

文章编号: 1673-0062(2010)01-0070-04

CdTe 量子点荧光猝灭法测定尼群地平的研究

贺冬秀^{1,2}, 卢亚玲¹, 刘露¹, 陈波¹

(1. 湖南师范大学 化学生物学及中药分析省部共建教育部重点实验室, 湖南 长沙 410081;

2. 南华大学 药学与生命科学技术学院, 湖南 衡阳 421001)

摘要:以 L-半胱氨酸为稳定剂, 在水溶液中合成了 CdTe 量子点. 以该量子点为荧光探针, 基于荧光猝灭法对尼群地平进行了定量检测. 考察了缓冲体系、缓冲液浓度、缓冲液 pH 值、反应时间、量子点浓度等多种因素的影响, 并对反应机理进行了初步的探讨. 在 0.03 mol/L、pH 值为 5.78 的 Tris-HCl 缓冲液中, 当量子点浓度为 5.72×10^{-4} mol/L、反应时间为 10 min 时, 该方法的线性范围为 0.38~77 $\mu\text{g/mL}$, 检出限为 0.28 $\mu\text{g/mL}$. 该方法已成功用于药片中尼群地平的测定, 与中国药典中的标准方法比较, 结果满意.

关键词:量子点; 尼群地平; 荧光猝灭

中图分类号: O657.31 **文献标识码:** A

Studies on Fluorescence Quenching Method for the Determination of Nitrendipine with CdTe Quantum Dots

HE Dong-xiu^{1,2}, LU Ya-ling¹, LIU Lu¹, CHEN Bo¹

(1 Key Laboratory of Chemical Biology & Traditional Chinese Medicine Research (Hunan Normal University),

Ministry of Education, Changsha Hunan 410081 China; 2 School of Life Sciences and Technology

University of South China Hengyang Hunan 421001, China)

Abstract CdTe quantum dots were synthesized in aqueous solution with L-cysteine acid as the stabilizer. A new approach was developed for the sensitive and selective determination of nitrendipine with quantum dots as fluorescence probes. Different influencing factors were studied, including the concentration and pH of buffer, reacting time and quantum dots concentration, moreover, an initial study of the reaction mechanism was discussed. In 0.03 mol/L Tris-HCl with pH 5.78, when the concentration of quantum dots was 5.72×10^{-4} mol/L and the reacting time was 10 minutes, the relative fluorescence intensity decreased

收稿日期: 2009-09-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20875028); “973”课题基金资助项目 (2006CB504701); 衡阳市科技计划基金资助项目 (2009KS27)

作者简介: 贺冬秀 (1972-), 女, 湖南石门人, 南华大学药学与生命技术学院讲师, 博士研究生. 主要研究方向: 药物分析.

linearly with the nitrendipine' concentration in the range of 0.38 to 61.6 $\mu\text{g/mL}$. The detection limit was 0.28 $\mu\text{g/mL}$. The proposed method has been applied to the analysis of nitrendipine in tablet successfully with satisfactory results in comparison with the standard method in Pharmacopoeia of P.R. China.

Key words quantum dots; nitrendipine; fluorescence quenching

尼群地平 (nitrendipine, 简称 NT) 为 2,6-二甲基-4-(3-硝基苯基)-1,4-二氢-3,5-吡啶二甲酸甲乙酯, 属钙通道阻滞剂, 为二氢吡啶类血管扩张剂, 通过阻断钙离子在膜内的移动使冠状动脉和外周血管舒张, 是治疗心血管病的重要药物, 其片剂主要适用于高血压病人, 目前在临床上广泛使用。目前测定 NT 的方法主要有硫酸铈滴定法^[1]、紫外分光光度法^[2]、电化学方法^[3]、毛细管电泳^[4]和高效液相色谱方法^[5]。一般采用紫外分光光度法, 该方法线性范围不够宽、专属性差、因二氢吡啶很容易产生光氧化反应, 溶液放置期间吸收度有变化, 稳定性差。而尚未见用荧光法测定尼群地平含量的报道。

传统的荧光法所用荧光试剂多为有机荧光染料, 存在荧光强度低、光稳定性差等缺点, 因而使检测的灵敏度和检测范围受到一定程度的限制。量子点 (Quantum Dots) 又称半导体纳米晶体 (Semiconductor Nanocrystal), 是一种发光纳米颗粒。与传统的有机荧光染料相比, 量子点具有荧光量子产率高、光化学稳定性好等优良的光学特性, 是一种很有发展潜力的荧光探针。对量子点的表面进行功能化修饰, 不仅可应用于重金属离子的检测^[6-8], 也可应用于药物含量的测定^[9]。

本文在水相中合成了以 L-半胱氨酸为稳定剂的 CdTe 量子点, 研究了量子点荧光猝灭法测定尼群地平的最适宜条件, 发展了一种表面修饰了 L-半胱氨酸的量子点荧光猝灭法测定尼群地平的新方法。该方法仪器要求简单, 操作方便快捷, 灵敏度高, 测定结果与中国药典中的标准方法比较, 结果较满意。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

F-4500 型荧光分光光度计 (日本日立公司); UV-2450 型紫外可见分光光度计 (日本岛津公司); AL204-S 型电子分析天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司); DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器 (金坛市医疗仪器厂); Milli-Q 超纯水系统 (Millipore Corp., Bedford MA, 美国)。

$\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ (长沙市国营延风化学试剂厂); Te 粉 (纯度 > 99%, 国药集团化学试剂有限公司); NaBH_4 (纯度 > 96%, 天津市福晨化学试剂厂); L-cysteine acid (Sigma 公司); 尼群地平对照品 ($\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_6$, 纯度 > 99.9%) 储备液: 1.540 $\mu\text{g/mL}$ (甲醇溶液)。其余试剂均为分析纯, 实验用水均为电阻率大于 $18\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 的超纯水。

1.2 实验方法

1.2.1 CdTe 量子点的制备

量子点参照文献 [7] 方法稍加修改合成, 简述如下: 将含有以 L-cysteine acid 为稳定剂的 CdCl_2 溶液的 pH 值用 1mol/L NaOH 溶液调至 9, 用高纯 N_2 气将该溶液在密闭体系中脱氧保护, 并在适当的搅拌速度下, 向上述溶液中通入新制备的无氧 NaHTe (由 Te 粉与 NaBH_4 溶液反应产生)。将此反应液加热回流, 于不同时间取样以获得不同发射波长的量子点。

1.2.2 量子点的表征

将合成过程中不同回流时间所取样品溶液用水稀释 10 倍后, 在 F-4500 型荧光分光光度计进行荧光测定 (激发波长 330 nm, 激发和发射狭缝宽度均为 5 nm)。

1.2.3 尼群地平的检测

在 5 mL 棕色容量瓶中依次加入一定量的尼群地平, 1.2 mL 量子点溶液, 用 Tris-HCl 缓冲液定容。室温下放置 15 min 后用 F-4500 型荧光分光光度计测荧光强度 (F), 按同样方法作试剂空白 (荧光强度记为 F_0), 并计算出二者的相对荧光强度 F_0/F 。

2 结果与讨论

2.1 量子点的荧光光谱

图 1 (a) 为在不同回流时间所取量子点样品的荧光发射光谱。由图可见, 所合成的 CdTe 量子点荧光光谱窄而对称, 随着回流时间的延长, 从曲线 1 到曲线 5 荧光发射峰位逐渐红移。通过控制不同的回流时间, 可得到不同粒径发不同颜色荧光的量子点。本文选用 5 号样品 (最大发射波长为 558 nm), 图 1 (b) 谱线 a^{-1} 给出了不同

浓度尼群地平存在时体系荧光强度的变化,结果表明:体系的荧光强度随尼群地平浓度的增加而

减弱,据此可实现对尼群地平的定量测定.

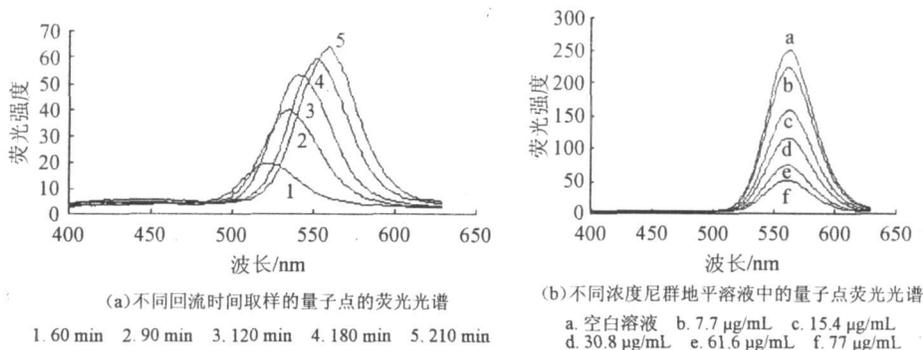


图 1 量子点的荧光光谱图

Fig 1 Fluorescence spectra of quantum dots

2.2 检测条件的选择

2.2.1 缓冲体系的选择

分别对 3 号量子点样品在相同 pH 值、未加尼群地平的 Tris-HCl 缓冲体系、纯水、醋酸-醋酸钠和磷酸二氢钾-磷酸氢二钠缓冲体系中进行波长扫描,结果如图 2(a)。由图可见:量子点在 Tris-HCl 缓冲体系缓冲体系中的荧光强度最强。

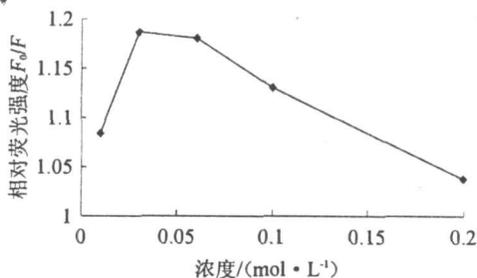
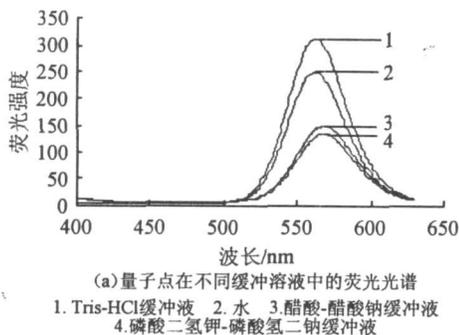


图 2 缓冲液对量子点荧光强度的影响

Fig 2 Effect of buffer on fluorescence intensity

2.2.2 pH 值的选择

分别考察了 pH 值为 3.72、4.21、5.78、6.89、8.86 时 5 种不同 Tris-HCl 缓冲液对体系荧光强度的影响.实验表明,当 pH 值小于 5.78 时,体系的荧光强度随 pH 值的增加而增强(如图 3(a));到 pH 值等于 5.78 时,荧光最强;而 pH 值超过 5.78 时,体系的荧光强度反而降低.所以本实验选择在 pH 值为 5.78 的 Tris-HCl 缓冲液中测定荧光强度.

2.2.3 反应时间的选择

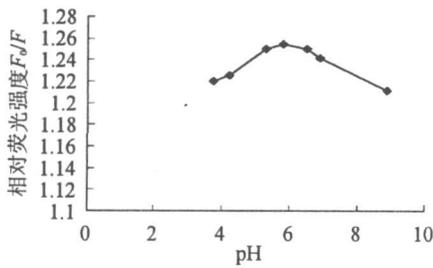
未加尼群地平时,量子点溶液的荧光强度不

此外,由图 2(b)可以看出,加入尼群地平后,量子点在不同浓度(0.01、0.03、0.06、0.10、0.2 mol/L)的缓冲体系中荧光猝灭的程度不同(加入尼群地平前后,量子点在缓冲液中的荧光强度分别记为 F_0 和 F),当缓冲液浓度为 0.03 mol/L 时,体系荧光猝灭程度最大,所以本实验选择 0.03 mol/L 的 Tris-HCl 缓冲液为支持电解质.

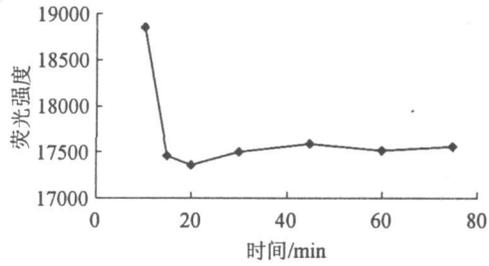
随时间变化;加入尼群地平后,量子点溶液的荧光强度逐渐降低,反应立即发生,大约 15 min 时达到最小值且 75 min 内保持不变(如图 3(b)).所以,反应时间定为 15 min.

2.2.4 量子点的浓度的选择

当体系的荧光强度很高时,少量尼群地平的加入,荧光猝灭程度小,导致分析的灵敏度低;当体系的荧光较弱时,少量尼群地平离子的加入,荧光猝灭程度较大,灵敏度好,但线性范围窄.为兼顾灵敏度和线性范围,本实验所用量子点浓度为 5.72×10^{-4} mol/L(按 Cd^{2+} 浓度计算).



(a) pH 值对体系荧光强度的影响



反应时间对体系荧光强度的影响

图 3 pH 值和反应时间对体系荧光强度的影响

Fig 3 Effect of pH and time on fluorescence intensity

2.3 标准曲线、检出限和精密度

在最佳实验条件下进行了标准曲线的绘制, 结果表明: 尼群地平浓度在 0.38~61.6 μg/mL 范围内与体系的相对荧光强度呈良好的线性关系. 回归方程为 $F_0/F = 0.9907 + 0.0268C$ (C 的单位: μg/mL), 线性相关系数 R^2 为 0.992. 以空白的 3 倍标准偏差除以标准曲线的斜率得出本方法检测下限为 0.28 μg/mL. 分别对 7.7 μg/mL 和 30.8 μg/mL 两种浓度的尼群地平标准溶液进行 5 次平行测定的相对标准偏差为 4.9% 和 4.3%.

实验结果充分表明本方法精密度良好.

2.4 共存物质的影响

根据可能共存的实际情况, 考察了多种干扰物质 (常见离子和常见其他降压药物) 对 7.7 μg/L 尼群地平测定结果的影响, 所测结果列于表 1. 由表可见: 100 倍的 K^+ , Na^+ , Mn^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} , Cl^- 等离子对测定结果几乎没有影响; 5 倍的酚妥拉明、甲基多巴和 2 倍咪塞米对测定结果稍有影响; 10 倍的 Zn^{2+} 和 5 倍的氢氯噻嗪对测定结果有一定程度的影响.

表 1 共存物质对测定的干扰

Table 1 Tests for the interference of coexisting substances

干扰物质	干扰物浓度 / (μg·mL ⁻¹)	相对误差 / %	干扰物质	干扰物浓度 / (μg·mL ⁻¹)	相对误差 / %
K^+	770	0.7	Cl^-	1540	0.9
Na^+	770	0.3	可乐定	38.5	0.7
Mn^{2+}	770	0.8	氢氯噻嗪	38.5	5.5
Ca^{2+}	770	0.7	酚妥拉明	38.5	2.3
Cu^{2+}	770	0.9	甲基多巴	38.5	-3.7
Zn^{2+}	77	5.7	咪塞米	15.4	-1.5

注: 尼群地平浓度为 7.7 μg/mL

3 分析应用

取标示量为 10 mg/片尼群地平 10 片, 研成粉末溶解于 200 mL 乙醇中作为样品溶液, 取 5.00 mL 于 100 mL 容量瓶中, 以 50% 乙醇稀释至

刻度, 然后分取适量体积样品液同上述方法测定荧光强度 (F), 以标准曲线法定量; 同一样品用硫酸铈滴定法测定^[1]. 药片测定结果并用药典标准法作对照结果 (见表 2). 经统计学分析 $t < t_{0.05(7)} = 2.36$, 两方法间差异无显著性.

表 2 片剂中尼群地平含量的测定结果

Table 2 Determination results of nitrendipine in tablets

样品	样品含量 (n=6) / %	RSD / %	药典标准法测定含量 (n=3) / %	RSD / %	t 值
1	99.3	3.65	97.6	1.92	0.75
2	97.9	3.22	98.2	0.92	0.16
3	94.8	2.67	96.7	1.41	1.37

- [6] Gomez J B, G bver P W J. Damage of saturated rocks undergoing triaxial deformation using complex electrical conductivity measurements mechanical modeling [J]. Phys Chem. Earth 1997, 22(1/2): 63- 68
- [7] Newman G H. The effect of water chemistry on the laboratory compression and permeability characteristic of North Sea Chalks [J]. JPT, May, 1983, 35: 976- 980
- [8] Hadizadeh J. Water- weakening of sandstone and quartzite deformed at various stress and strain rates [J]. Int J Rock Mech Min Sci 1991, 28(5): 431- 439
- [9] Delage P, Cui Y J, Schmeder C. Subsidence and capillary effects in chalks [C] // Eurock 96, ISRM International Symposium, Torino, Italy: 1291- 1298
- [10] Heggheim T, Madim V. A chemical induced enhanced weakening of chalk by seawater [J]. Journal of petroleum science and engineering 2004, 46(3): 171- 184
- [11] Risnes R, Haghhighi H, Korsnes R J et al Chalk- fluid interactions with glycol and brines [J]. Tectonophysics 2003 370(1- 4): 213- 226

(上接第 73 页)

参考文献:

- [1] 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 169
- [2] 沈春鸣. 紫外分光光度法测定尼群地平片含量和溶出度 [J]. 海峡药学, 2004, 16(3): 63- 65
- [3] 刘永明, 李桂芝, 荆济荣. 尼群地平在玻碳电极上的伏安行为及应用 [J]. 分析化学, 2002, 30(11): 1341- 1343
- [4] 郑妍鹏, 莫金垣, 赖 蓉. 胶束电动毛细管色谱双通道电化学检测尼群地平 [J]. 化学学报, 2003, 61(1): 89- 94
- [5] 米振清, 刘 芹. HPLC 法测定尼群地平片的含量 [J]. 齐鲁药事, 2007, 26(2): 85- 86
- [6] CHEN Yong- fen, ROSENZWEIG Zeev. Luminescent CdS quantum dots as selective ion probes [J]. Anal Chem, 2002, 74(19): 5132- 5138
- [7] Kerim M, Gattas A sifra Roger M, et al Peptide- coated CdS quantum dot for the optical detection of copper and silver [J]. Chem comm, 2003 21: 2684- 2685
- [8] Jin- Long Chen, Chang- Qing Zhu. Functionalized cadmium sulfide quantum dots as fluorescence probe for silver ion determination [J]. Analytica Chimica Acta, 2005, 546: 147- 153
- [9] Mingming Liu, Li Xu, Weiqing Cheng et al Surface- modified CdS quantum dots as luminescent probes for sulfadiazine determination [J]. Spectrochimica Acta Part A, 2008, 70: 1198- 1202