

磺胺甲基异噁唑的 TLC-SERS 研究

张进治¹, 汪 媛², 陈向明¹

1. 北方工业大学理学院物理系, 北京 100041

2. 首都师范大学化学系, 北京 100037

摘要 应用表面增强拉曼光谱技术将薄层色谱(TLC)与 FT-Raman 光谱联用, 对抗菌素磺胺类药物的有效成分磺胺甲基异噁唑的光谱进行了研究分析。结果表明, 在薄层原位仅 1 μg 样品就可获得分子的主要振动谱带。文章还分析了复方磺胺甲基异噁唑片(复方新诺明片)与对照品谱图的差异, 论证了应用表面增强拉曼光谱技术将薄层色谱与 FT-Raman 光谱联用对医药化学成分进行高灵敏度检测的可行性及优越性。

主题词 磺胺甲基异噁唑; 薄层色谱; 表面增强拉曼光谱; 近红外傅里叶变换拉曼光谱

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2006)08-1469-03

引言

在药物质量检测和防伪中, 红外光谱(IR)、色谱(GC)、核磁(NMR)和联用分析法(GC-MS、HPLC-NMR、GC-IR等)得到了广泛的应用^[1-4]。但对复方药、中药如何将其中的有效成分分离, 并测得各组分的分子结构, 避开荧光干扰, 做到微量(微克)分析是一项挑战性工作。在此方面 TLC-SERS 联用技术具有独特的优势, 它既可实现药物成分的分离, 又可获得增强的拉曼信号(增强因子可达 $10^5 \sim 10^6$, 同时伴随荧光的猝灭效应^[5, 6]), 得到单组分分子的结构信息, 这在药物质量检测、防伪鉴定、毒品检测等方面都有重要的应用价值, 在此方面作者近几年做了一些探索性工作^[7-9]。

复方新诺明片, 每片含磺胺甲基异噁唑(SMZ) 0.4 g、甲氧苄氨嘧啶(TMP) 0.08 g。磺胺甲基异噁唑(SMZ)的抗菌谱与磺胺嘧啶(SD)相近, 但抗菌作用较强, 半衰期为 11 h。适用于尿路感染、呼吸道感染、扁桃体炎等。与增效剂甲氧苄氨嘧啶(TMP)联合应用时, 其抗菌作用有明显增强, 临床应用范围也扩大。将复方新诺明片的氨溶液经薄层分离得到了磺胺甲基异噁唑的斑点, 在斑点原位滴洒银胶溶液, 直接测到很好的 NIR-FT-SERS 光谱。

1 实验部分

1.1 仪器与药品

Nicolet FT-Raman 910 光谱仪, Nd:YVO₄ 激光; 波长 1 064 nm; 分辨率 4 cm^{-1} ; 青岛海洋化工厂生产的硅胶

GF254 薄层色谱板, 涂层厚度约 0.25 mm; 德国 Merck 公司生产的硅胶 GF254 薄层色谱板、涂层厚度约 0.20 mm; 中国科学仪器厂生产的 KYKY-1000B 扫描电子显微镜; 上海顾村仪器厂的紫外分析仪、波长 365 nm。

1.2 薄层层析

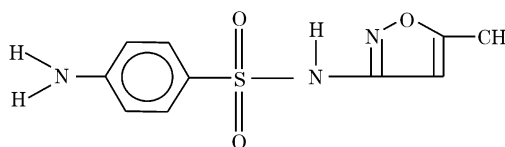
将复方新诺明片和对照品“磺胺甲基异噁唑”分别溶于氨水(25%), 浓度为 1 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 将各样品分别点于硅胶 TLC 板上, 对照品沉积量依次为 1, 3 μg , 片剂 3 μg , 斑点直径约为 3 mm, 以三氯甲烷:乙醇:正庚烷(1:1:1)为展开剂分离复方新诺明片的氨溶液, 展开剂挥发干后, 以 365 nm 紫外灯照射薄层色谱板, 对照纯品定位。

1.3 银胶配制

用硝酸银和柠檬酸三钠水溶液制备灰银胶, 该银胶具有很强的表面增强活性, 将灰银胶滴洒于 TLC 板磺胺甲基异噁唑斑点原位, 作 FT-Raman 光谱, 作磺胺甲基异噁唑的固体 FT-Raman 光谱以作对比。

2 结果与讨论

磺胺甲基异噁唑的分子结构如 Scheme 1 所示。



Scheme 1 Structure of sulfamethoxazole

收稿日期: 2005-06-06, 修订日期: 2005-09-28

基金项目: 北方工业大学科研基金(2004-0098)资助项目

作者简介: 张进治, 1963年生, 北方工业大学理学院物理系副教授

由图 1 和表 1 看出,磺胺甲基异噁唑的 TLC 原位 FT-Raman 光谱和其固体光谱大致相同,只是 TLC 原位的光谱由于本底的影响,其底线发生弯曲并抬高。在纯固体图谱(图 1a)中最强峰出现在 $1\ 149\ \text{cm}^{-1}$,它是一 SO_2 —反对称伸缩振动峰,而在图 1b 中的最强峰出现在 $1\ 595\ \text{cm}^{-1}$,图 1c 中的最强峰出现在 $1\ 596\ \text{cm}^{-1}$,图 1d 中的最强峰出现在 $1\ 590\ \text{cm}^{-1}$ 处;而一 SO_2 —反对称伸缩振动峰明显红移并且强度减弱,在 b, c, d 中,原先在 $1\ 149\ \text{cm}^{-1}$ 出现的最强峰均成为次强峰;这是因为,图 1a 中由一 SO_2 —反对称伸缩振动峰在 TLC 分离斑点原位时与硅胶形成吸附,故而在 FT-Raman 谱图中的谱峰的相对强度减弱。在 b, c, d 中出现的最强峰是苯环的环收缩振动引起的,这是因为在苯环中存在一个大 π 键, π 电子吸附在银晶微粒上,而且 π 电子是平卧在银晶微粒上,这样形成了很强的吸附,从而使环的环收缩振动加强,保证了在微量样品下对药物各化学成分进行精细结构研究。

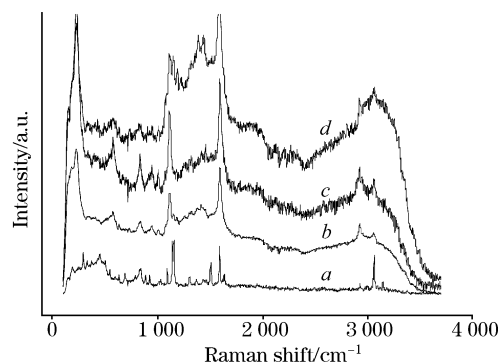


Fig. 1 The SERS spectra of sulfamethoxazole in TLC original place

a: Pure solid; b: $1\ \mu\text{g}$ sample; c: $3\ \mu\text{g}$ sample; d: Separated sample

磺胺甲基异噁唑可以看作是苯环和异噁唑环通过磺酰胺基(— SO_2 —NH—)并联而成的,在固体光谱中 $1\ 592$, $1\ 094$, $1\ 010$ 和 $837\ \text{cm}^{-1}$ 处的谱峰,分别是:对-双取代苯环伸缩振动、3,5-双取代异噁唑环伸缩振动、反对称 CON 伸缩振动、3,5-双取代异噁唑环“呼吸”引起的吸收峰;此外还有 950 , $594\ \text{cm}^{-1}$ 的两个吸收峰,这些峰表明了磺胺甲基异噁唑的特征吸收频率,成为判断磺胺甲基异噁唑的依据。在图 1b ($1\ \mu\text{g}$ 样品)谱图中,这些峰分别出现在 $1\ 595$ (红移)、 $1\ 118$ (红移)、 $1\ 009$ (蓝移)、 839 (红移)、 948 (蓝移)和 $606\ \text{cm}^{-1}$ (红移)处;在图 1c ($3\ \mu\text{g}$ 样品)谱图中,这些峰分别出现在 $1\ 596$ (红移)、 $1\ 117$ (红移)、 $1\ 010$ 、 834 (蓝移)、 947 (蓝移)和 $578\ \text{cm}^{-1}$ (蓝移)处;在图 1d(分离样品)谱图中,这些峰分别出现在 $1\ 590$ (蓝移)、 $1\ 118$ (红移)、 $1\ 008$ (蓝移)、 836 (蓝移)、 947 (蓝移)和 $576\ \text{cm}^{-1}$ (蓝移)处;这些峰出现了不同程度的红移、蓝移现象,而且峰的强度有了很大的加强,这是由于应用了表面增强技术,样品分子在银晶微粒的活位上吸附,从而导致了峰的位移和强度的增加。

在纯固体的 FT-Raman 谱图中,异噁唑环的环伸缩振动和苯环的环伸缩振动的吸收峰分别位于 $1\ 094$ 和 $1\ 592\ \text{cm}^{-1}$

处;而在 $1\ \mu\text{g}$ 样品的 NIR-FT-Raman 谱图中,则位于 $1\ 118$ 和 $1\ 595\ \text{cm}^{-1}$ 处; $3\ \mu\text{g}$ 样品则位于 $1\ 117$ 和 $1\ 596\ \text{cm}^{-1}$ 处。可以看出两峰之间的距离明显缩短,这说明了一 SO_2 —NH—中由于 N 带有孤对电子,该电子进入到银微粒的空轨道上而产生吸附,形成紧密化学键,从而使峰的强度加强和缩短了两峰之间的距离。

在图 1b, c, d 中, $775\ \text{cm}^{-1}$ 附近出现的中强峰,以 b 中的峰为最强,而在固体谱图中没有该峰。此峰表明的是一个六碳环的骨架振动,是由于苯环的 π 电子平面吸附于银晶微粒的活位上,而使该峰在 SERS 谱图中出现。在图 1b 中 $1\ 559\ \text{cm}^{-1}$ 的谱峰,固体谱图中没有出现;图 1c, d 中也未出现,这有可能是异噁唑环中 N 的孤对电子与银晶微粒吸附,或是一 SO_2 —NH—中 N 的孤对电子与银晶微粒吸附,亦或是二者共同作用所引起的。而在纯固体谱图中 $1\ 548\ \text{cm}^{-1}$ 处的峰在图 1b 中未出现,这是由于该峰与 TLC 板上的吸附剂硅胶吸附,因而在 SERS 中未能检出。在 $3\ 061$, $2\ 927\ \text{cm}^{-1}$ 附近出现的谱峰均有增强,这些峰来源于— NH_2 的伸缩振动,这进一步证明了苯环是平卧吸附在银晶微粒上。

Table 1 The frequency and the final situation of major peak of sulfamethoxazole (cm^{-1})

纯固体	$1\ \mu\text{g}$	$3\ \mu\text{g}$	分离样品
	574 s	578 s	576 m
594 m	606 m		
	775 m	776 m	776 m
837 s	839 m		836 m
950 w	948 m	947 m	947 m
1 010 w	1 009 m	1 010 m	1 008 m
1 094 m	1 118 s	1 117 s	1 118 s
1 149 vs	1 153 s	1 179 m	1 152 s
1 267 w	1 273 m	1 268 m	1 265 m
1 548 w	1 559 s		
1 592 s	1 595 vs	1 596 vs	1 590 vs
1 637 m	1 668 m		
2 929 w	2 927 m	2 925 m	2 928 m
3 066 s	3 061 m	3 064 m	3 063 m

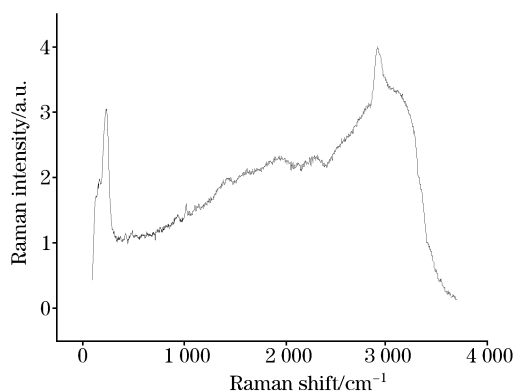


Fig. 2 The FT-SERS spectrum of silica-gel GF254 in blank TLC original place

实验中使用了硅胶 TLC 板, 灰银胶, 银晶微粒的最大直径为 88 nm, 最小直径为 66 nm, 这种银胶对磺胺甲基异噁唑有很大的活性。银晶微粒的活位与磺胺甲基异噁唑分子中的 π 电子形成吸附, 改变了分子的极化率, 使 FT-Raman 散射增强, 在薄层原位获得了很好的谱图, 使 TLC-SERS 联用的高灵敏度检测得以实现。作为吸附剂的硅本身光散射会干扰样品(如图 2), 可在空白谱图的对比中予以扣除; 但是干扰因素的扣除较复杂, 薄层底板材料也有一定的干扰, 为此选用干扰小、光散射小的底板材料非常重要。

3 结 论

薄层色谱可将药物各组分的化学成分进行有效的分离,

参 考 文 献

- [1] Canzera M, Sturm S, Stuppner H, et al. *Chromatographia*, 1997, 46(3/4): 197.
- [2] Herderich M, Richling E, Roscher R, et al. *Chromatographia*, 1997, 45: 127.
- [3] LI Zhong-hong, SHEN Wen-bin, et al(李忠红, 沈文斌, 等). *Foreign Medical Sciences Section on Pharmacy(国外医学药学分册)*, 2001, 28(1): 47.
- [4] Zhao Y, Nookandeh A, Schneider B, et al. *J. Chromatography, A*, 1999, 837(1/2): 83.
- [5] Moskovits M. *Rev. Mod. Phys.*, 1985, 57: 783.
- [6] Hildebrandt P, et al. *J. Phys. Chem.*, 1984, 88: 5935.
- [7] WANG Yuan, GUO Zhan-sheng, WANG Ying-feng, et al(汪 媛, 国占生, 王英锋, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2002, 22(5): 745.
- [8] ZHANG Jin-zhi, WANG Yuan(张进治, 汪 媛). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2003, 23(1): 67.
- [9] WANG Yuan, ZHANG Jin-zhi, MA Xin-yong(汪 媛, 张进治, 马新勇). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2004, 24(11): 1373.

Study on the TLC-SERS of Sulfamethoxazole

ZHANG Jin-zhi¹, WANG Yuan², CHEN Xiang-ming¹

1. Department of Physics, North China University of Technology, Beijing 100041, China

2. Department of Chemistry, Capital Normal University, Beijing 100037, China

Abstract The spectra of sulfamethoxazole, the efficient ingredient of sulfanilamide-like medicine, were investigated by combining the TLC and FT-Raman spectroscopy using the surface enhanced Raman spectroscopy technique. The result indicates that the main vibrant characteristic spectral band can be obtained by TLC in a samples of just about 1 μg . The difference between the compound sulfamethoxazole and the corresponding spectra picture is analyzed. The analysis shows that the method of combining TLC and FT-Raman spectroscopy by the SERS is practical and advantageous in the highly sensitive measurement of the chemical ingredient in medicine.

Keywords Sulfamethoxazole; TLC; SERS; NIR-FT-Raman

(Received Jun. 6, 2005; accepted Sep. 28, 2005)