

- [9] SONG Z M, ABOU-ZEID O, FANG Y Y.  $\alpha$ 2a adrenoceptors regulate phosphorylation of microtubule-associated protein-2 in cultured cortical neurons [J]. *Neuroscience*, 2004, 123(2): 405-418.
- [10] HANSEN H H, BRIEM T, DZIETKO M, et al. Mechanisms leading to disseminated apoptosis following NMDA receptor blockade in the developing rat brain [J]. *Neurobiol Dis*, 2004, 16(2): 440-453.
- [11] SANDERS R D, XU J, SHU Y, et al. Dexmedetomidine attenuates isoflurane-induced neurocognitive impairment in neonatal rats [J]. *Anesthesiology*, 2009, 110(5): 1077-1085.
- [12] BLOMGREN K, LEIST M, GROG L. Pathological apoptosis in the developing brain [J]. *Apoptosis*, 2007, 12(5): 993-1010.
- [13] DEGOS V, CHARPENTIER T L, CHHOR V, et al. Neuroprotective effects of dexmedetomidine against glutamate agonist-induced neuronal cell death are related to increased astrocyte brain-derived neurotrophic factor expression [J]. *Anesthesiology*, 2013, 118(5): 1123-1132.
- [14] YAN M, DAI H, DING T, et al. Effects of dexmedetomidine on the release of glial cell line-derived neurotrophic factor from rat astrocyte cells [J]. *Neurochem Int*, 2011, 58(5): 549-557.
- [15] ENGELHARD K, WERNER C, EBERSPACHER E, et al. The effect of the  $\alpha$  2-agonist dexmedetomidine and the N-methyl-D-aspartate antagonist S(+)-ketamine on the expression of apoptosis-regulating proteins after incomplete cerebral ischemia and reperfusion in rats [J]. *Anesth Analg*. 2003, 96(2): 524-531.
- [16] SHEN S L, HU S F, ZHANG Y L. Comparison of dexmedetomidine and etomidate in providing conscious sedation for awake craniotomy on cerebral functional area [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2013, 30(8): 890-896.

收稿日期: 2013-08-04

## 新诺明分子印迹传感器的制备及应用研究

覃燕平, 黄学艺, 余会成\*, 谭学才, 唐响妹, 黄雪花(广西民族大学化学化工学院, 广西林产化学与工程重点实验室, 南宁 530006)

**摘要:** 目的 以吡咯为单体在玻碳电极表面电聚合一种新诺明分子印迹膜。方法 研究了聚吡咯、新诺明浓度、扫描圈数及扫描速率对印迹膜制备的影响, 并探讨检测液的 pH 值、乙腈与水的体积比对响应电流的影响。采用循环伏安法及电化学交流阻抗技术对分子印迹膜进行表征。结果 在最佳实验条件下新诺明的浓度在  $2.50 \times 10^{-5} \sim 7.50 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  及  $7.50 \times 10^{-4} \sim 2.00 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  内时, 差分脉冲伏安法的峰电流响应值呈现线性关系(线性相关系数分别为 0.995 8 和 0.996 7), 检出限(S/N=3)为  $2.80 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。结论 印迹电极也显示出较好的选择性、重复性、稳定性。将此印迹传感器对复方新诺明药品中磺胺甲噁唑的含量进行了测定, 回收率在 94.2%~105.0%。

**关键词:** 分子印迹聚合物; 电聚合; 新诺明; 聚吡咯

中图分类号: R917.05 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2014)05-0528-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.05.003

### Preparation and Its Application of Sulfamethoxazole Molecularly Imprinted Polymer Sensor

QIN Yanping, HUANG Xueyi, YU Huicheng\*, TAN Xuecai, TANG Xiangmei, HUANG Xuehua(*Guangxi Key Laboratory of Chemistry and Engineering of Forest Products, School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi University for Nationalities, Nanning 530006, China*)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To electropolymerize a molecularly imprinted polymer(MIP) film for sulfamethoxazole detection on a glassy carbon electrode by the use of pyrrole monomer. **METHODS** The effects of sulfamethoxazole concentration, polypyrrole concentration, number of scan cycle and scan rate on the MIP film were investigated respectively. The effects of pH value and acetonitrile-water ratio of detection liquid on response current were also explored. The imprinted film was characterised by electrochemical impedance spectroscopy(EIS) and cyclic voltammetry (CV). **RESULTS** The results indicated the DPV peak current showed a linear dependence on the sulfamethoxazole concentration in the ranges of  $2.50 \times 10^{-5} \sim 7.50 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  and  $7.50 \times 10^{-4} \sim 2.00 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  of sulfamethoxazole(each correlation coefficient of 0.995 8 and 0.996 7, respectively) with the detection limit (S/N=3) of  $2.80 \times 10^{-6} \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , under the optimal experimental conditions. **CONCLUSION** This MIP

基金项目: 广西民族大学研究生创新项目(gxun-chx2013t19); 广西高校大学生创新创业训练计划项目(2013CX051)

作者简介: 覃燕平, 女 Tel: (0771)3260558 E-mail: 422861877@qq.com \*通信作者: 余会成, 男, 博士, 副教授 Tel: (0771)3260558

E-mail: doyh@126.com

film electrode also displayed good selectivity and reproducibility and stability. The prepared sensor was applied to the determination of sulfamethoxazole in Paediatric Compound Sulfamethoxazole Tablet samples with recovery ranging from 94.2% to 105.0%.

**KEY WORDS:** molecularly imprinted polymer; electropolymerization; sulfamethoxazole; pyrrole

磺胺甲噁唑(sulfamethoxazole, SMZ), 又称新诺明, 为白色结晶性粉末, 易溶于稀盐酸、氢氧化钠溶液或氨溶液。它是一种广谱抗菌药物, 主要用于治疗敏感菌引起的尿路感染、呼吸道感染、肠道感染及局部软组织感染等, 对磺胺过敏者、严重肝肾患者忌用, 抗菌谱与磺胺嘧啶相似, 但抗菌作用较强。磺胺药在体内的代谢产物乙酰化物的溶解度低, 容易在尿道中析出结晶而致结晶尿、血尿及闭尿等。临床用于扁桃体炎、急性支气管炎、肺部感染等。目前, 测定新诺明常采用高效液相色谱<sup>[1-2]</sup>、色质联用<sup>[3]</sup>、定量核磁共振光谱<sup>[4]</sup>、毛细管电泳安培检测<sup>[5]</sup>、分光光度<sup>[6]</sup>、薄层色谱<sup>[7]</sup>等方法检测。但这些测定方法有的检测过程复杂, 有的设备价格昂贵。

分子印迹传感器分析技术是近年来发展起来的一项新技术, 在化学传感器中, 分子印迹传感器由于其对目标分子具有构效预定性、特异识别性和广泛实用性而备受关注<sup>[8]</sup>。

目前分子印迹聚合膜的制备主要是原位聚合法与电化学聚合法。原位聚合法操作简便, 所得聚合物具有较好的特异性, 但是模板分子形成的部分识别位点可能被包埋, 模板分子洗脱不干净从而导致空间位阻影响其吸附容量的缺陷。而电化学聚合法在一定程度上可克服原位聚合法的固有缺点。本研究利用电聚合法制备一种新型 SMZ 吡咯膜分子印迹传感器, 采用循环伏安法(CV)、电化学交流阻抗技术及差分脉冲伏安法对印迹膜的性能进行研究, 最后对复方 SMZ 药品中磺胺甲噁唑的含量进行了定量分析。

## 1 仪器与试剂

CHI660D 型电化学工作站(上海辰华仪器有限公司); 三电极体系: 工作电极为玻碳电极( $\Phi=3$  mm), 参比电极为 Ag/AgCl 电极, 对电极为铂丝电极; PHS-3C 型 pH 计(上海仪电科学仪器股份有限公司)。

复方磺胺甲噁唑(批号: 3111001, 宜昌人福药业有限责任公司); 对照品 SMZ、吡咯(PPY)、四丁基高氯酸铵(TBAP)均购自美国 Sigma 公司, 均

为分析纯; 乙腈(批号: 20130110, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 铁氰化钾及其他试剂均为分析纯, 实验用水均为二次蒸馏水。

## 2 方法

### 2.1 电极预处理

将玻碳电极依次用 1.0, 0.3, 0.05  $\mu\text{m}$   $\text{Al}_2\text{O}_3$  粉末将其抛光成镜面, 用二次蒸水冲洗电极表面, 然后用二次蒸馏水、1:1 的稀硝酸、乙醇和二次蒸馏水中依次超声清洗 5 min, 循环反复, 直至在  $5.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  溶液中循环伏安检测氧化还原峰电位差符合要求, 处理后的电极放入  $1.00 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$  中, 在  $-0.4\sim 1.8 \text{ V}$  电位内以  $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$  的速度进行循环伏安扫描活化, 直至获得稳定的 CV 曲线。

### 2.2 分子印迹聚合物修饰电极的制备

将三电极体系置于含  $0.10 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的吡咯、 $0.10 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的四丁基高氯酸铵、 $5.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 SMZ 的乙腈溶液中。在  $-0.6\sim +1.4 \text{ V}$  内, 以  $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$  的速率循环伏安扫描 5 圈。非印迹电极的制作除了不加模板分子外, 其余制备过程均与分子印迹电极的制作相同。

再将制作好的电极置于  $0.10 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 NaOH 溶液中, 在  $+0.8\sim +1.2 \text{ V}$  内, 控制扫描速率为  $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$  循环伏安扫描 20 圈, 即得洗脱后分子印迹修饰电极。

### 2.3 电极表面分子印迹膜的电化学表征

电化学实验采用标准三电极体系, 在含有不同浓度的 SMZ、 $\text{pH}=2.5$ 、乙腈与水的体积比为 1:1 的 B-R 缓冲溶液中分别进行循环伏安及交流阻抗实验, 再用表征后的电极做差分脉冲测试得出校正曲线, 最后用于实际检测。

## 3 结果与讨论

### 3.1 电极表面分子印迹膜的制备过程

将三电极体系置于含  $0.10 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的吡咯、 $0.10 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的四丁基高氯酸铵的乙腈溶液中。在  $-0.6\sim +1.4 \text{ V}$  内, 以  $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$  的速率循环伏安扫描 5 圈的分子印迹膜及非印迹膜的循环伏安图见图 1。

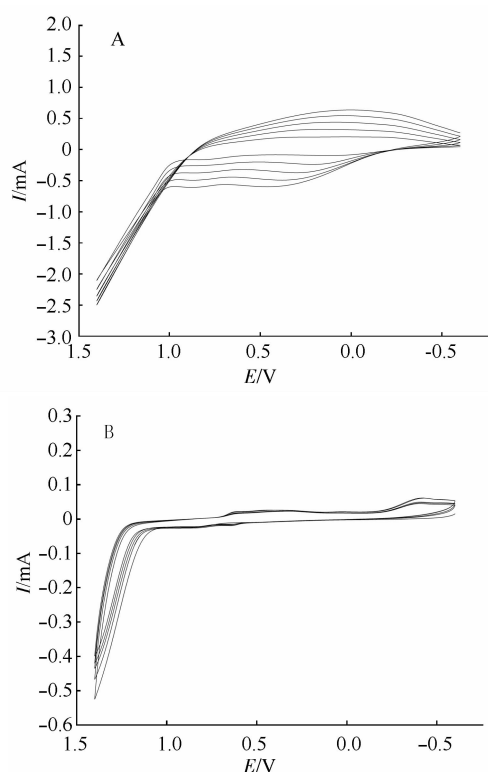


图 1 循环伏安电聚合图

A-印迹膜; B-非印迹膜

Fig 1 Cyclic voltammograms of molecularly imprinted electropolymerization membrane

A-imprinted membrane; B-non-imprinted membrane

由图 1 可以看出,随着扫描圈数的增加,分子印迹膜及非印迹膜氧化电流值的差值逐渐减小。这是由于随着扫描圈数的增加,吡咯在电极表面逐渐形成了一种致密的不导电聚合膜,阻碍了电极表面上的电子传递,使得氧化电流逐渐下降。比较图 1A 与图 1B 可看出,印迹膜的氧化电流比非印迹膜的氧化电流要大得多,这是由于模板分子 SMZ 为电活性物质,当模板分子 SMZ 镶嵌入印迹膜上后会使氧化电流较大。还可以看出分子印迹膜及非印迹膜的氧化电位的差别,分子印迹膜的一个氧化峰的峰电位从 0.15 V 正向飘移到 0.35 V,而非印迹膜没有这种现象,进一步说明模板分子 SMZ 已经进入印迹膜中。

### 3.2 最佳实验条件的探索

**3.2.1 功能单体吡咯的用量选择** 乙腈为溶剂, SMZ 的浓度为  $5.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 吡咯的浓度为 25.0, 50.0, 100.0, 150.0, 200.0, 250.0, 300.0  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 10 mL 溶液分别进行循环伏安电聚合、洗脱。电聚合电位为  $-0.6\sim+1.4 \text{ V}$ , 扫描速率为  $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ , 圈数为 5 圈。将制得的电极在  $0.10 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NaOH}$

中进行循环伏安扫描洗脱,扫描电位  $+0.8\sim+1.2 \text{ V}$ , 扫速  $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ , 圈数为 20 圈,即得洗脱后的印迹和非印迹电极。非印迹电极制作过程除了不加模板分子 SMZ 外,其他过程与印迹电极一样。再将洗脱后的印迹电极和非印迹电极在含  $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 SMZ、 $\text{pH}=2.5$ 、乙腈与水的体积比为 1:1 的 B-R 缓冲溶液中进行差分脉冲伏安实验结果显示,随着功能单体吡咯浓度的增加,印迹膜上的模板分子识别位点在增加。当吡咯的浓度过大时,吡咯自身形成氢键与模板分子结合的减少,所以聚合膜上模板分子的识别位点就减少。因此功能单体吡咯的最佳浓度为  $0.10 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。结果见图 2。

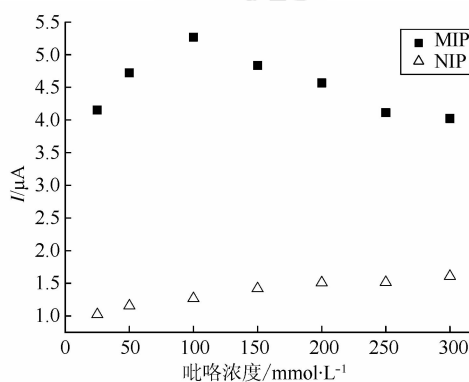


图 2 吡咯浓度的影响

Fig 2 Effect of the pyrrole concentration

**3.2.2 模板分子用量的选择** 吡咯的浓度为  $0.10 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 其他实验条件不变,改变模板分子 SMZ 的浓度进行实验。SMZ 的浓度分别为 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 10.00 mL 溶液,实验结果显示,随着模板分子 SMZ 浓度的增大,峰电流也增大,然后峰电流又降低。这是由于模板分子 SMZ 浓度的增大,印迹膜上模板分子的数量也在增加,识别点随着增加。但当模板分子 SMZ 过多时,会发生模板分子的杂乱重叠,从而使识别点降低。因此模板分子的最适宜浓度为  $5.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。结果见图 3。

**3.2.3 扫描圈数的确定** SMZ 的浓度为  $5.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、吡咯的浓度为  $0.10 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 其他实验条件相同,改变扫描圈数。扫描圈数分别为 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 圈。其差分脉冲伏安实验结果显示,印迹膜(MIP/GCE)的峰电流起始随着扫描圈数的增加而增加,然后又下降,这是由于随着扫描圈数的增加,膜厚增加, MIP 的识别位点也随之增多,所以 MIP/GCE 信号(峰电流)增强;

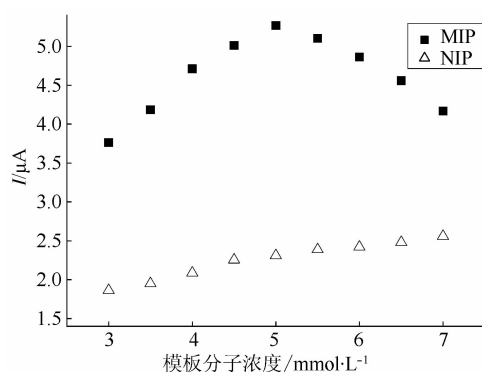


图3 模板分子浓度的影响

Fig 3 Effect of the template concentration

但扫描圈数过多将导致聚合膜过厚, 聚合过厚会使印迹膜层的稳定性下降, 在洗脱过程中就会失去一些识别位点, 从而使 MIP/GCE 信号(峰电流)下降。因此扫描圈数的最佳圈数为 5 圈。结果见图 4。

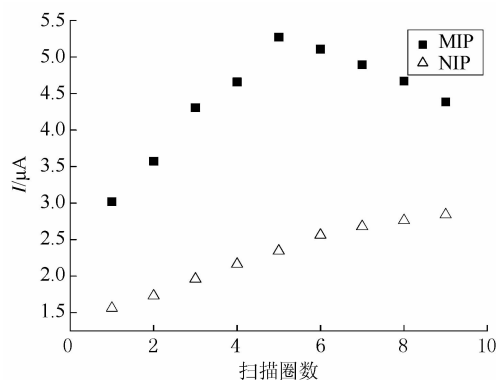


图4 扫描圈数的影响

Fig 4 Effect of the number of scan cycle

**3.2.4 扫描速率的选择** 其他条件与“3.2.1”项下类似, 改变扫描速率进行实验。扫描速率分别为 50, 70, 90, 100, 110, 130, 150  $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ 。其差分脉冲伏安实验结果显示, 随着扫描速率的增加, 印迹膜上模板分子的电流响应值在增加; 当扫描速率过快时, 电流响应值在减小。这是因为扫描速率过快时, 在电极表面易形成粗糙杂乱的膜, 不利于模板分子空穴的形成; 较慢的扫描速率易形成致密且光滑的膜, 但扫描速率太慢又会使模板分子陷入聚合物中难以被感应。所以扫描速率的最佳为 100  $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ 。结果见图 5。

**3.2.5 乙腈的浓度及 pH 值的选择** SMZ 的浓度为 0.10  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 同时改变 B-R 缓冲溶液中乙腈的浓度和溶液的 pH 值, 使乙腈的浓度分别为 30%, 40%, 50%, 60%。同时使溶液的 pH 值分别为 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5。将制作好的去除模板分子的印迹电极在上述不同溶液中进行差分脉

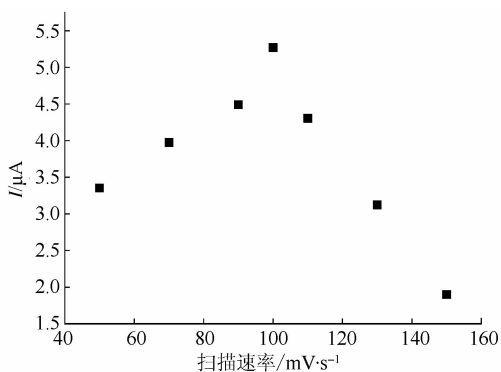


图5 扫描速率的影响

Fig 5 Effect of the scan rate

冲伏安实验, 实验结果显示, 乙腈的最佳体积分数为 50%, pH 最佳值为 2.5。可能原因是, 此 pH 和乙腈的体积分数下, 模板分子与聚合物之间存在最大静电引力, 从而使得模板分子能够更多的与印迹空穴结合, 获得更大的响应电流值。结果见图 6。

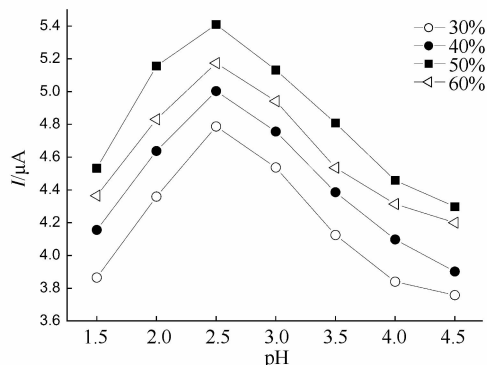


图6 乙腈的体积分数及 pH 的影响

Fig 6 Effects of acetonitrile volume fraction and pH

### 3.3 印迹膜的电化学表征

传感器敏感膜的印迹效应采用循环伏安法(CV)进行表征。由于 SMZ 具有电活性, 所以印迹电极不需要借助别的电活性物质来检测, 只需溶液为体积分数 50% 的乙腈, pH=2.5 的 B-R 缓冲溶液即可。但裸铂电极需以 5.00  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  为分子探针。电极循环伏安曲线见图 7。

由图 7(A)可以看出, 曲线存在明显的氧化还原峰, 这是应为印迹膜上面有大量的具有电活性的模板分子; 由图 7(B)可以看出, 裸铂电极的循环伏安峰电流比洗脱前的小, 这可能是模板分子的电活性大于铁氰化钾; 由图 7(C)可以看出, 洗脱后印迹膜上的模板分子被洗掉后, 通过再聚合模板分子重新占据模板分子留下的空穴, 但占据的数量少于洗脱前, 即印迹膜上的电活性物质 SMZ

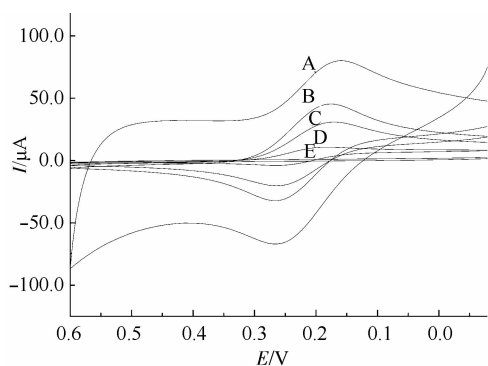


图7 不同电极的循环伏安图

A-洗脱前的电极; B-裸玻碳电极; C-洗脱后的印迹电极再与 1.0 mmol·L<sup>-1</sup> SMZ 作用后; D-洗脱后电极; E-非印迹电极

Fig 7 Cyclic voltammograms of different electrodes

A-MIP-modified GCE Before the elution; B-bare GCE; C-MIP-modified GCE after interaction with 1.0 mmol·L<sup>-1</sup> SMZ; D-MIP-modified GCE after removal of the imprinted SMZ molecules; E-nMIPs-electrode

的数量低于洗脱前,因此峰电流减弱;由图 7(D)可以看出,仍存在一个很小的氧化还原峰,这主要是印迹膜上残留的极微量的模板分子所致;由图 7(E)可以看出,峰电流特别低。这是由于非印迹电极表面没有电活性物质,并且电极表面只有一层非常致密非印迹膜,所以氧化还原峰很小。

交流阻抗是研究表面修饰电极界面特性的有效工具。检测不同电极的交流阻抗是在乙腈的体积分数为 50%、pH=2.5 的 B-R 缓冲溶液中进行的。电极的交流阻抗图见图 8。

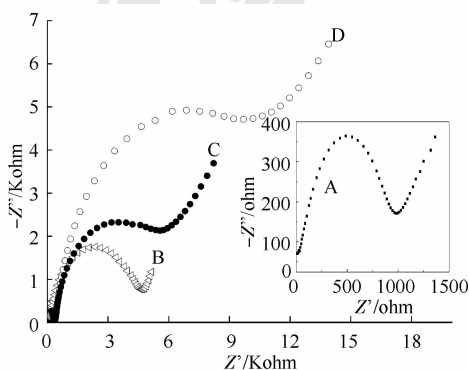


图8 电化学阻抗谱

A-洗脱前的电极; B-洗脱后的印迹电极再与 1.0 mmol·L<sup>-1</sup> SMZ 作用后; C-洗脱后电极; D-非印迹电极

Fig 8 EIS of different electrodes

A-MIP-modified GCE Before the elution; B-MIP-modified GCE after interaction with 1.0 mmol·L<sup>-1</sup> SMZ; C-MIP-modified GCE after removal of the imprinted SMZ molecules; D-nMIPs-electrode

由图 8(A)可以看出,模板分子洗脱前的电极, EIS 半圆直径非常小,表明洗脱前模板分子镶嵌入电极表面膜中,模板分子具有电活性,因而产生很小的阻抗。由图 8(B)可以看出,洗脱后印迹膜

再与 1.00 mmol·L<sup>-1</sup> 的 SMZ 溶液中作用,半圆的直径变大,这是因为洗脱后模板分子留下的空穴只有部分被 SMZ 占据,SMZ 在印迹膜上的数量比洗脱前少,从而阻抗增大。由图 8(C)可以看出,去除模板分子后,交流阻抗比去除前大,这是由于印迹电极表面具有电活性的模板分子 SMZ 的绝大部分被去除,所以洗脱后电极的交流阻抗比洗脱前大。由图 8(D)可以看出,非印迹电极的交流阻抗很大,这是由于非印迹电极表面没有电活性物质,并且电极表面只有一层非常致密非印迹膜。交流阻抗技术检测结果与循环伏安的结果一致。

### 3.4 印迹传感器的特性研究

**3.4.1 差分脉冲伏安法测线性范围** 采用比 CV 检测法更敏感的 DPV 法作为定量检测 SMZ。将去除模板分子后的印迹电极在乙腈的体积分数为 50%、pH=2.5 的含有不同浓度的 SMZ 的 B-R 缓冲溶液中培育一段时间后再进行 DPV 实验,结果显示,峰电流随着 SMZ 浓度的增加而增加,这表明印迹膜中越来越多的印迹位点被 SMZ 分子所占据。SMZ 浓度在  $2.50 \times 10^{-5} \sim 7.50 \times 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup> 和  $7.50 \times 10^{-4} \sim 2.00 \times 10^{-3}$  mol·L<sup>-1</sup> 内与峰电流呈现良好的线性关系,线性方程分别为:  $I_p = 0.006 2c + 4.649$ ;  $I_p = 0.003 2c + 6.908$  对应的相关系数分别为  $r = 0.995 8$ ,  $r = 0.996 7$ ,检出限(S/N=3)为  $2.80 \times 10^{-6}$  mol·L<sup>-1</sup>。线性范围及灵敏度明显高于文献中的高效液相色谱法<sup>[1-2]</sup>。结果见图 9。

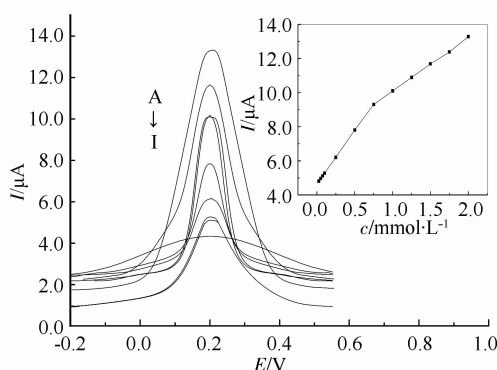


图9 分子印迹传感器在不同浓度 SMZ 的差分脉冲伏安的峰电流及校正曲线图

A- $2.0 \times 10^{-3}$  mol·L<sup>-1</sup>; B- $1.5 \times 10^{-3}$  mol·L<sup>-1</sup>; C- $1.0 \times 10^{-3}$  mol·L<sup>-1</sup>; D- $7.5 \times 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup>; E- $5.0 \times 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup>; F- $2.5 \times 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup>; G- $1.0 \times 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup>; H- $7.5 \times 10^{-5}$  mol·L<sup>-1</sup>; I- $2.5 \times 10^{-5}$  mol·L<sup>-1</sup>

Fig 9 Differential pulse voltammograms(B) of MIP sensor in different concentrations of SMZ and calibration curves

A- $2.0 \times 10^{-3}$  mol·L<sup>-1</sup>; B- $1.5 \times 10^{-3}$  mol·L<sup>-1</sup>; C- $1.0 \times 10^{-3}$  mol·L<sup>-1</sup>; D- $7.5 \times 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup>; E- $5.0 \times 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup>; F- $2.5 \times 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup>; G- $1.0 \times 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup>; H- $7.5 \times 10^{-5}$  mol·L<sup>-1</sup>; I- $2.5 \times 10^{-5}$  mol·L<sup>-1</sup>

**3.4.2 印迹传感器的选择性测定** 分子印迹膜对模板分子的选择性识别效应源自于模板与印迹空穴之间形状、大小和官能团之间的互补作用。为证明印迹膜内对模板分子 SMZ 具有选择性识别功能,对印迹电极做干扰实验,分别用浓度为  $1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 SMZ、甲氧苄啶(TMP)、磺胺嘧啶(SD)、磺胺异恶唑(SIZ)、葡萄糖(GLU)的乙腈的体积分数为 50%, pH=2.5 的 B-R 缓冲溶液中培育一段时间后在进行 DPV 实验,结果显示,扣除电极自生的响应值外[SMZ、甲氧苄啶、磺胺嘧啶、磺胺异恶唑、葡萄糖的自生电流分别为 2.24, 2.31, 3.65, 3.19, 3.21  $\mu\text{A}$ 。干扰 =  $(i_r - i_0)/i_0$ ,  $i_r$  为加入干扰物后扣除自生电流后的电流值,  $i_0$  为加入干扰物前扣除自生电流后的电流值], TMP 几乎不存在干扰(干扰 < 0.1%), SIZ 与 GLU 引起轻微干扰(干扰 < 0.7%), SD 可引起 2.5% 的干扰,这表明该印迹传感器具有良好的选择性。结果见图 10。

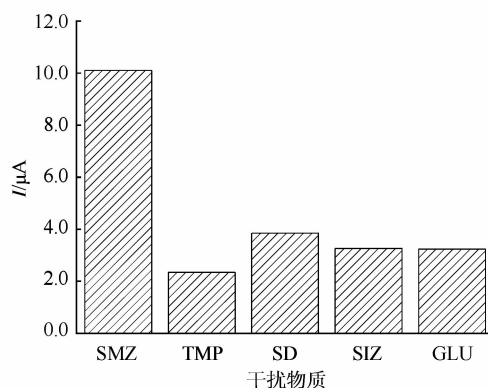


图 10 干扰物质的测定结果

Fig 10 Determination results of interferences tested

**3.4.3 印迹传感器的再现性、重复性及稳定性的测定** 在最佳实验条件下,用 5 个相同条件下制备的印迹电极平行测定浓度为  $0.50 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 SMZ 溶液, RSD 为 2.4%, 这表明传感器具有良好的再现性;用同一支电极多次测定  $0.50 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 SMZ 溶液,计算其相对标准偏差(RSD)为 3.1%( $n=5$ ),这表明传感器具有良好的重复性,良好的重复性说明 SMZ 分子与印迹膜上空穴的结合为可逆过程,印迹传感器可重复使用。将电极置于冰箱冷藏室保存,每 2 d 测 1 次,20 d 后电流响应值是起始响应值的 93.1%,40 d 后下降至 87.8%,说明传感器有良好的稳定性。

**3.4.4 印迹传感器的应用分析** 取复方 SMZ 片几片,研钵粉碎后,称取 0.050 0 g,溶解于氨水缓

冲溶液中,用乙腈的体积分数为 50% 的 B-R 缓冲溶液定容至 100 mL 调节 pH=2.5,测量 3 组每组平行测定 3 次取平均值,结果见表 1。测得结果换算到片剂中 SMZ 的含量,得出测试结果与产品标示量几乎相同。回收率的测定采用标准加入法,测量 5 组不同的加入浓度,每组平行测定 3 次取平均值,实验结果见表 2。回收率在 94.2%~105.0%。

表 1 药品中 SMZ 的测定结果

Tab 1 Determination results of SMZ in tablets

样品	测得/( $10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )
1	1.95
2	1.97
3	1.98

表 2 回收率测定结果

Tab 2 Determination results of recovery

样品	取得浓度/ $10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$	加入浓度/ $10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$	测得浓度/ $10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$	回收率/ %	标准偏差/ %
1	1.00	1.00	2.10	105.0	3.1
2	1.00	2.00	3.07	102.3	2.8
3	1.00	3.00	3.93	98.3	2.6
4	1.00	4.00	4.71	94.2	2.8
5	1.00	5.00	5.70	95.0	3.0

## 4 结论

以 SMZ 为模板分子、聚吡咯为功能单体在玻碳电极上电聚合了一种性能稳定的印迹膜。通过对此印迹电极的研究与实验,印迹电极的线性范围是  $2.50 \times 10^{-5} \sim 7.50 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $7.50 \times 10^{-4} \sim 2.00 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 线性范围宽;检出限是  $2.80 \times 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 且基本不受干扰物质的干扰,满足对 SMZ 检测的实验要求。该方法具有良好的重复性和稳定性,该传感器制备过程简单,且能够快速用于药物中磺胺甲恶唑药物的检测,为药物中磺胺甲恶唑的检测提供了一条新的有效途径。

## REFERENCES

- [1] PEREIRA A V, CASS Q B. High-performance liquid chromatography method for the simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in bovine milk using an on-line clean-up column [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2005, 826(1/2): 139-146.
- [2] AMINI H, AHMADIANI A. Rapid and simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in human plasma by high-performance liquid chromatography [J]. J Pharm Biomed Anal, 2007, 43(3): 1146-1150.
- [3] MISTRI H N, JANGID A G, PUDAGE A, et al. Simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in microgram quantities from low plasma volume by liquid

- chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Microchem J*, 2010, 94: 130-138.
- [4] SALEM A A, MOSSA H A. Method validation and determinations of levofloxacin, metronidazole and sulfamethoxazole in an aqueous pharmaceutical, urine and blood plasma samples using quantitative nuclear magnetic resonance spectrometry [J]. *Talanta*, 2012, 88: 104-114.
- [5] CHU Q C, TIAN X H, JIANG L M, et al. Determination of effective ingredients in compound sulfamethoxazole tablets by capillary electrophoresis with amperometric detection [J]. *Chin J Anal Chem*, 2008, 36(3): 292-296.
- [6] GRANERO G, GARNERO C, LONGHI M. Second derivative spectrophotometric determination of trimethoprim and sulfamethoxazole in the presence of hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin(HP- $\beta$ -CD) [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2002, 29(1/2): 51-59.
- [7] SHEWIYO D H, KAALE E, RISHA P G, et al. Development and validation of a normal-phase high-performance thin layer chromatographic method for the analysis of sulfamethoxazole and trimethoprim in co-trimoxazole tablets [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(42): 7102-7107.
- [8] LIU X R, LI X, JIANG T. Application of electrochemical sensor technology in medicine studies [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2011, 28(3): 211-215.

收稿日期: 2013-08-20

## 抗癌灵活性部位对不同肿瘤细胞的抑制作用

叶强<sup>1</sup>, 睢凤英<sup>2</sup>, 杨鑫骥<sup>2</sup>, 王嘉<sup>3\*</sup> (1.浙江省人民医院, 杭州 310014; 2.嘉兴学院医学院, 浙江 嘉兴 314000; 3.浙江医学高等专科学校, 杭州 310053)

**摘要:**目的 研究抗癌灵正丁醇提取部位(以下简称 KAL)对多种肿瘤细胞的抑制率以及时效和量效关系。方法 采用 MTT 法考察 KAL 对肿瘤细胞 B-16、SGC-7901、Colo320、PC-3、HL60 的抑制率以及 IC<sub>50</sub>; 通过观察 KAL 对肿瘤细胞 SGC-7901 和 PC-3 生长的影响, 考察其时效和量效关系。结果 KAL 对肿瘤细胞 B-16、SGC-7901、Colo320、PC-3、HL60 的 IC<sub>50</sub> 分别为: (21.05±4.31), (13.43±4.78), (15.17±3.82), (26.39±5.76), (25.78±4.40)  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 且在抑制肿瘤细胞过程中呈现明显的时效关系和量效关系。结论 KAL 对肿瘤细胞 B-16、SGC-7901、Colo320、PC-3、HL60 具有显著抑制作用。

**关键词:** 抗癌灵; 正丁醇提取部位; 抗肿瘤

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2014)05-0534-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.05.004

### Anti-tumor Effect of Kang Ai Ling's Active Site on Different Cancer Cells

YE Qiang<sup>1</sup>, SUI Fengying<sup>2</sup>, YANG Xingji<sup>2</sup>, WANG Jia<sup>3\*</sup> (1.Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, China; 2.Jiaxing University, College of Medicine, Jiaxing 314000, China; 3.Zhejiang Medical College, Hangzhou 310053, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To observe the growth inhibitory effect of tumor cells by Kang Ai Ling's 1-butanol extract(KAL). **METHODS** The anti-proliferative activities of 1-butanol extract of KAL against B-16, SGC-7901, Colo320, PC-3 and HL60 cells were evaluated by MTT colorimetric assay *in vitro*, then the result showed by inhibitory rate and IC<sub>50</sub>. Investigation on KAL's dose-effect dependent manner and time-effect dependent manner through growth inhibitory curve on SGC-7901 and PC-3. **RESULTS** The IC<sub>50</sub> of KAL on B-16, SGC-7901, Colo320, PC-3 and HL60 were (21.05±4.31), (13.43±4.78), (15.17±3.82), (26.39±5.76), (25.78±4.40)  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , respectively. The anti-tumor effect of KAL has obvious time-effect and dose-effect dependence. **CONCLUSION** KAL has significant growth inhibitory effect on B-16, SGC-7901, Colo320, PC-3 and HL60 cells.

**KEY WORDS:** Kang Ai Ling; 1-butanol extract; anti-tumor

抗癌灵是抗肿瘤经验方, 临床抗胃癌效果较好。前期实验表明, 抗癌灵的正丁醇提取部位(以下简称 KAL)对 U14 宫颈癌、S-180 小鼠肉瘤均有显著抑制作用, 且通过急性毒性实验发现该部位

在常规剂量下不良反应较小<sup>[1-2]</sup>。为了进一步明确抗癌灵的抗肿瘤作用, 本研究通过 MTT 法观察 KAL 对肿瘤细胞生长的影响, 评价其对不同瘤株的抑制能力, 考察其时效和量效关系, 为进一步

基金项目: 浙江医学高等专科学校科研基金项目(2006XZ11)

作者简介: 叶强, 男, 主管药师 Tel: (0571)85893128  
(0571)87692651 E-mail: jxwangjia2@163.com

E-mail: yht20020517@qq.com \*通信作者: 王嘉, 男, 教授 Tel: