

# 流动注射在线过滤稀释原子吸收测定药物制剂 中利血平的方法研究

李亚荣 郎惠云\*

(西北大学化学系 西安 710069)

**摘 要** 提出了测定利血平的 FI-AAS 分析新方法。它是基于利血平在适当的酸度条件下与雷氏盐反应生成不溶水的离子缔合物,经流动注射在线过滤稀释,以 AAS 法测定反应后剩余铬的量来间接测定利血平的含量。本文运用改良单纯形优化法对原子吸收的工作条件进行了优化,使仪器达到测试的最佳状态;使用内填微孔滤膜为  $0.22\mu\text{m}$  的柱形过滤器收集沉淀,效果良好,使灵敏度大为提高。利血平的浓度在  $25\sim 200\mu\text{g/mL}$  范围内与吸收值呈良好的线性关系,回收率为  $97.2\%\sim 102.6\%$ ,采样频率为 100 次/h。

**关键词** 利血平 流动注射 在线过滤 原子吸收 离子缔合物

## Study on the Method of Determination of Reserpine by Flow-injection Online Filtration-Dilution Atomic Absorption Spectrometry

Li Yarong, Lang Huiyun

(Department of Chemistry, Northwest University, Xi'an 710069)

**Abstract** A simple, rapid and high selective method for the assay of reserpine has been developed. It is based on the reaction in aqueous solution of reserpine with Reinecke's salt to form precipitate quantitatively, the amount of residual  $\text{Cr}^{3+}$  can be determined by flow injection on-line filtration-dilution-atomic absorption, then the content of reserpine can be determined indirectly. The linear range is  $25\sim 200\mu\text{g/mL}$ , the recovery is  $97.2\%\sim 102.6\%$ , and the sampling frequency is  $100\text{h}^{-1}$ . The method has been applied to determine reserpine with good result.

**Key words** Reserpine, Flow-Injection, On-line filtration-dilution, Atomic absorption spectrometry, Ion association complex

利血平 (Reserpine) 即[11, 17-二甲氧基-18-(3, 4, 5-三甲氧基苯甲酰)氧]育亨烷-16-甲酸甲酯,又名血安平、舌根碱,是存在于我国及印度产萝芙木中的主要生物碱,它能减少肾上腺素、多巴胺和 5-羟色胺在脑及其它组织中的储存<sup>[1]</sup>,具有镇静安定的显著疗效,临床上主要用于治疗高血压。目前有关利血平的测定方法有荧光法<sup>[2]</sup>、分光光度法<sup>[3]</sup>、HPLC 法<sup>[4]</sup>和化学发光法<sup>[5]</sup>等,运用原子吸收法进行测定利血平,目前尚未见报道。

利血平结构中含有机胺,具有弱碱性,本文是基于利血平在适当的酸度条件下,可与氢质子结合成为共轭酸 ( $\text{BH}^+$ ) 后,与雷氏盐 (硫氰酸铬胺) 的电离产物  $[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4]^-$  反应生

成络合比为 1:1 的不溶性离子缔合物, 采用流动注射-原子吸收分光光度法 (FI-AAS) 测定利血平, 该法克服一般 AAS 法中沉淀手工分离、洗涤、稀释的困难, 操作简单、快速(采样频率为 100 次/h), 选择性好, 节省试剂, 适用于批量生产的质量控制。本法用于利血平的测定, 其结果与紫外法做 F 检验, 无显著性差异 ( $\alpha=0.05$ ), 获得满意的结果。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

TAS-968 型原子吸收分光光度计 (北京普析通用仪器有限公司); 420Aplus 型酸度计 (美国 ORION 公司); IFIS-B 型智能流动注射进样器 (西安瑞科数字记录有限公司); UV-1221 型紫外可见分光光度计 (北京普析通用仪器有限公司); 微孔滤膜 (上海亚东核级树脂有限公司)。

利血平标准溶液: 用少量的 10% HAc 将利血平标准品 (中国药物生物制品有限公司生产) 溶解, 配制成 2mg/mL 的储备液, 使用时稀释为 500 $\mu$ g/mL 的标准使用液, 均置于棕色容量瓶中, 于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中保存; 雷氏盐溶液 (3%): 冰箱中保存, 使用时过滤稀释为 0.3% 的溶液; 铬标准溶液 1.0mg/mL (由  $K_2Cr_2O_7$  配制); 10% HAc; HAc-NaAc 缓冲溶液 (pH3.6)。

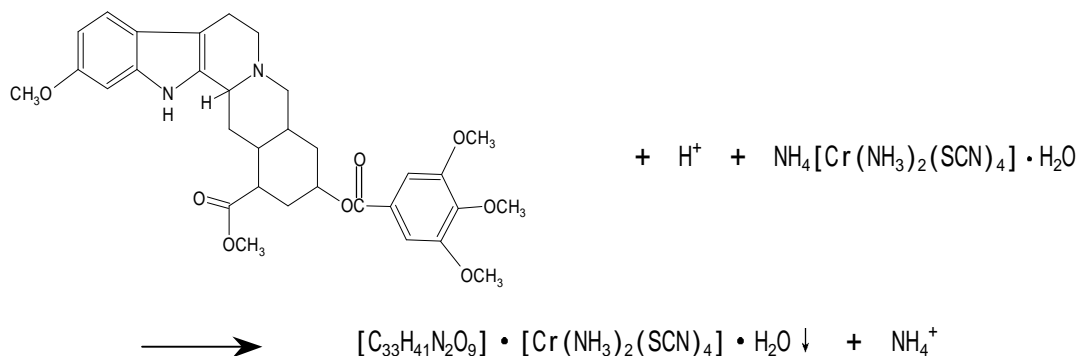
以上试剂均为分析纯, 水为二次去离子水。

### 1.2 仪器的最佳测试条件

波长 357.9nm; 光谱通带 0.4nm; 灯电流 3.5mA; 燃烧器高度 6mm; 乙炔气流量 2.6L min<sup>-1</sup>; 空气流量 8.5 L min<sup>-1</sup>。

### 1.3 方法原理

雷氏盐  $NH_4[Cr(NH_3)_2(SCN)_4] \cdot H_2O$  在酸性介质中可与利血平生成粉红色沉淀, 经流动注射在线过滤, 通过测定反应后溶液中剩余铬的量来间接测定其含量。其反应如下:



### 1.4 实验方法

依次移取一定量的利血平标准使用液, 1.0mL 雷氏盐溶液, 2.0mL HAc-NaAc 溶液于 10mL 比色管中, 定容; 反应 5min 后, 将溶液引入 FI-AAS 流路进行测定。FI-AAS 流路如图 1 所示。

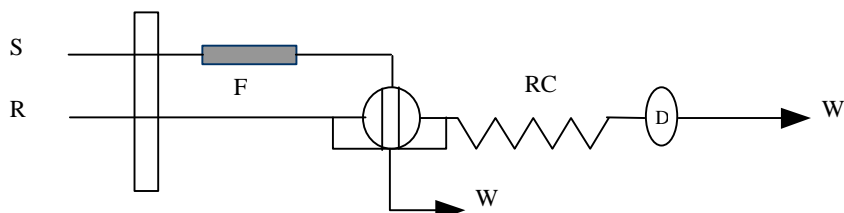


图 1 FI-AAS 测定利血平流路图

R-试剂, P-蠕动泵, S-样品, D 原子吸收分光光度计, RC-反应盘管, W-废液, F 过滤器

## 2 结果与讨论

### 2.1 原子吸收最佳工作条件的优化

在运用原子吸收分光光度计测定铬的过程中, 原子吸收的燃烧器高度、燃烧位置、灯电流、乙炔流量(本仪器空气流量固定)对测定的灵敏度及稳定性均有很大的影响, 本文采用改良性单纯形优化<sup>[6]</sup>寻找上述四个参数的最佳值。经过 27 步的寻优过程, 最终得到四个参数的最优值如表 1 所示。

表 1 原子吸收最佳工作条件的优化结果

参数	变化范围	最佳值
灯电流/mA	1~10	3.5
燃烧器高/mm	0~10	6
燃烧位置/mm	-10~10	-2
乙炔流量/(L·min <sup>-1</sup> )	1.00~3.20	2.6

### 2.2 化学参数的影响

**2.2.1 酸度** 溶液的酸度对离子缔合物的生成及沉淀的形态有较大的影响, 本文在 pH1~7 范围内进行实验。结果表明: pH 在 2~6 范围内吸光度值比较稳定, 这可能是由于在此范围内利血平结构中的有机胺容易质子化, 与 $[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4]^-$ 形成离子缔合物的缘故; 当 pH 大于 6 时吸光度值增加, 这是由于雷氏盐开始分解, 增加了溶液中铬的浓度; 当酸性太强时, 利血平易酸解和氧化, 且同时 $[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4]^-$ 分解, 不利于离子缔合物的生成。故本文选用 NaAc-Hac 作为缓冲液, 并控制反应酸度在 3.6 左右, 且选择加入量为 2mL。

**2.2.2 反应温度** 取 2.0mL 利血平标准使用液, 按上述实验方法在 0~80℃范围内进行试验。结果表明, 在 0℃时吸光度值稳定且最小; 随着温度升高, 吸光度值逐渐增大。这是由于随着温度升高, 雷氏盐稳定性变差, 分解量增多, 同时离子缔合物也趋于分解, 故吸光度值增大; 而且在

70℃以上会使雷氏盐全部分解, 无沉淀生成。本文选择在冰水浴中进行反应。

**2.2.3 反应时间** 移取 2.0mL 利血平标准溶液, 按上述实验方法在 2~100min 时间内进行反应。结果表明, 反应时间在 5min 以上, 吸光度值稳定。本文采用 5min 为反应时间。

**2.2.4 雷氏盐用量** 雷氏盐的用量对离子缔合物的生成和溶液中剩余铬的测定有很大的影响。本文取不同量(0.2~3.0mL)的雷氏盐溶液作沉淀剂进行反应, 结果如图 2 所示。由图可知当雷氏盐的用量小于 0.5mL 时, 由于试剂用量偏少, 结果使反应产物生成量少, 因而灵敏度较低; 当雷氏盐的用量大于 1.5mL 时, 溶液中剩余铬的量偏多, 导致线性变差甚至无法测量; 当雷氏盐的用量为 1.0mL 左右时, 效果最佳, 线性关系也好, 故本文选择雷氏盐的用量为 1.0mL。

### 2.3 流动注射参数的选择

**2.3.1 采样环体积、混合管道长度和载流流速的影响** 在最佳化学反应条件下, 研究了采样环体积、混合管道长度和载流流速对测定结果的影响。结果表明, 随着采样环体积增大, 吸光度值也增大, 但为了达到在线稀释的目的, 则需采用小体积的采样环; 混合管道长度对测定结果也有一定的影响, 管道越长, 稀释效果越明显, 但当管长超过 1m 后, A 增加缓慢, 而且过长的管道也降低了采样频率; 当采样体积、混合管道一定时, 随流速增加, A 值逐渐增大,

但当流速大于 4.5 mL/min 后,  $A$  值增加缓慢。这是由于载流量越快, 对流作用的增强与扩散作用的减弱相抵消, 分散度不再变化<sup>[6]</sup>。综合考虑, 本文选择流动注射参数的最佳值如表 2 所示。

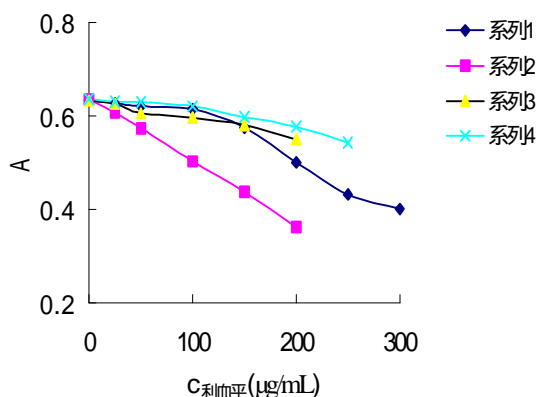


图 2 雷氏盐的用量的选择

系列 1、2、3、4 分别为雷氏盐的用量为 0.5、1.0、2.0、3.0mL 时的工作曲线

表 2 流动注射参数的选择

流动注射参数	变化范围	最佳值
采样环/ $\mu\text{L}$	20~100	30
混合管道长度/cm	20~200	60
载流流速/ $(\text{L} \cdot \text{min}^{-1})$	0.6~5.7	4.5

**2.3.2 过滤器的选择** 由于利血平和 $[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4]^-$ 反应生成的离子缔合物呈胶体状, 易随水流动, 不易过滤, 因而选择合适的过滤器十分重要。本文选用了内填充滤纸浆或脱脂棉的锥形过滤器以及内填微孔滤膜的柱形过滤器, 结果表明, 内填充滤纸浆或脱脂棉的锥形过滤器无法有效的收集沉淀, 测量结果没有重现性; 而内填微孔滤膜的柱形过滤器过滤效果非常理想, 重现性也好, 连续使用 2h 后用稀盐酸冲洗数分钟即可重复使用。故本文选择内填微孔滤膜为  $0.22\mu\text{m}$  的柱形过滤器。该过滤器的外径 16mm, 内径 12mm, 长 20mm, 进出口孔径 1mm, 内填树脂做的微孔滤膜 1 张。

## 2.4 重现性实验

移取 2.0mL 的利血平标准使用液按实验方法重复测量 10 次, 其相对标准偏差为 1.2%。

## 2.5 标准工作曲线

分别移取 0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL 的利血平标准使用液, 按前述实验方法进行测定, 以  $A \sim c$  绘制工作曲线。结果表明, 利血平浓度在  $25 \sim 200\mu\text{g/mL}$  范围内遵守比耳定律, 线性回归方程为:

$$A = -0.1146c + 0.6621, \text{ 线性相关系数 } r = 0.9997$$

## 2.6 络合比的测定

分别以利血平标准使用液和铬标准溶液绘制工作曲线。由利血平标准工作曲线可知: 加入 2.0mL 的利血平标准使用液可使吸光度值减小 0.225(与空白值比较), 从而可在铬标准溶液工作

曲线上求得参加反应的铬量为  $1.592 \times 10^{-3} \text{ mmol}$ , 而参加反应的利血平的量为  $1.643 \times 10^{-3} \text{ mmol}$ , 二者之比接近 1:1。此外, 固定雷氏盐和利血平的总浓度不变, 采用连续变化法求得离子缔合物的络合比近似为 1:1。因此认为利血平与雷氏盐的络合比为 1:1。

## 2.7 共存物质的影响

利血平片剂中常加入淀粉、硬脂酸镁、滑石粉、乳糖和糊精等赋形剂, 针剂中的添加成分有苯甲醇、吐温 80、无水枸橼酸和注射水, 它们的存在可能会对测定结果产生干扰。取 12.5mL 利血平储备液于 50mL 容量瓶中, 加入不同量干扰物质, 以水定容, 过滤, 移取 2.0mL 该液按实验方法测定。结果表明, 在置信度为 95% 时作  $t$  检验, 50 倍于利血平含量的滑石粉、无水枸橼酸、硬脂酸镁, 30 倍于利血平含量的淀粉、糊精、乳糖、苯甲醇和吐温 80 均不干扰测定。

## 3 样品测定

### 3.1 样品的前处理

3.1.1 片剂样品处理 精确称取利血平片剂 (按利血平片剂配制处方<sup>[7]</sup>配制) 粉末适量 (约相当于利血平 25mg), 用少量 10% 的 HAc 溶解, 用水定容于 50mL 容量瓶中, 过滤后取其滤液 20mL, 置于棕色容量瓶中保存。

3.1.2 针剂样品处理 取利血平针 26 支, 混合均匀, 精密移取 25mL 于 50mL 棕色容量瓶中, 用水定容。

### 3.2 样品测定

取样品溶液 2.0mL, 按实验方法测定, 结果如表 3 所示。

表 3 样品中利血平的测定结果及方法回收率

样品 编号	标示量 /(mg/片)	本 法 /(mg/片)	紫外法 /(mg/片)	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%
1	0.25	0.242	0.247	0.500	0.486	97.2
2	1.00	1.02	1.04	0.500	0.504	100.8
3	1.00	1.03	1.04	0.500	0.513	102.6

\*1 号样为片剂, 2、3 号样为针剂; 1 号样为自制片剂; 2、3 号样为上海医科大学红旗制药厂生产, 批号分别为 20000602 和 20000101

## 参考文献

- [1] 李正华. 药物化学. 北京:人民卫生出版社, 1993:329~329.
- [2] Walash M I, Belal F A. Talanta, 1988,35(a):731 ~734.
- [3] Geeta N, Baggi T R. Indian Drugs, 1989,26(8):421~425.
- [4] Rau H L, Aroor A R, Aao P G. Indian Drugs, 1990,28(3):157~158.
- [5] 李丽清, 扬敏丽, 封满良 等. 分析化学, 1998,26(3):307~309.
- [6] Fang Z L. Flow Injection Atomic Absorption Spectrometry. Wiley, 1995:77~83.
- [7] 南京药学院. 北京:人民卫生出版社, 1982:471~471.