

# 双波长可见吸收光谱法测定盐酸米多君

卢俊伶, 江虹\*, 姜权利

(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:**在弱碱性乙醇溶液中, 溴甲酚绿与盐酸米多君以静电引力结合生成具有1个较强正吸收峰和1个较强负吸收峰的二元离子缔合物, 最大正吸收峰位于553 nm, 最大负吸收峰位于444 nm, 表观摩尔吸光系数( $\kappa$ )分别为 $2.06 \times 10^4$  L/(mol·cm) (553 nm)和 $2.07 \times 10^4$  L/(mol·cm) (444 nm)。当用双波长法测定时, 表观摩尔吸光系数( $\kappa$ )可达 $4.13 \times 10^4$  L/(mol·cm), 线性范围均为0.2~8.7 mg/L, 检出限分别为0.15 mg/L(单波长法, 553 nm)、0.14 mg/L(单波长法, 444 nm)和0.072 mg/L(双波长法)。据此建立了测定盐酸米多君的双波长可见吸收光谱法, 该方法用于盐酸米多君片剂中盐酸米多君的测定, 回收率和相对标准偏差RSD( $n=5$ )分别为98.4%~102%和1.8%~2.3%。

**关键词:**双波长; 吸收光谱; 盐酸米多君; 溴甲酚绿; 乙醇

**中图分类号:** O657.3; R917

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0253-4320(2019)05-0245-04

**DOI:** 10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2019.05.055

## Determination of midodrine hydrochloride by double-wavelength visible absorption spectrometry

LU Jun-ling, JIANG Hong\*, JIANG Quan-li

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

**Abstract:** In a weak-alkaline ethanol solution, bromocresol green combines with midodrine hydrochloride by electrostatic attraction to form a binary ionic association complex with a strong positive absorption peak and a strong negative absorption peak. The maximum positive absorption peak locates at 553 nm and the minimum negative absorption peak locates at 444 nm. The apparent molar absorptivity ( $\kappa$ ) are  $2.06 \times 10^4$  L/(mol·cm) for 553 nm peak and  $2.07 \times 10^4$  L/(mol·cm) for 444 nm peak, respectively. When the dual-wavelength absorption spectrophotometry is used to determine the content of midodrine hydrochloride, its apparent molar absorptivity ( $\kappa$ ) can achieve  $4.13 \times 10^4$  L/(mol·cm), their linear ranges both are in the range of 0.2 to 8.7 mg·L<sup>-1</sup>, and their detection limits are 0.072 mg·L<sup>-1</sup>. When the single-wavelength method is used, the detection limits are 0.15 mg·L<sup>-1</sup> (for 553 nm) and 0.14 mg·L<sup>-1</sup> (for 444 nm). Accordingly, a dual-wavelength visible absorption spectrometric method for the determination of midodrine hydrochloride is established. The recovery rate and relative standard deviation RSD ( $n=5$ ) are 98.4%–102% and 1.8%–2.3%, respectively when the method is applied to determine the content of midodrine hydrochloride in commercially available midodrine hydrochloride tablets.

**Key words:** dual-wavelength; absorption spectrum; midodrine hydrochloride; bromocresol green; ethanol

药物分析对控制临床用药剂量、保证患者用药安全有着重要意义。米多君临床上主要用于治疗因血循环体位性功能失调而造成的低血压, 对中枢神经系统及心脏无直接作用, 但当用药过量时, 可能出现卧位血压升高、胃肠道功能紊乱、心血管变化、头皮感觉异常、瘙痒、皮肤竖毛反应、寒战、尿失禁、尿潴留及尿频等副作用。因此, 对药物中盐酸米多君含量的检测方法进行研究有着一定意义。目前对药物中盐酸米多君含量的检测方法主要有高效液相色谱法<sup>[1-4]</sup>、液-质联用法<sup>[5-6]</sup>、电化学法<sup>[7-9]</sup>等。这些

方法中有的前处理很麻烦、费时, 有的条件要求苛刻或仪器价格较贵不易普及。而分光光度法所用仪器价廉、操作简便, 并有较高灵敏度, 长期以来倍受关注。因此, 笔者用双波长可见吸收光谱法研究盐酸米多君的快速检测方法。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

紫外-可见光谱仪, U-3010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

收稿日期: 2018-08-09; 修回日期: 2019-03-14

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(2018CXX111)

作者简介: 卢俊伶(1998-), 女, 本科, 研究方向为分子光谱分析, lujunlin2018@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。

有限公司生产。

盐酸米多君 (midodrine hydrochloride, MID, 质量分数为 99.9%, 中国食品药品检定研究院生产, 对照品批号: 101368-201501) 标准溶液: 贮备液为 290.7 mg/L 水溶液, 冰箱 4℃ 保存, 操作液为 29.07 mg/L (用时取贮备液稀释即可); 溴甲酚绿 (bromocresol green, BRG, 质量分数为 99%, 成都贝斯特试剂有限公司) 溶液: 准确称取适量 BRG, 加少量无水乙醇, 待其溶解完全后转移至 500 mL 容量瓶中, 用水稀至刻度, 配成  $1.00 \times 10^{-3}$  mol/L; 三羟甲基氨基甲烷 (Tris, 质量分数为 99%, 成都贝斯特试剂有限公司生产) 溶液: 0.20 mol/L; 盐酸 (分析纯, 重庆川东化工 (集团) 有限公司生产) 溶液: 0.10 mol/L; 取适量 Tris 溶液和盐酸溶液混合, 配成 pH 3.5~9.5 的 Tris-HCl 系列溶液; 无水乙醇 (分析纯, 重庆川东化工 (集团) 有限公司生产); 水为二次蒸馏水。

样品: 市售不同生产厂家的盐酸米多君片 (简称为 1<sup>#</sup> 和 2<sup>#</sup>)。

## 1.2 样品预处理

取 1<sup>#</sup> 和 2<sup>#</sup> 盐酸米多君片各 10 片, 加适量水溶解、过滤, 滤液盛于 1 000 mL 容量瓶中, 用水定容, 即为盐酸米多君待测液。

## 1.3 实验方法

精密量取 pH 7.41 Tris-盐酸溶液 0.50 mL、29.07 mg/L MID 溶液适量、 $1.00 \times 10^{-3}$  mol/L BRG 溶液 3.00 mL 于 10 mL 比色管中, 用无水乙醇稀至

刻度, 摇匀。25 min 后, 以试剂空白作参比, 在 U-3010 型光谱仪上扫描溶液的吸收光谱, 用双波长法 (以 444 nm 为参比波长, 553 nm 为测定波长) 测定溶液的吸光度  $A$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 吸收光谱特征

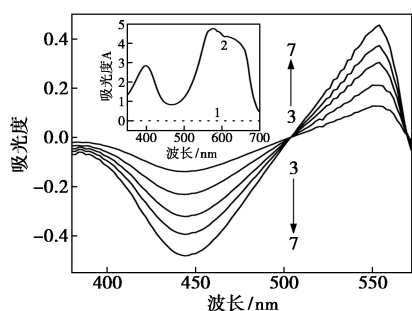
溴甲酚绿与盐酸米多君的吸收光谱如图 1 所示。由图 1 可以看出, 在可见光区, MID 的乙醇溶液 (以无水乙醇作参比) 几乎无吸收;  $3.00 \times 10^{-4}$  mol/L BRG (pH 7.41) 的乙醇溶液有强吸收 (以无水乙醇作参比), 最大吸收峰位于 578 nm, 吸光度  $A=4.74$ 。当在 BRG 的弱碱性溶液中加入 MID 溶液, 再用无水乙醇稀至 10 mL 后, 溶液的光谱曲线在 400~570 nm 范围内呈现 1 个较强的正吸收峰和 1 个较强的负吸收峰, 正吸收峰位于 553 nm, 蓝移 25 nm; 负吸收峰位于 444 nm, 蓝移 134 nm。在 444 nm 和 553 nm 波长处, 随着 MID 标准溶液浓度的不断增大, 二元混合体系的吸光度呈线性增强, MID 在一定浓度范围内的质量浓度与体系吸光度  $A$  服从朗伯-比尔定律。波移表明, MID 与 BRG 间确实发生反应生成了新物质。由于溴甲酚绿是一种酸性染料, MID 在溶液中以质子化的阳离子形式存在, 因此二者间可以静电引力结合生成二元离子缔合物, 这更进一步表明 MID 与 BRG 间可以发生反应。如果以 444 nm 为参比波长, 553 nm 为测定波长, 用双波长法测定 MID 时, MID 在一定浓度范围内的质量

(上接第 244 页)

- [11] 张盈, 李晓刚, 徐军等. 分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱联用快速检测大豆及土壤中氟磺胺草醚残留 [J]. 环境化学, 2012, 31(9): 1399-1404.
- [12] 吴翠琴, 雷金妹, 李韵灵, 等. 基于离子液体的分散液液微萃取-柱前荧光衍生高效液相色谱法测定水样中 8 种磺胺类药物 [J]. 色谱, 2014, 32(12): 1362-1367.
- [13] 张晶, 彭敬东, 周明琼, 等. 分散液液微萃取-高效液相色谱法测定水中磺胺类药物残留 [J]. 分析实验室, 2014, 33(9): 993-997.
- [14] 王慧. 动态微波辅助萃取食品和环境样品中有害物质的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2013.
- [15] 游辉, 于辉, 武彦文, 等. 快速溶剂萃取-基质固相分散-高效液相色谱法测定牛肉中 5 种磺胺类药物残留 [J]. 分析测试学报, 2010, 29(10): 1087-1090.
- [16] Zhao B, He M, Chen B, *et al.* Novel ion imprinted magnetic meso-

porous silica for selective magnetic solid phase extraction of trace Cd followed by graphite furnace atomic absorption spectrometry detection [J]. Spectrochimica Acta Part B Atomic Spectroscopy, 2015, 107: 115-124.

- [17] Pan S D, Chen X H, Shen H Y, *et al.* Rapid and effective sample cleanup based on graphene oxide encapsulated core-shell magnetic microspheres for determination of fifteen trace environmental phenols in seafood by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Analytica Chimica Acta, 2016, 919: 34-46.
- [18] 张利锋, 高玉双, 张金振, 等. 离子液体掺杂石墨烯的制备表征及分散性研究 [J]. 陕西科技大学学报, 2015, 33(4): 41-44.
- [19] 王栋伟, 宋燕西, 冶晓凡, 等. 氧化石墨烯对磺胺甲噁唑和磺胺甲基噁唑的吸附性能研究 [J]. 分析化学, 2018, 46(2): 211-216.
- [20] Zhu Xiaobo, Mo Zunli, Zhang Chun, *et al.* Preparation of graphene- $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanocomposites using  $\text{Fe}^{3+}$  ion-containing magnetic ionic liquid [J]. Materials Research Bulletin, 2014, 59: 223-226. ■



1—2.91 mg/L MID,乙醇作参比;2— $3.00 \times 10^{-4}$  mol/L BRG, pH 7.41,乙醇作参比;3~7—1.45、2.91、4.36、5.81、7.27 mg/L MID— $3.00 \times 10^{-4}$  mol/L BRG, pH 7.41,试剂空白作参比

图1 溴甲酚绿与盐酸米多君的吸收光谱

浓度与吸光度  $A$  仍遵从比尔定律,而其灵敏度 ( $\kappa = 4.13 \times 10^4$  L/(mol·cm)) 却约为单波长法的 2 倍。故选用双波长法测定 MID 含量。

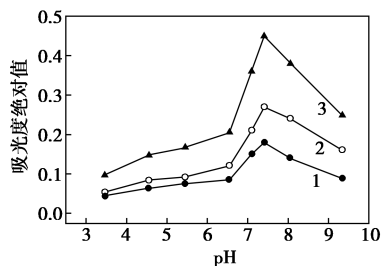
## 2.2 反应条件

### 2.2.1 稀释剂的选择

在酸性和碱性溶液中,分别考察了用无水乙醇、水作稀释剂时对 MID 与 BRG 反应效果的影响。结果表明,用无水乙醇作稀释剂时,反应效果非常明显,在 400~570 nm 范围内,谱线上出现 1 个较强的正吸收峰和 1 个较强的负吸收峰,  $A > 0.1$ ;而用水作稀释剂时,基本无明显的吸收峰。故选用无水乙醇作稀释剂。

### 2.2.2 反应介质、酸度及用量的确定

在选定稀释剂无水乙醇的条件下,考察了几种介质 (HAc-NaAc、Tris-HCl 及 BR 缓冲溶液) 对显色反应效果的影响。结果表明,Tris-HCl 作反应介质时,体系吸光度  $|A|$  相对较大,故选择用 Tris-HCl 作为 MID 和 BRG 的反应介质。随后,考察了不同 pH 的 Tris-HCl 溶液对二元体系吸光度  $A$  的影响,结果如图 2 所示。由图 2 可以看出, MID 和 BRG 的反应,无论用单波长法还是用双波长法测定,最佳酸度



1—444 nm;2—553 nm;3—(444+553) nm

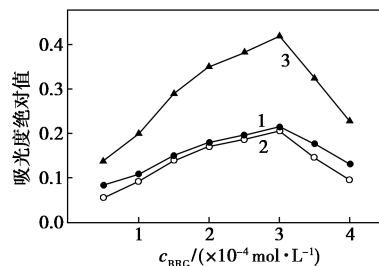
图2 pH 的影响

注: $\rho(\text{MID}) = 2.91$  mg/L; $\rho(\text{BRG}) = 2.00 \times 10^{-4}$  mol/L。

均为 pH 7.41,此时体系的吸光度  $A$  相对最大且稳定。由图 2 还可以看出,双波长法比单波长法有更高的灵敏度。故选用双波长法进行测定,用 pH 7.41 Tris-HCl 溶液控制反应的酸度,结果表明,适宜 pH 时 Tris-HCl 用量为 0.50 mL。

### 2.2.3 BRG 溶液浓度的确定

在 MID 浓度、稀释剂及选定的 pH 不变的条件下,考察 BRG 溶液浓度对二元体系吸光度  $A$  的影响,结果如图 3 所示。由图 3 可以看出, MID 和 BRG 的反应,无论用单波长法还是用双波长法测定, BRG 溶液的最佳浓度均为  $3.00 \times 10^{-4}$  mol/L,此时,二元体系的吸光度  $A$  相对最大且稳定。由图 3 还可以看出,双波长法比单波长法有更高的灵敏度。故实验选用 3.00 mL  $1.00 \times 10^{-3}$  mol/L BRG,采用双波长法进行测定。



1—444 nm;2—553 nm;3—(444+553) nm

图3 溴甲酚绿浓度的影响

注: $\rho(\text{MID}) = 2.91$  mg/L; $\rho(\text{BRG}) = 2.00 \times 10^{-4}$  mol/L。

### 2.2.4 试剂加入顺序的确定

在稀释剂、缓冲溶液、BRG 溶液浓度及 MID 浓度不变的条件下,用双波长法考察了 Tris-HCl 缓冲溶液、BRG 溶液及 MID 标准溶液加入顺序对二元体系吸光度  $A$  的影响。结果表明,按实验方法中试剂的加入顺序,二元体系吸光度  $A$  相对最大、灵敏度最高,故选择最佳的试剂加入顺序进行测定。

### 2.2.5 反应时间及缔合物的稳定性

在上述选定的最优条件下,用双波长法考察了 MID 和 BRG 反应时间对二元体系吸光度  $A$  的影响。结果表明,25 min 前,随着反应时间的增加,二元体系吸光度  $A$  随之增大,曲线表现为一条随时间增加  $A$  逐渐增大的一条斜线,表明 25 min 前, MID 与 BRG 的反应并未进行完全;25 min 后,随着反应时间的增加,吸光度  $A$  不再增大,基本处于同一平台上,说明 25 min 后 MID 与 BRG 的反应已进行完全,稳定时间不少于 1 h。实验选在 25 min 后测定。

## 2.3 MID 标准曲线

在最优条件下配制 MID 标准系列溶液,并扫描

其吸收光谱,做  $A-\rho$  标准曲线。标准曲线相关参数如表 1 所示。由表 1 可以看出,用双波长法进行测定,其灵敏度最高,约为单波长法的 2 倍。

表 1 盐酸米多君的标准曲线相关参数

回归方程	相关系数 $r$	线性	表观摩尔	检出限/ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )
		范围/ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	吸光系数 $\kappa/[\text{L} \cdot (\text{mol} \cdot \text{cm})^{-1}]$	
$A_{444} = -0.01524 - 0.06322\rho$	0.9985	0.2~8.7	$2.07 \times 10^4$	0.14
$A_{553} = 0.00798 + 0.06146\rho$	0.9984	0.2~8.7	$2.06 \times 10^4$	0.15
$A_{444+553} = 0.02323 + 0.1246\rho$	0.9989	0.2~8.7	$4.13 \times 10^4$	0.072

#### 2.4 共存物质的影响

利用双波长法考察了某些常见共存物质对 MID 质量浓度 ( $2.91 \text{ mg/L}$ ) 测定的影响。结果表明,在相对误差  $\leq \pm 5\%$  时,下列倍数的共存物质不干扰测定:100 倍的葡萄糖、麦芽糖、蔗糖、L-白氨酸、L-亮氨酸、L-赖氨酸、L-色氨酸、L-组氨酸、L-异亮氨酸、L-谷氨酸、甘氨酸、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 、 $\text{SO}_3^{2-}$ ; 50 倍的  $\text{Ba}^{2+}$ 、 $\text{Sr}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Sn}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ 、淀粉、柠檬酸三钠;10 倍的  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ ; 3 倍的  $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 。由于药物中金属离子很少存在,故该方法有较好的选择性。

#### 3 分析应用

取 1<sup>#</sup> 和 2<sup>#</sup> 待测液各 1.00 mL 分别置于 10 mL 比色管中(各平行配制 5 份),按实验方法加入其他试剂溶液,用水定容、摇匀,15 min 后在紫外-可见分光光度计上扫描吸收光谱,用双波长法测定各样液中 MID 的质量浓度。同时进行加标回收试验,检测方法的回收率和相对标准偏差 ( $RSD\%$ ) ( $n=5$ ),判断该方法的准确度和精密度。结果如表 2 所示。

表 2 盐酸米多君片剂的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/ %	$RSD/$ %
1 <sup>#</sup>	2.39	2.5	2.39	2.91	5.35	102.0	1.8
2 <sup>#</sup>	2.45	2.5	2.45	4.36	6.74	98.4	2.3

#### 4 结论

以溴甲酚绿为探针,无水乙醇为稀释剂,利用双波长可见吸收光谱法测定盐酸米多君,与高效液相色谱法相比,该方法具有简便、快速、样品处理安全、仪器价廉易于普及等优点,且有较高灵敏度、准确度、精密性及良好的选择性,适于盐酸米多君片剂中盐酸米多君的测定。

#### 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,2015:962.
- [2] Barth T, Aleu J, Pupo M T, et al. HPLC analysis of midodrine and desglymidodrine in culture medium: Evaluation of static and shaken conditions on the biotransformation by fungi[J]. Journal of Chromatographic Science, 2013, 51(5): 460-466.
- [3] Yoshida H, Ohno Y, Yoshikuni K, et al. Determination of midodrine in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection[J]. Analytical Sciences (Print), 2003, 19(2): 317-325.
- [4] 邹远高, 梁茂植, 向瑾, 等. 高效液相色谱-荧光法测定人血浆中米多君及其代谢物去甘氨酸米多君[J]. 分析化学, 2005, 33(12): 1807.
- [5] Daxesh P P, Sneha N, Bhanubhai N S, et al. A novel, sensitive and selective method of UPLC/MS-MS for rapid simultaneous determination of midodrine and its active metabolite desglymidodrine in human plasma: Application to support bioequivalence study in healthy human volunteers[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2016, 131: 355-363.
- [6] Ahmed A A, Medhat A A G, Samar F F, et al. Development and validation of LC-MS/MS assay for the determination of the prodrug midodrine and its active metabolite desglymidodrine in plasma of ascitic patients: Application to individualized therapy and comparative pharmacokinetics[J]. Journal of Chromatography B, 2015, 991: 34-40.
- [7] 安明, 赵国君, 王国成, 等. 毛细管色谱法测定盐酸米多君中的有机溶剂残留量[J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(2): 136-138.
- [8] 唐跃林, 江舸. 盐酸米多君原料药含量测定方法的改进[J]. 四川生理科学杂志, 2016, 38(2): 59-61.
- [9] 陈素俭, 叶飞云, 黄剑英, 等. 毛细管区带电泳法测定盐酸米多君片的含量[J]. 中国药房, 2002, 13(5): 296-297. ■