

分析测试

基于紫外-可见吸收光谱法 检测药物中地奥司明

庞向东, 成晓琼, 刘贵秀, 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:在 pH 6.70 的弱酸性溶液中, 乙基紫与地奥司明反应生成一种二元配合物, 在紫外光区 345 nm 处产生 1 个较强的正吸收峰, 在可见光区 594 nm 处产生 1 个较强的负吸收峰, 在此二波长处, 地奥司明的质量浓度在 0.3~15.2 mg/L 范围内与吸光度的绝对值(|A|)呈线性关系并服从朗伯-比尔定律, 其表观摩尔吸光系数(κ)为 1.88×10^4 L/(mol·cm) (正吸收) 和 3.81×10^4 L/(mol·cm) (负吸收), 检出限为 0.24 mg/L (正吸收) 和 0.18 mg/L (负吸收)。当以负吸收为参比波长、正吸收为测定波长、用双波长法测定时, 其线性范围不变, 表观摩尔吸光系数(κ)为 5.70×10^4 L/(mol·cm), 检出限为 0.11 mg/L。由此建立了测定地奥司明的紫外-可见吸收光谱法。该方法可用于市售地奥司明药物中地奥司明的测定。

关键词: 吸收光谱法; 地奥司明; 乙基紫

中图分类号: O657.3; R917

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2019)07-0220-04

DOI: 10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2019.07.047

Determination of diosmin in drugs by ultraviolet-visible absorption spectrometry

PANG Xiang-dong, CHENG Xiao-qiong, LIU Gui-xiu, JIANG Hong*

(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 acidic solution with a pH of 6.70, ethyl violet can react with diosmin to form a binary complex, resulting in that a strong positive absorption peak is generated at 345 nm in the ultraviolet region, and a strong negative absorption peak is generated at 594 nm in the visible region. At these two wavelengths, the mass concentration of diosmin is linearly related to the absolute value of absorbance (|A|) in the range of 0.3 to 15.2 mg/L, which obeys Lambert-Beer's law. Their apparent molar absorption coefficients (κ) are 1.88×10^4 L/(mol·cm) (positive absorption) and 3.81×10^4 L/(mol·cm) (negative absorption) respectively. Their detection limits are 0.24 mg/L (positive absorption) and 0.18 mg/L (negative absorption). If the negative absorption wavelength is used as reference wavelength, the positive absorption wavelength is used as determination wavelength and a dual-wavelength absorption spectrometry is used to determine diosmin, its linear range remains unchanged, its apparent molar absorption coefficient (κ) is 5.70×10^4 L/(mol·cm) and its detection limit is 0.11 mg/L. Based on this, the ultraviolet-visible absorption spectrometry is established for the determination of diosmin. The method can be applied to the determination of diosmin in commercially available diosmin drugs with the satisfactory results.

Key words: absorption spectrometry; diosmin; ethyl violet

地奥司明是一种黄酮类衍生物, 属毛细管保护类药物, 该药对微循环、水肿形成、淋巴功能、毛细血管过滤性、脆性和通透性具有调节作用, 在临床上主要用于治疗各种因素引起的慢性静脉功能不全、静脉曲张、静脉性水肿及痔病等。其副作用主要有恶心、呕吐、腹泻、失眠、头晕、消化不良及植物神经功

能紊乱等。为了提高用药质量, 减少患者在用药中的副作用, 对药物中地奥司明的检测方法进行研究有着一定意义。目前, 文献报道的地奥司明的检测方法主要是高效液相色谱法^[1-7], 也有电化学法^[8]、荧光法^[9]及液-质联用法^[10]等的报道。高效液相色谱法虽有高的准确度, 但其前处理麻烦、费时, 且日

收稿日期: 2018-10-28; 修回日期: 2019-05-07

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(2018CXX150)

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, cspdxsch123456@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。

常维护费用高。因此,笔者以乙基紫作探针,在紫外光区和可见光区研究药物中地奥司明的快速、灵敏的定量检测方法,尚未见报道。该方法与国标法相比^[1],具有方法简便、快速、样品处理简单、安全、仪器价廉等优点。

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。

乙基紫(ethyl violet, ETV, 分析纯,成都艾科达化学试剂有限公司生产)溶液: 1.00×10^{-3} mol/L水溶液。地奥司明(diosmin, DOS, 对照品批号:D485200,中国食品药品检定研究院生产)标准溶液:精密称取适量地奥司明对照品于小烧杯中,加入6 mL 2.0 mol/L NaOH溶液,再加入10 mL水,搅拌,待其溶解完全后转入100 mL容量瓶中,用水定容,配成608.0 mg/L贮备液,置于4℃冰箱中,临用时取适量贮备液用水稀释10倍配成操作液。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。Tris(三羟甲基氨基甲烷,分析纯,成都贝斯特试剂有限公司生产)溶液:0.20 mol/L。Tris-盐酸溶液:pH 3.5~8.5(取上述适量盐酸溶液和Tris溶液混合,用酸度计测定)。水为二次蒸馏水。

样品:市售地奥司明片(不同厂家的药片简称为1#和2#)。

1.2 样品预处理

取市售1#和2#地奥司明片各5片,去包衣后将内容物分别置于小烧杯中,加入20 mL 2.0 mol/L NaOH溶液,搅拌,溶解,再加适量蒸馏水,搅拌后过滤,滤液用水定容至1000 mL。取该液10.00 mL,用水定容至1000 mL,即为待测液。

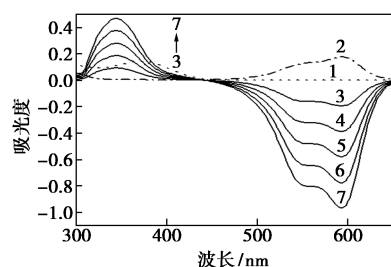
1.3 实验方法

精密移取0.50 mL pH 6.70 Tris-盐酸缓冲溶液于10 mL具塞比色管中,加入2.50 mL 1.00×10^{-3} mol/L乙基紫溶液和0.05~2.50 mL地奥司明标准溶液(或适量样液),用水定容后摇匀,15 min后,在U-4100型光谱仪上,以试剂空白作参比,测定溶液在345 nm和594 nm处的吸光度A,再以594 nm为参比波长,345 nm为测定波长,测定溶液的吸光度A。

2 结果与讨论

2.1 DOS-ETV的吸收光谱

地奥司明与乙基紫的吸收光谱如图1所示。从图1中曲线1可知,DOS溶液在可见光区几乎无吸收,在紫外区有一定吸收,最大吸收波长位于375 nm。从图1中曲线2可以看出,ETV在弱酸性溶液中,其紫外区几乎无吸收,而在可见光区有强吸收,最大吸收波长位于596 nm。从图1中曲线3~7可以看出,当在ETV的弱酸性溶液中加入质量浓度不同的DOS溶液后,光谱曲线上出现1个较强的正吸收(紫外区)和1个较强的负吸收(可见区)。正吸收峰位于345 nm,相对于DOS左移30 nm,相对于ETV溶液紫移251 nm。负吸收峰位于594 nm,相对于ETV溶液几乎无移动。由于体系有波的移动,且出现1个正吸收峰和1个负吸收峰,因此,可以判断DOS与ETV间确实发生了反应生成了新物质(ETV是一种碱性受电子染料,而DOS结构上多氧可提供孤对电子,因此二者可结合生成配合物),且随着DOS溶液质量浓度的增加,新物质在345 nm处的吸光度随之增强,在594 nm处的负吸光度也随之增大,即在此二波长处,DOS的质量浓度与新物质的吸光度绝对值|A|呈线性关系,服从朗伯-比尔定律。若以594 nm作为参比波长,345 nm作为测定波长,用双波长法测定时,DOS的质量浓度与新物质的吸光度仍呈线性关系(吸光度具有加和性)并服从朗伯-比尔定律。故单波长法(345 nm和594 nm)及双波长法(345 nm+594 nm)均可用于DOS的定量分析。



1—6.08 mg/L DOS,水作参比;2— 2.50×10^{-5} mol/L ETV,水作参比;3~7—3.04、6.08、9.13、12.2、15.2 mg/L DOS— 2.50×10^{-4} mol/L ETV,试剂空白作参比;pH:6.70

图1 地奥司明与乙基紫的吸收光谱

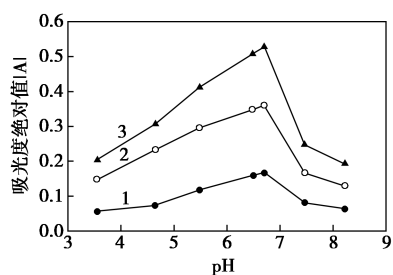
2.2 反应条件

2.2.1 反应介质、酸度及用量

考察了Tris-盐酸、HAc-NaAc及BR缓冲溶液

对 DOS-ETV 体系灵敏度的影响。结果表明, Tris-盐酸作介质时, 反应生成的新物质在测定波长 345 nm 和 594 nm 处的吸光度绝对值 $|A|$ 均较大, 灵敏度较高, 故选择 Tris-盐酸作为反应介质。

同样条件下, 考察了不同酸度的 Tris-盐酸溶液对 DOS-ETV 体系灵敏度的影响, 结果如图 2 所示。



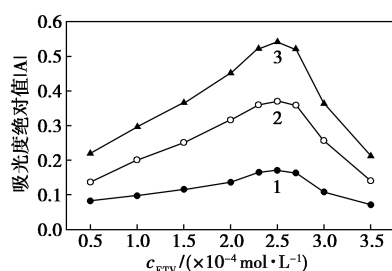
1—345 nm; 2—594 nm; 3—345 nm+594 nm

图 2 pH 的影响

由图 2 可以看出, 无论是单波长法还是双波长法, 其最佳酸度均是 pH 6.70。随之考察了其用量的影响, 结果表明, 0.50 mL 时, 吸光度 $|A|$ 相对较大。故实验用 0.50 mL pH 6.70 Tris-盐酸控制反应的酸度。

2.2.2 ETV 溶液浓度

在固定 DOS 标准溶液浓度不变和选定的 pH 条件下, 改变 ETV 溶液浓度, 考察其对 DOS-ETV 体系灵敏度的影响, 结果如图 3 所示。由图 3 可以看出, 无论是单波长法还是双波长法, ETV 溶液浓度为 2.50×10^{-4} mol/L 时, 体系的 $|A|$ 相对较大, 灵敏度较高。故实验选用 2.50 mL 1.00×10^{-3} mol/L ETV 溶液。



1—345 nm; 2—594 nm; 3—345 nm+594 nm

图 3 乙基紫溶液浓度对 $|A|$ 的影响

2.2.3 试剂加入顺序

在 DOS 浓度不变和上述选定的最佳条件下, 考察各试剂的加入顺序对 DOS-ETV 体系灵敏度的影响。结果表明, 无论用单波长法还是用双波长法测定, 试剂的加入顺序对方法的灵敏度基本无影响。故实验可按任意顺序加入各试剂溶液。

2.2.4 反应时间及配合物的稳定性

在最优条件下, 考察了反应时间对 DOS-ETV 体系灵敏度的影响。结果表明, 无论用单波长法还是用双波长法测定, DOS 与 ETV 的反应在 15 min 内可进行完全。15 min 前, 无论在 345 nm 还是在 594 nm 处, 随着反应时间的推移, 配合物的 $|A|$ 均随时间的增加而增大, $|A|$ - t 曲线为 1 条斜线, 表明这段时间内, 反应并未完全。15 min 后, 随着时间的不断增加, $|A|$ 不再增大, 基本稳定在同一平台上, 表明 15 min 后, 两物质已反应完全, 生成的配合物可稳定约 1 h。实验选在 15 min 后进行测定。

2.3 DOS 标准曲线及相关参数

在选定的最优条件下, 按 1.3 中所述的方法配制并扫描 DOS 标准系列溶液的吸收光谱, 以吸光度 A 为纵坐标, DOS 的质量浓度 ρ 为横坐标作各单波长法和双波长法的 A - ρ 标准曲线。该方法的线性范围均为 0.3 ~ 15.2 mg/L, 其他相关参数如表 1 所示。

表 1 DOS 的标准曲线相关参数

回归方程 $\rho / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	相关系数 r	表观摩尔吸光系数 $\kappa / [\text{L} \cdot (\text{mol} \cdot \text{cm})^{-1}]$	检出限 $D / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$
$A_{345} = -0.000295 + 0.03133\rho$	0.9999	1.88×10^4	0.24
$A_{594} = 0.000941 - 0.06346\rho$	0.9999	3.81×10^4	0.18
$A_{345+594} = -0.00124 + 0.09479\rho$	0.9999	5.70×10^4	0.11

2.4 共存物质的影响

最优条件下, 以 594 nm 为检测波长, 相对误差 $\leq \pm 5\%$ 时, 考察了部分常见共存物质对测定 6.08 mg/L DOS 的影响情况。结果表明, 下列常见物质不干扰测定: 100 倍的 Na^+ 、 K^+ 、 Fe^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Sn^{2+} 、 NH_4^+ 、 Cl^- 、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 、蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、L-谷氨酸、甘氨酸、L-赖氨酸、L-白氨酸、L-亮氨酸、L-色氨酸、L-组氨酸、L-异亮氨酸; 50 倍的 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ 、 NO_3^- 、 SO_3^{2-} 、淀粉、柠檬酸三钠; 10 倍的 Al^{3+} ; 5 倍的 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 。可见, 该方法的选择性良好。

3 分析应用

取 1.2 中所述的待测液 1[#] 1.00 mL, 2[#] 2.00 mL 按 1.3 中所述的方法配制并扫描吸收光谱。以 594 nm 为检测波长, 根据扫描的吸收曲线及标准曲

线回归方程求样液及药片中地奥司明的质量浓度(各样液分别作5份平行测定)。同时,作加标回收试验($n=5$),结果如表2所示。

表2 地奥司明药片的分析结果及回收试验($n=5$)

样品	1 [#]	2 [#]
测得值/(mg·片 ⁻¹)	437	442
标示量/(mg·片 ⁻¹)	450	450
取样量 ρ /(mg·L ⁻¹)	2.18	4.42
加标量 ρ /(mg·L ⁻¹)	3.04	4.26
测得值 ρ /(mg·L ⁻¹)	5.18	8.76
平均回收率/%	98.7	102
RSD/%	2.0	2.5

4 结论

以乙基紫为探针的单波长紫外吸收法、单波长可见吸收法及双波长紫外-可见吸收法均可用于地奥司明药片中地奥司明含量的测定。该方法具有较高的灵敏度、准确度和精密度,有较宽的线性范围和良好的选择性。相对于国标法^[1],具有前处理简单、安全、所用仪器价廉易于普及等优点。

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,2015:336.
- [2] Mohamad S S, Sabrina C, Lindomar P, *et al.* Use of multiresponse statistical techniques to optimize the separation of diosmin, hesperidin, diosmetin and hesperitin in different pharmaceutical preparations by high performance liquid chromatography with UV-

DAD[J]. *Talanta*, 2017, 167: 695-702.

- [3] Behruz B, Alireza A, Maryam R, *et al.* Simplified miniaturized ultrasound-assisted matrix solid phase dispersion extraction and high performance liquid chromatographic determination of seven flavonoids in citrus fruit juice and human fluid samples: Hesperetin and naringenin as biomarkers [J]. *Journal of Chromatography A*, 2013, 1311: 30-40.
- [4] Iman S, Mohammad R H, Moazameh P, *et al.* HPLC determination of hesperidin, diosmin and eriocitrin in Iranian lime juice using polyamide as an adsorbent for solid phase extraction [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2011, 56(2): 419-422.
- [5] Szymański M, Młynarek D, Szymański A, *et al.* simultaneous determination of diosmin and hesperidin in pharmaceuticals by RPLC using ionic liquids as mobile phase modifiers [J]. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2016, 15(1): 141-148.
- [6] 游元元, 范媛媛, 张婷, 等. HPLC 波长切换法测定尤力克柠檬叶中4种活性成分的含量 [J]. *中药新药与临床药理*, 2015, 26(4): 554-557.
- [7] 赵喆, 唐素芳. HPLC 法测定地奥司明原料药及片剂的含量和有关物质 [J]. *中国药房*, 2013, 24(29): 2773-2776.
- [8] Li H C, Liu Y Q, Wang L, *et al.* Electrochemical behavior of Diosmin and its sensitive determination on ZrO₂-NPs-coated poly (diallyl dimethyl ammonium chloride)-functionalized graphene modified electrode [J]. *Microchemical Journal*, 2018, 143: 430-440.
- [9] Dalia M, Shereen M T. Fluorimetric determination of diosmin and hesperidin in combined dosage forms and in plasma through complex formation with terbium [J]. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 2013, 51(1): 81-88.
- [10] Guo P P, Yan W Y, Han Q J, *et al.* Simultaneous quantification of 25 active constituents in the total flavonoids extract from *Herba Desmodii Styracifolii* by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Separation Science*, 2015, 38(7): 1156-1163. ■

赢创提高气相法二氧化硅产能

近期,赢创位于安特卫普的气相法二氧化硅工厂如期顺利扩产。通过这次产能提升,赢创将更好地满足高端市场对 AEROSIL® 品牌气相法二氧化硅的需求。

作为一种智能材料,二氧化硅属于赢创四大增长引擎之一。这些“引擎”业务的增长率均超过市场平均水平,其中,全球气相法二氧化硅的年均市场增长率预计将超过4%,高于全球经济增长。

同亲水性二氧化硅市场一样,疏水处理的特种二氧化硅的市场需求也持续增长。为了满足市场需求,本次

扩产也对安特卫普工厂的生产线进行了升级,使其成为赢创在欧洲的第二个疏水二氧化硅生产基地。

赢创是全球领先的二氧化硅生产商。除了 AEROSIL® 气相法二氧化硅和 ULTRASIL®、SIPERNAT®、ZEODENT®、SPHERILEX® 沉淀法二氧化硅,赢创还生产 ACEMATT® 品牌的二氧化硅消光粉和其他 AEROXIDE® 旗下的气相法金属氧化物。通过此次扩产,赢创全球二氧化硅系列产品总产能约为100万t/a。(王哲)