

表面活性剂敏化稀土荧光探针对环丙沙星药物的测定研究

童裳伦, 项光宏, 刘维屏

浙江大学环境科学研究所, 浙江 杭州 310029

摘要 稀土铽离子能与环丙沙星形成络合物, 并发射铽离子的特征荧光, 加入表面活性剂 SDBS 能大大增强体系的荧光强度, 由此建立了表面活性剂敏化的铽离子荧光探针测定环丙沙星的方法。用 1 cm 石英比色池在激发波长为 300 nm, 发射波长为 545 nm 处测定其荧光强度。在最佳测试条件为 pH=8.0~8.5, Tb^{3+} 浓度为 $5.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot L^{-1}$, SDBS 浓度为 $8.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot L^{-1}$ 时, 环丙沙星的浓度与体系的荧光强度呈线性关系, 线性范围为 $2.0 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot L^{-1} \sim 2.5 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot L^{-1}$, 相关系数为 0.999 6, 检出限为 $4.0 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot L^{-1}$ 。该法可用于不同剂型环丙沙星药物的测定。

主题词 铽离子; 荧光探针; 环丙沙星; 测定

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2005)12-2061-04

引言

环丙沙星是第三代氟喹诺酮类抗菌药物中抗菌作用较强的药物, 通过抑制细菌 DNA 旋转酶而发挥其快速杀菌作用, 主要用于呼吸系统感染与泌尿系统感染, 对革兰士阳性菌和阴性菌均有良好作用, 在临床上被广泛应用。已有片剂、注射剂等剂型, 其含量常用的测定方法有紫外分光光度法^[1], 高效液相色谱法^[2], 流动注射-化学发光法^[3], 荧光光度法。其中荧光光度法目前报道的测定方法主要集中在: (1) 利用环丙沙星本身的自然荧光进行测定, 但灵敏度较低; 后来有人报道表面活性剂十二烷基硫酸钠对环丙沙星的自然荧光有较强的增敏作用, 建立了胶束增敏荧光光谱法测定环丙沙星^[4]; (2) 利用环丙沙星能与某些稀土离子^[5]或金属离子如铝、镁形成配合物进行测定^[6]。本文将利用环丙沙星与稀土铽离子形成配合物, 加入表面活性剂十二烷基苯磺酸钠(SDBS)能大大增强体系的荧光强度, 建立了表面活性剂敏化的铽离子荧光探针^[7-9]对环丙沙星的测定方法, 该法可用于不同剂型环丙沙星药物的测定。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

RF-540 荧光分光光度计(岛津公司), pH S-9V 型酸度计(杭州华光无线电厂)。

铽离子(III)标准溶液: 准确称取一定量的 Tb_4O_7 (光谱

纯), 滴加 1:1 盐酸数滴, 小心加热使其溶解, 反复滴加盐酸直至完全溶解, 小心蒸发近干, 用蒸馏水定容至 100 mL, 制成 $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot L^{-1}$ 的贮备液。使用时, 用蒸馏水按所需浓度进行适当稀释。

缓冲溶液: 称取 12.5 g 氨基乙酸溶于蒸馏水中, 用盐酸调 pH 至 8.2 左右, 最后定容至 250 mL。

环丙沙星标准溶液: 准确称取一定量的环丙沙星标准品(杭州药检所提供)溶于蒸馏水中, 制成 $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot L^{-1}$ 的贮备液, 使用时按所需浓度适当稀释。

表面活性剂溶液: 准确称取一定量的十二烷基苯磺酸钠(SDBS)溶于蒸馏水中, 制成 $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot L^{-1}$ 的贮备液, 使用时按所需浓度适当稀释。

1.2 实验方法

在 25 mL 比色管中, 依次加入 1 mL 一定浓度的环丙沙星标准溶液, 1 mL $5.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot L^{-1}$ Tb^{3+} 标准溶液, 1 mL $8.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot L^{-1}$ 的 SDBS 表面活性剂, 1 mL 氨基乙酸缓冲液, 然后用蒸馏水稀释定容至 10.0 mL, 摇匀并放置 20~30 min。在激发波长为 300 nm, 发射波长 545 nm 处, 用 1 cm 比色池测定荧光强度。狭缝宽度为 10 nm。

2 结果与讨论

2.1 荧光光谱

$Tb(III)$ -环丙沙星-SDBS 体系的荧光光谱如图 1。用上述波长直接激发 $TbCl_3$ 的水溶液, 不能检测到 Tb^{3+} 的特征荧光, 表明体系的发光是由于铽离子与环丙沙星形成络合物

收稿日期: 2004-06-28, 修订日期: 2004-09-28

基金项目: 国家自然科学基金(30270767), 浙江省自然科学基金(M203088)与浙江省分析测试基金(0089)资助项目

作者简介: 童裳伦, 1969 年生, 浙江大学环境科学研究所副教授

后, 配体将吸收的能量转移给中心离子 Tb(III) 的结果。加入表面活性剂 SDBS 使体系的荧光大大增强, 大约增强 10 倍左右。体系的发射波长 490 与 545 nm, 分别相应于 Tb³⁺ 的 ⁵D₄ 能级向 ⁷F₆ 及 ⁷F₅ 能级的跃迁。

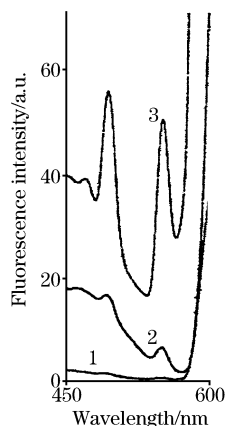


Fig. 1 Fluorescence spectra ($\lambda_{\text{ex}} = 300 \text{ nm}$)

- 1, TbCl₃-aminoacetic acid;
- 2, Ciprofloxacin-Tb³⁺-aminoacetic acid;
- 3, Ciprofloxacin-Tb³⁺-SDBS-aminoacetic acid

2.2 体系荧光强度的影响因素

2.2.1 pH 的影响

试验了不同 pH 对体系荧光强度的影响, 结果如图 2 所示。由图可见, pH 对体系的荧光强度影响较大, 当 pH 在 8.0~8.5 范围内, 体系的荧光强度最大且保持稳定。实验选择 pH 8.20。

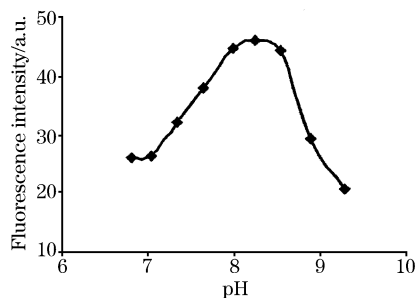


Fig. 2 Effect of pH

2.2.2 不同缓冲溶液对体系荧光强度的影响

试验了不同缓冲溶液对体系荧光强度的影响, 结果见表 1。在相同的 pH 条件下 ($\text{pH } 8.20 \pm 0.05$), 试验了以下几种缓冲溶液: tris(2%)-HCl, NH₄Cl(10%)-NH₃, 氨基乙酸(5%), HMA(10%)-HCl, K₂HPO₄(2%)。结果表明, K₂HPO₄ 几乎能使体系铽离子的特征荧光峰完全熄灭, Tris-HCl, NH₄Cl-NH₃ 也有熄灭作用, 使体系的荧光强度明显降低, 而氨基乙酸、HMA 缓冲溶液对体系的荧光强度有增敏作用, 其中氨基乙酸增敏效果最大。实验中选择氨基乙酸作为缓冲溶液, 加入量以 1 mL 为宜。

2.2.3 Tb³⁺ 浓度对体系荧光强度的影响

在环丙沙星浓度为 $1.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (a) 与 $5.0 \times$

$10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (b) 时, 试验了铽离子浓度对体系荧光强度的影响, 结果如图 3 所示。随着 Tb³⁺ 离子浓度的增加, 体系的荧光强度逐渐增强, 当 Tb³⁺ 离子浓度达到 $5.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时荧光强度达到最大值; 随着铽离子浓度的继续增大, 体系的荧光强度增长缓慢或变弱, 但铽离子的试剂空白明显增长。实验中选用 Tb³⁺ 离子浓度为 $5.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

Table 1 Effect of buffers on the fluorescence intensity of the system

Buffers	Water	HMA	KH ₂ PO ₄	Tris-HCl	NH ₄ Cl-NH ₃	Aminoacetic Acid
I_f	12.2	19.1	2.4	6.3	9.2	39.6

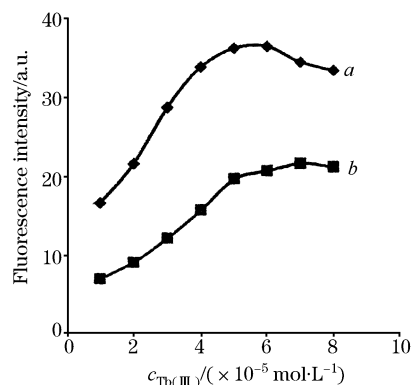


Fig. 3 Effect of terbium(III) concentrations

c : Concentration

2.2.4 表面活性剂种类及浓度对体系荧光强度的影响

在表面活性剂浓度相同的条件下 ($1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 试验了不同种类表面活性剂对体系荧光强度的影响, 结果见表 2。SDBS 对体系有较大的增敏作用, 而其他表面活性剂对体系的荧光强度不起增敏作用或增敏作用较小。同时试验了 SDBS 浓度对体系荧光强度的影响, SDBS 的最佳浓度为 $8.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在实验中选择了 SDBS 的浓度为 $8.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

Table 2 Effect of surfactants

Surfactants	Water	SDBS	SDS	Tween-20	TX-100	β -CD	CTMAB
I_f	2.4	25.2	2.2	9.7	2.6	2.3	2.7

2.2.5 稳定性试验

为了试验放置时间对体系荧光强度的影响, 在溶液配好之后每隔一定时间进行测定, 结果表明放置时间对体系荧光强度的影响很小, 当放置 20 min 后, 荧光强度达到最大值且保持稳定, 稳定时间可达 1 h 以上。

2.3 线性范围与检出限

在最佳测试条件下, 环丙沙星浓度在 $2.0 \times 10^{-8} \sim 2.5 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内与体系的荧光强度呈线性关系, 相关系数 r 为 0.999 6, 其检出限为 $4.0 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($S/N = 3$)。

2.4 干扰试验

试验了常见金属离子对体系荧光强度的影响,在体系荧光强度变化不超过 $\pm 10\%$ 范围内,金属离子不干扰测定的最大倍数(与环丙沙星摩尔浓度比)如下: Fe^{3+} (10), Al^{3+} (50), Cu^{2+} (50), Ca^{2+} (100), Mg^{2+} , Zn^{2+} (>200)。其中 Ca^{2+} , Al^{3+} 浓度较高时,对体系的荧光强度有微弱的增敏作用;而 Fe^{3+} , Cu^{2+} 在浓度较高时,对体系的荧光强度有熄灭作用; Mg^{2+} , Zn^{2+} 在所研究的浓度范围内对体系荧光强度没有明显影响。在低浓度时这些金属离子对体系的荧光强度都无显著影响,即不干扰测定。

试验了几种常与环丙沙星配伍使用的药物对体系荧光强度的影响,在体系荧光强度变化不超过 $\pm 10\%$ 范围内,药物

不干扰测定的(与环丙沙星摩尔浓度比)最大倍数分别为: 盐酸雷尼替丁(<1), SMZ(5), 呋塞米片(10), 西咪替丁(200), 芬必得(200), 阿莫西林(>200)。其中较高浓度的盐酸雷尼替丁、SMZ、呋塞米片对体系的荧光强度熄灭作用明显,而其他药物没有显著干扰。除盐酸雷尼替丁外,其他几种药物在较低浓度时对体系荧光强度都无影响,即不干扰环丙沙星的测定。

2.5 回收试验

在头孢氨苄、头孢拉定、对乙酰氨基酚和西咪替丁四种药物溶液中采用标准加入法进行环丙沙星的回收试验,结果如表 3 所示。

Table 3 Recovery tests of ciprofloxacin in the pharmaceuticals

Pharmaceuticals / $(1.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})$	Ciprofloxacin added / $(10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})$	Found/ $(10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})$	$\bar{x} \pm s$	Recovery/%
Cefalexin Tablets	0.2	0.192, 0.193, 0.189, 0.184, 0.199	0.1914 ± 0.0055	95.7
	1.0	0.97, 0.99, 1.01, 0.97, 0.99	0.986 ± 0.017	98.6
Cefradine Capsule	0.2	0.199, 0.184, 0.190, 0.182, 0.199	0.1908 ± 0.0080	95.4
	1.0	0.96, 1.03, 1.01, 0.97, 1.01	0.996 ± 0.030	99.6
Acetaminophen Caplets	0.2	0.192, 0.212, 0.190, 0.195, 0.214	0.2006 ± 0.0114	100.3
	1.0	1.02, 1.01, 1.04, 1.05, 0.99	1.022 ± 0.024	102.2
Cimetidine Tablets	0.2	0.190, 0.188, 0.186, 0.192, 0.203	0.1918 ± 0.0066	95.9
	1.0	0.98, 0.99, 1.00, 0.98, 1.00	0.990 ± 0.010	99.0

2.6 样品测定

取乳酸环丙沙星注射液(浙江医药股份有限公司新昌制药厂), 盐酸环丙沙星片 A(杭州中美华东制药有限公司)和盐酸环丙沙星片 B(浙江新昌京新制药有限公司)3 种样品,

用本法进行测定,每种样品平行测定 5 次取平均值,测得结果与标示值列于表 4。由表可见,本法用于不同剂型环丙沙星药物的测定,结果令人满意。

Table 4 Sample determination

Pharmaceuticals	Found	Label value
Ciprofloxacin lactate injection	$1.09 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	$1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$
Ciprofloxacin hydrochloride tablets A	0.230 g/per tablet	0.25 g/per tablet
Ciprofloxacin hydrochloride tablets B	0.256 g/per tablet	0.25 g/per tablet

参 考 文 献

- [1] ZHANG Lan-tong, YUAN Zhi-fang, CHEN Ru-hong, et al(张兰桐, 袁志芳, 陈汝红, 等). Chin. J. Pharm. Anal. (药物分析杂志), 1997, 17(1): 33.
- [2] Jehl F, Gallion C, Debs J. J. Chromatogr., 1985, 339(2): 247.
- [3] LIANG Yao-dong, LI Jian-zhong, ZHANG Zhu-jun(梁耀东, 李建中, 章竹君). Chinese J. Anal. Chem. (分析化学), 1997, 25(11): 1307.
- [4] WANG Jing-ping, DU Li-ming, XU Qing-qin(王静萍, 杜黎明, 许庆琴). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2002, 22(2): 287.
- [5] Anargiros I Drakopoulos, Pinelopi C Ioannou. Anal. Chim. Acta, 1997, 354: 197.
- [6] WANG Shao-ning, DENG Yi-hui, CHEN Yong, et al(王绍宁, 邓意辉, 陈咏, 等). Chin. J. Pharm. Anal. (药物分析杂志), 2003, 23(3): 192.
- [7] TONG Chang-lun, ZHU Yan, YANG Jing-he(童裳伦, 朱岩, 杨景和). Chinese J. Anal. Chem. (分析化学), 2000, 28(3): 293.
- [8] TONG Chang-lun, XIANG Guang-hong, HUANG Di-jin, et al(童裳伦, 项光宏, 黄迪金, 等). Chinese J. Anal. Chem. (分析化学), 2004, 32(5): 619.
- [9] TONG Chang-lun, XIANG Guang-hong, CHEN Ping-ping, et al(童裳伦, 项光宏, 陈萍萍, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(12): 1612.

Study on the Determination of Ciprofloxacin by the Terbium(Ⅲ) Ion Fluorescence Probe Sensitized by the Surfactant

TONG Chang-lun, XIANG Guang-hong, LIU Wei-ping

Institute of Environmental Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China

Abstract The experiments indicated that terbium(Ⅲ) ion could complex ciprofloxacin, then emitted the characteristic fluorescence of terbium(Ⅲ) ion. When the surfactant of SDBS was added, the fluorescence intensity of the system was greatly increased. From this, a sensitive method of determining the ciprofloxacin was developed. The fluorescence intensity was determined by a 1 cm quartz cell with the excitation wavelength of 300 nm and the emission wavelength of 545 nm. The optimal conditions are as follows: pH 8.0-8.5, the concentration of terbium(Ⅲ) is $5.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, the surfactant concentration of SDBS is $8.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. The linear range is $2.5 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ - $2.0 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, and the detection limit ($S/N=3$) is $4.0 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. The presented method was applied to determine the real pharmaceuticals of ciprofloxacin.

Keywords Terbium; Fluorescence probe; Ciprofloxacin; Determination

(Received Jun. 28, 2004; accepted Sep. 28, 2004)