

呋塞米-Pd(Ⅱ)-碱性三苯甲烷染料反应体系的 吸收光谱及分析应用

李翠侠 刘绍璞 刘忠芳 胡小莉*

(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)

摘 要 在 pH 为 5.0~7.6 的 Britton-Robinson(BR)缓冲溶液中,呋塞米(FUR)与 Pd(Ⅱ)形成摩尔比 1:1 的配合物,进一步与乙基紫(EV)、结晶紫(CV)、甲基紫(MV)、亮绿(BG)、甲基绿(MeG)等碱性三苯甲烷染料(BTPMD)作用形成 1:1 的离子缔合物时,染料发生褪色反应,褪色波长分别位于 595 nm(EV、CV 体系)、580 nm(MV 体系)、615 nm(BG 体系)和 630 nm(MeG 体系),FUR 浓度在 $2.0 \times 10^{-7} \sim 4.0 \times 10^{-6}$ g/mL(EV 体系)、 $3.0 \times 10^{-7} \sim 8.0 \times 10^{-6}$ g/mL(CV 体系)、 $4.0 \times 10^{-7} \sim 4.0 \times 10^{-6}$ g/mL(MV 体系)、 $4.0 \times 10^{-7} \sim 7.0 \times 10^{-6}$ g/mL(BG 体系)、 $1.2 \times 10^{-6} \sim 8.0 \times 10^{-6}$ g/mL(MeG 体系)范围内与褪色波长处的吸光度变化值呈良好的线性关系,摩尔吸光系数(ϵ)根据染料的不同在 $0.57 \times 10^4 \sim 3.40 \times 10^4$ L/(mol·cm)之间,灵敏度最高的 EV 体系的检出限(3σ)为 6.0×10^{-8} g/mL,据此建立一种测定呋塞米的新分光光度法。研究了适宜的反应条件、分析化学性质和共存物质的影响,用于尿样中呋塞米的含量测定,回收率在 96.0%~106.8%之间。

关键词 Pd(Ⅱ),呋塞米,三苯甲烷染料,分光光度法

中图分类号:O657.3

文献标识码:A

文章编号:1000-0518(2010)10-1215-06

DOI:10.3724/SP.J.1095.2010.90831

呋塞米((2-[(2-呋喃甲基)氨基]-5-氨磺酰基)-4-氯苯甲酸,FUR)为强效利尿药,临床上用于治疗充血性心力衰竭、肝硬化和肾疾病引起的水肿等。呋塞米的利尿作用存在明显的剂量-效应关系,随着剂量加大,利尿效果增强,同时毒副作用也增大。为更加安全有效地使用呋塞米,临床上需要对其尿药浓度进行监测^[1-3]。同时,由于它也是兴奋剂的一种,主要用于举重、拳击等涉及重量级别项目中减轻运动员的体重,因此,国际奥委会也越来越重视对它的监测^[4]。自 1962 年发现呋塞米以来,对它的分析检测手段得到较大发展^[5]。目前,测定呋塞米主要方法有滴定法^[6]、分光光度法^[7-10]、高效液相色谱法^[11]和化学发光法^[12-13]等。其中分光光度法由于操作简便、快速、仪器廉价、灵敏度较高的优点而得到较多的应用。Agatonović-Kuštrin 等^[7]报道,在离子强度为 0.2 mol/L KCl 的溶液中,呋塞米与 PdCl₂形成最大吸收峰为 527 nm 的红色配合物,摩尔吸光系数(ϵ)为 1.86×10^2 L/(mol·cm),检出限为 8.41×10^{-6} g/mL;利用过渡金属离子 Cu²⁺和 Fe³⁺与呋塞米形成有色配合物测定 FUR 的光度法也有报道^[9-10],但灵敏度均不够高,其检出限在 $2.3 \times 10^{-7} \sim 3.0 \times 10^{-5}$ g/mL 之间;Shah 等^[8]将 FUR 进行重氮化反应,利用生成物在 480 nm 波长有最大吸收值间接测定 FUR, ϵ 为 1.0×10^4 L/(mol·cm),不足之处是操作步骤较为繁琐。因此进一步研究灵敏度高和操作简便的分光光度法具有重要的意义。

文献^[13]研究发现,在近中性的 BR 缓冲溶液中,FUR 与 Pd(Ⅱ)形成具有六元环结构的螯合物,进一步与碱性三苯甲烷染料(BTPMD)通过离子缔合作用形成三元离子缔合物,导致溶液吸收光谱发生明显变化,染料发生褪色作用,最大褪色峰分别位于 580 nm(MV 体系)、595 nm(EV、CV 体系)、615 nm(BG 体系)、630 nm(MeG 体系)。在各自的最大褪色波长处,溶液吸光度的变化(ΔA)与 FUR 浓度成正比,由此发展了测定呋塞米的分光光度新方法。在实验的 5 种染料中,乙基紫褪色作用最为明显,其余

依次是结晶紫、甲基紫、亮绿和甲基绿。其中 EV、CV、MV 体系的摩尔吸光系数在 $3.40 \times 10^4 \sim 1.87 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ 之间,比文献^[7]报道的 FUR-Pd(II) 二元体系分光光度法测定 FUR 高出两个数量级(二元体系的 ε 仅为 $1.86 \times 10^2 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$),由此表明,用三元离子缔合物体系分光光度法更适合痕量 FUR 的高灵敏测定。本文研究了上述几种反应体系的光谱特征、适宜的反应条件和影响因素,并以灵敏度最高的乙基紫体系为例,研究了表面活性剂及共存物质的影响。用于实际样品中呋塞米的测定,结果满意。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

UV 8500 型分光光度计(上海天美公司);PHS-3C 型精密 pH 计(上海精密科学仪器有限公司)。呋塞米(Furosemide, FUR, 西南药业股份有限公司)标准溶液: $2.0 \times 10^{-5} \text{ g/mL}$ 。甲基紫(Methyl Violet, MV, 上海标本模型厂)溶液浓度为 $8.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$;乙基紫(Ethyl Violet, EV, 中国医药公司北京采购供应站)、结晶紫(Crystal Violet, CV, 崇明县裕西试剂厂)、亮绿(Brilliant Green, BG, 上海试剂工厂)和甲基绿(Methyl Green, MeG, 上海化学试剂公司分厂, Chroma 进口分装)溶液浓度均为 $5.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 。PdCl₂(上海试剂一厂)溶液:配置成 $2.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 的储备液,使用时稀释至 $2.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 作为工作液。BR 缓冲溶液:用 $0.040 \text{ mol/L H}_3\text{PO}_4$ 、 H_3BO_3 和 CH_3COOH 与 0.20 mol/L NaOH 溶液按一定比例混合,配成不同 pH 值的缓冲溶液,用酸度计测定其 pH 值。以上试剂均为分析纯,实验用水为二次蒸馏水。

1.2 实验方法

在 10.0 mL 比色管中,依次加入 1.0 mL pH=6.1 的 BR 缓冲溶液、 1.0 mL 染料溶液、 2.0 mL PdCl₂ 溶液和适量的呋塞米标准溶液,用蒸馏水稀释至刻度,摇匀。静置 20 min 后,以水或试剂空白(A_0)为参比,于 $200 \sim 700 \text{ nm}$ 波长范围扫描,并在各自的最大褪色波长以 1 cm 液池测量吸光度 A , $\Delta A = A - A_0$ 。

2 结果与讨论

2.1 光谱特征

按照上述实验方法,分别研究了呋塞米与 Pd(II) 及 5 种染料的褪色反应。结果表明,染料在各自

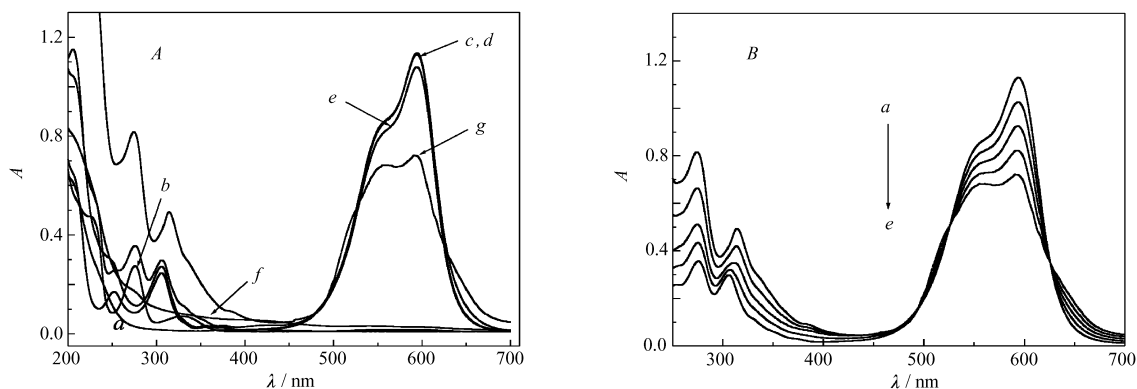


图 1 FUR-Pd(II)-EV 体系的吸收光谱

Fig. 1 Absorption spectra of FUR-Pd(II)-EV system

A: a. Pd(II); b. FUR; c. EV; d. Pd(II)-EV; e. EV-FUR; f. Pd(II)-FUR; g. FUR-Pd(II)-EV;
 $c(\text{Pd(II)}) = 4.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$; $c(\text{EV}) = 5.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$; $c(\text{FUR}) = 4.0 \times 10^{-6} \text{ g/mL}$; pH=6.1
 B: $10^6 c(\text{FUR})/(\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$: a. 0.0; b. 1.0; c. 2.0; d. 3.0; e. 4.0;
 $c(\text{EV}) = 5.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$; $c(\text{Pd(II)}) = 4.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$; pH=6.1

最大吸收峰附近均出现明显的褪色现象,实验选取乙基紫体系为例来讨论。FUR-Pd(II)-EV 反应体系的吸收光谱图(以水作参比)如图 1A 所示。由图 1A 可知,乙基紫的最大吸收波长位于 595 nm, FUR 在可见区几乎没有吸收,仅在紫外区有 3 个吸收峰,依次为 228、276 和 330 nm 处(ε 分别为 3.96×10^4 、 2.27×10^4 和 5.65×10^3 L/(mol·cm)),当呋塞米与 Pd(II)形成螯合物后使其在 276 nm 处的吸收峰变弱,当螯合物进一步与乙基紫反应形成三元离子缔合物后,可以观察到乙基紫溶液在 595 nm 处吸光度值明显降低,并且此处吸光度的变化与呋塞米浓度在一定范围内呈良好的线性关系如图 1B 所示(以水作参比)。摩尔吸光系数(ε)为 3.40×10^4 L/(mol·cm),对呋塞米的检出限(3σ)为 6.0×10^{-8} g/mL,灵敏度高于其它分光光度法^[7~10]。

2.2 反应条件的优化

2.2.1 溶液 pH 值的影响 分别考察了盐酸-柠檬酸钠、HAc-NaAc、BR 缓冲溶液对缔合反应的影响。结果表明,BR 效果最好。不同 pH 值的缓冲溶液对体系吸光度的影响如图 2 所示。从图 2 可知,反应体系适宜的 pH 值范围分别是 5.0~7.5(EV 体系)、5.7~7.5(CV、MV 和 MeG 体系)、5.7~6.5(BG 体系),实验选用 pH=6.1 的缓冲溶液作反应介质,用量以 1.0 mL 为宜。

2.2.2 Pd(II)浓度的影响 考察了 Pd(II)浓度对体系 ΔA 值的影响。结果表明,对于不同的染料体系,适宜的 Pd(II)浓度范围为 1.6×10^{-5} ~ 6.4×10^{-5} mol/L,大于或小于此范围, $-\Delta A$ 均降低。本文选用 Pd(II)浓度为 4.0×10^{-5} mol/L。

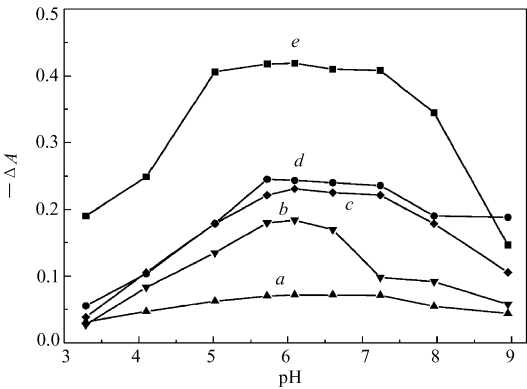


图 2 pH 值对吸光度的影响

Fig. 2 Effects of pH values on absorbance

a. FUR-Pd(II)-MeG; b. FUR-Pd(II)-BG;
c. FUR-Pd(II)-MV; d. FUR-Pd(II)-CV; e. FUR-Pd(II)-EV;
 $c(\text{Pd(II)}) = 4.0 \times 10^{-5}$ mol/L; $c(\text{MV}) = 8.0 \times 10^{-5}$ mol/L;
 $c(\text{EV, CV, BG and MeG}) = 5.0 \times 10^{-5}$ mol/L;
 $c(\text{FUR}) = 4.0 \times 10^{-6}$ g/mL

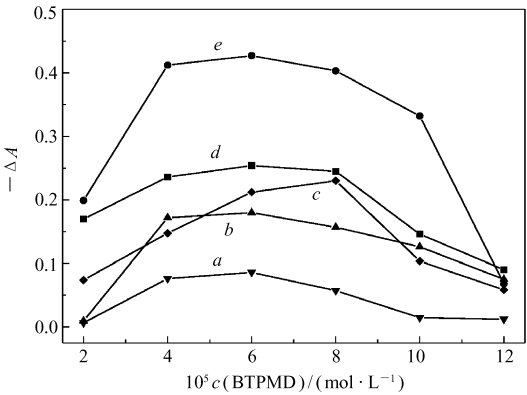


图 3 BTPMD 浓度对吸光度的影响

Fig. 3 Effects of BTPMD concentrations on absorbance

a. FUR-Pd(II)-MeG; b. FUR-Pd(II)-BG;
c. FUR-Pd(II)-MV; d. FUR-Pd(II)-CV;
e. FUR-Pd(II)-EV;
 $c(\text{Pd(II)}) = 4.0 \times 10^{-5}$ mol/L;
 $c(\text{FUR}) = 4.0 \times 10^{-6}$ g/mL; pH=6.1

2.2.3 染料用量的影响 考察了染料用量的影响,如图 3 所示。从图 3 可以看出,适宜的染料浓度为 4.0×10^{-5} ~ 9.0×10^{-5} mol/L,在此条件下离子缔合物的吸光度($-\Delta A$)值达到最大且稳定,而浓度过低或过高均导致其强度降低。染料浓度过低,结合反应不完全, ($-\Delta A$) 值降低;染料浓度过大,则由于染料自身的聚集作用而影响离子缔合物的形成从而导致 ($-\Delta A$) 值降低。实验选用染料浓度为 8.0×10^{-5} mol/L(MV 体系), 5.0×10^{-5} mol/L(EV、CV、BG 和 MeG 体系)。

2.2.4 反应时间和缔合物的稳定性 室温下,考察了 5 个体系的反应时间,表明反应均在 5 min 内完成,稳定时间在 2 h 以上,本文选择在 15 min 进行测定。

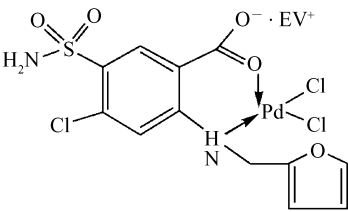
2.2.5 表面活性剂的影响 实验了多种表面活性剂对反应体系的影响。结果表明,非离子表面活性剂(如 Triton X-100、Tween-20、Triton X-100、乳化剂 OP、PVA-124 等)基本无增敏作用,而阳离子表面活性剂(如氯化十四烷基苄基二甲基铵,溴代十四烷吡啶等)及阴离子表面活性剂(十二烷基硫酸钠、十二烷基

基硫酸钠等)的加入,导致体系的吸光度差值降低,说明带电荷的阴、阳离子表面活性剂将对 Pd(Ⅱ)与呋塞米的离子缔合反应产生竞争作用,因此本实验选择不加表面活性剂。

2.3 三元离子络合物的形成

以乙基紫体系为例,研究了呋塞米与 Pd(Ⅱ)与乙基紫的反应,用摩尔比法和等摩尔连续变化法测定了三元离子缔合物的组成比,结果表明, $n(\text{FUR}):n(\text{Pd(Ⅱ)}):n(\text{EV})=1:1:1$ 。

由于呋塞米的 $\text{p}K_{\text{a}}$ 为 3.22^[13],在近中性的 BR 缓冲介质中, $\text{pH} > \text{p}K_{\text{a}}$ 时,呋塞米分子中羧基氢原子离解而带上一个单位负电荷,它可与 Pd(Ⅱ)配位形成具有六元环结构的螯合阴离子 $[\text{FUR} \cdot \text{PdCl}_2]^-$ 。此时,乙基紫、结晶紫、甲基紫、亮绿和甲基绿等三苯甲烷染料以正一价阳离子型体存在,它们借静电引力和疏水作用力进一步形成三元离子缔合物, $\text{Pd(Ⅱ)}\text{-FUR-EV}$ 体系离子缔合物的结构如 Scheme 1 所示。



Scheme 1 Structure of ion-association complex

2.4 标准曲线

在最佳实验条件下,测定了不同浓度呋塞米与染料及 Pd(Ⅱ)反应后的吸光度,并对不同浓度的呋塞米作线性回归。标准曲线、回归方程、相关系数、线性范围及摩尔吸光系数等参数列于表 1 中。5 种体系中以乙基紫体系灵敏度最高,其 ϵ 达 $3.40 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$,检出限(3σ)为 $6.0 \times 10^{-8} \text{ g/mL}$,适用于痕量呋塞米的测定。

表 1 标准曲线的线性范围、相关系数和检出限

Table 1 Linear ranges, correlation coefficients and detection limits for standard curves

System	λ/nm	10^6 Linear regression equation/ ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	Correlation coefficient (r)	10^6 Linear range/ ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	Molar absorptivity $\epsilon/(\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$
FUR-Pd(Ⅱ)-EV	595	$-\Delta A = 0.004 + 0.1029c$	0.9992	0.2 ~ 4.0	3.40×10^4
FUR-Pd(Ⅱ)-CV	595	$-\Delta A = -0.001 + 0.0610c$	0.9999	0.3 ~ 8.0	2.02×10^4
FUR-Pd(Ⅱ)-MV	580	$-\Delta A = 0.002 + 0.0565c$	0.9950	0.4 ~ 4.0	1.87×10^4
FUR-Pd(Ⅱ)-BG	615	$-\Delta A = -0.003 + 0.0465c$	0.9993	0.4 ~ 7.0	1.54×10^4
FUR-Pd(Ⅱ)-MeG	630	$-\Delta A = 0.002 + 0.0173c$	0.9997	1.2 ~ 8.0	0.57×10^4

2.5 方法的选择性与分析应用

2.5.1 共存物质的影响 以 FUR-Pd(Ⅱ)-EV 体系为例探讨共存离子的影响。按实验方法考察了 20 余种共存物质的影响,结果列于表 2 中。从表 2 可以看出,常见的无机盐类、糖类、氨基酸、淀粉、乙醇、甲醇等物质对测定均有较高的允许量。但 Fe^{3+} 对体系的干扰较大,可加入 0.01 mol/L EDTA 3.0 mL 掩蔽, Fe^{3+} 的允许量提高至 $100.0 \times 10^{-6} \text{ g/mL}$,表明方法具有较好的选择性。

表 2 共存物质对测定的影响

Table 2 Effects of coexisting substances ($c(\text{FUR}) = 4.0 \times 10^{-6} \text{ g/mL}$) on determination

Coexisting substance	$10^6 c(\text{substance})/$ ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	Relative error/%	Coexisting substance	$10^6 c(\text{substance})/$ ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	Relative error/%
Glucose	300	-2.5	Methanol	120	-3.6
Lactose	200	-4.5	$\text{Al}^{3+}, \text{Cl}^-$	100	-1.1

续表 2

Coexisting substance	$10^6 c(\text{substance})/(\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	Relative error/%	Coexisting substance	$10^6 c(\text{substance})/(\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	Relative error/%
Sucrose	80	-5.0	$\text{NH}_4^+, \text{NO}_3^-$	400	1.6
Starch	130	0.7	$\text{K}^+, \text{H}_2\text{PO}_4^-$	200	1.4
L-Arginine	60	-3.4	$\text{Mn}^{2+}, \text{SO}_4^{2-}$	50	-0.1
L-Phenylalanine	100	-4.5	$\text{Cd}^{2+}, \text{Cl}^-$	50	-3.4
DL-Arginine	40	-3.4	$\text{Na}^+, \text{SO}_4^{2-}$	710	-5.0
Threonine	100	3.4	$\text{Pb}^{2+}, \text{Ac}^-$	200	5.0
Uric acid	100	1.0	$\text{Mg}^{2+}, \text{SO}_4^{2-}$	150	5.1
Carbamide	336	1.6	$\text{K}^+, \text{Al}^{3+}, \text{SO}_4^{2-}$	100	0.2
HSA	25	-5.0	$\text{Zn}^{2+}, \text{Ac}^-$	100	4.0
Potassium sodium tartrate	400	-1.4	$\text{Cu}^{2+}, \text{SO}_4^{2-}$	160	3.8
$\text{Pb}^{2+}, \text{NO}_3^-$	120	2.0	Na^+, Cl^-	585	2.6
Ethanol	157	1.2	$\text{Fe}^{3+}, \text{SO}_4^{2-}$	100	2.2

2.5.2 分析应用 取正常人新鲜尿样和服用 2 片呋塞米(20 mg/tablet)后的尿样各 4.0 mL 于比色管中,依次加入 1.0 mL 缓冲溶液、1.0 mL 乙基紫溶液和 2.0 mL PdCl₂溶液,定容至 10.0 mL,摇匀。平行测定 5 次,并用标准加入法检查了方法的回收率,结果见表 3。从表 3 可以看出,方法用于尿样中呋塞米的测定,具有较好的重复性和较高的准确度,相对标准偏差 0.5%~2.1%,回收率 96.0%~106.8%。可用于快速、准确检测尿样中呋塞米的含量。

表 3 人尿样中呋塞米的测定结果
Table 3 Determination results of FUR in urine samples

Samples	$10^6 c(\text{Found(FUR in samples)})/(\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})(n=5)$	$10^6 c(\text{Added FUR})/(\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})(n=5)$	$10^6 \text{Found value}/(\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	Recovery/% ($n=5$)	RSD/%
1	ND	2.0	1.94,1.90,1.97,1.94,2.01	97.8	2.1
2	ND	4.0	4.02,4.00,3.95,4.05,4.08	100.5	1.2
1 ^a	2.80	0.5	3.34,3.31,3.35,3.32,3.35	106.8	0.5
2 ^b	2.10	0.5	2.59,2.55,2.56,2.58,2.62	96.0	1.1

ND;not detected; a and b. fresh urine samples were taken 2 and 3 h after the patient having the FUR respectively.

参 考 文 献

1 Luszcikia J J,Sawicka K M,Kozinska J,Borowicz K K,Czuczwar S J. *Epilepsy Res*[J],2007,**76**:66
2 Wong S G W,Card J W,Racz W J. *Toxicol Lett*[J],2000,**116**:171
3 Mahesh B,Yim B,Robson D,Pillai R,Ratnatunga C,Pigott D. *Eur J Cardio-Thorac*[J],2008,**33**:370
4 Qin Yang(秦旻),ZHU Shao-Tang(朱绍棠),ZHANG Chang-Jiu(张长久). *J Instrum Anal*(分析测试学报)[J],2001,**20**(2):82
5 Boscha M E,Sánchez A J R,Rojas F S,Ojeda C B. *J Pharm Biomed Anal*[J],2008,**48**:519
6 Kulichenko S A,Fesenko S A. *J Anal Chem*[J],2002,**57**(3):231
7 Agatonović-Kuštrin S,Živanović L J,Raduiović D,Pećanac D. *J Pharm Biomed Anal*[J],1990,**8**:983
8 Shah J,Jan M R,Khan M A. *J Chin Chem Soc*[J],2005,**52**:347
9 Gölcü A. *J Anal Chem*[J],2006,**61**:748
10 Zivanović L J,Agatonović S,Radulović D. *Mikrochim Acta*[J],1990,**100**:49
11 EL-Saharty Y S. *J Pharm Biomed Anal*[J],2003,**33**(24):699
12 Rao Y,Zhang X R ,Luo G A,Willy R G B. *J Anal Chim Acta*[J],1999,**396**:273
13 Devarakonda B,Otto D P,Judefeind A,Hill R A,Villiers M M D. *Int J Pharm*[J],2007,**345**:142

Absorption Spectra and Applications of FUR-Pd(II)-Triphenylmethane Dye Systems

LI Cui-Xia, LIU Shao-Pu, LIU Zhong-Fang, HU Xiao-Li*

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

Abstract In a pH 5.0 ~ 7.6 Britton-Robinson (BR) buffer medium, furosemide (FUR) reacted with Pd (II) to form a 1:1 anionic chelate, which further reacted with some basic triphenylmethane dyes (BTPMD) such as ethyl violet (EV), crystal violet (CV), methyl violet (MV), methyl green (MeG), and brilliant green (BG) to form 1:1 ionic complexes. The absorption spectra of the dyes were changed and fading peak are 595 nm for EV and CV systems, 580 nm for MV system, 615 nm for BG system and 630 nm for MeG system. There was an linearity between the concentrations of FUR and ΔA of the solutions at the maximum fading peaks. The quantitative determination ranges of five the triphenylmethane dyes were $2.0 \times 10^{-7} \sim 4.0 \times 10^{-6}$ g/mL for EV system, $3.0 \times 10^{-7} \sim 8.0 \times 10^{-6}$ g/mL for CV system, $4.0 \times 10^{-7} \sim 4.0 \times 10^{-6}$ g/mL for MV system, $4.0 \times 10^{-7} \sim 7.0 \times 10^{-6}$ g/mL for BG system and $1.2 \times 10^{-6} \sim 8.0 \times 10^{-6}$ g/mL for MeG system. Depending on the different dyes systems, the molar absorption coefficients (ε) of different systems were between $0.57 \times 10^4 \sim 3.40 \times 10^4$ L/(mol·cm) and the detection limit (3ε) was 6.0×10^{-8} g/mL. A new spectrophotometry for the determination of FUR was set up based on above results. In the five systems, the optimal conditions of the reactions and the effects of external substances were investigated, the method has been applied to the determination of FUR in urine samples with satisfactory results. The mean recoveries ranged from 96.0% to 106.8%.

Keywords palladium (II), furosemide, triphenylmethane dyes, spectrophotometry