

共振瑞利散射法定量检测药物中的吡哌酸

李莉娟, 江虹*, 犹燕妮

(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:建立了快速、准确检测药物中吡哌酸的高灵敏共振瑞利散射法。在 pH 为 9.64 的碱性 Tris-HCl 介质中, 吡哌酸与碱性艳蓝 B 相互作用生成二元离子缔合物, 使共振瑞利散射(RRS)信号显著增强, 并产生新的 RRS 光谱。最大共振瑞利散射峰位于 365 nm, 吡哌酸的质量浓度在 0.007~0.55 mg/L 范围内与体系的共振瑞利散射增强强度(ΔI_{RRS})呈线性关系, 检出限为 0.006 5 mg/L。该方法用于药物中吡哌酸的测定, 加标回收率为 98.2%~103%, 相对标准偏差($n=5$)为 2.0%~2.5%。

关键词:吡哌酸; 碱性艳蓝 B; 药物; 共振瑞利散射

中图分类号: O657.3; R917

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2019)08-0240-04

DOI: 10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2019.08.051

Quantitative detection of pipemidic acid in drugs by resonance Rayleigh scattering method

LI Li-juan, JIANG Hong*, YOU Yan-ni

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

Abstract: A rapid, accurate, highly sensitive and new resonance Rayleigh scattering method for determination of pipemidic acid in drugs is established. In an alkaline Tris-HCl medium with a pH value of 9.64, the interaction between pipemidic acid and basic brilliant blue B can form a binary ionic associate complex, which distinctly enhances resonance Rayleigh scattering (RRS) signal of system and comes into being a new resonance Rayleigh scattering spectrum. The maximum resonance Rayleigh scattering peak locates at 365 nm where the mass concentration of pipemidic acid in the range of 0.007 to 0.55 mg·L⁻¹ shows a good linear relationship with the enhanced intensity (ΔI_{RRS}) of resonance Rayleigh scattering, and the detection limit is 0.006 5 mg·L⁻¹. As this method is applied to the determination of pipemidic acid in drugs, the spiked recovery rate is 98.2%~103% and the relative standard deviation RSD ($n=5$) is 2.0%~2.5%.

Key words: pipemidic acid; basic brilliant blue B; drug; resonance Rayleigh scattering

吡哌酸(pipemidic acid)是一种抗菌谱广、灭菌能力强的第 2 代喹诺酮类药物, 主要用于革兰阴性杆菌所致的尿路感染及肠道感染的治疗, 临床上应用较广。由于该药有一定的副作用, 对胃肠道会产生如恶心、嗝气、上腹不适、食欲减退等不良反应, 或引起头痛、头晕、皮疹、瘙痒等不良症状。为了有效控制用药质量, 对药物中吡哌酸含量进行测定有着一定意义。目前, 对吡哌酸的检测方法主要有紫外分光光度法^[1]、高效液相色谱法^[2-5]、液-质联用法^[6-8]和电化学法^[9-10]等, 也偶有荧光法^[11]和毛细管电泳-质谱法^[12]等的报道。这些方法中, 有的仪器价格较贵、不易普及、维护成本高, 有的条件要求较严格、灵敏度不高、选择性不好等, 因此有必要对吡哌酸的快检方法进行研究。笔者利用普通荧光分光光度计并采用高灵敏的共振瑞利散射技术研究药

物中的吡哌酸。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

酸度计: pHs-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。

吡哌酸(PPA, 对照品批号: 100142-201105, 中国食品药品检定研究院)标准溶液: 精密称取适量 PPA 对照品, 用少许 0.010 mol/L HCl 溶解完全后, 转至容量瓶中, 用水定容, 配成 303.3 mg/L 贮备液, 冰箱(4℃)保存; 临用时取贮备液用水稀释配成 3.033 mg/L 操作液。碱性艳蓝 B(BAB, 分析纯, 上海迈瑞尔化学技术有限公司生产)溶液: 1.00×10^{-4} mol/L。三羟甲基氨基甲烷(Tris, 分析纯, 齐一生物

收稿日期: 2018-11-10; 修回日期: 2019-06-11

基金项目: 重庆市教委科技基金资助项目(KJ121307); 长江师范学院科技基金资助项目(2018CXX117)

作者简介: 李莉娟(1998-), 女, 本科, 研究方向为分子光谱分析, Lilijuan20182019@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。

科技(上海)有限公司生产)溶液:0.20 mol/L。盐酸(HCl,分析纯,重庆川东(化工)集团有限公司生产)溶液:0.10 mol/L。Tris-HCl溶液:将Tris溶液和HCl溶液混合,用pH计测定并配成pH 3.0~9.8的溶液。水:二次蒸馏水。

样品:市售胶囊(1[#])和吡哌酸片(2[#])。

1.2 样品处理

取某厂家生产的吡哌酸胶囊(1[#])5粒和某厂家生产的吡哌酸片(2[#])6片,去胶壳、包衣后,将内容物分别置于烧杯中,加入0.010 mol/L HCl 10 mL,搅拌、溶解,再加适量蒸馏水,搅拌、过滤,滤液用水定容至1 000 mL。取该液5.00 mL,加水定容至1 000 mL,摇匀后即配成1[#]和2[#]待测液。

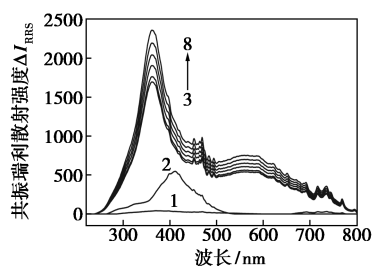
1.3 实验方法

准确移取0.00~2.00 mL 3.033 mg/L PPA标准溶液于10 mL比色管中,顺序加入0.50 mL pH 9.64 Tris-HCl溶液和3.50 mL 1.00×10^{-4} mol/L BAB溶液,摇匀,用水定容至10 mL,摇匀后,于45℃水浴中加热10 min,流水冷至室温,10 min后,在荧光光度仪上(设测定狭缝5 nm, $\lambda_{\text{ex}} = \lambda_{\text{em}} = 220$ nm)扫描RRS光谱,记录最大RRS峰(365 nm)处体系的 I_{RRS} 和试剂空白的 I_0 ,计算强度差 $\Delta I_{\text{RRS}} = I_{\text{RRS}} - I_0$ 。

2 结果与讨论

2.1 RRS光谱

碱性艳蓝B与吡哌酸的RRS光谱如图1所示。从图1中可以看出,PPA溶液自身的RRS十分微弱; 3.50×10^{-5} mol/L BAB溶液的RRS较强,最大RRS峰位于412 nm。当在BAB溶液中加入pH 9.64 Tris-HCl溶液后,其RRS信号显著增强,最大峰发生位移, $\lambda_{\text{max}} = 365$ nm,紫移47 nm。当在BAB的碱性溶液中加入不同质量浓度的PPA标准溶液



1—0.303 mg/L PPA; 2— 3.50×10^{-5} mol/L BAB;
3~8—0.0, 0.0607, 0.182, 0.303, 0.425, 0.546 mg/L
PPA— 3.50×10^{-5} mol/L BAB, pH 9.64

图1 碱性艳蓝B与吡哌酸的RRS光谱

后,从图1中曲线3~8可知,随着PPA质量浓度的增大,RRS随之增强,PPA在一定范围内的质量浓度与BAB-PPA体系的RRS增强强度 ΔI_{RRS} 呈线性关系,可用于PPA的定量分析。

反应机理: BAB是一种碱性染料,在溶液中以阳离子形式存在; PPA因结构上有羧酸根离子,在溶液中以阴离子形式存在,其结构式如图2所示。当溶液处于碱性环境时, BAB与PPA以静电引力作用生成二元离子缔合物。

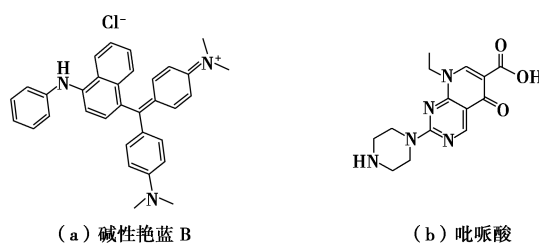


图2 碱性艳蓝B和吡哌酸的结构式

2.2 反应条件的优化

2.2.1 介质、酸度及用量

室温下,在PPA质量浓度为0.303 mg/L、BAB浓度为 2.00×10^{-5} mol/L时,按1.3所述的方法分别考察了HAc-NaAc、Tris-HCl、NaOH溶液对BAB-PPA体系RRS增强强度 ΔI_{RRS} 的影响。结果表明,用Tris-HCl作反应介质有更佳的效果,其 ΔI_{RRS} 相对更大,方法的灵敏度更高。同时考察了不同pH的Tris-HCl溶液对BAB-PPA体系 ΔI_{RRS} 的影响,结果如图3所示。由图3可以看出,反应最适pH为9.64,大于或小于该值,体系 ΔI_{RRS} 均有不同程度的降低。原因是酸度条件不合适,反应可能不发生或部分发生,从而使 ΔI_{RRS} 有所降低。之后又考察了最佳pH在不同用量时对BAB-PPA体系 ΔI_{RRS} 的影响。结果表明,反应最适用量为0.50 mL,此时 ΔI_{RRS} 相对较大,灵敏度较高。故用0.50 mL pH 9.64 Tris-HCl溶液来控制反应的酸度。

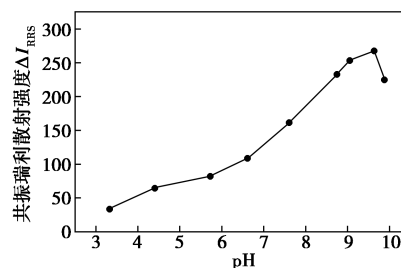


图3 pH对 ΔI_{RRS} 的影响

2.2.2 BAB溶液的用量

室温下,当PPA质量浓度为0.303 mg/L及选

定的最佳 pH 条件下,按 1.3 所述方法考察了 1.00×10^{-4} mol/L BAB 溶液浓度对 BAB-PPA 体系 RRS 增强强度 ΔI_{RRS} 的影响,结果如图 4 所示。由图 4 可以看出,BAB 溶液的适宜用量为 3.20~3.80 mL。此范围内,体系 ΔI_{RRS} 较大,灵敏相对较高;在此范围外, ΔI_{RRS} 均有不同程度的降低,降低的原因是当 BAB 用量小于 3.20 mL 时,BAB 与 PPA 间的反应不完全;当 BAB 溶液用量大于 3.80 mL 时,因 BAB 自身分子间的聚集,使体系的 ΔI_{RRS} 有所降低。故选用 3.50 mL 1.00×10^{-4} mol/L BAB 溶液。

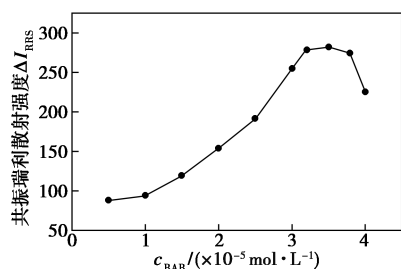


图 4 碱性艳蓝 B 浓度对 ΔI_{RRS} 的影响

2.2.3 试剂加入顺序

室温下,在上述选定的条件下,按 1.3 中所述的实验方法考察了试剂加入顺序对 BAB-PPA 体系 RRS 增强强度 ΔI_{RRS} 的影响。结果表明,按 PPA、Tris-HCl、BAB 顺序加入各试剂溶液,体系的 RRS 相对最强 ($I_{\text{RRS}} = 2\ 005$)、 ΔI_{RRS} 最大 ($\Delta I_{\text{RRS}} = 310$),该方法的灵敏度相对最高。故按此最佳顺序进行实验。

2.2.4 反应时间

在选定的最佳条件下,按 1.3 中所述的实验方法考察了流水冷至室温后,BAB 与 PPA 反应时间对体系 ΔI_{RRS} 的影响。结果表明,BAB 与 PPA 的反应在 45°C 水浴中加热 10 min,流水冷至室温后的 10 min 内可以进行完全。10 min 前,因反应不完全, $\Delta I_{\text{RRS}}-t$ 曲线表现为随反应时间的增加 ΔI_{RRS} 随之增大的 1 条斜线。10~120 min,由于 BAB 与 PPA 的反应已进行完全,因此 $\Delta I_{\text{RRS}}-t$ 曲线基本处于同一水平上,无论反应时间如何增加, ΔI_{RRS} 基本不变,表明 BAB 与 PPA 反应生成的缔合物至少可稳定 1.5 h。因此选择在流水冷至室温后的 10 min 后进行测定。

2.3 标准曲线

在选定的最佳实验条件下,配制 0.00~2.00 mL 3.033 mg/L PPA 标准系列溶液,按 1.3 所述的方法扫描 RRS 光谱。实验结果表明,在 365 nm 处,PPA

的质量浓度在 0.007~0.55 mg/L 范围内与体系的 ΔI_{RRS} 呈线性关系, $\Delta I_{\text{RRS}}-\rho$ (mg/L) 工作曲线如图 5 所示。该方法的检出限 ($3S_0/S$) 为 0.006 5 mg/L;一元线性回归方程为 $\Delta I_{\text{RRS}} = -6.077 + 1\ 199\rho$;相关系数 $r = 0.999\ 7$ 。

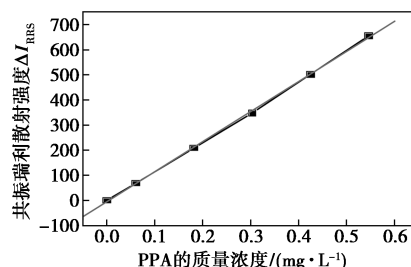


图 5 PPA 工作曲线

2.4 共存物质的影响

按 1.3 所述的实验方法,考察了相对误差在 $\pm 5\%$ 以内时,某些常见共存无机物和有机物对 PPA 测定的影响。结果表明,下列倍数的共存物质不会干扰测定:200 倍的葡萄糖、麦芽糖、蔗糖、D-果糖、L-谷氨酸、L-亮氨酸、L-白氨酸、L-丙氨酸、L-赖氨酸、L-组氨酸、L-色氨酸、L-异亮氨酸、柠檬酸三钠、尿素、 K^+ 、 Na^+ 、 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Sr^{2+} 、 Sn^{2+} 、 NH_4^+ 、 NO_3^- 、 Cl^- 、 SO_3^{2-} ;100 倍的 Ca^{2+} 、 Ba^{2+} 、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 、 CO_3^{2-} 、 I^- ;50 倍的 Pb^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Al^{3+} 、 $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ 、 SO_4^{2-} 、淀粉、卡马西平、阿莫西林、苯唑西林。可见,该方法具有很好的选择性。

3 分析应用

取 1.2 中已处理好的待测液各 0.30 mL 代替 1.3 中所述的标准溶液,并按所述的实验方法在 365 nm 波长处用 RRS 法测定待测液 ($n = 5$) 及原始胶囊、药片中吡哌酸的含量,并与国标法 (UV 法^[1]) 对照。再做 3 个加标水平的回收试验 ($n = 5$)。结果如表 1 所示。

表 1 样品分析结果及回收试验 ($n = 5$)

样品	标示量/ (mg·粒 ⁻¹ 或片 ⁻¹)	测得值/ (mg·粒 ⁻¹ 或片 ⁻¹)	加标量/ (10 ⁻³ mg)	测得平 均值/ (10 ⁻³ mg)	平均回 收率/ %	RSD/ %
1 [#]	250	240	0.910	2.74	103.0	2.5
			1.820	3.65	102.0	2.3
			2.430	4.27	102.0	2.3
2 [#]	250	245	0.910	3.11	98.9	2.0
			2.120	4.30	98.6	2.5
			2.730	4.89	98.2	2.3

4 结论

建立了高灵敏共振瑞利散射技术(以碱性艳蓝 B 作探针)检测药物中吡哌酸的实验方法,该方法具有简便、快速、灵敏的特点,其准确度和精密度满足痕量分析要求,同时该方法的选择性好、线性范围较宽,适于批量药物中吡哌酸含量的快速测定。

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,2015:472-474.
- [2] 王艳红,李冰,陈真. 高效液相色谱法同时测定止咳平喘类中成药中违规添加的磺胺嘧啶等 7 种化学抗菌物质[J]. 中国药理学杂志,2014,49(8):683-687.
- [3] Antonio V H H, Javier H B, Teresa M B M, *et al.* Dispersive liquid-liquid microextraction combined with ultra-high performance liquid chromatography for the simultaneous determination of 25 sulfonamide and quinolone antibiotics in water samples[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2013, 75: 130-137.
- [4] Maria A C S, Maria R A, Samuel C B, *et al.* Simultaneous Separation and determination of quinolones in pharmaceuticals by micellar liquid chromatography [J]. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 2010, 33(4): 513-525.
- [5] Zhang H, Chen S, Lu Y B, *et al.* Simultaneous determination of quinolones in fish by liquid chromatography coupled with fluorescence detection: Comparison of sub-2 microm particles and conventional C18 columns [J]. Journal of Separation Science, 2010, 33(13): 1959-1967.
- [6] Diego G R, Flavio A S, Julio C C S, *et al.* Multiresidue determination of fluoroquinolones in poultry muscle and kidney according to the regulation 2002/657/EC. A systematic comparison of two different approaches: Liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry or tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2015, 1379: 83-91.
- [7] Antonio V H H, Javier H B, Miguel A R D, *et al.* Determination of quinolone residues in infant and young children powdered milk combining solid-phase extraction and ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2011, 1218(42): 7608-7614.
- [8] Shen C Y, Shen D X, Ding T, *et al.* Simultaneous determination of 14 quinolones in royal jelly by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using anion-exchange solid-phase extraction [J]. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 2011, 34(14): 1415-1430.
- [9] Sun H W, Li L Q, Su M. Simultaneous determination of proline and pipemidic acid in human urine by capillary electrophoresis with electrochemiluminescence detection [J]. Journal of Clinical Laboratory Analysis, 2010, 24(5): 327-333.
- [10] Antonio V H H, Javier H B, Teresa M B M, *et al.* Dispersive liquid-liquid microextraction combined with nonaqueous capillary electrophoresis for the determination of fluoroquinolone antibiotics in waters [J]. Electrophoresis, 2010, 31(20): 3457-3465.
- [11] 张先廷. 吡哌酸荷移反应及荧光光谱性质研究 [J]. 化工技术与开发, 2015, 44(5): 46-49.
- [12] Ana J G, Font G, Pico Y. Determination of quinolone residues in chicken and fish by capillary electrophoresis-mass spectrometry [J]. Electrophoresis, 2006, 27(11): 2240-2249. ■
- [13] Electrochim Acta, 2010, 55(18): 5135-5141.
- [14] Momberg A, von Baer D, Bruhn C, *et al.* The oxidative voltammetric behaviour of some sulphonamides at the glassy carbon electrode [J]. Anal Chim Acta, 1984, 159(5): 119-127.
- [15] 何家洪, 张胜涛, 邢少华, 宋仲容. L-半胱氨酸/普鲁士蓝复合修饰玻碳电极的制备及电化学性能 [J]. 分析化学, 2013, 41(10): 1561-1565.
- [16] Laviro E. Adsorption, autoinhibition and autocatalysis in polarography and in linear potential sweep voltammetry [J]. Journal of Electroanalytical Chemistry, 1974, 52(3): 355-393.
- [17] Arenaza M J, Gallo B, Berrueta L A, *et al.* Electrooxidation and determination of the 1, 4-benzodiazepine loperamide at the carbon-paste electrode [J]. Anal Chim Acta, 1995, 305(1): 91-95. ■
- [18] Lu X, Li Y, Zhang X, *et al.* A simple and an efficient strategy to synthesize multi-component nanocomposites for biosensor applications [J]. Anal Chim Acta, 2012, 711: 40-45.
- [19] Guo C X, Hu F P, Li C M, *et al.* Direct electrochemistry of hemoglobin on carbonized titania nanotubes and its application in a sensitive reagentless hydrogen peroxide biosensor [J]. Biosens Bioelectron, 2008, 24(4): 819-824.
- [20] 马永钧, 付周周, 任小娜, 等. 2, 4-二硝基苯酚在普鲁士蓝修饰电极上的电化学行为及分析应用研究 [J]. 分析化学, 2008, 36(2): 241-244.
- [21] Dong Y P, Pei L Z, Chu X F, *et al.* Electrochemical behavior of cysteine at a CuGeO₃ nanowires modified glassy carbon electrode [J].

(上接第 239 页)