定赖诺普利的荧光分析法,该方法具有有较高的灵敏度、准确度(平均回收率为 98.7%~103%)、精密度(相对标准偏差为 2.2%~2.8%)及良好的选择性,操作简便、快速,样品处理简单、安全。适于市售赖诺普利片剂及胶囊中赖诺普利的快速定量分析。

### 参考文献

- [1] 刘斌,施介华.赖诺普利的合成研究进展[J].浙江化工,2016,47(7):10-17.
- [2] 中华人民共和国药典委员会.中华人民共和国药典(第二部)[M].北京:中国医药科技出版社,2015:1458.
- [3] 相文杰,叶靖,田志杰,等.高效液相色谱法同时测定复方氨氯地平片中苯磺酸氨氯地平与赖诺普利的含量[J].药学与临床研究,2012,20(3):270-272.
- [4] 胡青,张甦,王柯,等.中药及保健食品中违禁添加 7 种降压类化学药物的 HPLC-DAD 法测定[J].中国医药工业杂志,2010,41(8):601-603.
- [5] 张旗,赵进.高效液相色谱法测定复方赖诺普利片的溶出度[J].中国药师,2009,12(7):916-917.
- [6] 李涛,宋小红,林芳.GC-MS 联用方法检测降压类中成药及保健食品中非法添加的化学药物[J].药物分析杂志,2010,30(11):2212-2215.
- [7] 詹雪梅,犹卫,高作宁,等.赖诺普利在多壁碳纳米管修饰电极上的电催化氧化及其电分析方法[J].药物分析杂志,2009,29(9):1543-1546.
- [8] Syed G M, Muhammad S B, Muhammad I C, et al. Screening of inhibitors of angiotensin-converting enzyme (ACE) employing high performance liquid chromatography-electrospray ionization triple quadrupole mass spectrometry (HPLC-ESI-QqQ-MS) [J]. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2017, 101:182-188.
- [9] Jaivik V S, Priyanka A S, Priya V S, et al. Fast and sensitive LC-MS/MS method for the simultaneous determination of lisinopril and hydrochlorothiazide in human plasma [J]. Journal of Pharmaceutical Analysis, 2017, 7(3):163-169.
- [10] 欧阳冬生,谭志荣,刘黎,等.HPLC-MS/MS 法测定人血浆中赖诺普利的浓度[J].药物分析杂志,2009,29(6):931-934.
- [11] 刘茜,霍舒怡,赵辉,等.HPLC-MS/MS 测定赖诺普利血药浓度及其在药动学研究中的应用[J].中国现代应用药学,2010,27(2):157-160.
- [12] 丁宝月,屠婕红,薛磊冰,等.UPLC-MS/MS 法快速测定降压类中成药及保健食品中非法添加 34 种化学药的研究[J].中草药,2015,46(5):688-696.
- [13] 朱慧果,赵勇,吴双,等.HPLC-MS 联用测定辅助降压保健食品中添加钙通道阻滞剂类药物[J].药物分析杂志,2013,33(7):1141-1150.
- [14] 李小童,李国信,刘有平,等.液相色谱-串联质谱法测定人血浆中赖诺普利及药动学研究[J].中国新药与临床杂志,2009,28(6):430-434. ■