

光谱法研究盐酸多塞平与固绿相互作用及其分析应用

吴呈珂, 冯素玲*, 樊 静

河南师范大学化学与环境科学学院, 河南 新乡 453007

摘 要 研究了盐酸多塞平与固绿相互作用的共振光散射光谱及紫外-可见吸收光谱的光谱特征。在 pH 4.0 的缓冲溶液中, 盐酸多塞平与固绿由于静电引力而相互结合, 使体系在 344 和 468 nm 处的两个共振光散射峰显著增强, 其中 344 nm 处共振光散射的灵敏度最高。研究了试剂加入顺序, 介质种类和酸度以及固绿用量对体系的影响。在最佳实验条件下, 共振光散射增强的强度与浓度在 $8.75 \times 10^{-3} \sim 4.88 \times 10^{-2} \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的盐酸多塞平具有良好的线性关系。方法的检出限为 $1.72 \times 10^{-5} \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。对浓度为 $0.025 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的盐酸多塞平溶液进行 11 次平行测定, 其相对标准偏差为 1.4%。该方法用于测定药物中的盐酸多塞平, 并与药典中的测定方法进行了对照, 经 *t*-检验证明两种方法无显著性差异。

关键词 共振光散射; 盐酸多塞平; 固绿

中图分类号: O644.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-0593(2007)12-2490-04

引 言

盐酸多塞平(结构见图 1)属三环类抗抑郁药, 镇静作用较强, 有一定的抗焦虑作用。近年来用于治疗急、慢性麻疹和顽固性瘙痒症获得较好的疗效^[1], 还可以治疗老年抑郁症、功能性消化不良等疾病^[2]。测定盐酸多塞平的方法主要是药典上报道的紫外分光光度法^[3]。

Pasternack^[4]等用共振光散射(RLS)技术研究了吡啶类化合物在核酸上的聚集, 从而首次将该技术与化学过程联系起来。黄承志^[5]和万新军^[6]等利用这种技术研究了生物大分子的散射光谱, 建立了共振光散射技术定量测定生物大分子的新的灵敏度分析方法。目前这种技术被广泛应用于核酸^[5-7]、蛋白质^[8]、多糖^[9]、无机离子^[10]和药物^[11, 12]等分子的研究和测定。本实验根据盐酸多塞平可使固绿(结构见图 2)的共振光散射信号明显增强的现象, 研究固绿与盐酸多塞平作用的光谱特征, 考察了酸度等因素对体系的影响, 建立了测定盐酸多塞平的新方法。该方法具有快速、简便、灵敏度高、稳定性好等特点。用于测定市售的盐酸多塞平药物, 结果令人满意。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

收稿日期: 2006-08-08, 修订日期: 2006-11-02

基金项目: 河南省自然科学基金项目(0511021200)和新乡市科技发展项目(06S053)资助

作者简介: 吴呈珂, 1982年生, 河南师范大学化学与环境科学学院硕士研究生 * 通讯联系人 e-mail: slfeng@henannu.edu.cn

FP-6200 型荧光分光光度计(日本分光公司), TU-1900 双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司), pH-S-3C 型数字酸度计(杭州东星仪器设备厂)。

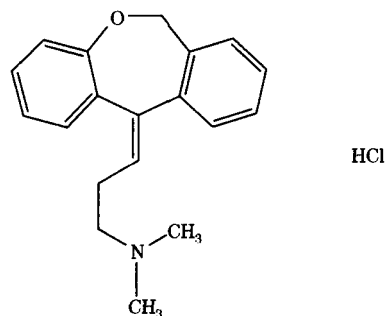


Fig. 1 Structure of doxepin hydrochloride

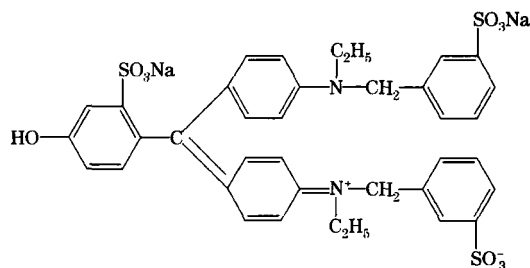


Fig. 2 Structure of fast green

盐酸多塞平($0.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 准确称取盐酸多塞平对照品 0.0250 g , 溶解后定容于 100 mL 容量瓶中, 备用; 固绿($1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 准确称取固绿 0.8089 g , 适量水溶解后定容于 1000 mL 容量瓶中, 备用; B-R 缓冲溶液 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液和混合酸溶液($0.04 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ H}_3\text{PO}_4$, CH_3COOH 和 H_3BO_3) 按不同比例混合均匀, 并用 pHS-3C 型数字酸度计校正溶液的 pH 值; 其他试剂均为分析纯, 所用水为去离子水。

1.2 实验方法

在 10 mL 容量瓶中分别加入适量的 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 盐酸多塞平溶液、 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 固绿溶液 1.2 mL , pH 4.0 的 B-R 缓冲溶液 1.0 mL , 定容, 混合均匀。在荧光分光光度计上低灵敏度条件下保持激发和发射狭缝均为 5 nm , 以 $\lambda_{\text{ex}} = \lambda_{\text{em}}$ (即 $\Delta\lambda = 0 \text{ nm}$) 同步扫描得到体系的共振光散射光谱; 在最大共振散射波长 344 nm 处测定体系的散射光强度 I_{RLS} 及空白的散射光强度 $I_{\text{RLS}0}$, 计算 $\Delta I_{\text{RLS}} = I_{\text{RLS}} - I_{\text{RLS}0}$ 。

2 结果与讨论

2.1 图谱特征

图 3 是体系的共振光散射光谱。在 pH 4.0 酸性介质中, 盐酸多塞平和固绿在 $300 \sim 550 \text{ nm}$ 波长范围内的共振光散射都很微弱(图 3 中曲线 1 和 2)。当体系中盐酸多塞平与固绿共存时, 体系在 344 和 468 nm 处共振散射峰明显增强。原因可能是在酸性溶液中, 盐酸多塞平分子中的氮原子质子化后使分子带正电荷, 从而与带负电荷的固绿分子产生静电作用, 形成体积较大的离子缔合物, 其共振光散射强度随着盐酸多塞平浓度的增大而增大(图 3 曲线 3~8)。其中 344 nm 处的 RLS 峰较强, 且灵敏度较高。所以实验选用 344 nm 作为测定波长。

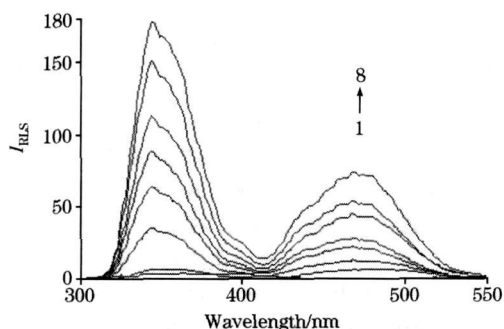


Fig 3 Resonance light scattering spectra of system

1: Doxepin hydrochloride (DH) + B-R; 2: Fast green (FG) + B-R; 3~8: DH + FG + B-R; DH concentration ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$): 1: 0.0250 ; 2: 0.0000 ; 3: 0.0100 ; 4: 0.0175 ; 5: 0.025 ; 6: 0.0325 ; 7: 0.0400 ; 8: $0.0475 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. FG: $1.2 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 4.0

图 4 是不同体系的紫外-可见吸收光谱图。单独的盐酸多塞平是无色溶液, 体系在 $300 \sim 700 \text{ nm}$ 之间没有吸收峰; 单独的固绿在 410 和 635 nm 处有吸收峰, 其中最大吸收波长位于 635 nm 处, 加入盐酸多塞平后, 吸收峰仍在原位, 并且峰形没有发生变化, 但对上述光的吸收强度降低。由此也

说明盐酸多塞平与固绿发生了相互作用。

体系以 344 nm 为中心的共振光散射峰和 468 nm 附近的散射峰分别与其波长位于 $320 \sim 390 \text{ nm}$ 的吸收带和 $430 \sim 600 \text{ nm}$ 范围的吸收带相关。通过对比图 3 与图 4 可知, 共振散射光谱最强的两个峰与吸收带中弱的吸收一致, 说明该反应体系为共振光散射体系。

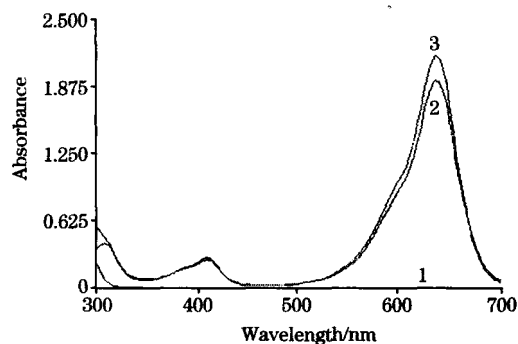


Fig 4 Absorption spectra of system

1: DH + B-R; 2: Fast green + DH + B-R; 3: Fast green + B-R; FG: $2.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; DH: $0.025 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; pH 4.0

固绿的紫外-可见吸收光谱图如图 5 所示。当固绿的浓度小于 $5.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 分别在 310 , 410 和 635 nm 处有吸收峰, 且峰强度与固绿的浓度呈线性增加。当固绿的浓度大于 $5.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 其 635 nm 处的最大吸收峰发生分裂。可能是因为固绿的浓度小于 $5.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 其分子以单分子的形式存在, 所以吸收峰强度随着固绿浓度的增加而线性增加; 当固绿的浓度大于 $5.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 固绿分子自身发生聚集, 导致吸光度向浓度轴弯曲。实验所选用的固绿浓度为 $1.2 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 大于 $5.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 此时的固绿分子自身已经聚集, 不利于再发生缔合反应。但是盐酸多塞平的加入使得固绿的共振光信号增强, 这可能是因为固绿与盐酸多塞平的缔合能力大于自身聚集的能力, 盐酸多塞平的加入使得固绿向单分子的形式转化, 溶液中单分子的固绿多于聚集形式固绿的缘故。

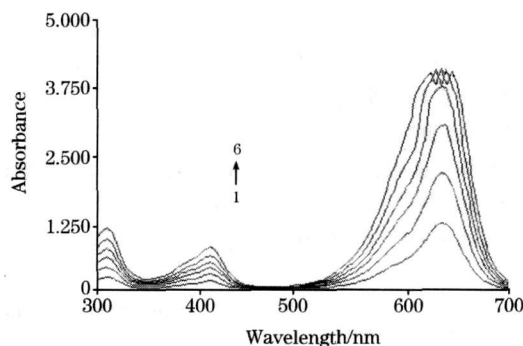


Fig 5 Absorption spectra of fast green

FG ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$): 1: 1.0×10^{-5} ; 2: 2.0×10^{-5} ; 3: 3.0×10^{-5} ; 4: 4.0×10^{-5} ; 5: 5.0×10^{-5} ; 6: $6.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; pH 4.0

2.2 试剂加入顺序的影响

实验了三种试剂加入顺序: 盐酸多塞平 + 固绿 + 缓冲溶

液, 盐酸多塞平+ 缓冲溶液+ 固绿, 缓冲溶液+ 盐酸多塞平+ 固绿。其中第一种试剂加入顺序的灵敏度最高, 说明缓冲溶液在盐酸多塞平与固绿发生作用之前加入, 不利于形成体积较大的粒子。所以本实验采用第一种试剂加入顺序。

2.3 介质的种类及酸度的影响

由于盐酸多塞平与固绿是靠静电引力发生相互作用的, 不同的介质会对其相互作用产生一定的影响。考察了下列缓冲溶液对体系的影响: 盐酸-醋酸钠、丁二酸-硼砂、醋酸-醋酸钠和 B-R 缓冲溶液。实验表明, 在 B-R 缓冲溶液中, 方法的灵敏度最高且线性较好, 故实验选用 B-R 缓冲溶液来调控体系的 pH 值。此外, 不同 pH 值的 B-R 缓冲溶液对体系的共振光散射强度也有一定的影响。在 3.1~4.4 的 pH 范围内研究了酸度对体系灵敏度的影响。结果表明, 随着 pH 的降低, 体系的 ΔI_{RLS} 增大; 当 pH 达到 4.0 时, 方法的灵敏度最高; 继续降低 pH, ΔI_{RLS} 减小。其原因可能是: 随着 pH 的降低, 溶液中氢离子浓度增大, 质子化后带正电荷的盐酸多塞平分子增加, 导致形成了更多的离子缔合物; 当 pH 小于 4.0 时, 在氢离子浓度增大的同时, 溶液中其他的阴离子浓度也同时增大, 这些阴离子会与带正电荷的盐酸多塞平发生相互作用, 从而影响盐酸多塞平与固绿发生作用, 最终导致体系的共振光散射强度降低。因此实验选用 pH 4.0 的 B-R 缓冲溶液作为反应介质。进一步考察了缓冲溶液用量对体系共振光散射强度的影响。当缓冲溶液用量在 0.90~1.05 mL 之间时, 体系的 ΔI_{RLS} 达到最大且基本保持不变, 故实验选用缓冲溶液的用量为 1.0 mL。

2.4 固绿用量的影响

在 $0.8 \times 10^{-4} \sim 1.6 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间考察了固绿浓度对体系 ΔI_{RLS} 的影响。结果表明, 随着固绿浓度的增加, ΔI_{RLS} 增大; 当固绿浓度为 $1.2 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, ΔI_{RLS} 最大; 当固绿浓度大于 $1.2 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, ΔI_{RLS} 反而降低。原因可能是, 随着固绿浓度的增加, 形成了更多的离子缔合物。实验选用固绿浓度为 $1.2 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.5 离子强度的影响

用氯化钠溶液考察了离子强度对体系的影响。当体系中氯化钠的浓度在 $0 \sim 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 样品溶液和试剂空白的共振光散射强度几乎没有变化。说明在此浓度范围内, 离子强度对体系没有影响。

2.6 共存物质的影响

在最佳实验条件下考察了多种金属离子、酸根离子、氨基酸、糖类、腺苷、蛋白质、尿酸等对测定 $0.025 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的盐酸多塞平的影响, 结果列于表 1。在实际药物样品测定

中这些共存物质的含量很小, 不影响盐酸多塞平的测定。

2.7 工作曲线和方法的精密度

在最佳实验条件下, 分别测定不同浓度的盐酸多塞平溶液与固绿相互作用的共振光散射强度 ΔI_{RLS} , 以 ΔI_{RLS} 对盐酸多塞平的浓度绘制方法的工作曲线。 ΔI_{RLS} 与盐酸多塞平的浓度 c 在 $8.75 \times 10^{-3} \sim 4.88 \times 10^{-2} \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的范围内具有良好的线性关系。其线性回归方程为 $\Delta I_{\text{RLS}} = 4.04 \times 10^3 c$ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) - 19.02, 相关系数 $r = 0.9981$ ($n = 5$)。方法的检出限为 $1.72 \times 10^{-5} \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (按 $3S_D$ 斜率计算, 其中 S_D 为 11 份空白溶液的标准偏差)。对浓度为 $0.025 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的盐酸多塞平溶液进行 11 次平行测定, 其相对标准偏差为 1.4%。

Table 1 Effects of foreign substances on the determination of doxepin hydrochloride

物质	含量 $/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	相对误差/%	物质	含量 $/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	相对误差/%
Ba ²⁺	20	-4.29	果糖	75	-5.98
Ca ²⁺	50	5.41	甘氨酸	100	5.00
Cd ²⁺	100	4.48	腺苷	250	-4.93
Co ²⁺	160	5.74	葡萄糖	250	-7.9
Cr ³⁺	200	7.00	麦芽糖	100	5.19
Fe ²⁺	50	6.36	蛋氨酸	500	-5.96
Fe ³⁺	250	-4.61	胃蛋白酶	200	4.54
Mg ²⁺	340	-4.67	丝氨酸	250	-4.89
Mn ²⁺	90	6.02	淀粉	2.5	5.70
Zn ²⁺	10	-5.99	硬脂酸盐	12.5	5.69
Br ⁻	150	-5.31	蔗糖	100	-5.02
CO ₃ ²⁻	10	-3.19	磺胺嘧啶	100	-4.55
C ₂ O ₄ ²⁻	30	4.87	胸腺嘧啶	20	5.42
NH ₄ ⁺	200	4.09	色氨酸	125	-5.12
PO ₄ ³⁻	220	-5.26	酪氨酸	25	-4.11
SO ₄ ²⁻	50	-5.07	尿酸	100	-6.27
溶菌酶	200	6.12	胰蛋白	40	5.36

2.8 样品的测定

分别取 20 片盐酸多塞平, 准确称其重量, 研磨后, 准确称取相当于主成分 25 mg, 溶解于 100 mL 容量瓶中, 过滤, 取续滤液于干燥的容量瓶中备用, 按实验方法测定药物中盐酸多塞平的含量。并采用标准加入法进行回收实验。为进一步评价本实验方法应用的可能性, 将本方法与药典法^[3]进行了对照, 经 t 检验证明两种方法无显著性差异。所得结果列于表 2。

Table 2 Determination of doxepin hydrochloride in pharmaceutical forms

样品	标示量 $/(\text{mg} \cdot \text{片}^{-1})$	本法测定值 $/(\text{mg} \cdot \text{片}^{-1}, n = 6)$	相对标准偏差 $/(\% , n = 6)$	药典法 $/(\text{mg} \cdot \text{片}^{-1}, n = 5)$	t 检验 ^a	加入量 $/(\text{mg} \cdot \text{片}^{-1})$	回收率 $/(\% , n = 6)$
1	25.0	24.2	1.33	24.1	0.88	0.125	105
2	25.0	24.3	1.05	24.5	0.97	0.125	101
3	25.0	24.2	0.88	24.2	1.10	0.125	104

^a $t_{0.05,9} = 2.26$

参 考 文 献

- [1] CHEN Xiao-xu, CHEN Guo-yu(陈晓旭, 陈国羽). Journal of Chinese Modern Dermatology(中华现代皮肤科学杂志), 2005, 2(2): 134.
- [2] HAN Shao-wei(韩少伟). Central Plains Medical Journal(中原医刊), 2005, 32(21): 77.
- [3] Editorial Committee of the Pharmacopoeia of the People's Republic of China(中华人民共和国药典委员会编). The Pharmacopoeia of the People's Republic of China(Part II)(中华人民共和国药典, 2 部). Beijing: Chemical Industry Press(北京: 化学工业出版社), 2005. 505.
- [4] Pasternac R F, Bustamante C, Collings P J, et al. J. Am. Chem. Soc., 1993, 115(13): 5393.
- [5] Huang C Z, Li K A, Tong S Y. Anal. Chem., 1996, 68(13): 2259.
- [6] WAN Xin-jun, LIU Jin-shui, WANG Lun(万新军, 刘金水, 王 伦). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(5): 754.
- [7] RAO Zhen-hong, XIONG Yan-mei, REN Li-ping(饶震红, 熊艳梅, 任丽萍). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(9): 1035.
- [8] Feng S L, Pan Z H, Fan J. Anal. Bioanal. Chem., 2005, 383(2): 255.
- [9] Li N B, Luo H Q, Liu S P, et al. Spectrochim. Acta Part A, 2002, 58(3): 501.
- [10] Long X F, Bi S P, Ni H Y, et al. Anal. Chem. Acta, 2004, 501(1): 89.
- [11] WANG Li-sheng, ZOU Jie-ming, JIANG Zh-liang, et al(王力生, 邹节明, 蒋治良, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(12): 1640.
- [12] ZOU Jie-ming, PAN Hong-cheng, JIANG Zh-liang, et al(邹节明, 潘宏程, 蒋治良, 等). Chin. J. Anal. Chem.(分析化学), 2003, 31(11): 1348.

Spectrometric Study on the Interaction of Doxepin Hydrochloride and Fast Green and Its Application

WU Cheng-ke, FENG Su-ling*, FAN Jing

College of Chemistry and Environmental Science, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China

Abstract The characteristics of resonance light scattering and absorption spectra of doxepin hydrochloride with fast green were investigated, and a new analytical method for doxepin hydrochloride was described. In the buffer solution of pH 4.0, doxepin hydrochloride can strengthen the signal of resonance light scattering of fast green. The effective factors, including the order of addition of the reagents, acidity and kinds of the buffers, and concentration of fast green were investigated. Under the optimum conditions, the scattering peaks of the system are at 344 and 486 nm, while the maximum is at 344 nm. The enhanced intensity of RLS is proportional to the concentration of doxepin hydrochloride in the range of 8.75×10^{-3} – 4.88×10^{-2} mg • mL⁻¹. The detection limit for doxepin hydrochloride is 1.72×10^{-5} mg • mL⁻¹. The relative standard deviation obtained from eleven determinations for a 0.025 mg • mL⁻¹ standard solution of doxepin hydrochloride is 1.4%. The method was applied to the determination of doxepin hydrochloride in pharmaceutical preparations. The results were compared with those obtained by the reference method, and *t*-test showed no significant difference between the two methods.

Keywords Resonance light scattering; Doxepin hydrochloride; Fast green

(Received Aug. 8, 2006; accepted Nov. 2, 2006)

* Corresponding author