

文章编号: 1000-5862(2012)01-0016-05

酸性铬蓝 K 分光光度法测定盐酸西布曲明的含量

谢 兵, 庞向东, 万邦江, 甘湘庆, 秦宗会*

(长江师范学院化学化工学院, 重庆 408100)

摘要: 在 pH 值为 7.50 的 Britton-Robinson 缓冲介质中, 盐酸西布曲明与酸性铬蓝 K 反应, 形成离子缔合物, 溶液颜色发生明显改变, 最大吸收波长位于 564 nm, 同时在 652 nm 处形成负吸收. 在负吸收处, 线性关系良好, 从而建立测定盐酸西布曲明的分光光度法. 在 652 nm 处, 盐酸西布曲明的浓度在 $0 \sim 4.80 \times 10^{-6}$ mol/L 范围内遵守比尔定律, 表观摩尔吸光系数为 3.35×10^4 L/(mol·cm), 检出限为 1.66×10^{-7} mol/L. 该方法具有较高的灵敏度和良好的选择性, 用于合成样及尿样中盐酸西布曲明的测定, 结果满意.

关键词: 酸性铬蓝 K; 分光光度法; 盐酸西布曲明

中图分类号: O 657.3

文献标志码: A

0 引言

盐酸西布曲明由德国 Knoll 公司在 1997 年研制, 并用于治疗肥胖症^[1]. 由于西布曲明存在给服用者带来患心脏病和中风的风险, 于 2010 年 10 月 8 日被美国食品药品监督管理局(FDA)责令退出美国市场; 2010 年 10 月 30 日, 中国国家食品药品监督管理局发布通知, 决定停止西布曲明制剂和原料药在我国的生产、销售和使用, 已上市销售的药品由生产企业负责召回销毁. 为避免西布曲明的参入和带来的风险, 方法简单的含量测定显得尤为重要.

文献报道盐酸西布曲明的分析方法有: 分光光度法^[2-3]、毛细管电泳法^[4]、衍生荧光法^[5]、高效液相色谱法^[6-7]、共振散射光谱法^[10]等. 本文研究发现, 在 Britton-Robinson 缓冲介质中, 盐酸西布曲明与酸性铬蓝 K 反应形成离子缔合物, 溶液颜色发生明显改变, 从而建立测定盐酸西布曲明的光度法, 本文对该体系的吸收光谱特征、适宜的反应条件、缔合比及干扰物的影响进行了研究, 表明该法具有较高的灵敏度和选择性, 方法简便, 用于合成样和尿样中盐酸西布曲明的含量测定, 结果满意.

1 实验部分

1.1 主要仪器及试剂

UV-3010 型紫外分光光度计(日立公司); EL104 电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司); PHS-3C 型酸度计(上海康仪仪器有限公司).

盐酸西布曲明(Sibutramine hydrochloride, 缩写为 SH, 质量分数达 99.5%以上, 山东临沂康康生物技术有限公司)标准溶液: 在 250 mL 的容量瓶中, 称取 0.079 1 g 盐酸西布曲明, 用 0.1 mol/L 的 HCl 配成 1.0×10^{-3} mol/L 的储备液, 用时再用水稀至 1.0×10^{-4} mol/L 的工作液; 酸性铬蓝 K(Acid chrome blue K, 缩写为 ACBK, 中国上海试剂三厂)溶液: 在 250 mL 的容量瓶中, 称取 0.146 7 g 酸性铬蓝 K, 用无水乙醇配成 1.0×10^{-3} mol/L 的储备液, 再用水配成 1.0×10^{-4} mol/L 的溶液; Britton-Robinson 缓冲溶液(缩写 B-R): 用 0.04 mol/L 的醋酸、0.04 mol/L 的磷酸、0.04 mol/L 的硼酸与 0.20 mol/L NaOH 以不同比例配成不同 pH 值的缓冲液, 并用酸度计校准. 其它试剂均为分析纯, 分析用水为 2 次蒸馏水.

1.2 实验方法

在 10 mL 比色管中, 依次加入 pH 值为 7.50 的

收稿日期: 2011-04-15

基金项目: 重庆市教委科学技术课题(KJ101314)和长江师范学院科技课题(2010BJSKY060)资助项目.

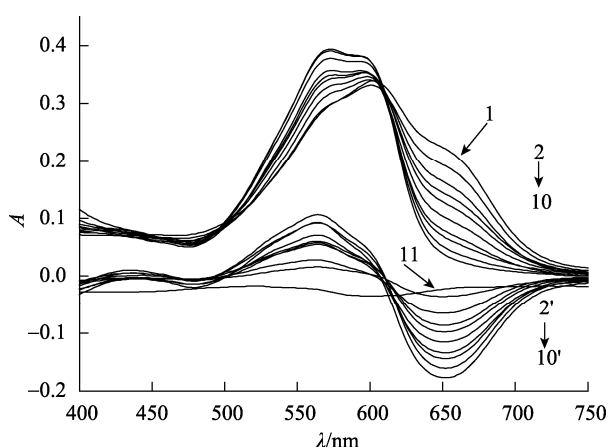
作者简介: 秦宗会(1967-), 男, 重庆丰都人, 教授, 主要从事分子光谱分析及药物分析研究.

B-R 缓冲溶液 0.4 mL、 1.0×10^{-4} mol/L 铬蓝 K 溶液 1.5 mL 和适量 1.0×10^{-4} mol/L 的盐酸西布曲明溶液, 用 2 次蒸馏水稀释至刻度, 摇匀. 将试液置于 1 cm 比色皿中, 在最大褪色波长 652 nm 处以试剂空白为参比测定吸光度.

2 结果与讨论

2.1 吸收光谱图

按实验方法, 在 UV-3010 紫外-近红外分光光度计上分别对 SH 标准溶液、ACBK 溶液及 SH-ACBK 混合溶液, 在 400~750 nm 波长范围进行扫描(分别以水为参比和以试剂为参比)得吸收光谱图 1. 由图 1 知: 当以水为参比时, SH 标准溶液为无色, 扫描波长范围不吸收(曲线 11); ACBK 溶液最大吸收峰在 592 nm, 同时在 652 nm 处形成肩峰(曲线 1); 在 SH 标准溶液中加入 ACBK 溶液后反应, 形成离子缔合物, 使 ACBK 溶液颜色发生明显改变, 最大吸收峰为 574 nm, 同时在 592、652 nm 处形成肩峰(曲线 2~10). 当以试剂溶液(ACBK+pH 7.50 的 B-R 缓冲)为参比, 测离子缔合物的吸光度时, 最大吸收波长位于 564 nm, 同时在 652 nm 处形成负吸收(曲线 2'~10'). 由吸收光谱图可看出, 在负吸收波长 652 nm 处, 线性关系良好, 灵敏度高, 可用于 SH 的含量测定, 故实验选定 652 nm 作为测定波长.



1. 纯ACBK的浓度: 2×10^{-5} mol·L⁻¹. 2. 2'~10. SH的浓度分别为: 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35, 0.40, 0.45×10^{-5} mol·L⁻¹; ACBK的浓度: 2.0×10^{-5} mol·L⁻¹. 11. 纯SH的浓度: 1.0×10^{-5} mol·L⁻¹, pH 7.70. 1~11 以水为参比; 2'~10'以试剂为参比.

图 1 盐酸西布曲明与铬蓝 K 的吸收光谱图

2.2 缓冲溶液的影响

在 10 mL 比色管中加入 1.0 mL ACBK(1×10^{-4} mol/L)、0.5 mL 盐酸西布曲明(1×10^{-4} mol/L)和不同 pH 值的 B-R 缓冲溶液, 以试样为参比测定 652 nm 处的吸光度. 实验结果表明, 当 pH 值为 7.00~7.80 时吸光度相对较大, 其中 pH 值为 7.50 时吸光度最大; pH 值为 7.50 的 B-R 缓冲用量在 0.3~0.5 mL 吸光度最大. 当缓冲溶液用量少时, 作用不完全, 吸光度随用量增大而增大; 缓冲溶液用量过多, 吸光度反而减小. 故实验选择 pH 值为 7.50 的 B-R 缓冲溶液用量 0.4 mL.

2.3 染料用量的影响

在 10 mL 的比色管中加入 0.4 mL pH 值为 7.50 的 B-R 缓冲溶液, 固定盐酸西布曲明溶液(1.0×10^{-4} mol/L)用量, 改变铬蓝 K 溶液(1.0×10^{-4} mol/L)用量分别为(0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0 mL), 以试剂空白为参比测定吸光度. 结果表明: 开始时, 吸光度随染料用量的增加而增大, 当用量增加到 1.5 mL 以上时, 吸光度几乎不变; 染料用量小时, 盐酸西布曲明作用不完全; 用量大时, 空白值增大, 误差增大. 故实验选择染料用量为 1.5 mL.

2.4 表面活性剂的影响

试验了浓度为 1.0 g/L 的表面活性剂(溴化十六烷基吡啶、十六烷基三甲基溴化铵、聚乙烯醇、乳化剂-OP、十二烷基苯磺酸钠、十二烷基硫酸钠、十二烷基磺酸钠等)对体系的影响. 实验结果表明: 阴离子和非离子表面活性剂没有增敏作用; 阳离子表面活性剂能使染料褪色, 对体系影响较大. 故本实验不选择表面活性剂作为增敏试剂.

2.5 体系稳定性

试验了加样顺序对体系的影响, 结果表明加样顺序对体系影响较小. 加样后, 测定不同时间吸光度, 吸光度在 3 h 内变化不大. 试验了温度从 20~50 °C 对体系吸光度的影响, 结果表明温度的影响也较小.

2.6 离子缔合物组成

在 pH 值为 7.50 的 B-R 缓冲介质中, 盐酸西布曲明与酸性铬蓝 K 之间通过静电引力、疏水作用和荷电转移作用, 形成离子缔合物, 溶液颜色发生明

显改变, 吸收光谱图也发生变化. 以摩尔比法和等摩尔连续变化法测定了离子缔合物的组成, 盐酸西布曲明与酸性铬蓝 K 的物质的量之比为 1 : 2, 即离子缔合物组成为 $[\text{SH}] \cdot [\text{ACBK}]_2$.

2.7 相对标准偏差

精密移取酸性铬蓝 K 溶液 ($1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$) 1.5 mL, pH 值为 7.50 的 B-R 缓冲溶液 0.4 mL, 盐酸西布曲明溶液 ($1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$) 0、0.5、1.0 mL, 分别加入 11 支比色管中, 以水为参比在 652 nm 处测定其吸光度, 计算精密度. 结果 0、0.5、1.0 mL SH 的 *RSD* 分别为 0.185%、0.196%、0.192%.

2.8 标准曲线与检出限

固定 pH 值为 7.50 的 B-R 缓冲液的量为 0.4 mL, ACBK ($1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$) 的量为 1.5 mL, SH ($1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$) 溶液的体积分别为 0、0.05、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30、0.35、0.40、0.45、0.50、0.55、0.60、0.65 mL, 在实验选定最佳条件下, 在 652 nm 处以试剂空白为参比测定吸光度, 以吸光度对 SH 浓度作图, 绘制标准曲线, 见图 2. 该法测得在波长为 652 nm 处的线性回归方程为 $A = -0.3347 \times 10^5 c - 0.0292$ (c 为浓度, 其单位是 mol/L), 线性范围为 $0 \sim 4.80 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$,

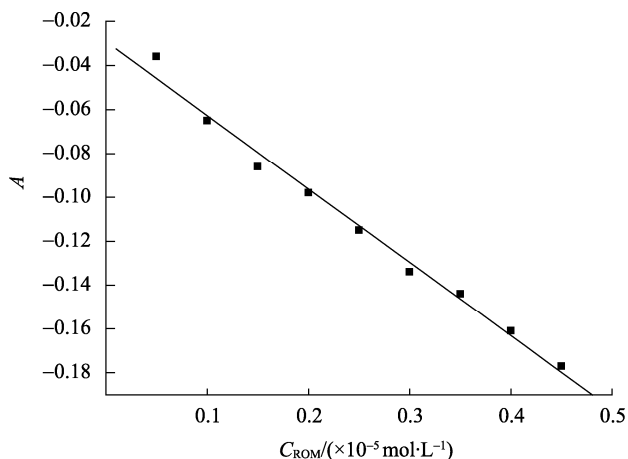


图 2 盐酸西布曲明标准工作曲线

相关系数 $R=0.9948$, 表观摩尔吸光系数为 $3.35 \times 10^{-4} \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$, 检出限为 $1.66 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$.

2.9 干扰物质的影响

在实验选定条件下, 取盐酸西布曲明 0.0158 mg/L 、酸性铬蓝 K ($1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$) 1.50 mL、pH 值为 7.50 的 B-R 缓冲液 0.40 mL, 测定波长在 652 nm 处相对误差不超过 $\pm 5\%$ 时各物质允许浓度 (mg/L) 和相对偏差, 结果见表 1. 由表 1 可知, 高价金属离子 (Al^{3+} 、 Bi^{3+} 、 Cr^{3+} 、 Fe^{3+} 等) 对体系影响较大, 实际测定中, Bi^{3+} 、

表 1 干扰物质的影响

干扰试剂	浓度/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	相对偏差/%	干扰试剂	浓度/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	相对偏差/%
蔗糖	1.00	1.20	NaNO_2	0.1	-2.44
麦芽糖	1.00	-0.78	硫脲	1.00	1.36
葡萄糖	1.00	2.03	CrCl_3	0.01	3.77
淀粉	1.00	0.35	CuSO_4	0.10	-2.61
果糖	1.00	1.84	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$	1.00	0.43
KI	1.00	2.07	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1.00	0.55
Na_2CO_3	0.01	-1.29	NH_4I	1.00	-1.71
KBr	1.00	3.42	$\text{Na}(\text{SO}_4)_2$	1.00	0.39
NH_4NO_3	0.1	-2.54	ZnSO_4	1.00	1.52
NH_4Cl	1.00	1.61	CaCl_2	1.00	1.74
NaCl	1.00	0.46	KCl	1.00	0.38
NaF	0.10	2.37	$\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$	0.10	-2.48
钼酸钠	0.10	1.57	四硼酸钠	0.10	3.72
尿素	1.00	-3.05	MgSO_4	1.00	1.04
钼酸铵	0.10	-1.77	ZnCl_2	1.00	2.70
乳糖	1.00	1.06	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	1.00	1.64
NaBr	1.00	1.24	NH_4HCO_3	0.01	1.45
AlCl_3	0.01	3.14	MnSO_4	1.00	2.79
BaCl_2	1.00	2.06	酒石酸钠钾	0.10	0.87
$\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$	0.01	3.87	FeCl_3	0.01	2.54
Na_2HPO_4	1.00	0.82	柠檬酸三钠	0.10	0.87

Cr³⁺几乎不可能进入测定体系;用 F⁻络合 Al³⁺、Fe³⁺, 可使其允许浓度提高到 0.1 mg/L. 其他绝大多数物质允许浓度较大, 对测定影响较小, 说明方法的选择性较好.

3 样品分析

3.1 合成样的测定

在 10 mL 比色管中, 加入 pH 值为 7.50 的 B-R 缓冲溶液 0.4 mL、酸性铬蓝 K(1.0×10⁻⁴ mol/L)溶液 1.5 mL、一定量的盐酸西布曲明, 及不同量的常见药品填充剂(如淀粉、蔗糖、硫酸镁、葡萄糖等), 按实

验最佳方法平行测定6次, 测定结果代入回归方程计算, 同时计算回收率, 结果见表 2, 回收率满意.

3.2 尿样测定

取新鲜原尿液(分析者自供, 健康、无遗传病史), 将尿液与饱和硫酸钠按 10:1 体积比混合, 水浴加热 30 min, 让尿里的蛋白质完全沉淀, 在离心机上以 3 400 r/min 的速率离心 10 min, 冷却至室温, 取上层清液作为尿样. 取 0.50、0.75、1.00 mL 尿样(分别为表中的尿样 1、尿样 2、尿样 3)按实验最佳方法平行 6 次测定, 测定结果代入回归方程, 计算其含量. 同时作加标回收试验, 回收率满意. 测定结果见表 3.

表 2 合成样中盐酸西布曲明的测定(n=6)

样品	组成/(mg·L ⁻¹)	平均测定值/(mg·L ⁻¹)	平均回收率/%	相对标准偏差/%
合成样 1	50 蔗糖, 50 淀粉, 50 尿素, 50 葡萄糖, 50 乳糖, 0.015 8 盐酸西布曲明	0.015 5	96.84	1.72
合成样 2	50 蔗糖, 50 淀粉, 50 尿素, 50 硫酸镁, 50 氯化钠, 0.015 8 盐酸西布曲明	0.015 6	97.47	1.35
合成样 3	50 蔗糖, 50 淀粉, 50 硫酸铵, 50 葡萄糖, 50 氯化钠, 0.015 8 盐酸西布曲明	0.015 7	96.84	1.09

表 3 尿样中盐酸西布曲明的测定

样品	测定值/(mg·L ⁻¹)	加标/(mg·L ⁻¹)	加标测定值/(mg·L ⁻¹)	回收率/%	相对标准偏差/%
尿样 1	0	0.015 8	0.016 0	101.3	2.44
尿样 2	0	0.015 8	0.016 3	103.2	2.16
尿样 3	0	0.015 8	0.016 7	105.7	2.03

4 参考文献

[1] 邹大进, 王卓. 食欲抑制型减肥药西布曲明 [J]. 中国新药杂志, 2002, 11(3): 200-203.

[2] 秦宗会, 谭蓉, 薄利军, 等. 刚果红褪色光度法测定盐酸西布曲明及作用机理研究 [J]. 分析化学, 2006, 34(3): 403-406.

[3] 黄芳, 陈华, 夏之宁. 西布曲明对映体的毛细管电泳分离与定量分析方法研究 [J]. 药物分析杂志, 2004, 24(2): 113-116.

[4] 秦宗会, 刘艳, 谭蓉, 等. 衍生荧光法测定盐酸西布曲明 [J]. 分析实验室, 2006, 25(4): 9-12.

[5] Ding Li, Hao Xinyu, Huang Xin, et al. Simultaneous determination of sibutramine and its N-desmethyl metabolites in human plasma by liquid chromatography electrometry ionization-mass

spectrometry method and clinical applications [J]. Anal Chim Acta, 2003, 492(1/2): 241-248.

[6] Radhakrishna T, Lakshmi Narayana C H, Sreenivas Rao D, et al. LC method for the determination of as say and purity of sibutramine hydrochloride and its enantiomers by chiral chromatography [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2000, 22(4): 627-639.

[7] 曹文丁, 余佳文, 官柳, 等. 高效液相色谱法测定曲美胶囊中盐酸西布曲明的含量 [J]. 中国药房, 2004, 15(4): 240-241.

[8] 周尚, 杨季冬. 卤代荧光素与西布曲明相互作用的共振散射光谱特征及其分析应用 [J]. 分析测试学报, 2008, 27(10): 1058-1061.

[9] 秦宗会, 薄利军, 谭蓉. 曙红亚甲蓝光度法测定盐酸利多卡因 [J]. 江西师范大学学报: 自然科学版, 2007, 31(3): 275-277.

- [10] 秦宗会, 谭蓉, 付维权. 考马斯亮蓝 G250 光度法测定水样中阳离子表面活性剂 [J]. 江西师范大学学报: 自然科学版, 2006, 30(5): 460-463.
- [11] 罗杨合, 范瑜, 蒋治良, 等. 吡啶红光度法测定萘菁波的搞氧化活性 [J]. 江西师范大学学报: 自然科学版, 2008, 32(3): 277-280.

Spectrophotometric Method for Determination of the Content of Sibutramine Hydrochloride with Acid Chrome Blue K

XIE Bing, PANG Xiang-dong, WAN Bang-jiang, GAN Xiang-qing, QIN Zong-hui*

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Yangtze Normal University, Chongqing 408100, China)

Abstract: In Britton-Robinson buffer solution with pH 7.70, sibutramine hydrochloride reacts with acid chrome blue K to form ion association complex, resulting that the solution color changes significantly. The maximum absorption wavelength and maximum fading wavelength are at 564 nm and 652 nm respectively. The fading colour intensity is also proportional to the concentration of sibutramine hydrochloride, Based on this the determination method of sibutramine hydrochloride was established. At the fading wavelength, with the concentration range of $0-4.80 \times 10^{-6}$ mol/L the concentrations of sibutramine hydrochloride comply with the Beer's law, the apparent molar absorptivity is 3.35×10^4 L/(mol·cm) and the detection limit is 1.66×10^{-7} mol/L. The method has high sensitivity and good selectivity. It was successfully used for the determination of content of sibutramine hydrochloride complex samples and human urine, with satisfactory results.

Key words: acid chrome blue K; spectrophotometry; sibutramine hydrochloride

(责任编辑: 刘显亮)