

新技术讲座

微弱发光分析技术应用实例(七)

——流动注射法微弱化学发光分析痕量药物的研究

张仲伦

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

杨凤珍 张新荣

(清华大学化学系, 北京 100084)

摘要 微弱发光分析技术在药物分析中具有广泛的应用前景. 以 Ce^{4+} -安乃近-罗丹明 6G 的化学发光反应以及安乃近在胶束中的自氧化化学发光反应为例, 介绍了 BPCL 微弱发光测量仪与流动注射装置相结合测定痕量药物的微弱化学发光分析方法.

关键词 化学发光, 流动注射, 安乃近, 微弱发光技术

学科分类号 Q6-33

近年来的研究表明, 许多药物(例如卡妥普利^[1]、青霉素^[2]、四环素^[3]、安乃近^[4]、维生素 K₃^[5]、巯丙酰甘氨酸^[6]及某些局部麻醉剂^[7])在适当的反应体系中可以产生化学发光. 这些药物发光体系产生的化学发光信号较弱, 远较经典的鲁米诺、光泽精或过氧化草酸酯体系的化学发光量子产率低, 因此需借助微弱化学发光测量装置方可测量. 本文拟以安乃近的两种微弱化学发光体系为例, 介绍药物的微弱化学发光分析方法.

13 利用 Ce^{4+} -安乃近-罗丹明 6G 微弱化学发光反应体系测定痕量安乃近

安乃近是一种解热镇痛药, 由于在结构中含有一个强还原性的磺酸基团, 因此可被一些氧化剂如四价的铈离子氧化而产生微弱化学发光. 但是信号过分微弱, 难以用于分析目的, 所以通常需加入增敏剂如罗丹明 6G 等使发光信号增强. 即使如此, 要使其在分析化学中获得应用, 仍需采用十分灵敏的化学发光测量装置, 为此作者等采用了国产 BPCL 型微弱发光测量仪对安乃近的化学发光反应及其分析测定的可行性进行了研究.

13.1 仪器装置与操作方式

研究表明, Ce^{4+} -安乃近-罗丹明 6G 体系的化学发光反应呈快速动力学性质, 从试剂混合到产生化学发光峰值信号的时间不足 1 s. 为此, 我们设计了一个流动注射装置与 BPCL 型微弱发光测量仪联用, 图 1 是这一联用装置的流程示意图. 罗丹明 6G (a) 和 $Ce(IV)$ (b) 溶液通过蠕动泵送入管

路, 样品安乃近溶液 (c) 通过一个六通阀进样. 一玻璃盘管 (F) 放置在微弱发光测量仪的光电倍增管正上方, 样品与反应溶液混合进入玻璃盘管, 产生化学发光信号, 最后由计算机完成数据采集和处理分析.

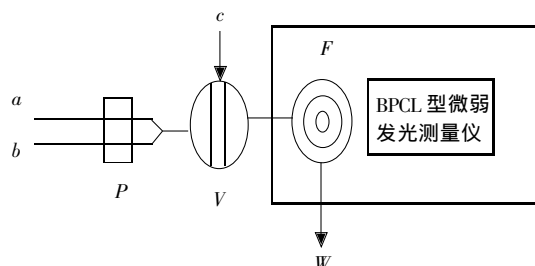


图 1 流动注射与 BPCL 型微弱发光测量仪联用装置示意图

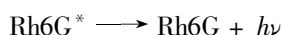
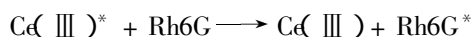
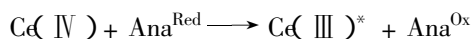
a: 罗丹明 6G; b: $Ce(IV)$; c: 安乃近溶液; P: 蠕动泵; V: 六通阀; F: 反应池; W: 废液.

13.2 实验结果

实验中对各项测定条件进行了优化, 获得的最佳反应剂浓度是 $Ce(IV)$: 1×10^{-4} mol/L, 罗丹明 6G: 1×10^{-4} mol/L, 硫酸: 0.2 mol/L. 在最佳条件下安乃近的浓度在 0.05 ~ 10 mg/L 范围内与化学发光强度呈线性关系 ($r = 0.9973$, $n = 10$), 检出限为 0.02 mg/L 安乃近.

对该体系的化学发光反应机理进行了探讨, 初步认定该反应为一能量转移反应. $Ce(IV)$ 氧化安乃近 (Ana) 生成 $Ce(III)$, 后者吸收了这一反

应的化学能而跃迁到激发态, 当有罗丹明 6G (Rh6G) 存在时激发态的 $Ce(III)^*$ 将能量转移给罗丹明 6G, 产生化学发光发射 ($h\nu$). 其反应机理可用下式表示:



对这一发光体系的实用性做了评价, 发现存在于安乃近药剂中常见的赋形剂和添加剂如葡萄糖、果糖、麦芽糖、硬脂酸镁、淀粉、环糊精以及常见的一些无机离子等, 即使含量高出于安乃近 1 000 倍也不干扰这一测定. 对药剂中不同浓度安乃近测定的回收率为 93% ~ 105%. 方法适合于做药物的质量控制.

14 利用安乃近在胶束中的自氧化化学发光反应测定痕量安乃近

安乃近在空气中可发生自氧化反应, 这一过程可能伴随着氧自由基的光子发射, 但是发光强度太微弱, 无法用实验测得. 为此, 我们采用了胶束增敏的方法, 发现一些中性表面活性剂如吐温 80、聚乙二醇 400 等能够增强发射强度. 若采用能量转移方式, 将激发态氧自由基的能量传递给罗丹明 6G, 发光效率可进一步增加. 根据这一反应原理, 我们建立了利用安乃近在胶束中的自氧化化学发光反应测其含量的方法.

14.1 仪器装置与操作方式

本实验所用装置与图 1 所示的装置基本相同, 只是将 $Ce(IV)$ 溶液换成表面活性剂溶液. 罗丹明 6G (a) 和表面活性剂 (b) 溶液通过蠕动泵送入管路, 安乃近溶液 (c) 通过六通阀注入. 产生的化学发光信号由 BPCL 型微弱发光测量仪检测.

14.2 实验结果

实验发现发光强度与表面活性剂的种类关系很大, 中性表面活性剂的增强作用十分显著. 我们最初选择了吐温 80 作为反应的增敏介质^[5]. 后来发现聚乙二醇 400 具有更强的增敏作用 (图 2), 因而对这一体系的各项测定条件进行了优化, 获得的最佳反应剂浓度是: 聚乙二醇 400 为 0.5% (质量体积比); 罗丹明 6G 为 0.1 mmol/L; 硫酸为 0.75 mol/L; 试剂流速为 4.0 ml/min. 在最佳实验条件下, 安乃近的浓度在 0.01 ~ 10.0 mg/L 范围内与化学发光强度成线性关系 ($r = 0.999$), 检出限为 0.003 mg/L.

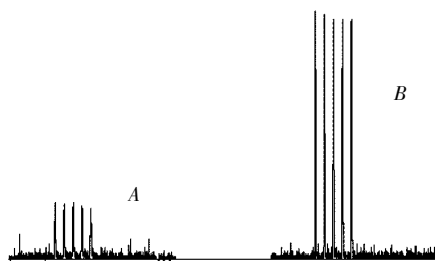


图 2 安乃近在吐温 80 和聚乙二醇 400 增敏介质中的化学发光强度比较

A: 0.1 mg/L 安乃近在吐温 80 增敏介质中的化学发光强度; B: 0.1 mg/L 安乃近在乙二醇 400 增敏介质中的化学发光强度.

在正常药物测定浓度下, 对制剂中常用赋形剂和添加剂如淀粉、硬脂酸镁、糊精、葡萄糖、果糖、 HCO_3^- 、 HPO_4^{2-} 等的干扰情况进行了考察, 发现在控制 pH 值条件下均不产生干扰. 实验结果还表明, 采用吐温做增敏介质时, 亚硫酸钠会产生强烈的干扰, 但采用聚乙二醇 400 为增敏介质, 亚硫酸钠不产生有意义的光信号. 由于亚硫酸钠常常作为抗氧剂加于药物制剂中, 所以聚乙二醇 400 介质更适合对安乃近针剂的分析测定.

应用本法对安乃近针剂、片剂及安乃近、扑热息痛复方制剂中安乃近进行测定, 并与标准方法对照, 结果的回收率均在 95% ~ 105% 之间. 本法亦适合于经适当稀释后的尿样中安乃近含量的测定.

将流动注射装置与微弱发光测量仪器相结合, 使很微弱的化学发光信号得以检测, 大大扩展了化学发光分析的应用范围. 本文列举了两个微弱发光体系测定安乃近的例子, 实际上许多药物均可在一定条件下产生微弱化学发光信号, 因此这种测量技术对新化学发光体系的发现和化学发光机理的探讨将会起到积极的促进作用.

参 考 文 献

- 1 Zhang X R, Baeyens W R G, Van der Weken G, *et al.* Chemiluminescence determination of captopril based on a rhodamine B sensitized cerium (IV) method. *Anal Chim Acta*, 1995, **303** (1): 121 ~ 125
- 2 Zhang Z D, Baeyens W R G, Zhang X R, *et al.* Chemiluminescence determination of penicillamine via flow-injection applying a quinine-cerium (IV) system. *Analyst*, 1996, **121** (11): 1569 ~ 1572
- 3 Zhang X R, Baeyens W R G, Van der Borre A, *et al.* Chemiluminescence determination of tetracyclines based on their reaction with hydrogen peroxide catalysed by copper ion. *Analyst*, 1995, **120** (2): 463 ~ 466
- 4 Huang Y M, Zhang C, Zhang X R, *et al.* A novel chemiluminescence flow-through sensor for the determination of analgin. *Fresenius J Anal*

Lett , 1999 , **365** (4): 381 ~ 383

- 5 Huang Y M , Zhang C , Zhang X R , *et al.* Chemiluminescence analysis of menadione sodium bisulfite and analgin in pharmaceutical preparations and biological fluids. *J Pharmaceut Biomed* , 1999 , **21** (4): 817 ~ 825
- 6 Zhao Y , Baeyens W R G , Zhang X , *et al.* Chemiluminescence determination of tiopronin by flow injection analysis based on cerium (IV) oxidation sensitized by quinine. *Analyst* , 1997 , **122** (2): 103 ~ 106
- 7 Zhang X R , Baeyens W R G , Van der Weken G , *et al.* Chemiluminescence determination of some local anaesthetics. *Anal Chim Acta* , 1995 , **303** (1): 137 ~ 142

Ultra-weak Chemiluminescence Analytical Technology Principle and Application.

ZHANG Zhong-Lun (*Institute of Biophysics , The Chinese Academy of Sciences , Beijing 100101 , China*); YANG Feng-Zhen ,

ZHANG Xin-Rong (*Department of Chemistry , Tsinghua University , Beijing 100084 , China*).

Abstract Ultra-weak chemiluminescence analytical technology has been developed rapidly in recent years. The technique in pharmaceutical analysis was introduced by using two examples. One is based on the chemiluminescence reaction of Ce (IV) -analgin-rhodamine 6G and the other is based on the auto-oxidation of analgin in micellar medium. An ultra-weak chemiluminescence analyzer has been coupled to flow-injection device for the determinations.

Key words chemiluminescence , flow-injecton , analgin , Ultra-weak chemiluminescence analytical technology