甲氧苄啶的电化学氧化及伏安测定法

杨阿喜[1], 金根娣[2*]

(1. 扬州环境资源职业技术学院, 扬州 225127; 2. 扬州教育学院, 扬州 225009)

摘要　目的: 研究甲氧苄啶的电化学性质, 初步探讨甲氧苄啶在电极上的响应机理, 并用电化学方法对其进行检测。方法: 在 0.1 mol·L^{-1} KNO_3底液中, 用玻碳电极循环伏安法和示差脉冲扫描伏安法研究甲氧苄啶的电化学性质, 并用示差脉冲扫描伏安法测定甲氧苄啶的含量。结果: 甲氧苄啶的氧化峰电位是 1.3 V, 氧化峰电流与甲氧苄啶的浓度在 2.0×10^{-5} ~ 4.2×10^{-3} mol·L^{-1}范围内呈良好的线性关系。该测定方法的检出下限 (3S/N)为 4.0×10^{-6} mol·L^{-1}。用标准加入法测定回收率范围在 96.1% ~ 101.6%, RSD为 3.2% (n = 5)。结论: 甲氧苄啶在 1.3 V处的氧化为 4电子参加的受扩散控制的不可逆过程。甲氧苄啶的电化学测定方法能很好地用于实际样品的测定而且结果与 2005年版中国药典方法一致。

关键词: 甲氧苄啶; 玻碳电极; 示差脉冲扫描伏安法

中图分类号: R917　　文献标识码: A　　文章编号: 0254-1793(2010)02-0332-04

Electrochemical oxidation and the voltammetric determination of trimethoprim

YANG A-xi[1], JIN Gen-di[2*]

(1. Yangzhou Vocational College of Environment and Resources, Yangzhou 225127, China;

2. Yangzhou Education College, Yangzhou 225009, China)

Abstract　**Objective**: It had been discussed that the electrochemistry characteristic and the reaction mechanism on a glassy carbon electrode of trimethoprim. The concentration of trimethoprim was determined by the method of electrochemistry. **Methods**: In the solution of 0.1 mol·L^{-1} KNO_3, the electrochemistry properties of trimethoprim were researched with a glassy carbon electrode by the cyclic voltammetry and the differential pulse voltammetry and the concentration of trimethoprim was detected by the differential pulse voltammetry. **Results**: The potential of trimethoprim oxidation peak was 1.3 V and the peak currents were proportional to trimethoprim concentration in the range of 12.0×10^{-5} - 4.2×10^{-3} mol·L^{-1} with the detection limit of 4.0×10^{-6} mol·L^{-1}. The range of recovery was 96.1% - 101.6% by the standard addition, and RSD was 3.2% (n = 5). **Conclusions**: The anodic oxide of trimethoprim at 1.3 V was irreversible diffusion-controlled and was characteristic of four electrons. This method was applied in detection the content of trimethoprim sample and the results obtained by this method were in conformity with the results found by pharmacopoeia method.

Key words: trimethoprim; glassy carbon electrode; differential pulse voltammetry

甲氧苄啶 (TMP)是磺胺类药物增效剂, 可使磺胺类药物的药效增加 10倍以上, 在治疗过程中常与磺胺类药物合用, 使细菌的叶酸代谢受到双重阻断, 从而达到治疗效果。目前常用的分析方法有: HPLC[1~5]、紫外光谱法[6,7]、化学发光法[8]、毛细管电泳法[9]等; 电化学方法目前用于甲氧苄啶的测定只有溶出伏安法[10]和极谱法[11], 这 2种方法都用到滴汞电极, 而且在较负的电位下产生还原峰, 干扰较多, 且汞对环境造成污染。本文研究了甲氧苄啶在玻碳电极上的电化学性质和反应机理, 建立了甲氧苄啶的示差脉冲伏安法测定新方法。

1　仪器与试剂

CHI615c电化学分析仪 (上海辰华仪器公司, 上海); KQ-118型超声波清洗器 (昆山市超声波仪器

* 通讯作者　Tel: (0514) 87972034; E-mail: jsyzjgd@sina.com

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

有限公司, 昆山); 三电极体系: 玻碳电极 GCE为工作电极、饱和甘汞电极为参比电极、铂片电极为对电极。玻碳电极在使用前进行预处理: 先将玻碳电极用 Al_2O_3 抛光, 然后用丙酮、二次水超声波洗涤, 修饰前在 0.5 mol·L^{-1} H_2SO_4 溶液中进行电化学预处理, 以增加电极表面电活性点的浓度。处理方法将电极置于 0.5 mol·L^{-1} H_2SO_4 溶液中在 0.5~1.6 V电位范围内进行循环伏安扫描, 扫描速度为 100 mV·s^{-1}, 直到得到稳定的伏安曲线。

甲氧苄啶供试液(0.01 mol·L^{-1}): 准确称取甲氧苄啶(99.9%)(寿光富康制药有限公司) 0.07258 g于小烧杯中, 用 5 mL冰醋酸溶解, 转移到 25 mL量瓶中, 用水定容。硝酸钾、硫酸、氢氧化钠等所用试剂均为分析纯, 实验用水为二次蒸馏水。

甲氧苄啶片(陕西方舟制药有限公司, 规格: 0.1 g·片$^{-1}$, 批号: H61020720); 小檗碱甲氧苄啶胶囊(辽源市迪康药业有限责任公司, 规格: 0.4 g·粒$^{-1}$, 批号: 国药准字 H22026545): 本品为复方制剂, 每粒含盐酸小檗碱 100 mg及甲氧苄啶 50 mg。

2 测定方法

以 0.1 mol·L^{-1} KNO_3 为底液, 加入一定量的甲氧苄啶溶液, 搅拌 30 s, 从 0.4 V到 1.4 V进行循环伏安扫描和示差脉冲扫描伏安法测定。根据在 1.3 V左右出现的甲氧苄啶的氧化峰电流的大小用标准加入法进行定量测定。

3 甲氧苄啶的电化学性质

用玻碳电极在含 2.0×10^{-4} mol·L^{-1}甲氧苄啶的 0.1 mol·L^{-1} KNO_3 溶液中作循环伏安扫描, 研究甲氧苄啶的电化学性质(见图 1)。

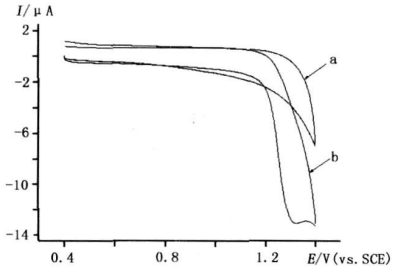


图 1 玻碳电极在 0.1 mol·L^{-1} KNO_3(a)和在含 2.0×10^{-4} mol·L^{-1} TMP的底液中的循环扫描伏安图(b)

Fig 1 CVs of the glassy carbon electrode in 0.1 mol·L^{-1} KNO_3(a) and in 0.1 mol·L^{-1} KNO_3 containing 2.0×10^{-4} mol·L^{-1} TMP(b)

扫速(scan rate): 100 mV·s^{-1}

由图 1可以看出玻碳电极在浓度为 2.0×10^{-4} mol·L^{-1}的甲氧苄啶溶液中作循环伏安扫描时, 发现没有还原峰, 只有在 1.3 V处有一氧化峰, 说明该峰为不可逆氧化峰。在图 2的示差脉冲扫描伏安曲线中, 可以看出阳极化扫描有 1个灵敏的氧化峰出现。由于峰电流与扫描速度的平方根呈线性关系, 显示扩散特性[12]。且在测定同一浓度样品时, 重复测定峰电流会变小, 而经过 30 s的搅拌后再测定, 峰电流几乎不变化。这些现象说明甲氧苄啶在修饰电极上的反应主要受扩散过程控制。另外扫描速度增大 10倍, 峰电位平均负移 15 mV, 根据完全不可逆体系 E_p向负电位方向移动的数值与电子传递系数 α及电子数 n的关系式[13]: $\Delta E_p = 30/n\alpha$(25 ℃时), α = 0.5, 可以计算出该电极反应的电子数 n = 4。

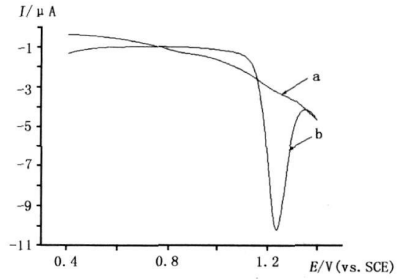
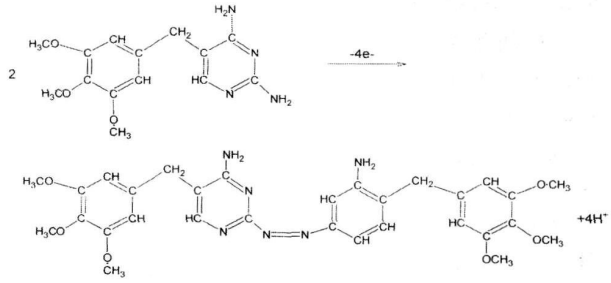


图 2 玻碳电极在 0.1 mol·L^{-1} KNO_3(a)和在含 2.0×10^{-4} mol·L^{-1}甲氧苄啶的底液中的示差脉冲扫描伏安图(b)

Fig 2 DPVs of the glassy carbon electrode in 0.1 mol·L^{-1} KNO_3(a) and in 0.1 mol·L^{-1} KNO_3 containing 2.0×10^{-4} mol·L^{-1} TMP(b)

分别以不同 pH的缓冲溶液作底液进行测定, 发现峰电位并随着 pH的减小而负移, 说明甲氧苄啶的电极反应中有 H^+ 参加。而且峰电流随着酸度的提高而减小, 说明酸度提高不利于甲氧苄啶的氧化。由此推测甲氧苄啶在玻碳电极上的反应机理为:



4 底液的选择

用不同浓度的 H_2SO_4、HAc、HAc-NaAc缓冲溶液及 pH 1~13的各种缓冲溶液[14]、0.01 mol·L^{-1}

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

NaOH 和 0.1 mol·L^{-1} KNO_3 作底液分别对甲氧苄啶进行扫描时发现, 在 pH≥8碱性溶液中扫描时不出现氧化峰; 在 pH≤7偏酸性溶液中扫描时在 1.3 V处出现氧化峰, 其中在 0.1 mol·L^{-1}硝酸钾 (pH = 7)介质中扫描时, 1.3 V处的氧化峰电流较大峰型最好。所以试验采用 pH = 7的 0.1 mol·L^{-1}硝酸钾溶液作底液进行测定。

5 扫描电位范围

阳极扫描电位的起始电位对峰电流的影响不大, 本试验从 0.4 V 开始; 但终止电位影响较大, 当终止电位小于 1.4 V时, 1.3 V处的峰电流会变小, 而且峰型也会受到影响。所以试验中终止电位为 1.4 V。

6 富集时间

甲氧苄啶在电极上的反应主要受扩散过程控制, 每次测定前, 都需要搅拌以加快扩散速度, 缩短药物到达电极表面的时间, 一般搅拌 30 s即可使电流达到最大值。

7 扫描速度

当甲氧苄啶的浓度在 4.0×10^{-4} mol·L^{-1}时, 在扫描速度为 10 mV·s^{-1} ~ 200 mV·s^{-1}的范围内, 峰电流与扫描速度的平方根呈线性关系。线性方程为:

$I(\mu A) = 1.89 + 0.332v^{1/2}(mV\cdot s^{-1})$　$r = 0.998$

但扫描速度过快, 电容电流增大, 线性关系偏移。本试验中采用 100 mV·s^{-1}的扫描速度进行扫描。

8 工作曲线及检出限

在上述最佳试验条件下, 1.3 V处的峰电流与甲氧苄啶的浓度在 2.0×10^{-5} ~ 4.2×10^{-3} mol·L^{-1}范围内呈良好的线性关系, 线性方程为:

$I(\mu A) = 0.134\times10^{-5}C(mol\cdot L^{-1}) + 1.47$

$r = 0.996$

对空白溶液连续测定 10次, 计算标准偏差, 得出方法的检测限 ($S/N = 3$)为 4.0×10^{-6} mol·L^{-1}。

在浓度为 4.0×10^{-4} mol·L^{-1}的甲氧苄啶溶液中使用同一支电极在 2 h内重复测定 7次, 1.3 V峰电流的平均值为 6.68 μA, RSD为 2.2%。重新处理后的玻碳电极在相同浓度的甲氧苄啶溶液中进行重复测定, 1.3 V的峰电流的平均值为 6.74 μA, RSD为 2.5%。说明该电极的稳定性、重现性都较好。

9 回收率及样品的测定

9.1 甲氧苄啶片剂中 TMP的测定　取本品 10片研细后称取 0.03200 g于小烧杯中, 加入 5 mL冰 HAc溶解, 加水定容至 25.00 mL, 过滤, 吸取滤液 10.00 mL于 100 mL量瓶中, 稀至刻度, 吸取溶液 1.00 mL于电解池中, 加入 0.1 mol·L^{-1} KNO_3 溶液 9.00 mL, 在上述最佳实验条件下进行示差脉冲伏安扫描, 记录 1.3 V处的峰电流, 并用标准加入法测定甲氧苄啶的含量, 结果见表 1。

表 1　片剂中甲氧苄啶含量测定结果

Tab 1　Content of TMP in tablets

样品 (sample)	批号 (Lot No.)	测定次数 (detection times)	本法测定 (this method) /%	药典法[15] (ChP pharmacopoeia) /%	RSD /%
甲氧苄啶片 (trimethoprim tablets)	H61020720	5	90.4	91.2	3.4
小檗碱甲氧苄啶胶囊 (berberine hydrochloride and trimethoprim capsules)	H22026545	5	15.2	15.8	3.6

9.2 小檗碱甲氧苄啶胶囊中 TMP的测定　取本品 10粒, 研细后, 称取 1.000 g(相当于 TMP30 ~ 50 mg)于 100 mL烧杯中, 加 5 mL冰醋酸, 转移至 25 mL量瓶中, 超声 5 min使小檗碱甲氧苄啶溶解, 用水稀至刻度, 过滤, 吸取滤液 1.00 mL于电解池中, 加入 0.1 mol·L^{-1} KNO_3 溶液 9 mL, 在上述最佳实验条件下进行示差脉冲伏安扫描, 记录 1.3 V处的峰电流, 并用标准加入法测定甲氧苄啶的含量, 结果见表 1。

9.3 加标回收率　分别吸取一定量 TMP片剂试样溶液于电解池中, 再加入同样量的 TMP标准溶液然后按试验方法测定回收率, 结果见表 2。

表 2　回收率试验 ($n = 5$)

Tab 2　Test for recovery

编号 (sample No.)	样品含量 (content of TMP in sample) /mg·L^{-1}	加入量 (added) /mg·L^{-1}	测得量 (Found) /mg·L^{-1}	回收率 (recovery) /%	平均回收率 (average recovery) /%
1	60.0	100.0	158.2	98.9	98.5
2	300.0	100.0	390.0	97.5	
3	60.0	100.0	153.8	96.1	
4	300.0	100.0	404.4	101.6	

10 干扰实验

对于 4.0×10^{-4} mol·L^{-1}甲氧苄啶的测定, 当

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

测定结果的平均相对误差不超出 ±5% 范围时，1000倍的 NaCl、KCl、NaH_2PO_4、$CuSO_4$、柠檬酸、尿素、葡萄糖都不干扰测定；50倍的多巴胺、抗坏血酸对测定不干扰。100倍的多巴胺、抗坏血酸对测定有干扰。

参考文献

1 LIU Hong-ying(刘红英), CHEN Li-zhu(陈立柱), PAN Peng-fei(潘鹏飞). Determination of sulfamethoxazole, sulfadiazine and trimethoprim tablets by HPLC(高效液相色谱法测定联磺甲氧苄啶片中3组分含量). *China Pharm*(中国药业), 2008, 17(9): 18

2 Dinc E, Bilgili A, Hanedan B. Simultaneous determination of trimethoprim and sulphamethoxazole in veterinary formulations by chromatographic multivariate methods. *Pharmazie*, 2007, 62(3): 179

3 HE Xiao-jun(赫晓军), SHANG Xiu-min(尚秀敏), LIU Hong-li(刘红莉). Determination of trimethoprim and sulfamethoxazole in pediatric compound sulfamethoxazole granules by HPLC (高效液相色谱法测定小儿复方磺胺甲噁唑颗粒中两组分含量). *China Pharm*(中国药业), 2006, 15(10): 17

4 Lemus Gallego JM, Perez Arroyo J. Simultaneous determination of dexamethasone and trimethoprim by liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anals*, 2002, 30(4), 1255

5 Hruska Matthew W, Frye Reginald F. Determination of trimethoprim in low-volume human plasma by liquid chromatography. *J Chromatogr B: Anal Technol Biomed Life Sci*, 2004, 807(2): 301

6 GENG Xin(耿新), LI Jing-hui(李井会), GAO Li-rang(高礼让), *et al*. Simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in tablets with robust regression by spectrophotometry(稳健回归解析紫外光度法同时测定磺胺甲噁唑和甲氧苄啶). *Chin J Anal Chem*(分析化学), 2001, 29(9): 1036

7 Shamsa Fazel, Amani Leyla. Determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in pharmaceuticals by visible and UV spectrophotometry. *Iranian J Pharm Res*, 2006, 5(1): 31

8 YANG Min-li(杨敏丽), LI Li-qing(李丽清), LÜ Jiu-ru(吕九如), *et al*. Chemiluminescence system of $KMnO_4$-trimethoprin-$Na_2S_2O_3$(高锰酸钾-甲氧苄啶-硫代硫酸钠化学发光反应). *Chin J Anal Chem*(分析化学), 2001, 29(4): 410

9 LI Yu-qin(李玉琴), ZHANG Chuan-gang(张传港), ZONG Su-yan(宗素艳), *et al*. HPCE determination of dissociation constants of sulfonamides and their contents(高效毛细管电泳法测定磺胺类药物的离解常数及其制剂的含量). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2008, 28(2): 243

10 LI Ji-xue(李吉学), ZHU Zhong-he(朱忠和), Study of determining trimethoprim by adsorptive stripping voltammetry(吸附溶出伏安法测定甲氧苄氨嘧啶). *J Navy Med Coll*(海军医高专学报), 1995, 17(1): 14

11 WANG Jin-zhong(王金中), SHI Zhao-zhong(师兆忠), LIU Bo(刘波). Determination of trimethoprim by linear-sweep oscillopolarography(线性扫描极谱法测定药物中的甲氧苄啶含量). *Chem Res*(化学研究), 2003, 14(3): 47

12 Fred A. Translated by HUANG Wei-zeng(黄慰曾译). Electrochemistry and Electroanalytical Chemistry(电化学与电分析化学), Beijing(北京): Beijing University Press(北京大学出版社), 1983. 86

13 Allen J Bard, Larry R Faulkner. Translated by SHAO Yuan-hua and ZHU Guo-yi(邵元华, 朱果逸译). Electrochemical Methods Fundamentals and Applications(电化学方法原理和应用). 2nd Ed(第二版). Beijing(北京): Chemical Industry Press(化学工业出版社), 2005. 5, 163

14 Analytical chemistry teaching and research group of Central South Mineral and Metallurgy College (中南矿冶学院分析化学教研室). Handbook of chemical analysis(化学分析手册). Beijing(北京): Science Press(科学出版社), 1997. 381

15 ChP(中国药典). 2000. Vol II (二部): Appendix(附录) IV A, 149

(本文于 2009年 4月 3日收到)

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net