

PAR-分光光度法测定复方亚硒酸钠滴眼液中硫酸锌的含量

周天洋^{1*}, 朱 玲², 陈珍珊¹, 王丽娅¹, 张俊杰^{1#} (1. 河南省眼科研究所, 郑州 450003; 2. 郑州大学药学院, 郑州 450001)

中图分类号 R927.2; R988.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)21-2005-02
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.21.30

摘要 目的: 建立复方亚硒酸钠滴眼液中硫酸锌的含量测定方法。方法: 以[4-(2-吡啶偶氮)]间苯二酚(PAR)与锌离子进行显色反应, 生成络合物的最大吸收波长为493 nm, 在此波长下采用分光光度法进行定量测定。结果: 硫酸锌检测质量浓度线性范围为0.406~4.06 $\mu\text{g/ml}$ ($r=0.999\ 9$), 平均方法回收率为100.07%, $\text{RSD}=0.53\%$ ($n=9$)。结论: 建立的方法操作简便、快速, 结果准确, 适用于该产品的质量控制在。

关键词 [4-(2-吡啶偶氮)]间苯二酚; 分光光度法; 复方亚硒酸钠滴眼液; 硫酸锌; 含量测定

Content Determination of Zinc Sulfate in Compound Sodium Selenite Eye Drops by PAR-spectrophotometry
ZHOU Tian-yang¹, ZHU Ling², CHEN Zhen-shan¹, WANG Li-ya¹, ZHANG Jun-jie¹ (1. Henan Eye Institute, Zhengzhou 450003, China; 2. Pharmacy College of Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of zinc sulfate in Compound sodium selenite eye drops. METHODS: [4-(2-Pyridinylazo)]-resorcinol (PAR) reacted with zinc ion to produce clathrate, and its maximum absorption wavelength was at 493 nm. Spectrophotometry was used for quantitative determination. RESULTS: The linear range of zinc sulfate were 0.406-4.06 $\mu\text{g/ml}$ ($r=0.999\ 9$) with an average recovery of 100.07% ($\text{RSD}=0.53\%$, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, quick and accurate. It's suitable for quality control of the product.

KEY WORDS [4-(2-Pyridinylazo)]-resorcinol; Spectrophotometry; Compound sodium selenite eye drops; Zinc sulfate; Content determination

复方亚硒酸钠滴眼液是我院(河南省立眼科医院/河南省眼科研究所)研制的, 以微量元素硒、锌及抗自由基药物为主要成分, 添加适量辅料的一种新药, 具有补充微量元素、清除自由基、预防白内障的作用, 临床上主要用于预防和治疗老年性白内障。锌作为主药, 应对其含量进行测定。2010年版《中国药典》规定的硫酸锌测定法灵敏度较低(14.38 mg/ml)^[1], 不适用于微量($\leq 0.1\ \text{mg/ml}$)锌的测定。目前, 测定微量锌的方法主要有原子吸收光谱法^[2-3]、催化光度法^[4]、双硫脲分光光度法^[5-6]、4-(2-吡啶偶氮)间苯二酚(PAR)-分光光度法^[7]、锌试剂分光光度法^[8]。其中PAR-分光光度法具有灵敏度高、特异性强以及测定步骤简单、快速等优点, 对仪器及试验条件的要求也不高。笔者参考文献^[7]建立了PAR-分光光度法测定复方亚硒酸钠滴眼液中微量硫酸锌的方法, 以控制该制剂质量。

1 材料

UV-2401型紫外分光光度计(日本岛津公司); PHS-3C型精密酸度计(上海雷磁仪器厂); Mettler 260型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

PAR(天津市科密欧化学试剂开发中心, 批号: 00400112, 分析纯); 复方亚硒酸钠滴眼液(河南省眼科研究所制剂室, 批号: 110815、110816、110817, 规格: 每支5 ml, 含硫酸锌0.1 mg、亚硒酸钠0.005 mg); 硫酸锌对照品(ZnSO_4 , 河南省食品药品检验所, 纯度: 99.9%); 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 试液的配制

* 主管药师, 硕士。研究方向: 新型眼部给药载体和新制剂。电话: 0371-65580918。E-mail: lixiaoxiao8292@yahoo.com.cn

通信作者: 研究员, 硕士研究生导师, 博士。研究方向: 新型眼部给药载体和眼部抗真菌药物。电话: 0371-65580919。E-mail: zhangjj06@yahoo.com.cn

硼砂缓冲液: 称取硼砂3.81 g, 溶于1 000 ml水中, 以0.1 mol/L盐酸溶液调pH值至9.0, 过滤, 即得。

0.05% PAR溶液: 称取PAR 0.050 1 g, 加入50~60 $^{\circ}\text{C}$ 水100 ml, 充分研磨并搅拌使溶解后过滤, 即得。

硫酸锌对照品溶液: 取硫酸锌对照品, 在105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒质量, 精密称取22.8 mg, 相当于硫酸锌($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 40.6 mg, 置于100 ml量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度制得对照品贮备液。精密量取贮备液5 ml, 置于100 ml量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2 最大吸收波长选择

精密量取硫酸锌对照品溶液、样品及不含锌成分的阴性样品溶液各3 ml, 分别置于25 ml量瓶中, 均精密加入0.05% PAR溶液5 ml, 用硼砂缓冲液稀释至刻度, 摇匀。照分光光度法于440~600 nm波长范围扫描, 得阴性样品、对照品及样品吸收光谱图。结果显示, 硫酸锌在493 nm波长处有最大吸收, 阴性样品溶液在此波长及其附近无干扰, 故选择493 nm作为本法的测定波长。光谱见图1。

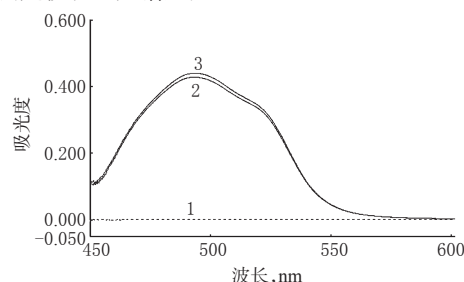


图1 紫外吸收光谱图

1. 阴性样品; 2. 对照品; 3. 样品

Fig 1 UV absorption spectrum

1. negative sample; 2. substance control; 3. sample

2.3 标准曲线的制备

精密量取硫酸锌对照品贮备液 5 ml,置于 100 ml 量瓶中,加阴性样品溶液稀释至刻度,摇匀。再分别精密量取 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 ml,置于 25 ml 量瓶中,加入 0.05% PAR 溶液 5 ml,用硼砂缓冲液(pH 9.0)稀释至刻度,摇匀。以阴性样品溶液为参比,于 493 nm 波长处分别测定吸光度,以吸光度(A)对质量浓度(c)进行线性回归,得回归方程: $c=4.8084+0.004(r=0.9999)$ 。结果表明,硫酸锌检测质量浓度线性范围为 0.406~4.06 $\mu\text{g/ml}$ 。

2.4 回收率与精密度试验

取硫酸锌对照品(约相当于硫酸锌 24、20、16 mg)各 3 份,精密称定,分别置于 100 ml 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀。取 5 ml,置于 100 ml 量瓶中,用阴性样品溶液稀释至刻度,制得 9 份模拟样品溶液,摇匀。测定,计算回收率和精密度。结果,高、中、低 3 个浓度模拟样品的回收率都接近 100%,RSD 均<1%,平均回收率为 100.07%(RSD=0.53%),详见表 1。

表 1 回收率与精密度试验结果($n=3$)

Tab 1 Results of recovery and precision tests($n=3$)

加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
24.4	24.4	99.9	100.2	0.4
24.1	24.1	100.0		
24.8	25.0	100.7		
20.8	21.0	100.7	100.1	0.6
20.3	20.3	100.0		
21.1	21.0	99.5		
16.0	16.1	100.6	99.9	0.6
16.3	16.3	99.8		
16.9	16.8	99.3		

2.5 稳定性试验

参照“2.4”项下方法制备中间浓度的模拟样品,分别于 0、0.25、0.5、1、1.5、2、3、4 h 测定同一份样品。结果模拟样品溶液在 2 h 内吸光度值基本不变,其 RSD 为 0.62%($n=6$);超过 2 h 后吸光度值逐渐变小。故样品应在配制后 2 h 内测定。

2.6 显色反应的影响因素试验

2.6.1 制剂中其他成分对显色反应的影响。参照“2.4”项下方法制备中间浓度的模拟样品,处理并测定;同法制备不含辅料成分的中间浓度的阳性对照样品(相当于对应浓度的硫酸锌水溶液)处理并测定。二者均平行制备 5 份样品,测得吸光度分别为 0.736 ± 0.044 和 0.738 ± 0.059 ,无显著性差异($n=5, P>0.05$,双侧非配对 t 检验),表明其他成分对显色反应无影响。

2.6.2 缓冲液的 pH 对显色反应的影响。取硼砂缓冲液,以 1 mol/L 的稀盐酸调节 pH 值,得 pH 值分别为 6.5、7.5、8.5、9.5、10.5 的硼砂缓冲液,参照“2.4”项下方法以不同 pH 值的缓冲液制备中间浓度的模拟样品,每个 pH 值平行制备 3 份,测定吸光度,结果分别为 0.715 ± 0.003 0、 0.723 ± 0.004 6、 0.737 ± 0.005 9、 0.738 ± 0.004 4、 0.734 ± 0.004 0。表明 pH 在 8.5~10.5 范围内,吸光度最大并且恒定($n=3$),显著高于以 pH 6.5 和 pH 7.5 的缓冲液制备的样品($n=3$)。最终选择 pH 为 9.0。

2.6.3 PAR 溶液的用量对显色反应的影响。参照“2.4”项下方法制备中间浓度的模拟样品,显色时分别加入 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 ml 的 PAR 溶液,每个剂量平行制备 3 份样品,测定吸光度,结果分别为 0.734 ± 0.006 0、 0.737 ± 0.002 6、 0.734 ± 0.006 0、 0.736 ± 0.003 6、 0.736 ± 0.004 4。表明加入不同体积的 PAR 溶液后,吸光度值变化不大,各组间无显著性差异($n=3$)。但随着加入 PAR 溶液体积的增加,显色反应的速度则显著加快。

最终选择用量为 5.0 ml。

2.7 样品含量测定

精密量取样品 3 ml,置于 25 ml 量瓶中,精密加入 0.05% 的 PAR 溶液 5 ml,用硼砂缓冲液(pH 9.0)稀释至刻度。摇匀。以阴性样品溶液为参比,于 493 nm 波长处测定吸光度,计算含量。连续测定 3 批,每批测定 3 份,结果见表 2。

表 2 3 批样品含量测定结果($n=3$)

Tab 2 Results of content determination of 3 batches of samples($n=3$)

批号	含量,%	RSD,%
110815	96.5 ± 0.6	0.62
110816	105.3 ± 0.6	0.56
110817	97.7 ± 0.4	0.41

3 讨论

在本试验条件下制剂中的其他成分不干扰锌的测定,对显色反应也无明显干扰,PAR 能与锌离子迅速形成稳定的络合物,各试剂混合并定容后轻轻振摇约 1~2 min,立即测定吸光度,2 h 内吸光度基本不变。再取对照品溶液和样品溶液分别进行重复扫描,结果均在 493 nm 波长处有最大吸收,表明络合物的最大吸收波长也比较稳定。

PAR 的用量对络合反应进行的速度与程度都有很大的影响,在只改变显色剂的用量时,加入 PAR 溶液的体积在 1.0~5.0 ml 时,反应速度随体积的增加逐渐加快,但络合物的吸光度变化不大,表明 PAR 已经过量。根据化学平衡原理,为保证络合反应迅速而完全,应加入过量的显色剂,最终确定显色剂的加入量为 5.0 ml。

在文献^[2-8]报道的几种微量锌测定方法中,以催化光度法的灵敏度^[4]最高,但该法反应条件不易控制,分析速度慢。原子吸收光谱法^[2]的灵敏度也较高,但其仪器操作烦琐,使用的仪器设备昂贵,受雾化效率的影响,重现性较差。双硫脲分光光度法灵敏度最低且步骤烦琐,测定结果易受其他离子干扰,也不适用于成分相对复杂的复方亚硒酸钠滴眼液中微量锌的测定。锌试剂分光光度法^[6]与笔者新建立的 PAR-分光光度法相比,前者灵敏度则要低很多。因此 PAR-分光光度法更适合于测定复方亚硒酸钠滴眼液中的微量硫酸锌,且辅料不干扰测定,操作简便、快速,结果准确,重复性好,适用于该产品的质量控制。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010 年版.北京:中国医药科技出版社,2010:1 000.
- [2] 李焕德,张毕奎,朱运贵,等.原子吸收光谱法测定锌制剂的含量[J].药物分析杂志,1998,18(3):180.
- [3] 张洪权,吴予明,常爱武,等.火焰原子吸收光谱法测定儿童微量全血锌[J].郑州大学学报:医学版,2002,37(2):204.
- [4] 胡忠于,杨明平.催化光度法测定电镀废水中微量锌(II)[J].湘潭师范学院学报:自然科学版,2004,26(2):23.
- [5] 石帮辉.双硫脲分光光度法测定水中微量锌[J].华南预防医学,2004,30(5):56.
- [6] 刘晓红,李广超.用双硫脲分光光度法同时测定 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 和 Pb^{2+} [J].徐州师范大学学报:自然科学版,2001,19(1):40.
- [7] 雷和稳,段惠敏,王未肖.PAR 光度法测定奶粉中锌[J].理化检验:化学分册,2005,41(10):766.
- [8] 周天洋,朱玲,王丽娅,等.复方亚硒酸钠滴眼液中微量元素锌含量测定方法的研究[J].药物分析杂志,2011,31(4):755.

(收稿日期:2012-08-08 修回日期:2012-09-17)