

文章编号: 1000-5862(2012)02-0196-04

溴甲酚绿光度法测定盐酸吡格列酮的含量

甘湘庆, 庞向东, 秦宗会*

(长江师范学院化学化工学院, 重庆 408100)

摘要: 在 pH 值为 8.0 的 Britton-Robinson 缓冲介质中, 盐酸吡格列酮与溴甲酚绿反应, 形成离子缔合物, 最大褪色波长位于 616 nm 处, 同时在 450 nm 处出现增色效应, 在最大褪色与最大增色波长处, 盐酸吡格列酮的浓度分别在 $2.81 \times 10^{-6} \sim 1.52 \times 10^{-5}$ mol/L 和 $7.70 \times 10^{-6} \sim 1.54 \times 10^{-5}$ mol/L 范围内遵守比尔定律, 表观摩尔吸光系数 ϵ 分别为 6.08×10^4 和 1.56×10^4 L/(mol·cm), 检测限分别为 1.99×10^{-7} 和 2.51×10^{-7} mol/L. 若用双波长叠加, 检测限更低. 方法用于市售药品中盐酸吡格列酮含量的测定, 所得结果满意. 以血浆和尿液样品为基体加入标准溶液作回收率试验, 测定回收率在 96.7%~103.6%之间, 测定值的相对标准偏差均小于 3.70%.

关键词: 分光光度法; 盐酸吡格列酮; 溴甲酚绿

中图分类号: O 657.3

文献标志码: A

0 引言

盐酸吡格列酮(Pioglitazone hydrochloride)是由日本武田药品公司首先合成并开发的一种新型噻唑烷二酮类抗糖尿病药物, 属胰岛素增敏剂. 1997 年开始在美国用于临床治疗 II 型糖尿病, 于 1999 年 7 月获得 FDA 批准上市^[1], 属噻唑烷二酮类. 化学名称为(±)-5[[4-[2-(5-乙基-2-吡啶基)二氧基]苄基]-2, 4]噻唑烷二酮盐酸盐. 分子式为 $C_{19}H_{20}N_2O_3S \cdot HCl$, 结构式如图 1 所示^[2].

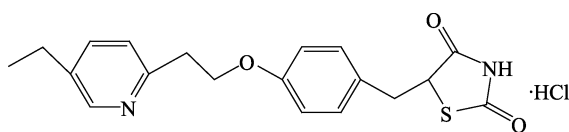


图 1 盐酸吡格列酮的结构式

盐酸吡格列酮的含量测定方法已有不少的文献报道, 有分光光度法^[3]、紫外光谱法^[4]、共振散射法^[5]、高效液相色谱法^[6-8]、同位素¹⁴C标记法^[9]、液相色谱-质谱联用法^[10]. 通过研究发现, 溴甲酚绿与盐酸吡格列酮相互作用, 形成离子缔合物, 使溶液颜色明显变化, 且颜色变化与吸收变化呈比例关系, 本文据此建立了快捷、灵敏测定盐酸吡格列酮的光度法.

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

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

盐酸吡格列酮(简称为 PGH, 质量分数大于 99.0%, 成都宇洋高科技发展有限责任公司)标准溶液: 准确称取适量的盐酸吡格列酮, 用 0.1 mol/L 的盐酸将其溶解, 并用 0.1 mol/L 的盐酸定容至 250 mL, 配制成 1.0×10^{-3} mol/L 的储备溶液, 再用水稀释成 1.0×10^{-4} mol/L 待用; Britton-Robinson 缓冲溶液(简称为 B-R): 分别用浓度为 0.04 mol/L 的 HAC、 H_3BO_3 、 H_3PO_4 溶液与 0.2 mol/L NaOH 溶液按不同比例混合, 配成不同 pH 值的缓冲溶液, 并用 pH 计进行校准; 溴甲酚绿(简称为 BMG, 上海化学试剂总厂)溶液: 用乙醇溶解并用水稀释、定容至 250 mL, 配制成 1.0×10^{-3} mol/L 的储备液, 用时再用水稀释到 1.0×10^{-4} mol/L; 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

在比色管中, 按照顺序加入溴甲酚绿(1.0×10^{-4} mol/L)溶液 2.0 mL、pH 值为 8.0 的 B-R 缓冲溶液 1.0 mL 和适量的盐酸吡格列酮(1.0×10^{-4} mol/L)标准溶液, 用 2 次

收稿日期: 2012-01-14

基金项目: 教育部春晖计划(Z2009-1-63001)和重庆市教育委员会科学技术(KJ111320)资助项目.

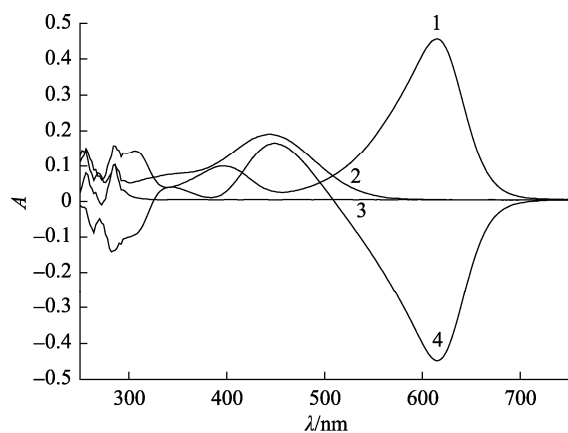
作者简介: 秦宗会(1967-), 男, 重庆丰都人, 教授, 主要从事分子光谱的分析研究.

蒸馏水稀释至准确量, 摇匀、静置, 再以2次蒸馏水为参比, 在616和450 nm 2个波长处测其吸光度, 测得试剂溶液(BMG+B-R)和试样溶液(BMG+B-R+PGH)的吸光度分别为 A_1 、 A_2 , 计算吸光度差 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

2 结果与讨论

2.1 吸收光谱

在 UV-3010型紫外分光光度计上, 在250~750 nm 波长范围内进行扫描得到吸收光谱图(见图2)。由图2可知, 以水做参比, 盐酸吡格列酮为无色溶液, 在可见光范围内无吸收(曲线3); 试剂溶液(BMG+B-R)的最大吸收波长位于616 nm(曲线1); 在试样溶液(BMG+B-R+PGH)里, 在pH值为8.0的B-R缓冲条件下, 溴甲酚绿与盐酸吡格列酮反应形成离子缔合物, 溶液颜色发生变化, 最大吸收波长位于450 nm (曲线2); 以试剂做参比时, 体系的最大褪色波长在616 nm处, 最大增色波长在450 nm处(曲线4), 且褪色程度或增色程度与盐酸吡格列酮的浓度呈线性关系, 可用于盐酸吡格列酮的光度分析。因此, 实验选择测定波长为616和450 nm。



水参比: 1. 1×10^{-5} mol/L BMG; 2. 1×10^{-5} mol/L BMG + 1×10^{-5} mol/L PGH; 3. 1×10^{-5} mol/L PGH.
试剂参比: 4. 1×10^{-5} mol/L BMG + 1×10^{-5} mol/L PGH.

图2 溴甲酚绿-盐酸吡格列酮吸收光谱图

2.2 溴甲酚绿的用量

实验表明, 在溴甲酚绿(1.0×10^{-4} mol/L)与盐酸吡格列酮(1.0×10^{-4} mol/L)的体系中, 随着溴甲酚绿体积的不断增大, 实验测得的吸光度的差值也逐渐增大。当溴甲酚绿的用量增至1.85 mL时, 吸光度差值增至最大。当溴甲酚绿的用量为4.50 mL以上时,

吸光度变化不大。当溴甲酚绿用量较少时, 盐酸吡格列酮作用不完全, 且吸光度差值随溴甲酚绿用量的增大而增大。溴甲酚绿为有色溶液, 用量过大, 溶液颜色更深, 空白值增大, 误差也增大。故实验选择溴甲酚绿的用量为2.00 mL。

2.3 缓冲溶液的影响

试验了不同 pH 值的 B-R 缓冲溶液对测定结果的影响, 实验结果表明, 在波长 616 nm 处, 随着 B-R 缓冲溶液 pH 值的增大, 吸光度逐渐增大, 当 pH 值增大到 7.0 时, 吸光度差达最大, pH 值在 7.0~11.9 范围内体系的吸光度差变化不大, 且稳定, 如图 3 所示。B-R 缓冲溶液用量在 0.80~1.20 mL 范围内吸光度差最大且稳定, 继续增加 B-R 缓冲溶液用量吸光度差反而减小, 故选用 pH 值为 8.0 的 B-R 缓冲溶液用量为 1.00 mL。

2.4 加样顺序及显色稳定性的影响

实验表明, 吸光度差值(ΔA)最大的加样顺序为溴甲酚绿、B-R缓冲溶液、盐酸吡格列酮, 该加入顺序灵敏度最高、误差最小。加样后测定不同时间的吸光度, 持续4.0 h 吸光度基本不变, 说明体系反应较快, 稳定性较好。

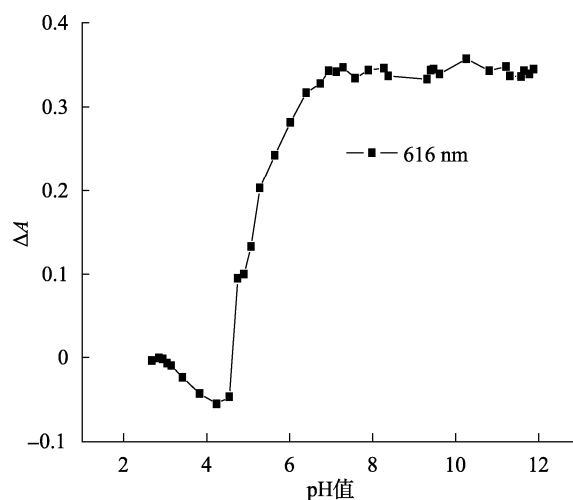


图3 pH值的影响

2.5 表面活性剂及有机溶剂的影响

试验了乙醇、丙酮、乙醚、十二烷基硫酸钠、乳化剂、十六烷基三甲基溴化铵和四氯化碳对体系测定的影响。实验表明: 表面活性剂十二烷基硫酸钠、乳化剂、有机溶剂乙醇、丙酮对体系没有增敏作用。十六烷基三甲基溴化铵的加入, 反而使体系的灵敏度降低; 而有机溶剂乙醚、四氯化碳与体系明显不溶, 呈现分层现象。因此, 实验不采用上述物质增敏。

2.6 离子缔合物的组成

在 pH 值为 8.0 的 B-R 缓冲溶液中, 盐酸吡格列酮与溴甲酚绿通过疏水作用、荷电转移作用和静电作用, 形成离子缔合物, 致使溶液颜色改变. 以摩尔比法和等摩尔连续变化法测定了盐酸吡格列酮和溴甲酚绿离子缔合物的组成, 结果溴甲酚绿与盐酸吡格列酮的物质质量之比为 1 : 1.

2.7 标准曲线

在多支比色管中, 各加入 pH 值为 8.0 的 B-R 缓冲溶液 1.00 mL、溴甲酚绿(1.0×10^{-4} mol/L)溶液

2.0 mL, 再分别加入盐酸吡格列酮(1.0×10^{-4} mol/L)溶液从 0.10、0.20、0.30、0.40 直至 3.00 mL, 混匀, 在波长为 616、450 nm 处, 用 2 次蒸馏水作参比, 测定不同体积盐酸比格列酮(即不同试样)的吸光度, 测定试剂(BMG+B-R)吸光度, 以吸光度差(ΔA)对盐酸吡格列酮的浓度作图, 绘制出标准曲线. 将所得数据在 Origin 软件上进行回归处理, 得回归方程、相关系数 R 及摩尔吸光系数, 7 次空白测定的标准偏差分别为 0.57% 和 0.41%, 得检测限, 结果见表 1. 若用双波长叠加, 检测限更低.

表 1 标准曲线的相关系数、摩尔吸光系数、线性范围和检出限

λ/nm	线性方程 ^a	线性范围/(mol·L ⁻¹)	$\epsilon/(\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$	R	检出限(3σ)/(mol·L ⁻¹)
616	$\Delta A = -0.8588 \times 10^5 c + 0.2501$	$2.81 \times 10^{-6} \sim 1.52 \times 10^{-5}$	6.08×10^4	0.9971	1.99×10^{-7}
450	$\Delta A = 0.4906 \times 10^5 c - 0.3346$	$7.70 \times 10^{-6} \sim 1.54 \times 10^{-5}$	1.56×10^4	0.9958	2.51×10^{-7}
616+450 ^{**}	$\Delta A = 1.3506 \times 10^5 c - 0.4015$	$4.07 \times 10^{-6} \sim 1.54 \times 10^{-5}$	9.49×10^4	0.9970	1.04×10^{-7}

*c 的单位为 mol/L; **双波长叠加.

2.8 干扰试验

在盐酸吡格列酮浓度为 3.93 mg/L、波长为 616 nm 条件下, 试验了共存物质对体系的影响. 在相对误差 $\leq \pm 5\%$ 时, 物质的允许浓度小于 1.0 g/L 的有: 氯化钠、氯化钾、氯化铵、氯化钡、氯化钙、溴化钠、溴化钾、硫酸锌、硝酸铈、磷酸二氢钠、蔗糖、淀粉、D-果糖、四丁基溴化铵; 物质的允许浓度小于 0.1 g/L 的有: 氟化钠、硝酸镁、硫酸钠、碳酸钠、硫酸锰、硫酸镁、柠檬酸钠、甘氨酸、乙二胺四己三钠、吐温; 物质的允许浓度小于 0.01 g/L 的有: 硫酸铁、硫酸铜、硫酸铝钾、硫酸锰、碘化钾、硝酸钠、硝酸锌、醋酸钠、抗坏血酸、硼酸钠、葡萄糖、麦芽糖、柠檬酸、草酸钠、乳糖; 物质的允许浓度小于 0.001 g/L 的有: 氯化铁、氯化铝、酒石酸钠、D-甘露糖、十二烷基苯磺酸钠.

溶物, 滤液用 2 次蒸馏水定容至 100 mL 容量瓶中(大致相当于 1.0×10^{-4} mol/L 的盐酸波格列酮), 作为胶囊和片剂样品液.

分别取片剂、胶囊样品液, 按试验最佳方法进行吸光度测定, 将测得结果代入线性方程进行计算, 最终得到胶囊和片剂中盐酸比格列酮的含量, 结果见表 2. 平行 6 次测定的片剂、胶囊样品的相对标准偏差分别为 1.37%、2.52%. 用标准加入法测定回收率, 结果平均回收率分别为 104.1%、103.4%.

表 2 胶囊和片剂中盐酸吡格列酮的测定结果($n=6$)

样品	标示量	实验测定值	$RSD/\%$	平均回收率/ $\%$
片剂	15.0 mg/tablet	14.2 mg/tablet	1.37	104.1
胶囊	15.0 mg/granule	15.3 mg/granule	2.52	103.4

3 分析应用

3.1 药品中盐酸吡格列酮的测定

取四川宝光药业股份有限公司生产的盐酸吡格列酮胶囊(商品名: 贝唐宁, 规格: 15 mg/粒)10 粒, 弃壳, 将内容物倒出准确称量, 混匀; 取浙江康恩贝制药股份有限公司生产的盐酸吡格列酮片(规格: 15 mg/片)10 片, 准确称量后用研钵研细, 混匀. 再准确称取 2 种混匀药品适量, 分别用 0.1 mol/L 的 HCl 溶液溶解(辅助微波)一段时间后过滤, 清洗不

3.2 血浆与尿液中盐酸吡格列酮的测定

取分析者新鲜尿液, 在离心机上以 3 000 r/min 的转速离心分离, 上层清液作为尿样.

取涪陵中心医院提供的血浆, 加入适量三氯乙酸溶液, 在离心机上以 3 000 r/min 转速离心分离 10 min, 使血清中的蛋白质完全沉淀, 上层清液作为血浆样.

按试验方法, 对处理过的尿样和血浆样分别平行 6 次测定, 未检出盐酸比格列酮. 用标准加入法测定尿样和血浆样中的回收率, 结果在 96.7%~103.6% 之间, 测定结果见表 3.

表3 血浆与尿液中盐酸吡格列酮的测定结果($n=6$)

样品	测定值/ μg	加标量/ μg	总测定值/ μg	回收率/%	RSD/%
血样	0	3.93	4.07	103.6	3.70
		5.90	6.05	102.5	2.27
尿样	0	3.93	3.80	96.7	3.11
		5.90	5.81	98.5	2.42

4 结论

通过实验确立了测定盐酸吡格列酮的光度分析方法, 此方法灵敏度较高、重现性较好、受外界干扰较小。其主要优点有: 仪器价廉, 实验操作简单、方便、实验效果较好; 拓宽了测定盐酸比格列酮的测定方法, 对基层药品的质量控制有一定的借鉴作用。

5 参考文献

- [1] Smith U. Pioglitazone: mechanism of action [J]. International Journal of Clinical Practice, 2001, 121: 13-18.
- [2] Lawrence J M, Reckless J P. Actos (pioglitazone): a new treatment for type 2 diabetes [J]. Hospital Medicine, 2001, 62(7): 411-416.
- [3] 秦宗会, 沈光明, 刘於生, 等. 氯酚红分光光度法测定盐酸吡格列酮 [J]. 分析试验室, 2007, 27(10): 15-18.
- [4] 杨玉芳, 周燕文. 紫外分光光度法测定盐酸吡格列酮片的含量 [J]. 中国药师, 2007, 10(4): 354-355.
- [5] 秦宗会, 谭蓉, 谢兵, 等. 盐酸吡格列酮与曙红 Y 相互作用的荧光和共振光散射光谱研究 [J]. 化学通报, 2010, 73(2): 166-172.
- [6] 张敏波, 张叶萍. 盐酸吡格列酮的 HPLC 测定 [J]. 中国医药工业杂志, 2003, 34(8): 405-407.
- [7] Pattana Sripalakit, Penporn Neamhom, Aurasorn Saraphanchoti-withaya. High-performance liquid chromatographic method for the determination of pioglitazone in human plasma using ultra-violet detection and its application to a pharmacokinetic study [J]. Journal of Chromatography B, 2006, 843: 164-169.
- [8] 戴俊东, 金笃嘉, 刘玉玲. RP-HPLC 法测定盐酸吡格列酮含量及有关物质的方法学研究 [J]. 药物分析杂志, 2001, 21(1): 36-39.
- [9] Maeshiba Y, Kiyota Y, Yamashita K, et al. Disposition of the new antidiabetic agent pioglitazone in rats, dogs, and monkeys [J]. Arzneimittel-Forschung, 1997, 47(1): 29-35.
- [10] Zhongping John Lin, Ji Weihua, Daksha Desai-Krieger, et al. Simultaneous determination of pioglitazone and its two active metabolites in human plasma by LC-MS/MS [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2003, 33: 101-108.

Spectrophotometric Method for Determination of Pioglitazone Hydrochloride with Bromocresol Green

GAN Xiang-qing, PANG Xiang-dong, QIN Zong-hui*

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

Abstract: In Britton-Robinson buffer medium of pH 8.0, bromocresol green reacts with pioglitazone hydrochloride, forming ion-association complexes, maximum fading wavelength of complexes is 616 nm, the maximum absorb wavelength locates 450 nm, the concentration of pioglitazone hydrochloride follows Beer's law for the tight absorption in the different range of $2.81 \times 10^{-6} \sim 1.52 \times 10^{-5}$ mol/L and $7.70 \times 10^{-6} \sim 1.54 \times 10^{-5}$ mol/L respectively, the apparent molar absorptivities are 6.08×10^4 L/(mol·cm) and 1.56×10^4 L/(mol·cm) and the detection limits are 1.99×10^{-7} mol/L and 2.51×10^{-7} mol/L respectively. If the determination process is dealt with double wavelength, Lower the detection limits. Samples of tablets and capsules of pioglitazone hydrochloride were analyzed by the proposed method, and the amounts of PGH found were checked quite well with the labelled values, the results are satisfactory. Recovery and precision of the method were tested by the standard addition method using samples of human blood serum and urine as matrixes, values of recovery found were in the range of 96.7% and 103.6%, and values of RSD found were less than 3.70%.

Key words: spectrophotometric method; pioglitazone hydrochloride; bromocresol green

(责任编辑: 刘显亮)