

表 3 2 种不同给药方案小鼠组织中 5-ISMN 的浓度

Tab. 3 Concentration of 5-ISMN in mice tissue after a single oral administration of 5-ISMN and 5-ISMN combined with nisoldipine

组织	t/h	5-ISMN 浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	
		5-ISMN	5-ISMN+尼索地平
心	0.083	8.12±0.88	9.24±2.42
	0.5	5.76±1.07	5.44±1.63
	2	4.30±2.09	3.56±0.36
肝	0.083	4.14±1.06	5.20±1.17
	0.5	4.52±0.27	4.32±0.58
	2	未测出	未测出
肾	0.083	4.12±1.29	4.96±0.79
	0.5	6.68±1.20	6.40±1.17
	2	5.00±1.22	3.88±0.63
胃	0.083	15.72±1.65	27.00±2.02
	0.5	21.36±3.14	19.60±2.99
	2	3.88±1.32	3.08±0.36
小肠	0.083	46.08±17.02	50.80±24.56
	0.5	14.06±4.70	13.40±1.40
	2	3.76±0.74	3.56±0.71

3 讨论

本研究以♂昆明种小鼠为对象,研究灌胃给药后尼索地平对 5-ISMN 在小鼠体内组织分布的影响。由表 3 可知,灌胃给予 5-ISMN $13\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 后,5-ISMN 在小鼠组织中分布迅速、广泛,0.083 h 时在各组织中均能检出,浓度为小肠>胃>心>肝>肾,0.5 h 时为胃>小肠>肾>心>肝。给药后 2.0 h,5-ISMN 在小鼠各组织中基本消除完全。2 种给药方案,心,肝,小肠在 0.083 h 浓度最大,肾在 0.5 h 浓度最大。胃中最大浓度出现时间因给药方案不

同而异:单独组在 0.5 h 5-ISMN 浓度最大,联合组在 0.083 h 浓度最大。说明尼索地平可能会加快 5-ISMN 的吸收,推测两者在胃中的转运存在协同作用。在小鼠胃中,单独给药组最大浓度为 $(21.36\pm 3.14)\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,联合给药组最大浓度为 $(27.00\pm 2.02)\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,经 SPSS 软件单因素方差分析和独立样本 *t* 检验,结果表明,2 组 5-ISMN 浓度具有显著性差异($P<0.05$)。推测尼索地平血浆蛋白结合率高达 99%,可竞争 5-ISMN 血浆蛋白结合部位,增加后者游离型数量,使分布在胃中的最大浓度增大,实验结果与大鼠血浆结果^[4]基本相符。本实验进一步验证了两者联用时的体内相互作用,建议临床用药时可适当错开给药时间,或调整给药间隔。

REFERENCES

- [1] LAN M. Observation and analysis of isosorbide-5-mononitrate in treatment of angina pectoris of coronary heart disease [J]. Shanxi Med J(山西医药), 2010, 39(11): 1077.
- [2] JIN Y, ZHANG Y Y, WANG Y L. Effect of nisoldipine in Prinzmetal's variant angina pectoris [J]. Chin J Cardiol(中国心血管杂志), 2005, 10(4): 304-305.
- [3] WANG Z Q, YU S L. Curative effect observation of isosorbide-5-mononitrate combined with nisoldipine on coronary heart disease [J]. Hebei Med J(河北医学), 2011, 7(2): 262-263.
- [4] LIU Q, XU C, ZHAO H, et al. Effect of nisoldipine on pharmacokinetics of isosorbide-5-mononitrate in rats [J]. Chin Pharm(中国药房), 2012, 23(45): 4235-4237.
- [5] ZHONG D F. Some problems of establishing bioanalytical standard curve with weighted least square method [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析), 1996, 16(5): 343-346.

收稿日期: 2014-03-25

拉曼光谱快速检测酚磺乙胺注射液

贺赓¹, 张雁^{2,3*} (1.湖北省老河口市第一医院, 湖北 老河口 441800; 2.中国食品药品检定研究院, 北京 100050; 3.湖南省湘潭市食品药品检验所, 湖南 湘潭 411100)

摘要: 目的 建立一种用拉曼光谱技术快速鉴别和测定酚磺乙胺注射液的方法。方法 以酚磺乙胺注射液为研究对象,运用拉曼光谱技术对酚磺乙胺注射液进行快速鉴别和含量测定,测定条件:显微拉曼光谱仪,激发光波长为 785 nm,物镜为 50×,激光功率为 3 mW,信号采集时间为 60 s。结果 拉曼光谱法可以鉴别酚磺乙胺注射液。此类注射液中酚磺乙胺含量分别为 98.29%, 97.56%, 100.21%(规格: 2 mL : 0.5 g)和 98.75%, 94.98%, 96.25%(规格: 2 mL : 0.25 g),测定结果与 HPLC 测定的结果无显著性差异。结论 本方法操作简便、快速无损,可作为酚磺乙胺注射液快速检测的分析方法。

关键词: 拉曼光谱; 快速检测; 酚磺乙胺注射液

中图分类号: R917

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)01-0049-06

基金项目: “重大新药创制”科技重大专项(2011ZX09303-001)

作者简介: 贺赓,男,副主任药师 Tel: 18086128808 E-mail: 550179065@qq.com *通信作者: 张雁,女,硕士,主管药师 Tel: 18075860508 E-mail: 14299875@qq.com

Rapid Identification and Determination of Etamsylate Injection by Raman Spectroscopy

HE Jian¹, ZHANG Yan^{2,3*} (1.The First Hospital of Hubei Laohekou, Laohekou 441800, China; 2.National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China; 3.Hunan Xiangtan Institute for Food and Drug Control, Xiangtan 411100, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a method for the rapid identification and determination of Etamsylate injection using Raman spectra. **METHODS** Raman spectra was used as the method of identifying and determination the Etamsylate injection. Determination conditions: Micro Raman spectroscopy, Laser: 785 nm, Objective: 50×, Laser power: 3 mW, Signal acquisition time: 60 s. **RESULTS** The result showed that the Raman spectroscopy could identify Etamsylate injection and determinate Etamsylate injection in respectively 98.29%, 97.56%, 100.21%(Specifications: 2 mL : 0.5 g)and 98.75%, 94.98%, 96.25% (Specifications: 2 mL : 0.25 g), the results of determination results with the HPLC method showed no significant difference. **CONCLUSION** Owing to its fast and nondestructive properties, the presented method can be developed as an analysis method for Etamsylate injection.

KEY WORDS: Raman spectra; rapid identification and determination; Etamsylate injection

拉曼光谱与红外光谱一样都属于分子振动光谱,是研究分子结构信息的一种手段,分子结构中电荷分布中心对称的化学键,它们的红外吸收很弱,而拉曼散射却很强,因此,一些使用红外光谱无法检测的信息通过拉曼光谱能很好地表现出来,在药品鉴定分析中提高检测的准确可靠性^[1-4]。在含量测定方面,拉曼谱带的强度与待测物浓度的关系遵守比尔定律,待测物特征峰相对峰强度与待测物浓度呈线性关系。

相对于红外光谱,拉曼光谱还有一个优势,由于水的拉曼散射很微弱,拉曼光谱是研究水溶液药物或含水药物的理想工具。拉曼光谱谱峰清晰尖锐,更适合定量研究、数据库搜索以及运用差异分析进行定性研究。此外,拉曼光谱法操作简单,检测时间短,灵敏度高,稳定性好。根据激光拉曼光谱的原理^[5],该方法不需要对样品进行物理和化学上的制备或反应,分析过的样品可以再次用来检测。鉴于拉曼光谱技术的以上优势,拉曼光谱在药品安全控制上可以在定性和含量测定方面加以充分利用。

酚磺乙胺(药物名止血敏),临床上用于手术前预防和治疗出血,也用于肠道出血、脑出血和泌尿道出血等。目前,酚磺乙胺的分析方法有紫外分光光度法及高效液相色谱法等^[6-7]。这些方法检测时间较长,需要对样品进行稀释等前处理。拉曼光谱法操作简单,检测时间短,且不需要对样品进行任何的前处理,对样品原形没有破坏性,可检测固体样品、液体样品和气体样品,且灵敏度高、稳定性好。本研究应用拉曼光谱研究酚磺

乙胺的拉曼光谱特性(酚磺乙胺分子结构式见图1),研究发现,拉曼光谱分析法可以实现对酚磺乙胺注射液快速鉴别,并利用拉曼光谱符合比尔定律,对不同规格的酚磺乙胺注射液进行含量测定研究,结果表明拉曼光谱可快速、简单地对酚磺乙胺注射液进行鉴别和含量测定,符合快速检测要求。

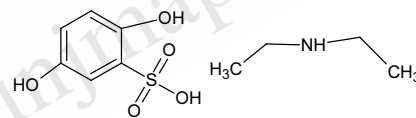


图1 酚磺乙胺的分子结构式

Fig.1 Structural formula of etamsylate

1 仪器与试剂

SENTERRA 型显微拉曼光谱仪(德国布鲁克公司), origin7.5 图谱、数据处理软件; 高效液相色谱仪(日本岛津公司); 酚磺乙胺对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 0134-9302, 含量: 98.0%); 酚磺乙胺注射液(上海第一生化药业有限公司; 规格: 2 mL : 0.5 g, 批号: 20131117, 20130918, 20130627; 规格: 2 mL : 0.25 g, 批号: 20130721, 20130822, 20130409); 水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 拉曼光谱测定

取酚磺乙胺对照品粉末少许置于拉曼光谱仪样品盘中进行光谱测定, 得到对照品的拉曼光谱图; 另取不同规格的酚磺乙胺注射液适量置于拉曼光谱液体池内进行光谱测定。测定条件: 激发光波长为 785 nm, 物镜为 50×, 控制样品表面上激光功率为 1~3 mW 左右, 信号采集时间为 30~

60 s, 仪器分辨率为 2 cm^{-1} 。

2.2 谱图分析

荧光是分子吸收了紫外-可见光后,产生的发射波长大于激发波长的现象^[8],由于本研究所采用的激发光波长为 785 nm ,该波长位于紫外-可见光区,且酚磺乙胺化学结构中的苯环具有长共轭的 $\pi\rightarrow\pi^*$ 跃迁,故荧光对拉曼测定有一定的干扰,表现为一个典型的斜宽背景,造成谱图的基线偏离和信噪比下降,本实验通过基线修正操作消除了拉曼谱图的斜宽背景,谱图经修正后见图 2。

2.3 鉴别

酚磺乙胺对照品和不同规格酚磺乙胺注射液的拉曼光谱测定结果显示,在不同规格酚磺乙胺注射液的拉曼光谱图中均可找到与酚磺乙胺对照品相对应的特征峰。结果见图 2。

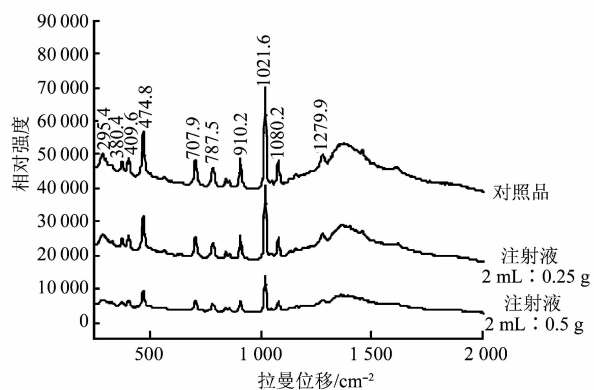


图 2 酚磺乙胺拉曼光谱图

Fig. 2 Raman spectra of etamsylate

根据酚磺乙胺拉曼光谱图的主要特征峰峰位,酚磺乙胺的拉曼光谱主要位移峰频率见表 1,并参考文献^[5,9]给出了特征峰的归属。

表 1 酚磺乙胺的拉曼光谱主要位移频率(cm^{-1})及其归属

Tab. 1 Raman frequencies of etamsylate

酚磺乙胺	归属
295.4m, 380.4w	C-C-N 骨架变形
409.6m	苯环面内变形振动
474.8s	苯环骨架变形振动
707.9s	苯环面外变形振动
787.5m	苯环环振动
910.2s	对称 C-N-C 伸缩振动
1021.6vs	苯环三角形环“呼吸”振动
1080.2m	苯环面内变形振动
1279.9w	C-C-N 反对称伸缩与 $\delta\text{C-C-N}$ 弯曲变形振动

注: vs-特强峰; s-强峰; m-中等强度峰; w-弱峰。

Note: vs-very strong peak; s-strong peak; m-medium intensity peak; w-weak peak.

酚磺乙胺在 295.4 cm^{-1} 和 380.4 cm^{-1} 处的特征峰可归属于 C-C-N 骨架变形振动,骨架变形振动通常表现为一组特征性较强的相关拉曼峰,在酚磺乙胺的拉曼光谱中,这个结构表现为 1 个中等强度的特征峰和一个特征性不明显的弱峰。

1,3,5-三取代苯的其他重要拉曼谱带通常出现在 $520\sim 470\text{ cm}^{-1}$ 附近,这个谱带是由苯环的骨架变形振动引起的,表现为 1 个特征性明显的拉曼强峰,在酚磺乙胺的拉曼光谱中,这个特征峰出现在 474.8 cm^{-1} 处。 707.9 cm^{-1} 谱峰是由标号 4 的苯环面外环变形引起的,这是 1 个较强的峰,特征性明显,可作为这类结构存在的辅证。三取代苯的衍生物一般在 $830\sim 720\text{ cm}^{-1}$ 也有 1 个很强的拉曼谱带,酚磺乙胺的这个谱带出现在 787.5 cm^{-1} 处,表现为 1 个中强峰。

通常 1,3,5-三取代苯在 1000 cm^{-1} 附近有 1 个“呼吸”振动的强偏振拉曼谱带,这个谱带是由苯的振动(1010 cm^{-1})衍生的面内变形或三角形呼吸振动,酚磺乙胺的这个谱带出现在 1021.6 cm^{-1} ,此强偏振拉曼谱带的出现是三取代苯环存在的证明。

苯环被取代后,简并的苯振动被微扰并在 1080.2 cm^{-1} 处出现中等强度的专一性振动峰(苯环面内变形振动),在 400 cm^{-1} 附近通常会出现非专一性振动的中等强度拉曼峰,这个谱带归属于苯环面内变形振动,在酚磺乙胺的拉曼光谱中,这个特征峰出现在 409.6 cm^{-1} 处。

出现在 910.2 cm^{-1} 处的拉曼强峰表征酚磺乙胺分子中二乙胺的 C-N-C 对称伸缩振动。在拉曼光谱中,这类极化率变化大的振动方式通常表现为特征性很强的拉曼峰。因为 C 原子的质量和 C-C 键强度与 N 原子的质量和 C-N 键强度差不多,因此 C-C-N 伸缩振动和 C-C-C 伸缩振动的频率处于相同的波数范围,在酚磺乙胺分子的拉曼光谱中的 1279.9 cm^{-1} 处出现了 1 个弱谱带,很可能是 C-C-N 反对称伸缩与 C-C-N 弯曲变形振动的共同贡献。

2.4 含量测定

2.4.1 测试条件的优化 众所周知,拉曼现象是一种较弱光的散射现象,提高光谱强度对于拉曼光谱法进行定量分析来讲是至关重要的,而提高拉曼光谱强度主要是通过各种测试条件的优化来实现的,这也是定量分析过程中最为关键性的技术问题^[10],为了保证定量分析的数据具有较高的

准确性和可靠性,还必须对所有测定数据进行统计处理,以使数据确实能够达到定量分析所要求的标准。

分析酚磺乙胺注射液的拉曼光谱谱图,主要是由8个波峰组成的,见图3,其中,有些波峰峰强度稳定,有些则不稳定。这对于无论是定量分析还是定性分析和物质结构分析来讲,都是极为重要的。所以在进行酚磺乙胺注射液定量分析实验时,开始应进行关于扫描次数和光谱强度的实验,结果见图4(以2 mL:0.5 g规格为例)。

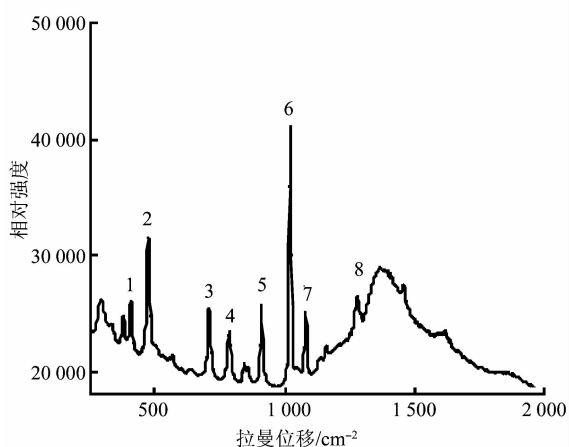


图3 酚磺乙胺的主要特征峰

Fig. 3 The main characteristic peak of etamsylate

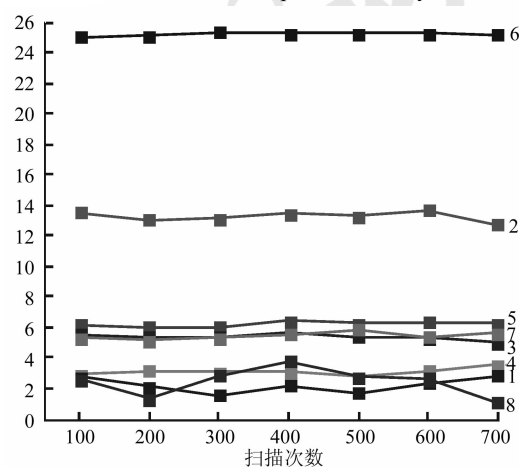


图4 酚磺乙胺注射液光谱强度与扫描次数的关系

Fig. 4 The relationship between spectral intensity of etamsylate injection and the number of scanning

实验结果显示,有些曲线波动性较大,这些曲线所表示的波峰相对峰强度不稳定(原因可能有以下2点:①峰所处位置基线波动较大,如:峰1、7、8;②峰强度较小,实验误差对其影响较明显,如:峰1、4、8),不宜用来作为定量分析的特征峰;而波动性较小、近似直线的那些曲线所表示

的波峰才能用来作为定量分析的参比峰。由图3和图4可以看出,对于酚磺乙胺注射液来讲,代表峰6的曲线波动性较小,且峰6相对峰强度较大,选择峰6(拉曼位移 $1\,021.6\text{ cm}^{-1}$,表征苯环三角形环“呼吸”振动)作为酚磺乙胺注射液的定量特征峰灵敏度较好。

2.4.2 线性范围、定量限及检测限 精密称取酚磺乙胺对照品适量,分别以水配成浓度为50, 75, 125, 200, 250, 300, 400 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,将这些溶液置于拉曼光谱仪的样品池中进行拉曼光谱测定,以波峰6的相对强度(A)为纵坐标,酚磺乙胺对照品溶液浓度(C)为横坐标拟合,线性回归方程为 $A=415\,892\times C+4\,781.5$,回归系数 $r=0.995\,6$,可见,酚磺乙胺的浓度在50~400 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内与特征峰6的相对强度呈良好线性关系。

取上述酚磺乙胺对照品溶液逐级稀释测定,测得酚磺乙胺的定量限($S/N=10$)和检测限($S/N=3$)分别为42.70 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和13.37 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.4.3 精密度试验 以规格2 mL:0.25 g为例,分别配制100, 125, 150 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 低、中、高浓度的酚磺乙胺溶液,分别于1 d和1周内重复测定5次,测得日内精密度和日间精密度,结果显示,低、中、高浓度的日内精密度 $RSD<1.0\%$,日间精密度 $RSD<2.0\%$,表明该方法精密度良好,结果见表2。

表2 日内精密度和日间精密度结果($n=5$)

Tab. 2 Results of intra-day and inter-day precision($n=5$)

浓度/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	日内精密度		日间精密度	
	测得量/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/%	测得量/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/%
100.00	101.28	0.75	100.93	1.61
125.00	124.39	0.63	123.27	1.78
150.00	148.91	0.71	149.67	1.63

2.4.4 重复性试验 将酚磺乙胺注射液(规格:2 mL:0.25 g,批号:20131117)连续测6次,测得的平均浓度为124.35 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,RSD为1.12%。

2.4.5 回收率试验 精密称取酚磺乙胺原料适量,分别按照规格2 mL:0.5 g和规格2 mL:0.25 g加水稀释,规格2 mL:0.5 g的80%,100%,120%稀释步骤为:取酚磺乙胺原料500,625,750 mg分别加水至2.5 mL,即得;规格2 mL:0.25 g的80%,100%,120%稀释步骤为:取酚磺乙胺原料500,625,750 mg分别加水至5 mL,即得。以上浓度分别配制成不同加入量的酚磺乙胺

溶液各 3 份, 将以上溶液置于拉曼光谱仪样品池中进行拉曼光谱测定, 测定结果见表 3。

表 3 回收率测定结果

Tab. 3 Results of recovery test

规格	含量/ %	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回收 率/%	RSD/ %
2 mL : 0.5 g	80	501.12	502.96	100.4	100.4	0.4
		502.33	501.95	99.9		
		501.57	506.76	101.0		
	100	626.31	628.73	100.4	100.4	0.1
		627.19	630.25	100.5		
		625.72	627.16	100.2		
2 mL : 0.25 g	80	751.28	756.66	100.7	100.3	0.4
		752.16	749.68	99.7		
		750.65	755.18	100.6		
	100	502.15	502.33	100.0	100.1	0.4
		502.34	501.98	99.9		
		503.21	505.36	100.4		
2 mL : 0.25 g	100	625.35	627.84	100.4	100.4	0.1
		628.59	630.36	100.3		
		624.79	628.11	100.5		
	120	754.35	758.16	100.5	100.1	0.4
		754.16	748.21	99.2		
		750.27	754.58	100.6		

2.4.6 样品含量测定 取酚磺乙胺注射液 6 个批次样品置于拉曼光谱仪样品池中进行拉曼光谱测定, 测定结果与 HPLC^[7]测定结果的比较见表 4。

表 4 HPLC 法与拉曼光谱法测定样品含量结果比较

Tab. 4 Comparison of determination results between HPLC and raman spectroscopy %

样品批号	规格	HPLC	拉曼光谱法
20131117	2 mL : 0.5 g	99.43	98.29
20130918	2 mL : 0.5 g	98.92	97.56
20130627	2 mL : 0.5 g	99.01	100.21
20130721	2 mL : 0.25 g	100.12	98.75
20130822	2 mL : 0.25 g	96.31	94.98
20130409	2 mL : 0.25 g	95.27	96.25

将以上拉曼光谱法检测结果与 HPLC 检测结果进行 *t* 检验, 2 种方法测定的结果无显著性差异 [$P=0.8457 > 0.05$ (样品批号: 20130627), $P=0.7618 > 0.05$ (样品批号: 20130822)]。

3 讨论

通过跟酚磺乙胺对照品拉曼光谱图的特征峰峰位对比, 拉曼光谱法可快速鉴别出酚磺乙胺注射液, 相对于红外光谱法, 拉曼光谱法无需制样,

且因为水的拉曼散射很弱, 所以拉曼光谱法可检测液体样品, 还可在不破坏样品外包装的情况下对其进行无损鉴别, 实验时间短, 操作简单。

拉曼光谱法结合 Origin 7.5 图谱、数据处理软件可以对不同规格的酚磺乙胺注射液进行含量测定, 实验中得到的回归系数达 0.9956, 回收率也均 >95%, 基本上满足含量测定的要求^[11]。

综上所述, 拉曼光谱法作为一种快速检测手段, 跟红外光谱类似, 可通过跟对照品图谱对比分析法来实现对样品的快速鉴别。拉曼光谱分析法应用比红外光谱法更为广泛, 可检测固体样品、液体样品和气体样品, 且无需对样品进行前处理, 可直接检测。

以上实验表明, 拉曼光谱可以鉴别出酚磺乙胺注射液, 并利用比尔定律^[12], 对不同规格的酚磺乙胺注射液进行含量测定。含量测定的结果与 HPLC 测定的结果经 *t* 检验证明是一致的 [$P=0.8457 > 0.05$ (样品批号: 20130627), $P=0.7618 > 0.05$ (样品批号: 20130822)]。拉曼光谱法与 HPLC 相比, 具有快速、简便、准确率高、无损检测及识别自动化等优点。因此, 拉曼光谱法可快速、简单地对酚磺乙胺注射液进行鉴别, 并对不同规格的酚磺乙胺注射液进行含量测定, 符合快速检测要求。

REFERENCES

- [1] CHEN B, ZHANG S M, YU Y L, et al. Rapid Raman spectra identification and determination of Levofloxacin Hydrochloride injection [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2011, 31(9): 1715-1718.
- [2] REN Y H, ZHOU G M, WU J, et al. Study on the interaction of DNA and norfloxacin by FT-Raman [J]. Spectrosc Spectral Anal(光谱学与光谱分析), 2009, 29(11): 2980-2983.
- [3] YIN L H, ZHANG Y. Molecule vibration spectroscopic analysis on cefalexin molecule vibration spectroscopic analysis on cefalexin [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2010, 30(11): 2025-2028.
- [4] WANG W, QIAN P P, CAO K, et al. Study on the inclusion compound of acetaminophen by Raman spectroscopy and infrared spectroscopy [J]. Chin J Light Scatt(光散射学报), 2011, 23(1): 66-69.
- [5] 许凤, 李红梅, 王乐平. TLC-Raman 联用技术检测部分头孢菌素类药物 [J]. 中国医院药学杂志, 2013, 33(15): 1293-1295.
- [6] DOLLISH R R, FATELEY W G, BENTLEY F F. Characteristic Raman frequencies of Organic Compounds [M]. New York: Wiley, 1974: 62.
- [7] YANG Z P, LIU Z F, LIU S P. Determination of ethamsylate by UV spectrophotometry with potassium dichromate as oxidant [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2008, 28(4): 627-629.

- [8] LIU H L, WU X J. Fluorescence spectroscopic analysis of compositions in tea beverages [J]. Analytical Instrumentation, 2007, 7(4): 36-38.
- [9] ZHU C W, XIE X S, CHEN G Q. Molecular fluorescence spectroscopy with its industrial application [J]. Phys Bull(物理通报), 2008, 22(9): 56-57.
- [10] 潘家来. 激光拉曼光谱在有机化学上的应用 [M]. 北京: 化学工业出版社, 1986: 63.
- [11] ZHANG H B, SU D Z, HE Y L. A research on Fourier transform raman spectroscopy of mixed liquor of C₂H₅OH [J]. Anal Test Technol Instrum(分析测试技术与仪器), 2007, 13(3): 190-193.
- [12] ZHANG J J, LIU C Y, ZHANG J L, et al. Study of acetaminophen by Raman spectrum and infrared spectrum [J]. Chin J Light Scatt(光散射学报), 2008, 20(1): 81-85.
- [13] YANG D, XU W Y. Raman spectroscopic study of the complex and quantitative analysis in the system CuCl₂-H₂O and FeCl₃-H₂O [J]. Spectrosc Spect Anal(光谱学与光谱分析), 2011, 31(10): 2742-2746.

收稿日期: 2014-04-01

LC-MS/MS 测定大鼠口服芫花粗提物后芹菜素、3'-羟基芫花素和芫花素的血药浓度

郑玲俐¹, 尹连红², 许丽娜², 王艳^{1*} (1.大连医科大学附属第一医院药剂科, 大连 116011; 2.大连医科大学药学院, 大连 116044)

摘要: 目的 建立一个灵敏、快速的液相色谱-质谱联用法同时测定大鼠口服芫花粗提物后芹菜素、3'-羟基芫花素和芫花素在血浆样品中的浓度。方法 以秦皮甲素为内标, 大鼠血浆样品经液液萃取后, 以甲醇-0.5%甲酸(80:20)为流动相, 采用 Lichrosorb Rp-C₁₈(4.5 mm × 150 mm, 5 μm)色谱柱分离, 通过 ESI 三重四级杆串联质谱, 以多反应监测(MRM)方式进行检测。结果 芹菜素、3'-羟基芫花素和芫花素测定方法的线性范围均为 10~2 000 ng·mL⁻¹; 定量下限为 10 ng·mL⁻¹。该方法被成功应用于芫花粗提物在大鼠体内的药动学研究。结论 该方法灵敏度高, 操作简便, 分析速度快, 适用于含有芹菜素、3'-羟基芫花素或芫花素的药物测定或药动学研究。

关键词: 芹菜素; 3'-羟基芫花素; 芫花素; 液相色谱-质谱联用

中图分类号: R917.101 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2015)01-0054-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.01.014

Pharmacokinetic Study of Apigenin, 3-Hydroxy-genkwanin and Genkwanin in Rats after Oral Administration of Extraction of *Dephne Genkwa* Sieb.et Zucc by LC-MS/MS

ZHENG Lingli¹, YIN Lianhong², XU Lina², WANG Yan^{1*} (1.The First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116011, China; 2.College of Pharmacy, Dalian Medical University, Dalian 116044, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a sensitive and rapid HPLC-MS/MS method for the simultaneous quantification of apigenin, 3-hydroxy-genkwanin and genkwanin in rat plasma after oral administration of extraction of *Dephne genkwa* Sieb.et Zucc. **METHODS** Esculin was used as the internal standard(IS), and samples spiked with analyzes and the IS were processed using liquid-liquid extraction. Then, the extract chromatographed on a Lichrosorb RP-C₁₈(4.5 mm × 150 mm, 5 μm) column with the mobile phase consisted of methanol-0.5% formic acid (80 : 20). A tandem mass spectrometer equipped with an ESI source was used as the detector and was operated in the negative ion mode. Quantification was performed using multiple reaction monitoring (MRM). **RESULTS** The calibration curves of apigenin, 3-hydroxy-genkwanin and genkwanin were linear over the range of 10~2 000 ng·mL⁻¹, and the lower limit of quantification was 10 ng·mL⁻¹. The validated method was successfully used to study the pharmacokinetics of apigenin, 3-hydroxy-genkwanin and genkwanin in rats after oral administration of extraction of *Dephne genkwa* Sieb.et Zucc. **CONCLUSION** The established LC-MS/MS method is validated to specific, accurate and

基金项目: 辽宁省高等学校创新团队支持计划(LT2013019)

作者简介: 郑玲俐, 女, 实验师 Tel: (0411)86110417 E-mail: xulina627@163.com *通信作者: 王艳, 女, 硕士, 副主任药师 Tel: (0411)86110411 E-mail: dyyly@yeah.net