

流动注射-共振瑞利散射法测定盐酸氯丙嗪和盐酸异丙嗪

陈佩丽 刘绍璞 刘忠芳 胡小莉*

(发光与实时分析教育部重点实验室, 西南大学化学化工学院, 重庆 400715)

摘 要 在 HCl 介质中, 12-钨磷酸 (TP) 分别与盐酸氯丙嗪 (CPZ) 和盐酸异丙嗪 (PMZ) 反应形成离子缔合物, 导致溶液的共振瑞利散射 (RRS) 显著增强, 并产生新的 RRS 光谱。它们的最大 RRS 峰位于 359 nm (TP-CPZ) 和 346 nm (TP-PMZ), 并且在一定范围内, CPZ 和 PMZ 的浓度与散射强度呈线性关系, 据此提出流动注射-共振瑞利散射 (FIA-RRS) 联用技术测定 CPZ 和 PMZ 的新方法, CPZ 和 PMZ 的检出限分别为 1.7 和 3.0 μg/L。实验优化了流动注射 (FIA) 参数和反应条件, 并以灵敏度较高的 CPZ 为例, 考察了共存物质的影响。本方法具有良好的选择性和重复性; 用于药片和猪肝中 CPZ 的测定, 结果满意。

关键词 流动注射-共振瑞利散射技术; 盐酸氯丙嗪; 盐酸异丙嗪; 12-钨磷酸

1 引言

盐酸氯丙嗪 (CPZ) 和盐酸异丙嗪 (PMZ) 均属于含叔胺基的噻嗪类药物。CPZ 又名“冬眠灵”, 是吩噻类的代表药物, 临床主要用于治疗精神病。PMZ 是常用的组胺 H 受体拮抗剂, 主要用于治疗过敏性疾病。它们也可用于防治动物疾病和促进长膘, 提高饲料中营养物质的利用率。但是过量的使用会导致它们在动物组织中产生残留, 引起“三致”作用^[1]。研究这两种药物残留量的有效检测方法, 对食品安全和临床分析都很有意义。目前, 关于这两种药物的检测方法主要有分光光度法^[2]、电化学分析法^[3]、化学发光法^[4]和高效液相色谱法^[5]等; 滴定法繁琐、费时, 不能满足临床监测的急需; 分光光度法操作简单, 但是灵敏度较低; 电化学法存在电极使用后所留下的污垢不易处理的缺点。因此研究简单、快速、准确、灵敏的分析方法仍是一项有价值的工作。共振瑞利散射 (RRS) 是一种高灵敏度的分析方法, 已经得到广泛应用^[6]。本实验将流动注射 (FIA) 分析与 RRS 联用, 实现 RRS 分析的自动化, 提高了分析结果的精密度和准确度。本研究发现, 在 0.1 mol/L HCl 介质中, PMZ 和 CPZ 以 HCPZ⁺ 和 HPMZ⁺ 存在。当它们与 [PW₁₂O₄₀]³⁻ 以静电引力和疏水作用形成离子缔合物时, 导致共振瑞利散射强度 (ΔI_{RRS}) 的显著增强, 并且药物的浓度在一定的范围内与 ΔI_{RRS} 呈良好的线性关系, 据此提出了测定 PMZ 和 CPZ 流动注射-共振瑞利散射联用的新分析方法, 适用于片剂中 CPZ 含量和猪肝中 CPZ 残留的测定。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

Hitachi F-2500 型荧光分光光度计 (日本日立公司), 配 90 μL 石英流通池; HL-2 (1) 型恒流泵 (上海青浦沪西仪器厂), 可加样 100 μL 的八通阀, 内径为 1.0 mm 的聚四氟乙烯反应盘管。实验装置示意图见图 1。PMZ (西南药业) 和 CPZ (上海禾丰药业) 储备液浓度均为 100.0 mg/L, 使用时用二次蒸馏水稀释成所需浓度的工作液。12-钨磷酸 (TP) 按文献 [7] 的方法合成, 溶于 1.0 mol/L HCl 配制成 5.0 × 10⁻⁵ mol/L 的工作液。其它试剂均为分析纯, 实验用水均为二次蒸馏水。

2.2 样品处理

将新鲜猪肝匀浆后置离心管中, 按照文献 [8] 的方法制备提取液。称取 20.0 g 匀浆后的猪肝置于离心管中, 加入乙酸乙酯和 1 mol/L NaOH 溶液, 回旋振荡 15 min, 3000 r/min 离心 5 min。上清液转入旋转蒸发瓶, 于 40 °C 旋转蒸干。用 10 mL 乙腈超声溶解残渣, 转入离心管中, 加入 10 mL 正己烷涡漩

2010-01-14 收稿; 2010-03-10 接受

本文系国家自然科学基金 (No. 20875078) 和发光与实时分析重庆市重点实验项目 (CSTC, 2006CA8006) 资助

* E-mail: xiaoli@swu.cn.cn

5 min, 静止分层。取下层提取液至 C₁₈柱, 弃去流出液。用 10 mL 2% 氨化乙酸乙酯洗脱, 将洗脱液用氮气吹干, 加入 20 mL 乙醇, 超声溶解, 待用。

2.3 实验方法

采用荧光分光光度计的时间扫描模式, 以 TP 为载流, 每次进样前, 先用载流冲洗流路至基线平稳, 而后按照图 1 所示注入样品溶液。狭缝宽度均为 5 nm, 光电倍增管的电压为 400 V。

3 结果与讨论

3.1 RRS 光谱

在荧光分光光度计上以 $\lambda_{ex} = \lambda_{em}$ 同步扫描, TP、CPZ、PMZ、TP-CPZ 及 TP-PMZ 的 RRS 光谱 (见图 2)。由图 2 可见, 单独的 TP、CPZ 和 PMZ 的 RRS 均十分微弱, 最大的 RRS 波长分别为 285、278 和 279 nm, 药物与 TP 反应后体系的 RRS 明显增强, 最大 RRS 波长分别位于 359 nm (TP-CPZ) 和 346 nm (TP-PMZ) 处。

3.2 反应条件的优化

3.2.1 载流酸度的影响 由于 TP 在强酸条件下才能稳定存在^[9], 为保持测定溶液中 TP 的稳定性, 在 pH 0~1.5 范围内, 考察了载流酸度对测定的影响。实验表明, 适宜的酸度条件是 pH 1.0, 故选用 0.1 mol/L HCl 作为载流介质。

3.2.2 12 钨磷酸浓度的影响 分别实验了不同浓度的 TP 对 2 个测定体系的影响, 结果显示, 适宜的 TP 浓度均为 5.0×10^{-6} mol/L。

3.2.3 离子强度的影响 以加入不同浓度的 NaCl 溶液的方法, 考察了离子强度对 2 个测定体系的影响。结果表明, 它们的 RRS 强度都随着离子强度的增大而缓慢降低。以测定 1.0 mg/L CPZ 和 PMZ 为例, 当 NaCl 的浓度为 0.025 mol/L 时, RRS 强度的相对偏差分别为 -3.6% 和 -1.6%, 表明强电解质的存在对两种药物的准确测定影响较小。

3.2.4 FIA 参数的选择 (1) 采样环定容方法进样, 在 60~120 μ L 范围内考察进样体积的影响。实验发现, 散射强度随进样体积的增大而增强, 但是进样体积超过一定值后, 散射强度变化不大。本实验选择进样体积为 80 μ L (TP-CPZ) 和 105 μ L (TP-PMZ)。(2) 在 0.15~2.5 mL/min 范围内考察泵流速的影响, 实验选择流速分别为 1.9 mL/min (TP-CPZ) 和 1.75 mL/min (TP-PMZ)。(3) 固定进样体积和泵流速, 实验了管长 (70~110 cm) 对实验结果的影响。结果显示, 管长分别为 70.0 cm (TP-CPZ) 和 85.0 cm (TP-PMZ) 时实验效果最佳。

3.3 反应机理及 RRS 增强的原因

3.3.1 盐酸氯丙嗪和盐酸异丙嗪与钨磷酸的结合反应 由于 CPZ 和 PMZ 的氮原子上有孤对电子, 在酸性介质中易与溶液中的 H⁺ 结合成为质子化阳离子。而此时 TP 以带 3 个负电荷的 Kegg in 结构^[10]式 ([PW₁₂O₄₀]³⁻) 存在, 整个阴离子呈 T_d 对称性, 这种结构使 TP 有很强的静电引力, 能有效地与 HPMZ⁺ 和 HCPZ⁺ 通过静电引力结合形成离子缔合物。本实验分别用 RRS 等摩尔连续变化法和摩尔比法测定了 CPZ 和 PMZ 与 TP 的结合比, 结合比均约为 3:1, 表明它们与 TP 形成了电中性的离子缔合物。

3.3.2 RRS 增强的原因 结合产物的分子体积增大是使散射增强的重要原因之一。根据瑞利散射公式^[11], 在其他条件不变时, 散射强度与散射分子体积的平方成正比。当分子体积难于计算时, 根据简化的瑞利散射公式 $I = I_0 KCM$ ^[12], 散射强度与其分子量 (M) 成正比。以 CPZ 为例, 当 CPZH⁺ 与 [PW₁₂O₄₀]³⁻ 结合后, 分子量从 355.3 增大到 3942.5, 从而使散射强度大大增强。反应前 [PW₁₂O₄₀]³⁻

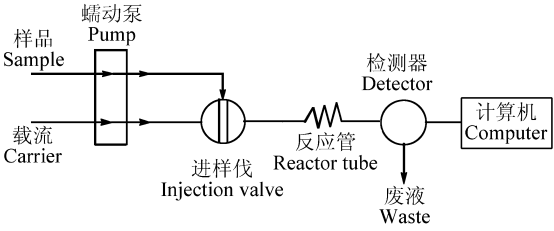


图 1 流动注射-共振瑞利散射装置示意图
Fig 1 Schematic diagram of FIA-resonance Rayleigh scattering (RRS) detector set up

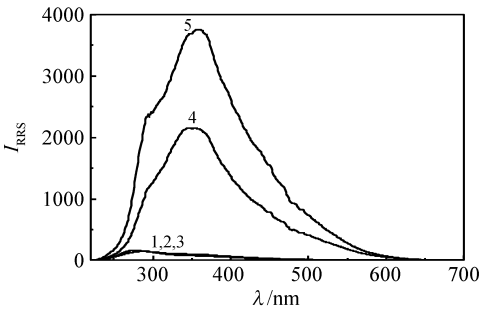


图 2 RRS 光谱图
Fig 2 RRS spectra
1 12-T angstophosphoric acid (TP); 2 Chlorpmazine hydrochloride (CPZ); 3 Promethazine hydrochloride (PMZ); 4 PMZ-TP; 5 CPZ-TP; CPZ: 2.0 mg/L; PMZ: 2.0 mg/L; TP: 5×10^{-6} mol/L.

有较大的空间,能容纳水分子,故具有很强的亲水性,质子化的 HCPZ^+ 和 HPMZ^+ 阳离子 also 具有很强的亲水性,所以它们易与水分子结合形成水合物。但二者形成离子缔合物后所带电荷被中和而呈电中性,疏水性大大提高,有可能在结合产物与水之间形成界面,而产生一种表面增强的散射效应,有利于 RRS 的增强,这已被不少实验所证明^[13]。

3 4 方法的灵敏度与选择性

3 4 1 方法的灵敏度 在优化的条件下,分别测定了不同浓度的 CPZ 和 PMZ 与 TP 形成离子缔合物的 ΔI_{RRS} ,并对相应的药物浓度作线性回归,图 3 显示了 CPZ 与 TP 反应产物的 RRS 强度与 CPZ 浓度呈良好的线性关系。当测定波长分别为 359 nm (TP-CPZ), 346 nm (TP-PMZ) 时,标准曲线的回归方程、线性范围、相关系数及方法的检出限 (3σ) 列于表 1。实验表明,本方法的灵敏度较高,明显高于测定此类药物常见的分光光度法^[2]、电化学分析法^[3]、化学发光法^[4]和高效液相色谱法^[5]等。

表 1 标准曲线的线性范围、相关系数和检出限

Table 1 Linear ranges correlation coefficient and detection limits for standard curves

方法 Method	体系 System	线性范围 Linear range (mg/L)	线性方程 Regression equation (mg/L)	相关系数 Correlation coefficient (r)	检出限 Detection limit (3σ , $\mu\text{g/L}$)
FIA-RRS	CPZ-TP	0.0056~2.0	$\Delta I = 0.4 + 1878.8c$	0.9995	1.7
	PMZ-TP	0.01~5.0	$\Delta I = 15.7 + 1070.2c$	0.9991	3.0

3 4 2 方法的选择性 以测定 CPZ 为例,实验了 28 种共存物质对本法的影响。当 CPZ 的浓度为 1.0 mg/L 时,允许误差在 $\pm 5\%$ 以内,下列倍数的共存物质不干扰测定: ZnSO_4 , NH_4NO_3 , CuSO_4 , CaCl_2 , KCl , Na_3PO_4 , NaNO_3 , MgSO_4 , $\text{Al}(\text{SO}_4)_3$ (650 倍); 尿素,乙腈,己酸乙酯 (650 倍); 乳糖,麦芽糖,蔗糖,葡萄糖 (320 倍); 淀粉 (33 倍); L -谷氨酰胺,色氨酸, L -半胱氨酸, L -酪氨酸,组氨酸 (50 倍); FeCl_3 , 糜蛋白酶,胃蛋白酶,人血清,牛血清, γ -球蛋白 (10 倍)。由此可见,本方法具有较好的选择性。

3 5 实际样品的测定

3 5 1 药片中 CPZ 含量的测定 以测定 CPZ 为例,取 15 片 CPZ (25 mg/片) 药片,剥去糖衣后准确称其质量,研磨,称取相当于 1 片质量的样品,加水溶解,滤去不溶物,滤液定容至 1000 mL,作为待测液。取适量待测液稀释至 1.0 mg/L,测定其含量,并用标准加入法考察方法的回收率,结果列于表 2。由表 2 可知,本方法的相对标准偏差在 2.4% ~ 3.4% 之间,回收率在 94.4% ~ 106.6% 范围内。

表 2 药片中 CPZ 的测定

Table 2 Results for determination of CPZ in CPZ tablets

样品 Sample	标示量 Labeled amount (mg/one tablet)	测定值 Found (mg/tablet)	加入量 Added (mg/tablet)	总测定值 Total found (mg/tablet)	回收率 Recovery (%)	RSD (%)
1	25.0	24.9	6.25	31.56	106.6	2.8
2			12.50	36.70	94.4	3.4
3			18.75	43.32	98.7	2.4

3 5 2 猪肝中 CPZ 测定 取适量“2.2”节提取液,按实验方法测定 CPZ 的含量。同时分别测定添加 400、600 和 800 $\mu\text{g/kg}$ CPZ 的猪肝提取液中 CPZ 的浓度,结果见表 3。由表 3 可知,本方法的回收率在 97.7% ~ 100.5% 范围内,可用于猪肝中 CPZ 残留量的检测。

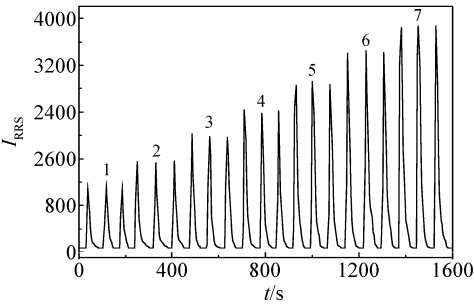


图 3 盐酸氯丙嗪的线性图
Fig 3 Calibration peak signals for determination of CPZ by FIA-RRS
流速 (Carrier flow rate): 1.9 mL/min 反应管长 (Reactor length): 70.0 cm; 进样体积 (Injection volume): 80.0 μL ; CPZ (1-7): 0.5, 0.75, 1.30, 1.25, 1.5, 1.75, 2.0 $\mu\text{g/mL}$; TP: 5.0×10^{-6} mol/L.

表 3 猪肝中 CPZ 的测定
Table 3 Determination of CPZ in pig liver

样品 Sample	测定值 Found (μg/kg)	添加量 Added (μg/kg)	总测定值 Total found (μg/kg)	回收率 Recovery (%)	RSD (%, n= 5)
1	Not detected	400	394.8	98.7	2.9
2	Not detected	600	603.0	100.5	2.6
3	Not detected	800	781.6	97.7	2.3

References

1 LIT ing(李 婷), ZHOu QiXing(周启星). *Chinese Journal of Ecology*(生态学杂志), **2006**, 25(12): 1554~ 1558

2 Saif M J Anwar J *Talanta*, **2005** 67(5): 869~ 872

3 Ni Y, Wang L, Kokot S. *Anal. Chin. Acta*, **2001** 493(1): 159~ 168

4 Sultan SM, Hassan Y A M, Abu kbash A M. *Talanta*, **2003** 59(6): 1073~ 1080

5 WU Hong-Y ing(吴红英), XU DaoHua(徐道华), QIU DongLiang(邱栋樑). *Central South Pharmacy*(中南药学), **2009**, 8(7): 603~ 605

6 LIYuanFang(李原芳), SHEN XiaW ei(申晓韦), HUANG ChengZhi(黄承志), WANG Jian(王 健). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2008**, 36(6): 819~ 822

7 RocchiccioliDelcheff C, FounoerM, Franck R, Thouveno R. *Inorg. Chem.*, **1983** 22(2): 207~ 216

8 M inistry ofAgriculture of the People's Republic ofChina8-2009 (中华人民共和国农业部 1163公告 -8-2009)

9 LIU ShiZhong(柳士忠), WANG EnBo(王恩波), XU Lin(许 林). *J. Inorg. Chem.* (无机化学学报), **1994** 10(1): 40~ 46

10 Kegg in J F. *Nature*, **1933** 131(24): 908~ 909

11 ZHANG YarHao(章燕豪). *PhysicalChemistry*(物理化学), Shanghai(上海): Shanghai Jiaotong University Press(上海交通大学出版社), **1988** 538

12 Encyclopedia of China Editorial Committee(中国大百科全书编辑委员会). *Encyclopedia of China*(中国大百科全书), Biology II (生物学 II), Beijing(北京): Encycbpedia in China press (中国大百科全书出版社), **1991**: 1374

13 Liang A H, Jiang Z L, Zhang B M, Liu Q Y, Lan J Lu X. *Anal. Chin. Acta*, **2005**, 530(1): 131~ 134

Determination of Chlorpromazine Hydrochloride and Promethazine Hydrochloride by Resonance Rayleigh Scattering Method Coupled with Flow Injection Technique

CHEN PeiLi, LIU Shaoru, LIU Zhong-Fang, HU Xiaoli

(Key Laboratory on Luminescence and Real-Time Analysis, Ministry of Education, School of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Chongqing 400715)

Abstract In HCl medium with pH 1.0, 12-tungstophosphoric acid (TP) reacted with chlorpromazine hydrochloride (CPZ) or promethazine hydrochloride (PMZ) to form ion-association complexes respectively, which resulted in significant enhancement of the resonance Rayleigh scattering (RRS) intensity. The maximum peaks were located at 359 nm (TP-CPZ) and 346 nm (TP-PMZ). In a certain range, the RRS intensity was proportional to the concentration of CPZ or PMZ. Based on it, a flow injection analysis (FIA) coupled to resonance Rayleigh scattering (RRS) method was developed for the determination of CPZ and PMZ. The detection limits (3σ) were 1.7 μg/L for CPZ and 3.0 μg/L for PMZ. The reaction conditions and FIA parameters for the systems were optimized. Take TP-CPZ system with high sensitivity as an example, the effect of coexisting substances was investigated, which showed that the method had good selectivity. The proposed method was used for the determination of CPZ in the pharmaceutical formulation and in pig liver with satisfactory results.

Keywords Flow injection analysis; Resonance Rayleigh scattering; Chlorpromazine hydrochloride; Promethazine hydrochloride; 12-Tungstophosphoric acid