• 研究论文 •

硅钨酸与盐酸巴马汀相互作用光谱研究及其分析应用

李华春^a 覃明丽^{a,b} 谭克俊^{*,a}

(^a 发光与实时分析教育部重点实验室 西南大学化学化工学院 重庆 400715)

(^b 南充农产品质量监测检验中心 南充 637000)

摘要 在pH为0.91的HCl-NaOAc缓冲介质中, 盐酸巴马汀与硅钨酸通过静电相互作用导致共振光散射信号显著增强, 最大散射波长为297 nm, 增强的散射信号强度与盐酸巴马汀浓度在0.09~3.2 $\mu\text{g/mL}$ 范围内呈线性关系, 据此建立了盐酸巴马汀的共振光散射分析方法, 检测限为9.1 ng/mL. 实验考察了pH、离子强度对体系的影响, 研究了体系紫外吸收光谱及荧光光谱, 讨论了共振光散射增强机理. 该方法用于黄藤素片、黄藤素胶囊及血清样品中盐酸巴马汀含量测定, RSD $\leq$ 4.2%.

关键词 共振光散射; 盐酸巴马汀; 硅钨酸

Study on Spectra of Interaction between Silicotungstic Acid and Palmatine Hydrochloride and Its Analysis Application

Li, Huachun^a Qin, Mingli^{a,b} Tan, Kejun^{*,a}

(^a Key Laboratory on Luminescence and Real-Time Analysis, Ministry of Education, College of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Chongqing 400715)

(^b Nanchong Municipal Monitoring and Testing Center for Agricultural Product Quality, Nanchong 637000)

Abstract A novel resonance light scattering (RLS) method for the determination of palmatine hydrochloride (PaH) has been developed based on the largely enhanced RLS signals at 297 nm due to the interaction between Silicotungstic acid (STA) and PaH by electrostatic force in the pH 0.91 HCl-NaOAc medium. The linear range of PaH is 0.09~3.2 $\mu\text{g/mL}$. The limit of detection (LOD) is 9.1 ng/mL. In this work, the effects of pH and ionic strength on interaction were investigated. At the same time, the UV spectra, the fluorescence spectra and the reaction mechanism of system were also investigated. This method has been applied successfully for the determination of PaH in pharmaceutical and blood serum samples with RSD $\leq$ 4.2%.

Keywords resonance light scattering; palmatine hydrochloride; silicotungstic acid

盐酸巴马汀(Palmatine Hydrochloride, PaH)又名黄藤素, 主要存在于防己科植物黄藤茎中, 是异喹啉类生物碱的一种^[1]. PaH能通过影响心肌细胞或肝细胞中 K^+ , Ca^{2+} 运输起到保肝作用^[2], 还能减轻由D-氨基半乳糖和脂多糖引起的肝损伤^[3], 具有抗HIV-1^[4]、抗白色念珠菌^[5]及抗肿瘤活性^[6]等药理作用. 常用于治疗妇科炎症、

胃炎及菌疾等症^[7]. 目前测定PaH的分析法主要有高效液相色谱法^[8]、毛细管电泳法^[9]、紫外分光光度法^[10]及荧光分析法^[11]. 硅钨酸(Silicotungstic acid, STA)为Keggin型无机杂多酸^[12], 分子式为 $\text{H}_4[\text{Si}(\text{W}_3\text{O}_{10})_4]$, 由于STA结构比磷钨酸稳定^[13], 价格便宜, 且含有多个负电荷, 已广泛用作有机合成催化剂^[14]、电化学信号增强

* E-mail: tankj@swu.edu.cn

Received September 30, 2011; revised December 3, 2011; accepted January 31, 2012.

Project was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 20877063) and the Large Instruments Open Foundation of Southwestern University (No. 201133).

国家自然科学基金(No. 20877063)和西南大学大型仪器设备开放基金(No. 201133)资助项目.

剂^[15]、荧光猝灭剂^[16]及沉淀剂^[17]等.

共振光散射(Resonance Light Scattering, RLS)技术因其灵敏、简单已在生化分析中广泛应用^[18]. 本实验基于 STA 与 PaH 通过静电相互作用导致 RLS 信号显著增强, 随着 PaH 浓度在一定范围内增加, RLS 信号强度(I_{RLS})呈线性变化, 建立了 PaH 的 RLS 测定方法. 实验研究了体系的 RLS 光谱、紫外吸收光谱、荧光光谱及最优反应条件, 并通过电子扫描显微镜(Scanning Electron Microscope, SEM)及动态光散射(Dynamic Light Scattering, DLS)等表征方法探讨了 RLS 增强机理. 所建立的 RLS 法成功用于黄藤素片、黄藤素胶囊以及血清样品中 PaH 含量测定, $\text{RSD} \leq 4.2\%$.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

F-2700 型荧光分光光度计(Hitachi), UV-3010 型紫外可见分光光度计(Hitachi), S-4800 扫描电子显微镜(Hitachi), Zetasizer-Nano ZS 型 Zeta 电位和粒度分析仪(Malvern), QL-901 型漩涡混合器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司).

PaH(中国生物药品鉴定 110732-200907, 生化试剂)配制成 1.0 mg/mL 的储备液置于 4 °C 冰箱避光保存, 用时稀释为 10.0 $\mu\text{g/mL}$ 标准溶液. 硅钨酸(天津科密欧化学试剂有限公司, 分析纯)配制成 2.0×10^{-4} mol/L 溶液备用. 取适量 1.0 mol/L HCl 和 1.0 mol/L NaOAc 配成不同酸度缓冲溶液待用. 实验用水均为 18.2 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 超纯水.

1.2 实验方法

在 10 mL 比色管中分别加入 pH 为 0.91 的 HCl-NaOAc 缓冲液 0.50 mL, 2.0×10^{-4} mol/L 的 STA 0.25 mL, 一定量 PaH 标准溶液, 定容至 5.0 mL, 每加入一种物质后均漩涡混匀, 于 F-2700 荧光分光光度计, 以 $\lambda_{\text{ex}} = \lambda_{\text{em}}$ 同步扫描得到体系 RLS 光谱.

2 结果与讨论

2.1 RLS 光谱特征

PaH 与 STA 相互作用的 RLS 光谱如图 1, 从图中可看出单独 STA 或 PaH 的 I_{RLS} 均较低, 当两者相互作用后 I_{RLS} 显著增强. 在 220~500 nm 波长范围内出现两个 RLS 峰, 分别位于 297 及 370 nm 处, 这可归因于 PaH 在 340 nm 处存在强吸收所致^[19]. 随着 PaH 浓度增加, 两波长处 I_{RLS} 均同步增强. 但 297 nm 处 RLS 信号相对稳定, 灵敏度高, 线性相关性好. 故本体系测定波长选择 297 nm.

图 1 RLS 光谱图

Figure 1 RLS spectra

$c(\text{PaH})$ (1~6): 1.2, 0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6 $\mu\text{g/mL}$; $c(\text{STA})$ (1): 0 $\mu\text{mol/L}$; $c(\text{STA})$ (2~6): 10.0 $\mu\text{mol/L}$; pH=0.91

2.2 机理探讨

2.2.1 RLS 光谱增强原因分析

图 1 显示 STA-PaH 相互作用体系 I_{RLS} 随着 PaH 浓度增加呈线性增强, 分析其原因可能有以下两方面.

(1) 共振增强效应

RLS 存在散射-吸收-再辐射出散射光的过程, 因此 RLS 与吸收光谱波长应存在一定对应关系. 从图 2 体系吸收光谱(a)及 RLS 光谱(b)图可看出 RLS 峰与吸收带存在较好对应关系, 产生了吸收与散射共振增强效应使体系 RLS 显著增强^[19].

图 2 吸收光谱(a)与 RLS 光谱(b)

Figure 2 Absorbance spectrum (a) and RLS spectrum (b)

pH=0.91; (a) $c(\text{STA})$: 0 $\mu\text{mol/L}$; $c(\text{PaH})$: 0.8 $\mu\text{g/mL}$; (b) $c(\text{STA})$: 10.0 $\mu\text{mol/L}$; $c(\text{PaH})$: 0.8 $\mu\text{g/mL}$

(2) 离子缔合物聚集体的形成

物质颗粒增大是散射信号增强的重要因素. 通过 SEM 及动态光散射(DLS)能直观观察体系中颗粒变化情况, 如图 3 所示. 从图中 a, b 体系 SEM 可得出只有

STA 时视野中几乎观察不到纳米颗粒, 当 PaH 与 STA 作用后可见纳米颗粒明显增大, 且形成了聚集体^[20]. 通过 DLS 测定体系水合直径变化(图 3c), 结果显示 STA 与 PaH 相互作用后水合粒径相对单独 STA 也显著增大. 物质颗粒对本体系 RLS 的影响主要有以下原因: (1) PaH 与 STA 通过静电相互作用形成疏水离子缔合物使体系 RLS 增强; (2) PaH 分子间存在 π - π 作用力, 在缔合物疏水情况下分子之间距离减小使 π - π 堆积作用力增强, 聚集成体积更大的疏水粒子缔合物聚集体能进一步使 RLS 增强.

图3 体系 SEM (a, b)及 DLS (c)图

Figure 3 SEM images (a, b) and DLS (c) of this system

(a) $c(\text{STA}): 10.0 \mu\text{mol/L}$; (b) $c(\text{STA}): 10.0 \mu\text{mol/L}$; $c(\text{PaH}): 1.5 \mu\text{g/mL}$; (c) $c(\text{STA}): 10.0 \mu\text{mol/L}$; pH 0.91

2.2.2 吸收及荧光光谱分析

(1) 吸收光谱分析

从图 4 体系吸收光谱可看出 PaH 在 272, 340 及 420 nm 处存在吸收, STA 在 262 nm 处有吸收, 当两者相互作用后, PaH 在 340, 420 nm 处吸收值降低, 这是由于两者相互作用形成离子缔合物的减色效应所致^[20]. 而 272 nm 处体系吸收值增大, 这可能是由于 PaH 与 STA 在 262 nm 处的吸收峰有部分重叠, 且两者相互作用有利于 PaH 分子中氮杂环上电子的 π - π^* 跃迁而导致 PaH 在 272 nm 处的吸收增强^[21].

(2) 荧光光谱分析

图 5 为体系荧光光谱图, 图中曲线 2 为 PaH 的荧光

图4 吸收光谱图

Figure 4 Absorbance spectrum

$c(\text{STA}): 10.0 \mu\text{mol/L}$; $c(\text{PaH}): 0.8 \mu\text{g/mL}$; pH 0.91

光谱. 当以 340 nm 激发时 PaH 在 538 nm 处出现荧光发射峰, 而 STA 的加入使 PaH 538 nm 处荧光峰发生猝灭(图 5, 1). 猝灭原因有以下两方面: (1) STA 与部分有机分子作用能发生能量转移使荧光猝灭^[16]; (2) PaH 分子间存在 π - π 堆积作用使缔合物间发生聚集, 聚集体的形成也能引起 PaH 分子自身荧光猝灭.

图5 荧光光谱图

Figure 5 Fluorescence spectra

(1) $c(\text{STA}): 10.0 \mu\text{mol/L}$; $c(\text{PaH}): 0.8 \mu\text{g/mL}$; pH 0.91; (2) $c(\text{PaH}): 0.8 \mu\text{g/mL}$; pH 0.91

2.3 条件优化

实验考察了 HCl-NaOAc, HOAc-NaOAc, 混酸-氢氧化钠三种不同缓冲环境对 RLS 光谱的影响. 其中 HCl-NaOAc 缓冲能稳定体系 2 h 以上且线性相关性较好, 因此选择 HCl-NaOAc 作为本体系缓冲溶液. 如图 6 所示 pH 在 0.91~3.95 范围内, I_{RLS} 变化不大, 且 STA 在 pH 0.5~5.5 时能稳定存在^[13], 为避免 Fe^{3+} , Al^{3+} , Cu^{2+} 等金属离子水解干扰测定, 选择 pH=0.91 的 HCl-NaOAc

为实验的缓冲液.

图6 酸度影响

Figure 6 Effect of acidity

$c(\text{STA}): 10.0 \mu\text{mol/L}$; $c(\text{PaH}): 1.0 \mu\text{g/mL}$; $\lambda: 297 \text{ nm}$

体系还考察了离子强度的影响. 随着 NaCl 浓度在 $0 \sim 0.2 \text{ mol/L}$ 范围内增大时, 空白散射强度($I_{0\text{RLS}}$)及样品 I_{RLS} 均增强. 但 10 min 后 ΔI_{RLS} ($I_{\text{RLS}} - I_{0\text{RLS}}$) 不断减小, 使得体系稳定性降低. 这是因为 STA 是 $1 \sim 5 \text{ nm}$ 大小的纳米结晶体, 一般以 $\text{Si}(\text{W}_3\text{O}_{10})_4^{4-}$ 的形式存在, 当遇到比 STA 小的相反电荷金属离子(如 Na^+)时, 多个 STA 共有一个金属离子, 导致 $I_{0\text{RLS}}$ 增大. 再与 PaH 作用聚集程度增大, 使样品 I_{RLS} 也增大^[12]. 对比图 3b 及图 7 中 SEM 图可知加入一定量 NaCl 溶液后体系聚集程度明显增大. 但随着时间延长, 大体积聚集体会发生沉降使样品 I_{RLS} 逐渐降低导致体系稳定性下降. 因此实验中不加入 NaCl 溶液调节离子强度.

图7 加入 NaCl 溶液后体系 SEM 图

Figure 7 SEM of this system after adding NaCl

$c(\text{STA}): 10.0 \mu\text{mol/L}$; $c(\text{PaH}): 1.0 \mu\text{g/mL}$; $c(\text{NaCl}): 1.5 \text{ mol/L}$; $\text{pH } 0.91$

2.4 体系分析参数及共存物质影响

2.4.1 体系分析参数

在优化的实验条件下选用 5.0 及 $10.0 \mu\text{g/mL}$ 的 STA 与 PaH 相互作用, 记录 297 nm 处 I_{RLS} , 相关分析参数数据如表 1. 从表中可看出 STA 浓度对测定 PaH 的检测限及线性范围都有一定影响. 随着 STA 浓度增大, 线性范围变宽, 但灵敏度降低.

2.4.2 共存物质影响

实验考察了常见金属阳离子、无机阴离子、药片赋形剂, 部分糖类及氨基酸等共存物质的影响. 结果如表 2, 可看出除淀粉外其它都有较大共存浓度, 由于药片及胶囊中淀粉含量远低于 PaH 含量, 因此在 PaH 实际样品测定中不干扰.

2.5 实际样品测定

2.5.1 黄藤素片及黄藤素胶囊中 PaH 含量测定

准确称取 20 片黄藤素片, 充分研细后称取 48.5 mg ; 准确称取 20 粒黄藤素胶囊, 充分混匀后称取 65.7 mg . 分别溶解定容到 100 mL 容量瓶中, 用 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜过滤, 均得到 0.40 mg/mL 实际样储备液. 各取适量稀释得到 $10.0 \mu\text{g/mL}$ 黄藤素片溶液及 $10.0 \mu\text{g/mL}$ 黄藤素胶囊溶液备用. 按照本方法测得黄藤素片及黄藤素胶囊中 PaH 含量, 结果见表 3, 同时用药典方法^[22]做对照. 实验结果表明本方法测定结果与药典方法(HPLC)测定结果无显著差异.

2.5.2 血清样品中 PaH 含量测定

取两份 1.0 mL 健康成人血清样品(西南大学校医院提供)于 1.5 mL EP 管中, 加入适量 2.0 mol/L 三氯乙酸使蛋白质完全沉淀, 离心 10 min , 取上清液稀释 10 倍后于沸水浴加热 5.0 min , 冷却至室温, 过滤备用. 测定结果如表 4, 随着加标浓度的增大, 两组血清样品的加标回收率平均值分别为 96.7% 、 92.6% , $\text{RSD} \leq 3.8\%$. 可看出当加入的 PaH 浓度较小时, 其平均回收率接近 100% .

3 结论

基于 STA 与 PaH 通过静电相互作用形成疏水离子缔合物导致 RLS 显著增强, 建立了测定 PaH 的 RLS 新方法. 结果显示本方法简便, 快速, 灵敏, 可用于黄藤素片、黄藤素胶囊及血清样品中 PaH 含量的测定.

表1 分析参数

Table 1 Parameter of analytical method

STA/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	Equation of linear regression/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	Linear range/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	Correlation r	LOD/ $(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$
5.0	$\Delta I = 4150.7c - 151.6$	$0.05 \sim 2.0$	0.9940	4.8
10.0	$\Delta I = 3174.2c - 87.53$	$0.09 \sim 3.2$	0.9965	9.1

表 2 共存物质影响
Table 2 Effect of coexisting substances

Coexisting substance	Concentration/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Relative error/%	Coexisting substance	Concentration/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Relative error/%
K^+ (Cl^-)	1000	-7.5	果糖	1000	-2.7
Mg^{2+} (Cl^-)	1000	-7.6	蔗糖	1000	-0.5
Al^{3+} (Cl^-)	1000	-1.9	乳糖	1000	7.9
Ca^{2+} (Cl^-)	1000	-2.7	麦芽糖	1000	-4.3
Na^+ (Cl^-)	1000	8.7	葡萄糖	800	4.6
Zn^{2+} (Cl^-)	500	1.7	色氨酸	20	-5.8
Fe^{3+} (Cl^-)	15	-2.3	谷氨酸	20	-0.5
Cu^{2+} (SO_4^{2-})	100	0.6	组氨酸	20	6.9
CO_3^{2-} (Na^+)	300	-9.0	蛋氨酸	20	-6.6
PVC^- (Na^+)	300	-8.7	亮氨酸	20	6.6
NO_3^- (Na^+)	300	7.0	脯氨酸	20	0.5
PO_4^{3-} (Na^+)	500	3.0	缬氨酸	20	-5.0
H_2PO_4^- (Na^+)	500	8.1	酪氨酸	20	4.8
淀粉	5	-3.3	异亮氨酸	20	7.6
糊精	100	7.9	天冬氨酸	20	1.8

$c(\text{STA})$: 10.0 $\mu\text{mol/L}$; $c(\text{PaH})$: 1.0 $\mu\text{g/mL}$; pH 0.91; λ : 297 nm.

表 3 药片及胶囊中 PaH 含量测定
Table 3 Results for the determination of PaH in tablets and capsule

Sample	Label claim/($\text{g}\cdot\text{piece}^{-1}$)	Average found/($\text{g}\cdot\text{piece}^{-1}$)	RSD ($n=5$)	HPLC ^a /($\text{g}\cdot\text{piece}^{-1}$)
胶囊 ^b	0.30	0.2826	4.2	0.2931
		0.2873	4.0	0.2863
药片 ^c	0.10	0.1049	1.8	0.0977
		0.0996	0.2	0.0976

^a 药典方法; ^b 重庆康刻尔制药有限公司; ^c 昆明龙恩制药有限公司.

表 4 血清样品中 PaH 的测定结果
Table 4 Results for the determination of PaH in blood serum

Sample	Added/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Average found/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Average recovery/%	RSD ($n=5$)
1 ^a	1.00	0.967	96.7	3.8
2 ^a	1.40	1.296	92.6	2.3

^a 表示用本实验方法直接测定处理后的血清样品 RLS 信号无明显变化, 且血清为未服用盐酸巴马汀的正常成人, 即实际测得值为 0 $\mu\text{g/mL}$.

References

- Küpel, E.; Kosar, M.; Yesilada, E.; Hüsnü, K.; Baser, C. *Life Sci.* **2002**, 72, 645.
- Wang, F.; Zhou, H.-Y.; Cheng, L.; Zhao, G.; Zhou, J.; Fu, L.-Y.; Yao, W.-X. *World J. Gastroenterol.* **2003**, 9, 329.
- Lee, W. C.; Kima, J. K.; Kang, J. W.; Oh, W. Y.; Jung, J. Y.; Kimb, Y. S.; Jung, H. A.; Choi, J. S.; Lee, S. M. *Food Chem. Toxicol.* **2010**, 48, 222.
- Yang, L.-M.; Wang, R.-R.; Li, J.-J.; Li, N.-S.; Zheng, Y.-T. *Chin. J. Nat. Med.* **2007**, 5, 225 (in Chinese).
(杨柳萌, 王睿睿, 李晶晶, 李耐三, 郑永唐, 中国天然药物, **2007**, 5, 225.)
- Kong, W.-J.; Zhao, Y.-L.; Wang, J.-B.; Xiao, X.-H.; Li, Z.-L.; Jin, C.; Dai, C.-M. *Acta Chim. Sinica* **2009**, 67, 2511 (in Chinese).
(孔维军, 赵艳玲, 王伽伯, 肖小河, 李祖伦, 金城, 代春美, 化学学报, **2009**, 67, 2511.)
- Tanga, J.; Feng, Y.; Tsao, S.; Wang, N.; Curtaind, R.; Wang, Y.-W. *J. Ethnopharmacol.* **2009**, 126, 5.
- Kim, Y. M.; Yu, M. H.; Jin, Y. C.; Shi, L. Y.; Lee, Y. S.; Kim, H. J.; Seo, H. G.; Choi, J. S.; Kime, Y. S.; Kang, S. S.; Lee, J. H.; Chang, K. C. *Food Chem. Toxicol.* **2009**, 47, 2097.
- (a) Zhao, J.; Yan, W. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2005**, 38, 571.
(b) Huang, J.-M.; Wang, G.-Q.; Jin, Y.-E.; Shen, T.; Weng, W. *J. Chromatogr. B* **2007**, 854, 279.

- 9 Chen, Y. R.; Wen, K. C.; Her, G. R. *J. Chromatogr. A* **2000**, 866, 273.
- 10 Zhou, M.; Yang, X.-L.; Cheng, Z.-T. *Chin. J. Synth. Chem.* **2001**, 9, 379 (in Chinese).
(周敏, 杨秀兰, 成中太, 合成化学, **2001**, 9, 379.)
- 11 (a) Wang, Y.-Q.; Zhang, H.-M.; Zhang, G.-C. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2006**, 41, 1041.
(b) Li, C.; Li, J.; Jia, X. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 2699.
(c) Li, C.; Xu, Q.; Li, J.; Jia, X. *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **2009**, 64, 37.
- 12 Wang, E.-B. *Introduction to Polyacid Chemical*, Chemical Industry Press, Beijing, **1998**, pp. 14~15 (in Chinese).
(王恩波, 多酸化学导论, 化学工业出版社, 北京, **1998**, pp. 14~15.)
- 13 Yang, L.-B. *Ph.D. Dissertation*, Anhui University, Hefei, **2007** (in Chinese).
(杨良保, 博士论文, 安徽大学, 合肥, **2007**.)
- 14 Nguyen, T. V.; Kim, K. J.; Yang, O. B. *J. Photochem. Photobiol., A: Chem.* **2005**, 173, 56.
- 15 (a) Yang, G.-X.; Chen, T.-T.; Tang, Y.-W.; Lu, T.-H. *Acta Phys.-Chim. Sin.* **2009**, 25, 2450 (in Chinese).
(杨改秀, 陈婷婷, 唐亚文, 陆天虹, 物理化学学报, **2009**, 25, 2450.)
(b) Kishore, P. S.; Viswanathan, B.; Varadarajan, T. K. *J. Phys. Chem. C* **2009**, 113, 12918.
(c) Maiyalagan, T. *Int. J. Hydrogen Energy* **2009**, 34, 2874.
- 16 Wang, Y.-Q.; Zhang, H.-M.; Zhang, G.-C.; Tao, W.-H.; Fei, Z.-H.; Liu, Z.-T. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2007**, 43, 1869.
- 17 (a) Tsuji, S.; Alameddine, H. S. *Histochemistry* **1981**, 73, 33.
(b) Canaes, L. S.; Leite, O. D.; FatibelloFilho, O. *Talanta* **2006**, 69, 239.
(c) Ge, M.; Zhong, B.; Klemperer, W. G.; Gewirth, A. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 5812.
- 18 (a) Huang, C.-Z.; Li, Y.-F. *Anal. Chim. Acta* **2003**, 500, 105.
(b) Ling, J.; Huang, C.-Z.; Li, Y.-F.; Long, Y.-F.; Liao, Q.-G. *Appl. Spectrosc. Rev.* **2007**, 42, 177.
- 19 Yguerabide, J.; Yguerabide, E. E. *Anal. Biochem.* **1998**, 262, 137.
- 20 Tang, X.-L.; Liu, Z.-F.; Liu, S.-P.; Hu, X.-L. *Sci. China, Ser. B* **2007**, 37, 68 (in Chinese).
(唐晓玲, 刘忠芳, 刘绍璞, 胡小莉, 中国科学 B 辑, **2007**, 37, 68.)
- 21 Wang, Y.-Q.; Zhang, H.-M.; Zhang, G.-C. *Chin. J. Inorg. Chem.* **2005**, 22, 895 (in Chinese).
(王彦卿, 张红梅, 张根成, 无机化学学报, **2005**, 22, 895.)
- 22 State Pharmacopoeia Commission, *Republic of China Pharmacopoeia*, 1st ed., China Medicine and Technology Press, **2010**, pp. 288~289 (in Chinese).
(国家药典编委会, 中华人民共和国药典, 中国医药科技出版社, **2010**, pp. 288~289.)

(A1109301 Zhao, C.)