

# 双波长瑞利光散射测定药物中的地奥司明

冉茂媛, 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:**建立了以亮绿作探针测定药物中地奥司明的快速、准确、高灵敏瑞利光散射(RLS)新方法。在 pH 9.17 的碱性溶液中,亮绿与地奥司明作用生成二元离子缔合物,使瑞利光散射信号明显增强并产生具有 2 个明显 RLS 峰的新瑞利散射光谱。在 370 nm 和 469 nm 波长处,地奥司明的质量浓度在一定范围内与体系的 RLS 增强强度的绝对值( $|\Delta I_{\text{RLS}}|$ )呈线性关系,检出限分别为 0.003 8 mg/L(370 nm)和 0.004 3 mg/L(469 nm)。当用双波长 RLS 法测定地奥司明时,其检出限为 0.002 0 mg/L。地奥司明的质量浓度在 0.005~0.85 mg/L 范围内与单波长法或双波长法的 $|\Delta I_{\text{RLS}}|$ 呈线性关系。该法用于市售地奥司明药物中地奥司明的测定,加标回收率为 98.4%~102%,相对标准偏差  $RSD(n=5)$  为 1.2%~1.7%。

**关键词:**地奥司明;亮绿;双波长;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)10-0226-04

**DOI:** 10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2019.10.050

## Determination of diosmin in drug by dual-wavelength Rayleigh light scattering method

RAN Mao-yuan, 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:** With bright green as a probe, a new highly sensitive Rayleigh light scattering (RLS) method is established for rapid and accurate determination of diosmin in drugs. In an alkaline solution of pH = 9.17, bright green reacts with diosmin to form a binary ionic association complexes, which leads to a greatly enhanced Rayleigh light scattering signal of system and produces a new Rayleigh scattering spectrum with two obvious RLS peaks. At 370 nm and 469 nm wavelengths, the mass concentration of diosmin in a certain range is linearly related to the absolute RLS enhancement strength ( $|\Delta I_{\text{RLS}}|$ ) of the system. The detection limits are 0.003 8 mg·L<sup>-1</sup> (370 nm) and 0.004 3 mg·L<sup>-1</sup> (469 nm), respectively. The detection limit is 0.002 0 mg·L<sup>-1</sup> when the dual-wavelength RLS method is used for the determination of diosmin. The mass concentration of diosmin in the range of 0.005 mg·L<sup>-1</sup> to 0.85 mg·L<sup>-1</sup> is linearly related to  $|\Delta I_{\text{RLS}}|$  of single wavelength method or dual wavelength method of the binary ionic association complexes. The recovery rate of standard addition and  $RSD(n=5)$  are 98.4% to 102% and 1.2% to 1.7%, respectively as this method is applied to determine the content of diosmin in commercially available diosmin drugs.

**Key words:** diosmin; bright green; dual-wavelength; Rayleigh scattering

地奥司明(diosmin)是一种能增强静脉张力、促进淋巴回流及改善微循环的药物,临床上主要用于治疗各种原因引起的慢性静脉、淋巴功能不全相关的各种症状,包括静脉曲张、静脉性水肿、血栓性静脉炎、深静脉血栓、软组织肿胀、麻木、疼痛、四肢沉重及痔病等。由于使用该药后可能使神经系统、胃肠道及皮肤等方面出现某些副作用,因此对药物中地奥司明含量进行测定有一定意义。目前,文献报道的测定方法主要有高效液相色谱法<sup>[1-7]</sup>、气-质联用法<sup>[8]</sup>、液-质联用法<sup>[9]</sup>、荧光法<sup>[10]</sup>及电化学法<sup>[11]</sup>等。前3种方法前处理麻烦,所用仪器价格较贵,日

常维护费用高。后2种方法条件要求较为苛刻。因此,笔者采用具有高灵敏度的双波长瑞利散射(DWO-RLS)技术研究药物中地奥司明的检测方法,目前该方法尚未见文献报道。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

F-2500型荧光分光光度计,日本日立公司生产;pHS-3C型精密酸度计,上海虹益仪器仪表有限公司生产。

地奥司明(diosmin, DOSM, 对照品批号:

收稿日期:2018-12-19;修回日期:2019-08-06

基金项目:重庆市教委科技基金项目(KJ1401226);长江师范学院科技基金项目(2018CXX188)

作者简介:冉茂媛(1997-),女,本科,研究方向为分子光谱分析,ranmaoyuan2018@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。

D485200,中国食品药品检定研究院生产)标准溶液:608.0 mg/L标准贮备液(精密称取适量 DOSM 对照品,加 5.0 mL NaOH(2.0 mol/L)及 10 mL 水,溶解后置于 100 mL 容量瓶中,用水稀至刻度),保存于 4℃ 冰箱中,用时取贮备液稀释成 6.080 mg/L。

亮绿(bright green, BRG, 分析纯,成都市科龙化工试剂厂生产)溶液: $1.00 \times 10^{-4}$  mol/L 水溶液。Tris(三羟甲基氨基甲烷,分析纯)-HCl(分析纯)溶液:pH 3.2~9.8(适量 0.20 mol/L Tris 与适量 0.10 mol/L HCl 混合,用酸度计测定)。H<sub>2</sub>O:超纯水。

### 1.2 样品处理

取市售不同厂家生产的地奥司明片 1<sup>#</sup>和 2<sup>#</sup>各 5 片,分别去包衣后置于小烧杯中,加 15 mL 稀 NaOH(2.0 mol/L)溶液和 30 mL 蒸馏水,搅拌使地奥司明溶解并过滤,滤液置于 1 000 mL 容量瓶中,用水稀至刻度。准确移取该液 5.00 mL,用水定容至 1 000 mL,即为 1<sup>#</sup>和 2<sup>#</sup>待测液。

### 1.3 实验方法

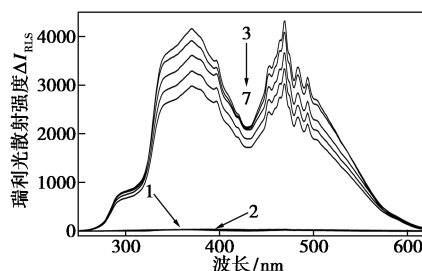
精密移取 0.00~1.40 mL 地奥司明标准溶液(或适量地奥司明样液),依次加入 3.00 mL pH 9.17 Tris-HCl 溶液和 3.50 mL  $1.00 \times 10^{-4}$  mol/L 亮绿溶液于 10 mL 具塞比色管中,加水定容,摇匀。25 min 后,在荧光仪(设  $\lambda_{\text{ex}} = \lambda_{\text{em}} = 220$  nm,狭缝宽度 5.0 nm)上同步扫描瑞利散射(RLS)光谱,在 370 nm 和 469 nm 处用双波长瑞利散射法求体系的瑞利光散射强度  $I_{\text{RLS}(370+469)}$  及试剂空白的瑞利光散射强度  $I_{0(370+469)}$ ,最后计算出双波长瑞利散射增强强度  $\Delta I_{\text{RLS}(370+469)} = I_{\text{RLS}(370+469)} - I_{0(370+469)}$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 DWO-RLS 的光谱特征

DOS-BRG 的 RLS 光谱如图 1 所示。从图 1 中可以看出,DOSM 及 BRG 自身的 RLS 十分微弱(如图 1 中曲线 1 和曲线 2 所示)。BRG 在 pH 9.17 的 Tris-HCl 溶液中的 RLS 信号显著增强,并出现 2 个强的 RLS 峰,其峰波长分别位于 370 nm 和 469 nm 处(如图 1 中曲线 3 所示)。从图 1 中曲线 3~7 可以看出,当在 BRG 的碱性溶液中加入不同质量浓度的 DOSM 标准溶液后,随着 DOSM 标准溶液质量浓度的增加,体系的 RLS 强度  $I_{\text{RLS}(370)}$  和  $I_{\text{RLS}(469)}$  逐渐降低,但当 DOSM 在一定质量浓度范围内时,DOSM 的质量浓度与单波长 RLS(SWO-RLS)增强强度的绝

对值( $|\Delta I_{\text{RLS}(370)}|$ 或 $|\Delta I_{\text{RLS}(469)}|$ )呈线性关系,可用于定量分析。若在 370 nm 和 469 nm 波长下,采用 DWO-RLS 法来测定 DOSM,由于 RLS 强度的加和性,一定浓度范围的 DOSM 的质量浓度仍与 DWO-RLS 法 $|\Delta I_{\text{RLS}(370+469)}|$ 呈线性关系,且 DWO-RLS 法的灵敏度约是 SWO-RLS 法的 2 倍,故选用 DWO-RLS 法来测定药物中 DOSM 的质量浓度。



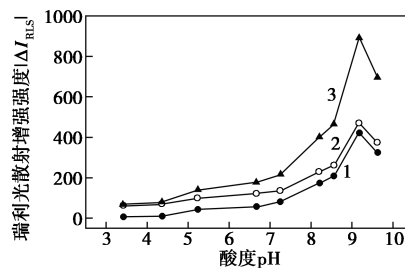
1—DOSM(0.608 mg/L);2—BRG( $3.50 \times 10^{-5}$  mol/L);  
3~7—DOSM(0.00,0.122,0.365,0.608,0.852 mg/L) -  
BRG( $3.50 \times 10^{-5}$  mol/L),pH 9.17

图 1 DOS-BRG 的 RLS 光谱

### 2.2 反应条件

#### 2.2.1 酸度及用量

取 6.080 mg/L DOSM 标准溶液 1.00 mL、 $1.00 \times 10^{-4}$  mol/L 亮绿溶液 2.00 mL,考察室温下用 SWO-RLS 法和 DWO-RLS 法测定时,不同 pH 的 Tris-HCl 溶液对体系  $|\Delta I_{\text{RLS}}|$  的影响,结果如图 2 所示。由图 2 可以看出,酸性条件下对体系  $|\Delta I_{\text{RLS}}|$  影响不大;而碱性条件对体系的  $|\Delta I_{\text{RLS}}|$  有较大影响,在碱性范围内,反应的最佳 pH 为 9.17,pH 大于或小于该值,体系的  $|\Delta I_{\text{RLS}}|$  均有不同程度的降低。相继考察了 pH 9.17 的 Tris-HCl 用量对体系  $|\Delta I_{\text{RLS}}|$  的影响,结果表明,Tris-HCl 溶液用量为 3.00 mL 时,体系的灵敏度相对最高, $|\Delta I_{\text{RLS}}|$  最大。故选用 3.00 mL pH 9.17 Tris-HCl 溶液。可见,DWO-RLS 法的灵敏度较 SWO-RLS 法高。

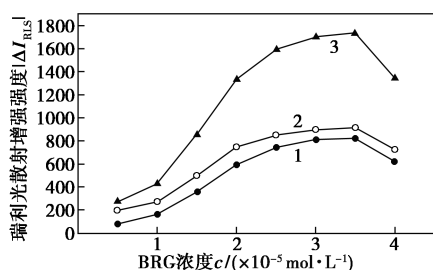


1—370 nm;2—469 nm;3—(370+469) nm

图 2 pH 对  $|\Delta I_{\text{RLS}}|$  的影响

### 2.2.2 BRG 溶液的浓度

取 6.080 mg/L DOSM 标准溶液 1.00 mL、pH 9.17 Tris-HCl 溶液 3.00 mL, 考察室温下用 SWO-RLS 法和 DWO-RLS 法测定时,  $1.00 \times 10^{-4}$  mol/L 亮绿溶液用量对体系  $|\Delta I_{RLS}|$  的影响, 结果如图 3 所示。由图 3 可以看出,  $1.00 \times 10^{-4}$  mol/L BRG 溶液的最佳用量为 3.50 mL, 即测定的最佳浓度为  $3.50 \times 10^{-5}$  mol/L。当 BRG 溶液的浓度大于或小于  $3.50 \times 10^{-5}$  mol/L 时, 体系的灵敏度均有不同程度降低, 即体系的  $|\Delta I_{RLS}|$  有所降低。故选用 3.00 mL  $1.00 \times 10^{-4}$  mol/L BRG 溶液。可见, DWO-RLS 法的灵敏度仍较 SWO-RLS 法高。



1—370 nm; 2—469 nm; 3—(370+469) nm

图 3 BRG 浓度对  $|\Delta I_{RLS}|$  的影响

### 2.2.3 试剂加入顺序

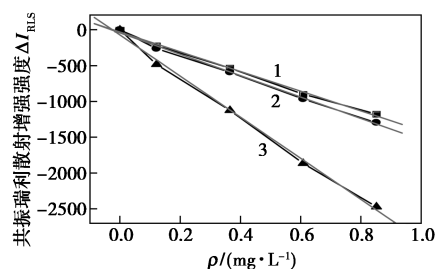
在 2.2.1 和 2.2.2 选定的最佳实验条件下, 考察了室温下用 SWO-RLS 法和 DWO-RLS 法测定时, 各试剂的加入顺序对体系  $|\Delta I_{RLS}|$  的影响, 结果表明, 按 1.3 中所述的实验顺序加入各试剂溶液, 体系的灵敏度相对较高,  $|\Delta I_{RLS}|$  较大 ( $|\Delta I_{RLS(370)}| = 872$ ,  $|\Delta I_{RLS(469)}| = 968$ ,  $|\Delta I_{RLS(370+469)}| = 1846$ )。故按 DOSM、Tris-HCl、BRG 的顺序加入各试剂溶液。

### 2.2.4 反应时间

在 370 nm 和 469 nm 下, 考察了最佳条件下用 DWO-RLS 法测定时反应时间对体系  $|\Delta I_{RLS}|$  的影响。结果表明, 25 min 内, DOSM 与 BRG 的反应可进行完全, 稳定时间至少 1 h。故选在 25 min 后进行测定。

### 2.3 DOSM 的标准曲线及相关参数

在选定的条件下, 按 1.3 中所述的方法配制地奥司明标准系列溶液, 同步扫描 RLS 光谱。用 SWO-RLS 法和 DWO-RLS 法测定的标准曲线如图 4 所示, 相关参数如表 1 所示。其线性范围均为 0.005~0.85 mg/L。从图 4 和表 1 可以看出, DWO-RLS 法比 SWO-RLS 法有更高的灵敏度。故选用双波长法进行测定。



1—370 nm; 2—469 nm; 3—(370+469) nm

图 4 标准曲线

表 1 MID 标准曲线相关参数

方法	回归方程 [ $\rho / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$ ]	相关系数 $r$	检出限 $D / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$
SWO-RLS	$\Delta I_{RRS(370)} = -29.55 - 1376\rho$	0.9984	0.0038
SWO-RLS	$\Delta I_{RRS(620)} = -40.82 - 1494\rho$	0.9982	0.0043
DWO-RLS	$\Delta I_{RRS(370+620)} = -70.37 - 2871\rho$	0.9984	0.0020

### 2.4 方法的选择性

用 DWO-RLS 法考察了某些共存物质在相对误差  $\leq \pm 5\%$  时对 0.608 mg/L DOSM 测定的影响。结果表明, 下列共存物质不干扰测定: 200 倍的 L-组氨酸、L-赖氨酸、L-亮氨酸、L-白氨酸、L-丙氨酸、葡萄糖、麦芽糖、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{NO}_3^-$ ; 150 倍的 L-谷氨酸、L-色氨酸、蔗糖、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ; 100 倍的 L-异亮氨酸、甘氨酸、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Sr}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Ba}^{2+}$ 、 $\text{Sn}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ 、 $\text{SO}_3^{2-}$ ; 50 倍的柠檬酸三钠、淀粉、尿素、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ 。可见, 该方法的选择性良好。

### 3 分析应用

取 1.2 中所制的各待测液 0.30 mL, 按 1.3 中所述的实验方法进行测定, 再依据回归方程求得各待测液及原始药片中地奥司明的质量浓度, 各样液平行测定 5 份。同时做不同加标水平的回收试验, 各水平平行测定 5 份。结果如表 2 所示。

表 2 样品分析结果及回收试验 ( $n=5$ )

样品	标示量/ (mg·片 <sup>-1</sup> )	测得 平均值/ (mg·片 <sup>-1</sup> )	取样 量 $\rho$ / (mg·L <sup>-1</sup> )	加入标 准量 $\rho$ / (mg·L <sup>-1</sup> )	测得平 均值 $\rho$ / (mg·L <sup>-1</sup> )	平均 回收 率/%	RSD/ %
1 <sup>#</sup>	450	438	0.328	0.122	0.448	98.4	1.7
				0.304	0.628	98.7	1.5
				0.426	0.750	99.1	1.2
2 <sup>#</sup>	450	443	0.332	0.122	0.457	102	1.4
				0.304	0.640	101	1.3
				0.426	0.763	101	1.2

## 4 结论

以亮绿作探针测定地奥司明的 DWO-RLS 法具有较高的灵敏度(检出限 2.0 ng/mL)、准确度(回收率 98.4%~102%)、精密度(RSD 为 1.2%~1.7%)及良好的选择性,所用仪器价廉易于普及,操作简便、安全,可用于市售地奥司明药片中地奥司明的快速定量分析。

## 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] 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.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] Spanakis M, Kasma S, Niopas I. Simultaneous determination of the flavonoid aglycones diosmetin and hesperetin in human plasma and urine by a validated GC/MS method: In vivo metabolic reduction of diosmetin to hesperetin[J]. *Biomed Chromatogr*, 2008, 23(2):124-131.
- [9] 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.
- [10] 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.
- [11] Li H C, Liu Y Q, Wang L, *et al.* Electrochemical behavior of Diosmin and its sensitive determination on ZrO<sub>2</sub>-NPs-coated poly(diallyldimethylammoniumchloride)-functionalized graphene modified electrode[J]. *Microchemical Journal*, 2018, 143:430-440. ■
- [9] 曲粟, 曾静, 赵超敏, 等. 固相萃取-气相色谱-质谱法测定进口海产品中 11 种合成麝香[J]. *色谱*, 2018, 36(8):795-802.
- [10] 虞锐鹏, 车金水, 何恩奇, 等. 超声辅助乳液液液微萃取-气相色谱-质谱分析水中的人工合成麝香[J]. *分析化学*, 2012, 40(1):159-163.
- [11] Jiang S, Wang L, Zheng M, *et al.* Determination and environmental risk assessment of synthetic musks in the water and sediments of the Jiaozhou bay wetland, China[J]. *Environmental Science & Pollution Research*, 2018, 25(5):4915-4923.
- [12] 胡正君, 史亚利, 蔡亚岐. 加速溶剂萃取气相色谱质谱法测定污泥、底泥及土壤样品中的合成麝香[J]. *分析化学*, 2010, 38(6):885-888.
- [13] 吴春英, 白鹭, 陆文龙, 等. 气相色谱-串联质谱法同时快速检测环境水样中 11 种合成麝香[J]. *分析科学学报*, 2016, 32(2):188-192.
- [14] 刘静, 曾祥英, 于志强, 等. 超声提取/固相萃取测定固体介质中合成麝香及有机磷酸酯阻燃剂/增塑剂[J]. *分析测试学报*, 2016, 35(1):61-67.
- [15] Homem V, Alves A, Alves A, *et al.* Ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of synthetic musk fragrances in aqueous matrices by gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Talanta*, 2016, 148(1):84-93.
- [16] 佟玲, 田芹, 潘萌, 等. 环境中合成麝香类化合物残留现状及其分析方法研究进展[J]. *生态学杂志*, 2017, 36(05):1426-1435.
- [17] Mónica M, Joaquín B. Determination of synthetic musk fragrances[J]. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2016, 96(13):1213-1246.
- [18] Che J S, Yu R P, Song Q J, *et al.* Determination of synthetic musks in the sediment of the Taihu lake by using accelerated solvent extraction (ASE) and GC/MS[J]. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2011, 91(4):387-399.
- [19] 李蕾, 燕传勇, 杨明. ASE 萃取-GPC 净化-GC/MS 法测定焚烧炉废弃物中多氯联苯残留量[J]. *现代化工*, 2017, 37(5):201-205. ■

(上接第 225 页)