

尼群地平几种测定方法的比较

朱世民 成全 胡秀贞* 彭慈贞

(南京大学化学系; *南京师范大学化学系)

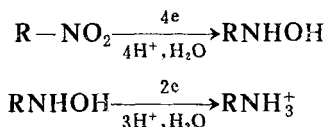
提要 本文研究并比较了三种测定抗心血管病药尼群地平的方法: 氟离子选择电极法、示波极谱法和紫外分光光度法。氟离子选择电极法在 $10^{-3} \sim 5 \times 10^{-8}$ mol/L 范围有 Nernst 响应, 示波极谱法的线性范围为 $10^{-8} \sim 10^{-6}$ mol/L, 紫外分光光度法线性范围为 $10^{-4} \sim 10^{-6}$ mol/L。三种方法均有相当的重现性和精密性, 可用于原料药及片剂中尼群地平含量的测定。

关键词 尼群地平; 2,6-二甲基-4(3-硝基苯基)-1,4-二氢吡啶-3,5-二羧酸甲乙酯; 氟离子选择电极法; 单扫描示波极谱法; 紫外分光光度法

尼群地平(nitrendipine)化学名为 2,6-二甲基-4(3-硝基苯基)-1,4-二氢吡啶-3,5-二羧酸甲乙酯, 是一种高效、低毒和药效持久的抗心血管病和抗高血压药⁽¹⁾。国内外药典尚未收载, 有关尼群地平的药理和临床试验国外已有许多研究^(2,3), 血清和血浆中痕量该药的放射性受体分析、HPLC 和 GC-MS 分析亦有报道^(4,5)。本文研究了三种测定尼群地平含量的分析方法, 并对它们作了比较。

尼群地平结构中含有二氢吡啶环, 易氧化成吡啶环, 故可设想用氧化法测定。Christova 等⁽⁶⁾研究了用碘离子选择电极法测定一系列还原剂, 给我们一种启示。本文研究证明, 在加热条件下尼群地平与碘可发生定量氧化还原反应, 生成的碘离子可用氟离子选择电极测定。

尼群地平为一芳香族硝基化合物, 通常硝基化合物可在滴汞电极上还原, 电极反应为:



本文研究了用单扫描示波极谱测定尼群地平的方法。在一定的浓度范围, 峰高与波度呈线性关系, 半波电位随溶液中乙醇浓度的改变而变化。

尼群地平含硝基、苯基, 在光谱的紫外区域应有吸收峰, 本文用紫外分光光度法测定尼群地平, 在最大吸收波长 356 nm 处, 一定范围内浓度与吸收度成正比。

实验部分

一. 仪器与试剂

PXJ-1B 型数字或离子计, 氟离子选择电极及双液接饱和甘汞电极(江苏电分析仪器厂); JP-2 型示波极谱仪(成都分析仪器厂); Lambda-7 型可见—紫外分光光度计(Perkin-Elmer 公司)。

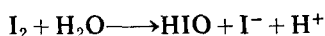
尼群地平及片剂(南京制药厂, 符合江苏省药检所标准), 其它药品均为分析纯试剂, 二次蒸馏水。

二. 氟离子选择电极法

(一) 溶液配制 准确称取尼群地平 0.0898 g, 加少量 95% 乙醇使溶解, 用 1:1 乙醇定容到 50 ml, 得 5.00×10^{-3} mol/L 母液, 再用 1:1 乙醇逐级稀释成 $5.00 \times 10^{-4} \sim 5.00 \times 10^{-6}$ mol/L 的尼群地平标准液。另取 1.27 g 碘, 加 95% 乙醇溶解后, 稀释到 50 ml, 得 0.1 mol/L 碘—乙醇溶液。

(二) 实验条件选择

pH 选择 碘—乙醇溶液用水稀释会发生水解, 使 I^- 浓度增加, 水解反应为:



Christova 等⁽⁶⁾ 研究了 pH 与 pI 的关系, 认为 pH < 3 时, 溶液中 I^- 浓度将小于 10^{-7} mol/L。本文选用 pH 2 的氯乙酸缓冲溶液控制 pH。

反应完全性试验 碘与尼群地平在常温下反应缓慢且不完全。为使反应加快及完全, 可将溶液在 90~95°C 水浴上加热 5 min, 然后滴加碘—乙醇溶液至溶液呈微黄色, 经此处理后, 反应较完全、快速, 响应关系如图 1。

(三) 工作曲线的绘制 准确移取可配成 $1.00 \times 10^{-3} \sim 1.00 \times 10^{-6}$ mol/L 尼群地平各标准溶液于 50 ml 量瓶中, 各加 0.1 mol/L 氯乙酸 2 ml 和 1 mol/L 氯化钠液(作离子强度缓冲调节剂)5 ml, 在 90~95°C 水浴上加热 5 min, 滴加 0.1 mol/L 碘—乙醇液至溶液呈微黄色*, 冷至室温用 10% 乙醇稀释到刻度。

将氟离子选择电极浸在 10^{-3} mol/L KI 溶液中活化 1 h, 用蒸馏水洗至空白值大于 10 mV, 在搅拌下测量标准系列溶液的电位值, 作 E—pC 图, 得工作曲线如图 1(2)。本法线性范围为 $10^{-3} \sim 5 \times 10^{-6}$ mol/L**, 斜率约 50 mV/pC。

三. 单扫描示波极谱法

(一) 极谱低液 含 1% Na_2SO_3 和 0.001% 动物胶的 0.1 mol/L NH_4OH-NH_4Cl 溶液。

(二) 溶液配制 同二(一), 改为 mg/ml 表示。

(三) 仪器参数 三电极系统, 滴汞电极、饱和甘汞电极和铂电极, 扫描电压 -0.50 ~ -1.00 V, 扫描速度 250 mV/s。

(四) 工作曲线 尼群地平在纯水中溶解度很小, 需用乙醇增溶, 但乙醇浓度过大, 则使工作曲线的斜率下降。因此, 对不同含量范围需寻求合适的乙醇浓度以获良好的关系曲线。

尼群地平含量在 1.00~10.00, 0.100~1.00, 0.010~0.100 mg/25 ml 范围的工作曲线分别见图 2~4。各范围的最佳乙醇浓度分别为 40, 15, 12%。

四. 紫外分光光度法

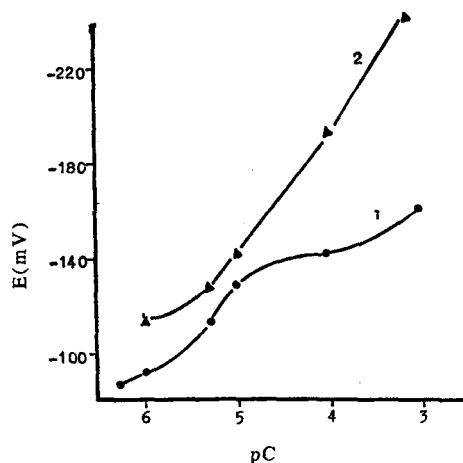


Fig 1. Test of completeness of the reaction and calibration curve of nitrendipine. 1. System unheated; 2. System heated at 90~95°C for 5 min.

* 操作要小心, 勿使碘过量太多, 以避免形成 I_3 , 降低溶液活度, 改变响应电位。对 10^{-5} mol/L 的尼群地平溶液及试剂空白只需 1 滴碘—乙醇溶液。

** 上限还可拓宽, 因原粉量所限, 本试验仅配制到 10^{-3} mol/L 尼群地平标准溶液。

(一) 溶液配制 同二(一)。

(二) 实验条件选择 用1 cm吸收池, 200~500 nm 波段扫描, 得最大吸收波长为356 nm。

(三) 工作曲线 在356 nm 测得系列标准溶液吸收度, A—pC 关系曲线表明本法线性范围为 $1.00 \times 10^{-4} \sim 1.00 \times 10^{-6}$ mol/L。 $10^{-4} \sim 10^{-5}$ mol/L 范围工作曲线如图5

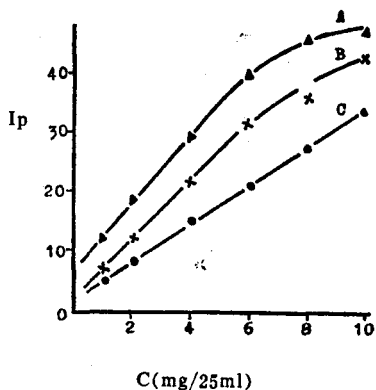


Fig 2. Calibration curve for 1.0~10.0 mg/25 ml.
A. Containing 26% ethanol;
B. Containing 30% ethanol;
C. Containing 40% ethanol.

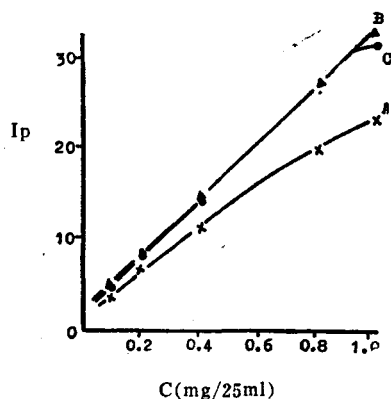


Fig 3. Calibration curve for 0.100~1.00 mg/25 ml.
A. Containing 20% ethanol;
B. Containing 15% ethanol;
C. Containing 12% ethanol.

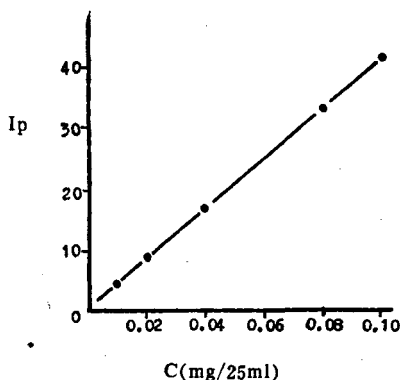


Fig 4. Calibration curve for 0.0100~0.100 mg/25 ml.

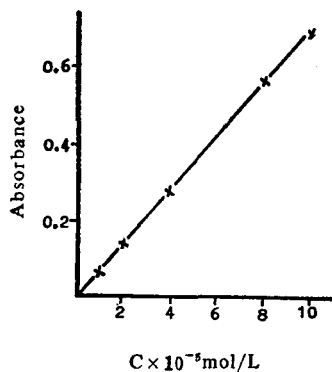


Fig 5. Calibration curve of UV-spectrophotometry

五. 回收率试验

三种方法做了加样回收率试验, 结果如表1。

Tab 1. The recovery test

Method	Cyanide selective electrode			Single sweep polarography			UV-spectrophotometry		
	Added(mg)	0.3787	0.5310	0.7471	0.3787	0.5310	0.7471	0.3787	0.5310
Measured (mg)	0.3991	0.5439	0.7167	0.3954	0.5480	0.7546	0.3683	0.5211	0.7600
Average recovery	101.3%			102.9%			99.05%		
Standard deviation	4.84%			1.72%			1.85%		

六. 尼群地平片剂含量测定

取 20 片尼群地平片(标示量 10 mg/片), 准确称量后研成粉末, 称取重量相近的 8 份样品, 加少量 95%乙醇转入 100 ml 量瓶, 用 1:1 乙醇稀释到刻度, 振摇后静止备用。

(一) 氰离子选择电极法测定 精密吸取上清液 2.00 ml 置 25 ml 量瓶中, 同二(三)法处理后, 测量各样液电位, 根据图 1(2)工作曲线计算样品中尼群地平含量如表 2。

(二) 单扫描示波极谱法测定 精密吸取上清液 2.00 ml 置 25 ml 量瓶中, 加底液 1 ml, 用 10% 乙醇稀释到刻度, 测量各样液 I_p 值, 由图 4 工作曲线计算样品中尼群地平含量如表 2。

(三) 紫外分光光度法测定 精密吸取上清液 5.00 ml 置 50 ml 量瓶中, 用 1:1 乙醇稀释到刻度, 测量各样液吸收度, 由图 5 计算样品中尼群地平含量如表 2。

Tab 2. Contents of nitrendipine tablets by three methods

Average tablet weight(mg)	78.5								Average content (mg/tab.)	Deviation
	70.4	77.1	89.2	77.4	71.5	76.3	85.7	75.1		
Sample weight(mg)	70.4	77.1	89.2	77.4	71.5	76.3	85.7	75.1		
Measured content by cyanide selective electrode(mg/tab.)	10.23	9.78	9.93	9.52	9.40	9.22	9.88	9.59	9.69	0.32
Measured content by single sweep polarography(mg/tab.)	9.76	9.77	9.81	9.74	9.83	9.67	9.80	9.83	9.78	0.054
Measured content by UV-spectrophotometry (mg/tab.)	9.54	9.70	9.52	9.66	9.67	9.61	9.51	9.47	9.59	0.086

结果和讨论

三种测定尼群地平含量的方法各有特点:

氰离子选择电极法 除线性范围较宽、仪器价廉等特点外, 还有尼群地平结构中二氢吡啶环易被碘氧化成吡啶环的特点, 这与生物体内代谢作用的第一步相类似^(2,7)。从这种意义上讲, 本法能测定尼群地平的“有效成分”, 而单扫描极谱法和紫外光度法只能测二氢吡啶物和吡啶物的总量, 不能区分“有效成分”与“无效成分”。本法测定精密度较差, 其原因在于加碘氧化操作不能完全一致。用本法还测定了尼卡地平(nicardipine)等两种二氢吡啶类药, 因它们在结构上与尼群地平相似, 故获得相似的测定结果。据此, 预计本法可在二氢吡啶类药物的药理研究方面会有某些应用。

单扫描极谱法 测定的线性范围亦较宽, 操作简便, 测定精密度好, 亦可用于含硝基的其它二氢吡啶类药物的测定, 但含量与峰电流的线性关系与选择合适的乙醇浓度有关。因此, 对较高含量的测定要控制合适的乙醇浓度范围。

紫外分光光度法 操作简便快速, 测量的精密度亦好, 但线性范围不够宽。尼群地平溶液放置期间吸收度稍有变化, 故宜现配现测。

参 考 文 献

1. 陈修. 参加尼群地平(nitrendipine)国际工作会议观感. 药学通报 1983; 18:53.
2. Raemisch KD and Sommer J. Pharmacokinetics and metabolism of nitrendipine. In: Scriabine A, et al. eds. *Nitrendipine*. Baltimore: Urban and Schwarzenberg, 1984.
3. Scriabine A, et al. *New Drugs Annual: Cardiovascular Drugs*. Vol 2. New York: Raven press, 1984: 37~49.
4. Janis RA, et al. Radioreceptor and high-performance liquid chromatography assays for the calcium channel antagonist nitrendipine in serum. *J Clin Pharmacol* 1983; 23:266.
5. Beck O and Ryman T. Quantification of nitrendipine in plasma by capillary column gas chromatographic-mass spectrometric method. *J Chromatogr Biomed appl* 1985; 337:402.
6. Christove R, et al. Indirect potentiometric determination of arsenite, sulphite, ascorbic acid, hydrazine and hydroxylamine with an iodide selective electrode. *Anal Chim Acta* 1976; 85:301.
7. Hansson L, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters in patients treated with nitrendipine. *Hypertension* 1983; 5:II-25.

COMPARISON OF SEVERAL METHODS FOR DETERMINATION OF NITRENDIPINE

SM Zhu, Q Cheng, XZ Hu* and CZ Peng

(Department of Chemistry, Nanjing University, Nanjing; * Department of Chemistry, Normal University of Nanjing, Nanjing)

ABSTRACT This paper has studied and compared three methods of determination of cardiovascular drug, Nitrendipine: Cyanide selective electrode method, single sweep polarography and UV-spectrophotometric method. The reproducibility and precision of each method can reach the level of analysis, Cyanide selective electrode method displays a Nernstian response in the range of $1 \times 10^{-3} \sim 5 \times 10^{-6}$ mol/L and its slope is about 50 mV/pC. Single-sweep polarography has linear range in $10^{-3} \sim 10^{-6}$ mol/L, and UV-spectrophotometric method displays linear range in $10^{-4} \sim 10^{-6}$ mol/L. All of the three methods can determine the contents of nitrendipine. Among these methods, the cyanide selective electrode method can determine the effective ingredient of nitrendipine. It is predicted that the method can find some applications in the study of pharmacology of nitrendipine.

Key words Nitrendipine; 1,4-dihydro-2,6-dimethyl-4(3-nitrophenyl)-3,5-pyridinedicarboxylic acid ethyl methyl ester; Cyanide selective electrode method; Single sweep polarography; UV-spectrophotometric method