

[研究简报]

用钼酸盐高灵敏共振瑞利散射法 测定米托蒽醌

王 芬, 刘忠芳, 刘绍璞, 胡小莉
(西南大学化学化工学院, 重庆 400715)

关键词 米托蒽醌; 钼酸铵; 共振瑞利散射

中图分类号 O657

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2006)08-1459-03

米托蒽醌属于蒽环类抗癌药物, 主要用于治疗乳腺癌和白血病. 其细胞毒性与其它蒽环类抗癌药物相比有所降低, 但仍然会引起骨髓抑制及心脏毒性等^[1]. 目前对于米托蒽醌的测定方法使用较多的是高效液相色谱^[2]和电化学方法^[3,4], 此外免疫分析法^[5]和薄层色谱法^[6]也有报道. 分光光度法也曾被用于米托蒽醌的测定^[7], 但灵敏度不高. 近年来, 表面增强拉曼散射法被用于米托蒽醌的研究和测定^[8,9], 使测定的灵敏度大大提高. 作为弹性散射的共振瑞利散射(RRS)是一种新的分析技术, 由于其具有高灵敏度和简易性而引起了人们的关注, 并在分析化学中得到越来越多的应用^[10~14].

实验结果表明, 在较强的酸性介质中, 米托蒽醌和钼酸铵本身的 RRS 均很微弱, 当二者反应形成离子缔合配合物时, RRS 显著增强. 其它蒽环类抗癌药物如柔红霉素和表柔比星在此条件下不与钼酸铵产生类似的反应, 因此可以用于其它蒽环类抗癌药物存在下选择性地测定米托蒽醌. 本文在盐酸和硝酸介质中用共振瑞利散射法测定了血清和尿液中的米托蒽醌, 结果表明, 该方法的灵敏度高, 对米托蒽醌的检出限为 6 ng/mL(硝酸介质)和 8 ng/mL(盐酸介质), 可用于血清和尿样中米托蒽醌的测定.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂 日立 F-2500 荧光分光光度计(日立公司, 日本); UV-8500 型紫外-可见分光光度计(上海天美公司); pH-3C 型 pH 计(上海精密科学仪器有限公司). 盐酸米托蒽醌(MXT, 江苏恒瑞医药股份有限公司), 钼酸铵溶液: 1.0×10^{-2} mol/L; 盐酸及硝酸溶液: 1.2 mol/L, 硫酸溶液: 0.6 mol/L.

1.2 实验过程 于 10 mL 的比色管中依次加入 1.0 mL 酸溶液, 适量米托蒽醌溶液和 1.0 mL 钼酸铵溶液, 用水稀释至刻度并摇匀, 于荧光分光光度计上以 $\lambda_{ex} = \lambda_{em}$ 进行同步扫描, 记录共振瑞利散射光谱, 再分别于最大 RRS 波长处测量离子缔合物的 RRS 强度 I_{RRS} 和试剂空白的 RRS 强度 I_0 ($\Delta I_{RRS} = I_{RRS} - I_0$).

2 结果与讨论

2.1 RRS 光谱 钼酸铵、MXT、DNR 和 EPI 本身的 RRS 均十分微弱, 当钼酸铵与 MXT 反应形成结合产物时, RRS 强度显著增强, 但与 DNR 及 EPI 反应则不产生类似的散射增强作用. 钼酸盐在硝酸、盐酸和硫酸介质中均能与 MXT 反应并使 RRS 增强, 而且有相似的光谱特征, 其最大散射波长(λ_{max})均位于 365 nm, 但 RRS 增强程度却有较大的差异, 其中相对散射强度(ΔI)硝酸介质中最高, 在盐酸介质中次之, 在硫酸介质中则最低(图 1).

2.2 酸度的影响 分别考察了不同浓度的硝酸、盐酸和硫酸对反应体系 RRS 的影响. 硝酸、盐酸和

收稿日期: 2005-12-01.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 20475045)和重庆市科委科研基金资助.

联系人简介: 刘绍璞(1940 年出生), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事分子光谱研究. E-mail: shaopuli1@sina.com

硫酸浓度分别为 0.12, 0.12 和 0.06 mol/L 左右时体系的 ΔI_{RRS} 最大. 当 $[\text{H}^+] = 0.12 \text{ mol/L}$ 时 ΔI_{RRS} 达到最大. 由于三者的反应酸度相似, 而硝酸介质灵敏度高, 故以下实验主要以 HNO_3 溶液作为反应介质.

2.3 钼酸盐与米托蒽醌的结合反应 (1) 钼酸根与米托蒽醌的存在形式: 钼酸盐在水溶液中能以单酸和多酸根形式存在. 已知 pH 值低于 1.0 时钼酸根主要以 $\text{H}_9\text{Mo}_{24}\text{O}_{78}^{3-}$ 形式存在^[15], 而米托蒽醌在水溶液中将根据溶液酸度的变化以不同的形式存在. 随着酸度的提高, 分子中蒽环的两个羰基、两个亚氨基和烷链上的两个亚氨基会逐渐质子化而形成 +1 价至 +6 价的阳离子. 用量子化学的 AM_1 方法计算了米托蒽醌的电荷分布, 烷基链上的两个亚氨基 N 原子的电荷密度分别为 -0.302 和 -0.301, 与芳环直接相连的两个对位亚氨基 N 原子和蒽醌基氧原子的电荷密度依次为 -0.352, -0.293, -0.312 和 -0.266, 它们均易质子化. 当酸度较高时, 它们将以 6 价阳离子 $\text{H}_{12}\text{L}^{6+}$ 的形式存在.

(2) 米托蒽醌与钼酸根的结合反应: 用摩尔比法和等摩尔连续变化法测得米托蒽醌与钼酸铵 $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}]$ 的结合比约为 1:6.8, 即每个分子的米托蒽醌与 48 个钼原子结合. 考虑到在实验的酸度 (0.12 mol/L) 条件下钼酸根以 $\text{H}_9\text{Mo}_{24}\text{O}_{78}^{3-}$ 形式存在, 而米托蒽醌又以 +6 价质子化阳离子形式存在, 故两者结合后形成电中性离子缔合物 $[\text{H}_{12}\text{L}] \cdot [\text{H}_9\text{Mo}_{24}\text{O}_{78}]_2$. 由 AM_1 法计算可知, 当 $\text{H}_9\text{Mo}_{24}\text{O}_{78}^{3-}$ 中的带负电荷的羟基氧原子与质子化的 2 个 $=\text{COH}^+$ 和 4 个 $=\text{NH}_2^+$ 作用时, 两者间的距离分别为 0.227, 0.230, 0.392, 0.282, 0.302 和 0.420 nm, 这种距离说明两者之间不能形成化学键, 主要是由静电引力的作用而形成离子缔合物.

2.4 方法的灵敏度和选择性 (1) 方法的灵敏度: 在适宜的反应条件下, 以不同浓度的米托蒽醌与钼酸铵反应, 并在最大散射波长处测量其 RRS 强度, 以散射强度对药物浓度作图绘制标准曲线, 定量测定的线性回归方程、线性范围和检出限分别如下:

$$\Delta I = -412.7 + 2.2 \times 10^3 \rho [r = 0.9957, \rho / (\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}): 0.02 \sim 3.00 \mu\text{g/mL}, 6 \text{ ng/mL (硝酸介质)}]$$

$$\Delta I = -388.9 + 2.1 \times 10^3 \rho [r = 0.9965, \rho / (\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}): 0.03 \sim 3.00 \mu\text{g/mL}, 8 \text{ ng/mL (盐酸介质)}].$$

表 1 为 RRS 方法与其它方法测定米托蒽醌的灵敏度比较结果.

Table 1 The sensitivities of methods for the determination of MXT

Method	Linear range/(mol · L ⁻¹)	Detection limit/(mol · L ⁻¹)	Ref.
HPLC	$4.5 \times 10^{-6} - 4.5 \times 10^{-4}$	4.5×10^{-6}	[2]
Voltammetry	$2.0 \times 10^{-4} - 9.0 \times 10^{-3}$	2.0×10^{-4}	[3]
Polarography	$5.0 \times 10^{10} - 2.0 \times 10^{-8}$	5.0×10^{-10}	[4]
Immunoassay	$6.0 \times 10^{-10} - 1.2 \times 10^{-8}$	6.0×10^{-10}	[5]
TLC	$7.0 \times 10^{-6} - 7.0 \times 10^{-5}$	7.0×10^{-6}	[6]
Spectrophotometry	$1.0 \times 10^{-5} - 2.5 \times 10^{-5}$	1.0×10^{-5}	[7]
Surface strengthening raman scattering		4.0×10^{-11}	[8]
RRS	$4.5 \times 10^{-8} - 7.0 \times 10^{-6}$	1.1×10^{-8}	This work

(2) 方法的选择性: 当米托蒽醌质量浓度为 1.25 $\mu\text{g/mL}$ 时, 测定了共存物质的允许倍量 (以 $\Delta I \leq 5.0\%$ 计). 百倍量的糖类和淀粉粉不干扰, 10 倍量时氨基酸及数十倍量时常见金属离子和无机阴离子不影响测定, 此外也允许 4 倍量的人血清白蛋白和 8 倍量的柔红霉素和表柔比星存在.

2.5 分析应用 取新鲜的人血清样品和尿样, 按照实验方法测定并用加入法检验了方法的准确度和精密性, 标准偏差在 1.1% ~ 2.4% 之间, 回收率在 96.8% ~ 105.6% 之间.

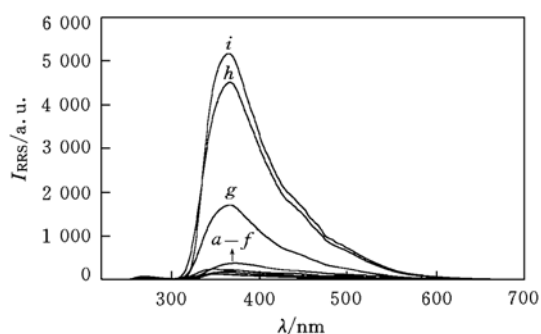


Fig. 1 RRS spectra

a—f. Molybdate, DNR, EPI, MXT, DNR-molybdate and EPI-molybdate (nitric acid medium); g. molybdate-MXT (sulfuric acid medium); h. molybdate-MXT (hydrochloric acid medium); i. molybdate-MXT (nitric acid medium). $c(\text{molybdate}) = 1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$; $\rho(\text{drugs}) = 2.5 \mu\text{g/mL}$.

参 考 文 献

- [1] YOU Qi-Dong(尤启东). *Medicine Chemistry(药物化学)*[M], Beijing: Chemical Industry Press, 2003: 531
- [2] Jenifer L. J., Ateeq A., Sumsullah K. *et al.*. *J. Chromatogr. B*[J], 2004, **799**(1): 149—155
- [3] Amez del Pozo J., Costa Garcia A., Tuñón Blanco P.. *Anal. Chim. Acta*[J], 1993, **273**: 101—109
- [4] Golabi S. M., Hassan Z. V.. *Talanta*[J], 1996, **43**(3): 397—406
- [5] Flavell S. U., Flavell D. J.. *J. Immunol. Method*[J], 1988, **115**(2): 179—185
- [6] LI Hui-Lin(李会林). *Chinese Journal of Pharmaceuticals(中国医药工业杂志)*[J], 1997, **28**(4): 177—178
- [7] ZHOU Ze-Qing(周泽清), WU Chao-Yuan(伍朝员), ZHANG Lin-Kui(张林魁) *et al.*. *Journal of Medicine Analysis(药物分析杂志)*[J], 1997, **17**(6): 403—405
- [8] Clare M., Donald M., Colin M. *et al.*. *Anal. Chem.* [J], 2002, **74**(13): 3160—3167
- [9] Breuzard G., Angiboust J. F., Jeannesson P. *et al.*. *Biochem. Bioph. Res. Co.* [J], 2004, **320**(2): 615—621
- [10] LI Shan(李 珊), LIU Zhong-Fang(刘忠芳), LIU Shao-Pu(刘绍璞). *Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)*[J], 2006, **27**(3): 432—437
- [11] LIU Shao-Pu(刘绍璞), FAN Li(范 莉), HU Xiao-Li(胡小莉) *et al.*. *Acta Chim. Sinica(化学学报)*[J], 2004, **62**(17): 1635—1640
- [12] Liu S. P., Luo H. Q., Li N. B. *et al.*. *Anal. Chem.* [J], 2001, **26**(6): 3907—3914
- [13] Li T. S., Liu S. P., Liu Z. F. *et al.*. *Arch. Pharm. Chem., Life Sci.* [J], 2005, **338**(9): 427—432
- [14] Liu S. P., Liu Z. F., Luo H. Q.. *Anal. Chim. Acta*[J], 2000, **407**(1/2): 255—260

Determination of Mitoxantrone *via* Ammonium Molybdate Using High Sensitive Resonance Rayleigh Scattering Method

WANG Fen, LIU Zhong-Fang, LIU Shao-Pu^{*}, HU Xiao-Li

(*School of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest China University, Chongqing 400715, China*)

Abstract In 0.12 mol/L hydrochloric acid and nitric acid media, mitoxantrone interacted with molybdate to form an ion-association complex, which can result in the significant enhancement of RRS intensity. The maximum scattering wavelengths were 365 nm for RRS and scattering intensities are proportional to the concentration of mitoxantrone, which can be applied to the determination of mitoxantrone. The detection limits are 6 ng/mL in nitric acid and 8 ng/mL in hydrochloric acid respectively. Because there are not such interactions between anthracycline anticancer drugs such as daunorubicin and epirubicin with molybdate, mitoxantrone can be determined selectively with other anthracycline anticancer drugs existing. The optimum experiment condition, affecting factor and the effect of coexisting substance were investigated in the paper. The application to the determination of mitoxantrone in serum and urine by RRS were not only sensitive but also simple and rapid. In addition, the interaction mechanism was discussed.

Keywords Mitoxantrone; Ammonium molybdate; Resonance Rayleigh scattering

(Ed.: A, G)