

文章编号:1000-8551(2019)07-1356-06

以黄连素/羟丙基- $\beta$ -环糊精为荧光探针检测金刚烷胺

许岩 贺永桓 郑舒文 刘宇宁 陈卫华\*

(中国农业科学院农产品加工研究所,北京 100193)

**摘要:**为了建立一种金刚烷胺(AMD)检测的新方法,以盐酸黄连素/羟丙基- $\beta$ -环糊精(BRH/HP- $\beta$ -CD)为荧光探针,将HP- $\beta$ -CD分别与BRH、AMD相互作用,测定AMD、BRH/HP- $\beta$ -CD及两者结合的荧光强度变化规律,并验证分析该荧光分光光度法的适用性。结果表明,HP- $\beta$ -CD与BRH生成1:1的包合物并显著增强黄连素水溶液的荧光强度,当加入AMD后,BRH/HP- $\beta$ -CD包合物的荧光强度逐渐减弱,据此成功建立一种以BRH/HP- $\beta$ -CD为荧光探针的金刚烷胺检测新方法。当AMD溶液浓度在0.05~4.5 mg·L<sup>-1</sup>范围内时与荧光猝灭值 $\Delta F$ 之间呈线性关系,相关系数为0.989 3,检测限(S/N=3)为0.03 mg·L<sup>-1</sup>。溶液pH值和常见的药物赋形剂均不会对测量结果造成干扰,将本方法用于盐酸金刚烷胺药片的分析,其回收率在92%~101%范围内,相对标准偏差小于1%,说明该方法能够成功用于金刚烷胺的测定。本研究为以超分子包合物为荧光探针用于金刚烷胺类药物的检测提供了理论依据。

**关键词:**羟丙基- $\beta$ -环糊精;黄连素;荧光探针;金刚烷胺;包合物

DOI:10.11869/j.issn.100-8551.2019.07.1356

$\beta$ -环糊精含有7个葡萄糖单元,各个单元通过 $\alpha$ -1,4糖苷键相互连接,形成一个圆锥状化合物,具有“内疏水外亲水”的结构特性<sup>[1-2]</sup>。而羟丙基- $\beta$ -环糊精(hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin, HP- $\beta$ -CD)是在 $\beta$ -环糊精的C-2、C-3或者C-6位的羟基上引入羟丙基形成的化合物,该基团的引入导致分子内的氢键被打开,使得 $\beta$ -环糊精内部的规则性结构逐渐分散成多组分的结构混乱的化合物,从而有效提高HP- $\beta$ -CD的溶解度<sup>[3-5]</sup>。由于HP- $\beta$ -CD在水中具有较好的溶解性,因此在食品、医药领域被广泛应用。

金刚烷胺(amantadine, AMD)是一种用于人类流感治疗,抵抗病毒入侵的药物<sup>[6]</sup>。研究表明,金刚烷胺类药物可用于畜禽流感的预防和早期治疗,且具有良好的治疗效果<sup>[7]</sup>。但长期过量使用金刚烷胺类药物会使畜禽类产生中毒症状,影响动物肉质品质,通过食物链也会危害人类健康<sup>[8]</sup>。因此,农业部规定禁止将金刚烷胺类药物用于动物疫病防治,但仍存在着在兽药制剂中非法添加金刚烷胺的现象,给动物源食品安全问题及人类健康造成了极大威胁。目前,金刚烷

胺的检测方法主要有液相色谱法、化学发光法、酶联免疫试剂盒、电化学法等<sup>[9-11]</sup>,上述检测方法灵敏度高、检测性好,但价格昂贵。此外,上述方法在前期处理时需要耗费较长的时间,处理过程繁琐,只适用于小范围内的检测。而荧光分光光度法具有灵敏度高、选择性好、操作简单等优点,广泛用于药物的测定。但金刚烷胺的水溶液没有荧光,采用常规的荧光分光光度法不能直接测定,故若想采用荧光分光光度法测定金刚烷胺,可基于主客体竞争性包合作用,建立一种快速、简便、灵敏度高的金刚烷胺测定的新方法。盐酸黄连素(berberine hydrochloride, BRH)又称小檗碱,是一种天然的异喹啉生物碱<sup>[12]</sup>,具有一定的抗微生物活性及抗菌消炎功效<sup>[13]</sup>。黄连素的水溶液荧光很弱,当有羟丙基- $\beta$ -环糊精及葫芦[7]脲等大环分子存在时,荧光显著增强,该现象可能是由于黄连素与大环分子之间形成了包合物<sup>[14-15]</sup>。基于此,本研究试图建立一种以BRH/HP- $\beta$ -CD为荧光探针来测定金刚烷胺的荧光光谱分析法。

收稿日期:2008-01-17 接受日期:2018-06-03

基金项目:科技基础性工作专项(2015FY111300)、“十三五”重点研发专项(2016YFD0800303)

作者简介:许岩,女,主要从事化学荧光探针研究。E-mail:1213436455@qq.com

\*通讯作者:陈卫华,男,研究员,主要从事农产品质量与食品安全控制研究。E-mail:wchen2017@163.com

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂与仪器

黄连素标准品,上海源叶生物科技有限公司;羟丙基-β-环糊精,美国 Sigma 公司;金刚烷胺标准品,美国 Sigma 公司;淀粉、乳糖、葡萄糖、果糖、蔗糖、硬脂酸镁,国药试剂有限公司;所用试剂均为分析纯,试验前未进一步纯化。分别配制  $1 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  羟丙基-β-环糊精、黄连素、金刚烷胺贮备液并置于 25 mL 棕色容量瓶中保存备用。

FS5 型荧光分光光度计,英国爱丁堡公司;FiveEasy 型 pH 计,上海梅特勒-托利多国际贸易有限公司;NW 型纯水系统,立康生物医疗科技控股有限公司。

### 1.2 试验方法

1.2.1 BRH/HP-β-CD/AMD 系统的荧光光谱响应的测定 以 350 nm 为激发波长,采用荧光分光光度计分别测定  $5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  羟丙基-β-环糊精、黄连素、金刚烷胺、黄连素/羟丙基-β-环糊精、黄连素/羟丙基-β-环糊精/金刚烷胺溶液荧光发射光谱图。

1.2.2 HP-β-CD 对 BRH 溶液荧光增敏作用的测定 移取 1 mL  $5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  黄连素样品溶液于 10 mL 比色管中,逐渐加入适量的  $5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的羟丙基-β-环糊精样品溶液,超纯水定容并充分震荡后,室温下超声 15 min,待溶液达到平衡后,以 350 nm 为激发波长测定其荧光发射光谱。

1.2.3 HP-β-CD 与 BRH 溶液包合比的测定 配制一系列不同浓度的羟丙基-β-环糊精和黄连素的混合溶液,维持总浓度为  $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,改变 HP-β-CD 在总溶液中的摩尔比率(0~1),以 350 nm 为激发波长进行荧光光谱的扫描,记录其在 540 nm 处的荧光强度最大值,并计算出荧光猝灭值 ( $\Delta F$ )<sup>[16]</sup>。

1.2.4 金刚烷胺对 BRH/HP-β-CD 包合物的荧光猝灭作用的测定 将  $5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  羟丙基-β-环糊精、黄连素样品溶液等体积混合,在室温下超声 15 min,向比色管中加入适量的金刚烷胺样品溶液,超纯水定容至 100 mL,超声(25 kHz)15 min,待溶液达到平衡后,将其置于 1 cm 比色皿中,以 350 nm 为激发波长进行荧光光谱的扫描。

1.2.5 pH 值对荧光强度影响的测定 分别移取  $1 \times 10^{-2} \text{ mL}$  BRH/HP-β-CD 和 BRH/HP-β-CD/AMD 混合溶液加入到装有不同 pH 值(2~12) BR 缓冲液的 10 mL 比色管中,超声震荡混匀,测定其在 540 nm 处的荧

光强度最大值。

1.2.6 共存物干扰的测定 在 BRH/HP-β-CD/AMD 系统中,分别加入浓度为金刚烷胺浓度 3 000 倍的淀粉、乳糖、葡萄糖、果糖、蔗糖、硬脂酸镁 6 种常见赋形剂<sup>[17]</sup>溶液,并测定混合溶液在 540 nm 处的荧光强度最大值。

1.2.7 药物分析 首先将 10 粒盐酸金刚烷胺药片研磨成粉末,称量相当于 10 mg 药物粉末,超声溶解后定容至 100 mL。取 10 mL 溶液进一步稀释 10 倍得到  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的盐酸金刚烷胺溶液。随后按照试验需求稀释至所需样品溶液,进行荧光强度的测定,并根据线性方程计算金刚烷胺浓度。

## 2 结果与分析

### 2.1 BRH/HP-β-CD/AMD 系统的荧光光谱响应

羟丙基-β-环糊精(HP-β-CD)作为 β-环糊精的类似物,具有与 β-环糊精相类似的“内疏水外亲水”的结构特性,使得其能够作为主体分子与许多客体荧光分子形成包合物。为进一步研究主客体竞争性包合作用的光谱变化,本研究测定了 BRH/HP-β-CD/AMD 系统的荧光发射光谱图(图 1)。结果表明,HP-β-CD 和金刚烷胺(AMD)几乎没有荧光信号,黄连素(BRH)具有较弱的荧光,而 BRH/HP-β-CD 的荧光强度最强,当向两者的混合溶液中加入 AMD 溶液时,荧光强度又逐渐减弱。故依据此现象,建立一种金刚烷胺检测的新方法。

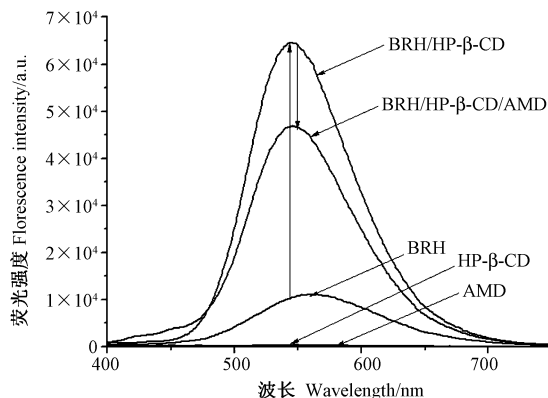


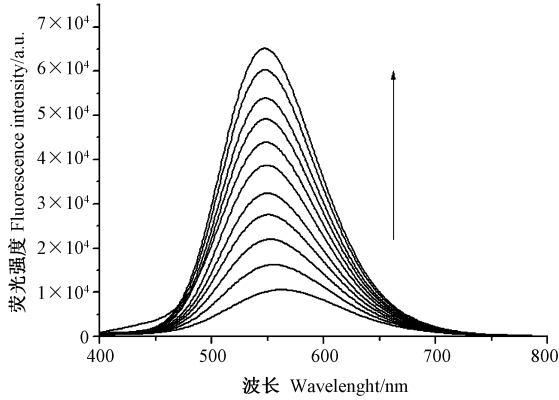
图 1 不同混合溶液的荧光发射光谱图

Fig.1 Fluorescence emission spectra of different mixed solutions

### 2.2 HP-β-CD 对 BRH 溶液荧光增敏作用

由图 2 可知,酸性条件下,向 BRH 水溶液中加入

不同浓度的 HP-β-CD 时, 荧光强度逐渐增强 ( $I_p/I_{p0}=6.42$ ,  $\lambda_{\max(em)}=550\text{ nm}$ ) 且发生轻微红移, 这是由于 HP-β-CD 与 BRH 水溶液之间形成包合物, BRH 进入到 HP-β-CD 的空腔中, 而 HP-β-CD 的空腔是疏水, 进而使 BRH 处于一个相对稳定的微环境, 避免了水溶液对其荧光造成的猝灭, 从而使荧光强度逐渐增加。



注: 箭头所指方向表示 HP-β-CD 浓度逐渐增加。  
 Note: The direction of the arrow indicates the concentration of HP-β-CD increased gradually.

图 2 HP-β-CD 浓度对 BRH 溶液荧光强度的影响  
 Fig.2 Effect of HP-β-CD concentration on fluorescence intensity of BRH solution

### 2.3 HP-β-CD 与 BRH 溶液包合比的测定

为了更好的确定 HP-β-CD 与 BRH 水溶液的结合比率, 采用 Job's 曲线计算包合比。以 HP-β-CD 的摩尔分数为横坐标, 以荧光强度的变化值 ( $\Delta F$ ) 为纵坐标绘制 Job's 曲线图 (图 3)。随着 HP-β-CD 摩尔分数的增大,  $\Delta F$  呈现先增大后减小的趋势, 当 HP-β-CD 摩尔分数为 0.5 时, 其相对荧光强度最大, 可见 HP-β-CD 与 BRH 的最佳包合比为 1:1。

### 2.4 AMD 对 BRH/HP-β-CD 包合物的荧光猝灭作用

将 HP-β-CD 与 BRH 溶液以最佳包合比 1:1 进行混合, 测定 AMD 浓度对 BRH/HP-β-CD 包合物荧光强度的影响 (图 4)。随着 AMD 浓度的增加, 包合物的荧光强度逐渐减弱, AMD 进入 HP-β-CD 内部, 与空腔中的 BRH 竞争疏水环境, 最终将包合物中的 BRH 置换出来, 形成新的 AMD/HP-β-CD 包合物, AMD 本身没有荧光, 被置换出来的 BRH 溶液与环境中的水接触, 荧光被猝灭, 进而引起整个系统的荧光猝灭效应。

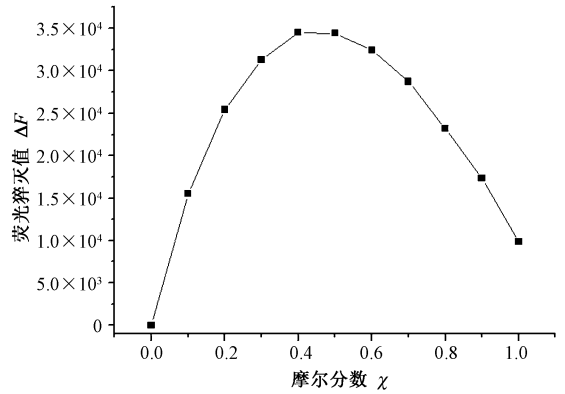
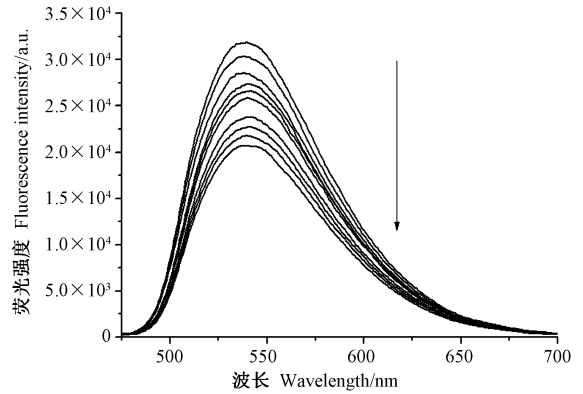


图 3 BRH/HP-β-CD 包合物的 Job's 曲线图  
 Fig.3 The job's plot of BRH/HP-β-CD complex



注: 箭头所指方向表示 AMD 溶液浓度逐渐降低。  
 Note: The direction of the arrow indicated the concentration of AMD decreased gradually.

图 4 AMD 溶液浓度对 BRH/HP-β-CD 混合溶液荧光强度的影响

Fig.4 Effect of AMD concentration on fluorescence intensity of BRH/HP-β-CD mixture solution

### 2.5 AMD 工作曲线、线性范围和检测限

在最佳试验条件下, 测定结果显示 AMD ( $C$ ) 浓度与荧光猝灭值  $\Delta F$  之间呈良好的线性关系, 在  $0.05 \sim 4.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  范围内, 线性方程为  $\Delta F = 460 + 2\,421.33C$ , 相关系数为 0.989 3, 表明两者线性关系良好, 检测限 ( $S/N=3$ ) 为  $0.03\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 表明该结果能够用于 AMD 的检测。

### 2.6 pH 值对 BRH/HP-β-CD、BRH/HP-β-CD/AMD 荧光强度的影响

在二元包合体系和三元包合体系中, pH 值可能会影响包合物的包合常数和包合速率, 进而引起荧光强度的变化, 并对最终的试验结果造成影响。此外, 通常情况下的药物制剂中可能会含有酸性或碱

性物质。为了评估 pH 值对荧光强度的影响,本试验测定了 pH 值为 2~12 范围内 BRH/HP- $\beta$ -CD, BRH/HP- $\beta$ -CD/AMD 混合物的荧光强度。结果表明, BRH/HP- $\beta$ -CD 的荧光强度整体高于 BRH/HP- $\beta$ -CD/AMD 的荧光强度,但两种情况(添加 AMD/不添加 AMD)在不同 pH 值溶液中的荧光强度变化不明显(图 5)。因此,在测定过程中可以忽略 pH 值对测量结果造成的干扰。

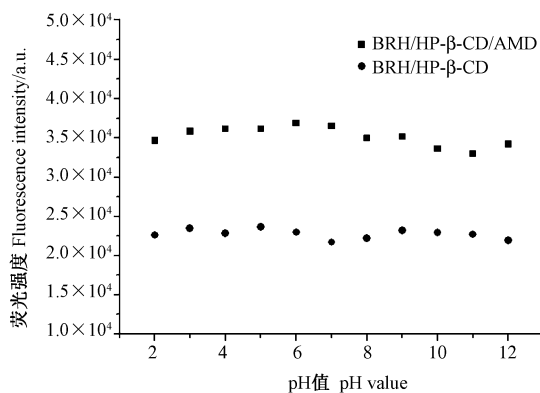


图 5 pH 值对 BRH/HP- $\beta$ -CD、BRH/HP- $\beta$ -CD/AMD 荧光强度的影响

Fig.5 Effect of pH value on the fluorescence intensity of the BRH/HP- $\beta$ -CD and BRH/HP- $\beta$ -CD/AMD

## 2.7 药物赋形剂对 BRH/HP- $\beta$ -CD/AMD 包合物荧光强度的影响

为了确定常见药物赋形剂是否会对金刚烷胺的测定造成干扰,本试验测定了 6 种常见的药物赋形剂

(乳糖、葡萄糖、果糖、蔗糖、硬脂酸镁)对 BRH/HP- $\beta$ -CD/AMD 混合溶液在 540 nm 处的荧光强度最大值的影响。结果表明,各组混合溶液的荧光强度变化值均小于  $\pm 5\%$ (图 6),说明药物制剂中的常见的赋形剂对金刚烷胺的测定没有干扰,该方法对 AMD 类药物制剂的测定具有较好的选择性。

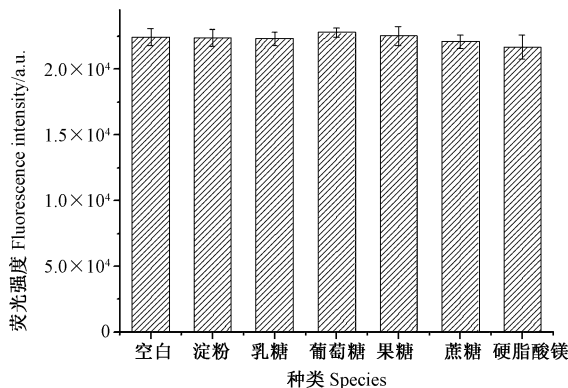


图 6 药物赋形剂对 BRH/HP- $\beta$ -CD/AMD 包合物荧光强度的影响

Fig.6 Effect of pharmaceutical excipients on the fluorescence intensity of the HP- $\beta$ -CD/BRH/AMD

## 2.8 验证试验

为了进一步验证该方法的可行性,测定了 3 种不同品牌 AMD 药片的加标回收率。由表 1 可知,AMD 回收率在 92%~101% 范围内,说明该方法是有效的,其相对标准偏差均小于 1%,表明该方法具有较好的灵敏度。

表 1 AMD 的加标回收率分析

Table 1 The analysis of AMD recovery rate

药片 Grain	本底值 Background value/( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	加标量 Content of adding standard/( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	测定值 Found	回收率 Recovery/%	相对标准偏差 RSD/%
AMD <sup>a</sup>	1.05	1.00	2.06	101	0.87
AMD <sup>b</sup>	1.94	1.00	2.93	99	0.96
AMD <sup>c</sup>	2.98	1.00	3.90	92	0.52

注:a, b, c 分别表示不同品牌的盐酸金刚烷胺片。

Note: a, b and c indicate different brands of amantadine hydrochloride particles, respectively.

## 3 讨论

以羟丙基- $\beta$ -环糊精(HP- $\beta$ -CD)的荧光包合客体为荧光探针能够快速、灵敏的测定药物分子<sup>[18]</sup>。HP- $\beta$ -CD 与客体分子形成包合物后能够显著提高客体分

子的荧光强度,这与陈世界等<sup>[19]</sup>、张全彩等<sup>[20]</sup>的研究结果一致,羟丙基- $\beta$ -环糊精分别与中性红、华法林相互作用形成包合物,二者的荧光强度显著增强。最佳包合比的确定有两种方法,一种是 Job's 曲线法<sup>[21]</sup>,一种是相溶解度法<sup>[22]</sup>。相溶解度法主要研究包合物的增溶作用,李卫华等<sup>[23]</sup>采用相溶解度法研究了  $\beta$ -

环糊精和 HP- $\beta$ -CD 对美沙拉嗪的增溶作用;邓媛等<sup>[24]</sup>同样采用相溶解度法研究了环糊精对纳他霉素包合过程中的增溶作用。Job's 曲线法主要研究包合比和结合比率等,本研究采用 Job's 曲线法测得 HP- $\beta$ -CD 与 BRH 的包合比为 1:1,这与张锴等<sup>[25]</sup>采用相溶解度法测得的结果一致。

本研究基于 HP- $\beta$ -CD 主客体竞争性包合作用检测 AMD,在其浓度 0.05~4.5 mg·L<sup>-1</sup> 范围内呈线性关系,检测限为 0.03 mg·L<sup>-1</sup>。同样,Wang 等<sup>[26]</sup>采用葫芦脲<sup>[7]</sup>与黄连素包合物作为荧光探针检测 AMD,线性范围为 0.004~1.0 mg·L<sup>-1</sup>,检测限为 0.001 2 mg·L<sup>-1</sup>;汤晓艳等<sup>[27]</sup>采用液相色谱-串联质谱法检测鸡蛋中的 AMD 残留,线性范围为 0.001~0.1 mg·L<sup>-1</sup>,检测限为 0.002 mg·kg<sup>-1</sup>;蔡自由等<sup>[28]</sup>采用微流控芯片测定金刚烷胺片中的盐酸金刚烷胺,线性范围为 10~120 mg·L<sup>-1</sup>,检出限为 0.6 mg·L<sup>-1</sup>。综上,本试验建立的 AMD 荧光光谱测定方法具有较好的灵敏度,但其线性范围和检测限还有待进一步提高。

## 4 结论

本研究设计了一种基于羟丙基- $\beta$ -环糊精主客体竞争性包合作用的金刚烷胺药物荧光光谱检测方法。该方法通过建立 BRH/HP- $\beta$ -CD 包合物的荧光猝灭值与金刚烷胺浓度之间的线性关系实现了对金刚烷胺的检测,检测限为 0.03 mg·L<sup>-1</sup>,并发现溶液 pH 值和药片中常见的赋形剂对金刚烷胺药物测定结果无影响,其回收率在 92%~101% 之间,相对标准偏差小于 1%,具有较好的灵敏度和选择性,但由于环境温度等条件对包合程度的影响,其灵敏度还有待进一步改善。

## 参考文献:

[ 1 ] Hao X, Li N, Xu Z, Li N B, Luo H Q. An electrochemical sensing strategy for amantadine detection based on competitive host-guest interaction of methylene blue/ $\beta$ -cyclodextrin/poly (N-acetylaniline) modified electrode [J]. *Electroanalysis*, 2016, 28(7):1-7

[ 2 ] Yang L J, Ma S X, Zhou S Y, Chen W, Yuan M W, Yin Y Q, Yang X D. Preparation and characterization of inclusion complexes of naringenin with  $\beta$ -cyclodextrin or its derivative [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, 98(1): 861-869

[ 3 ] Gould S, Scott R C. 2-Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin (HP-beta-CD): a toxicology review [J]. *Food & Chemical Toxicology*, 2005, 43(10):1451-1459

[ 4 ] Li J, Zhang S, Zhou Y, Guan S, Zhang L. Inclusion complexes of fluconazole with  $\beta$ -cyclodextrin and 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin in aqueous solution: preparation, characterization and a structural

insight [J]. *Journal of Inclusion Phenomena & Macrocyclic Chemistry*, 2016, 84(3):1-9

[ 5 ] 盛周煌,胡均鹏,朱良. 羟丙基- $\beta$ -环糊精/肉桂醛包合物的水溶性与缓释抗菌性能[J]. *食品科技*, 2017, 42(7):233-237

[ 6 ] Barber J W. Pandemic stockpiling of amantadine [J]. *British Medical Journal*, 2015, 334(7588): 293-294

[ 7 ] 陆淳,张鑫,吴剑平,严凤,顾欣. 抗病毒药物在动物组织中残留检测方法进展[J]. *中国兽医杂志*, 2016, 52(6):66-68

[ 8 ] Zhao S H, Li D, Qiu J, Wang M, Yang S M, Chen D Y. Simultaneous determination of amantadine, rimantadine and chlorpheniramine in animal-derived food by liquid chromatography-tandem mass spectrometry after fast sample preparation [J]. *Analytical Methods*, 2014, 6(17):7062-7067

[ 9 ] Chen Y, Li X W, Wang K, Liu C. Determination of amantadine in chicken by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2014, 5(2): 408-414

[ 10 ] Mu P, Xu N, Chai T, Jia Q, Yin Z, Yang S, Qian Y, Qiu J. Simultaneous determination of 14 antiviral drugs and relevant metabolites in chicken muscle by UPLC-MS/MS after QuEChERS preparation[J]. *Journal of Chromatography B*, 2016, 1023-1024: 17-23

[ 11 ] Wu S S, Zhu F, Hu L, Xia J, Xu G, Liu D, Guo Q, Luo K, Lai W. Development of a competitive immunochromatographic assay for the sensitive detection of amantadine in chicken muscle [J]. *Food Chemistry*, 2017, 232:770-775

[ 12 ] 陈鸿雁,金真,陈善全.  $\beta$ -环糊精与盐酸黄连碱包合物的制备及其结构研究[J]. *中药材*, 2012, 35(1):138-141

[ 13 ] Megyesi M, László Biczók A, Jablonkai I. Highly sensitive fluorescence response to inclusion complex formation of berberine alkaloid with cucurbit[7]uril [J]. *Journal of Physical Chemistry C*, 2008, 112(9):3410-3416

[ 14 ] 杨吉元,申爱卓,杜黎明,李常风,吴昊,常银霞. 以黄连素/葫芦脲<sup>[7]</sup>包合物为荧光探针测定青霉胺[J]. *分析化学*, 2010, 38(12):136-139

[ 15 ] Li N, Xu L. Thermal analysis of  $\beta$ -cyclodextrin/berberine chloride inclusion compounds [J]. *Thermochimica Acta*, 2010, 499(1):166-170

[ 16 ] Liu H L, Pang T T, Du L M, Zhao Y, Jing X, Yao F H. Study on the supramolecular interactions of p-sulfonated calix [4, 6, 8] arenes with Lomefloxacin [J]. *Spectroscopy Letters*, 2014, 47(4): 306-313

[ 17 ] Chang Y X, Qiu Y Q, Du L M, Li C F, Guo M. Determination of ranitidine, nizatidine, and cimetidine by a sensitive fluorescent probe [J]. *Analyst*, 2011, 136(20): 4168-4173

[ 18 ] 李满秀,杨俊清,郭彩青. 羟丙基- $\beta$ -CD 包结荧光法测定大黄素的研究[J]. *分析科学学报*, 2011, 27(5): 631-634

[ 19 ] 陈世界,李英杰,苏立强,王鹏. 竞争包合荧光光度法测定诺氟沙星[J]. *分析试验室*, 2012, 31(6): 13-15

[ 20 ] 张全彩,阎宏涛,王彩霞,郭艳丽,昌征. 羟丙基- $\beta$ -环糊精对华法林的荧光增强作用及其分析应用[J]. *分析试验室*, 2009, 28(12): 70-73

[ 21 ] 赵芳,赵雪秋,常清,王淑慧,杜瑶,杨丽娟. 虫草素与羟丙基-

- $\beta$ -环糊精的包合行为及性能研究[J]. 分析化学, 2017, 45(10): 1547-1555
- [22] 双少敏, 郭祀远, 李琳, 蔡妙颜, 潘景浩. 相溶解度法测定 $\beta$ -环糊精-芦丁包合物的形成常数[J]. 分析化学, 1998, 26(5): 564-567
- [23] 李卫华, 宋兴龙. 相溶解度法研究不同环糊精对美沙拉嗪的增溶作用[J]. 中国药师, 2016, 19(1): 65-67
- [24] 邓媛, 毛勇, 李皎, 汪大敏, 薛睿, 杨晓东, 杨国武. 相溶解度法研究环糊精对纳他霉素的包合作用[J]. 食品工业科技, 2011, 32(3): 181-183
- [25] 张锴, 陈小慧, 杨群. 盐酸小檗碱-羟丙基- $\beta$ -环糊精包合物的制备、表征及溶出度研究[J]. 中国药房, 2014 (25): 2349-2351
- [26] Wang G Q, Qin Y F, Du L M, Li J F, Jing X, Chang Y X, Wu H. Determination of amantadine and rimantadine using a sensitive fluorescent probe[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2012, 98(12): 275-281
- [27] 汤晓艳, 陈东宇, 周剑, 毛雪飞, 邱静, 王敏. 液相色谱-串联质谱法检测鸡蛋中金刚烷胺残留[J]. 中国食品学报, 2014, 14(9): 190-194
- [28] 蔡自由, 李永冲, 董艳丽, 陈缙光. 微流控芯片测定盐酸金刚烷胺片中的盐酸金刚烷胺[J]. 分析测试学报, 2011, 30(4): 453-456

## Determination of Amantadine Using Complexation of Berberine and Hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin

XU Yan HE Yonghuan ZHENG Shuwen LIU Yuning CHEN Weihua\*

(Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193)

**Abstract:** In order to develop a new method for the determination of amantadine (AMD), Berberine hydrochloride/hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (BRH/HP- $\beta$ -CD) was used as a fluorescent probe, HP- $\beta$ -CD was interacted with BRH and amantadine, respectively. The interaction of AMD, BRH/HP- $\beta$ -CD was determined and the applicability of the fluorescence spectrophotometry was verified. The results showed that HP- $\beta$ -CD and BRH formed a 1:1 inclusion complex and the fluorescence intensity increased significantly. The fluorescence intensity of the berberine / hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex gradually decreased, after adding amantadine to the solution, which can help to establish a new method for the detection of amantadine with BRH/HP- $\beta$ -CD as fluorescent probe. When the concentration of amantadine solution was within the range of 0.05~4.5 mg·L<sup>-1</sup>, it had a linear relationship with the relative fluorescence intensity. The correlation coefficient was 0.9893, and the detection limit (S/N = 3) was 0.03 mg·L<sup>-1</sup>. Both pH value and common pharmaceutical excipients had little effect of the results. The recovery of this method ranged from 92% to 101% with relative standard deviations less than 1%, indicating that this method can be successfully applied to the determination of amantadine. This study provided a theoretical basis for the determination of amantadine drugs using supramolecular inclusion complex as fluorescent probe.

**Keywords:** hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin, berberine, fluorescence probe, amantadine, inclusion complex