

紫外分光光度法测定背景未知的复方制剂组分*

郭寅龙 相秉仁 安登魁

(中国药科大学药物分析研究室, 南京 210009)

摘要 本文利用目标转换因子分析中具有使纯组分光谱可向自身逼近的性质, 提出了一种迭代目标转换因子分析算法, 用于寻找未知背景光谱。通过在复方扑热息痛注射液分析中的应用, 扑热息痛和安替比林的平均回收率均为 100.0%, 变异系数分别为 1.1% 和 1.0%, 结果表明本法为含有未知背景的多组分体系的紫外分光光度分析提供了可行的途径。

关键词 迭代目标转换因子分析; 扑热息痛; 安替比林; 分光光度法

随着计算机在分析工作中应用的日益普及, 不经分离直接测定、通过数学方法得到各组分含量的方法层出不穷, 如最小二乘法、P-矩阵法、偏最小二乘法、卡尔曼滤波法等。但在实际工作中, 由于多组分混合体系的背景成分往往是未知的, 故背景难以确定, 以上的方法就无能为力。多年来, 有关此方面已有较多的研究, 胡鑫尧等⁽¹⁾将任何组分的光谱曲线看作若干个单峰光谱的组合, 利用此性质结合主成分分析有效地解决了完全未知的多组分混合体系的定性分析。Spjøtvoll 等⁽²⁾提出了一种限制最小二乘算法, 并用于两种未知混合体系的光谱和浓度估计。Gampp 等⁽³⁻⁶⁾使用一种迭代扩展因子分析的方法计算未知组分存在下的多元混合体系的平衡常数。Kowalski 等也做了大量工作, 他们利用自模拟曲线分辨法校正多元混合体系未知背景的干扰⁽⁷⁾, 分析两个未知组分且未经分离的混合物的 GC-MS 数据⁽⁸⁾, 并用迭代的通用标准品加入法⁽⁹⁾分析含有未知背景的多元混合体系。但以上方法仅能找到各纯组分波谱的可行解域, 不能确定唯一解。本文利用目标转换因子分析中具有使纯组分光谱可向自身逐步逼近的性质^(6,10,11), 提出了一种光谱的迭代目标转换因子分析法, 用于寻找未知背景光谱, 通过在复方扑热息痛注射液分析中的应用, 得到了满意结果。

原 理

据 Beer-Lambert 定律和加和性原理, 多组分混合体系在 m 个波长点处的吸收值可表示为 N 个已知组分的吸收和 T 个未知组分的吸收的和:

$$r_l = \sum_{i=1}^N c_i k_{il} + \sum_{j=1}^T c_j k_{jl} \quad \forall l = 1, 2, \dots, m \quad (1)$$

这里, c_i, c_j 分别为已知组分和未知组分的浓度, k_{il}, k_{jl} 分别为已知组分和未知组分的吸收系数。将所有未知组分吸收作为背景看成一个组分, (1)式可写为:

$$r_l = \sum_{i=1}^N c_i k_{il} + c_0 k_{0l} \quad \forall l = 1, 2, \dots, m \quad (2)$$

c_0, k_{0l} 分别为背景的浓度和模拟吸收系数。为实现目标转换因子分析, 利用已知 N 个组分吸收系数和混合物的吸收值组成数据矩阵:

本文于 1990 年 3 月 15 日收到。

* 本课题系国家自然科学基金资助项目。

$$A = \begin{bmatrix} k_{11} & k_{12} \cdots k_{1n} \\ k_{21} & k_{22} \cdots k_{2n} \\ \dots & \dots \dots \dots \\ k_{N1} & k_{N2} \cdots k_{Nn} \\ r_1 & r_2 \cdots r_1 \end{bmatrix} \quad (1 > N + 1) \quad (3)$$

据(2)式, 矩阵 A 可写为:

$$A = CK = \begin{bmatrix} 1 & & & & \\ & \dots & & & \\ & & \dots & & \\ & & & \dots & \\ c_1 & c_2 & \dots & c_N & c_0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} k_{11} & k_{12} \cdots k_{1n} \\ k_{21} & k_{22} \cdots k_{2n} \\ \dots & \dots \dots \dots \\ k_{N1} & k_{N2} \cdots k_{Nn} \\ k_{01} & k_{02} \cdots k_{0n} \end{bmatrix} \quad (4)$$

此处 $c_1, c_2, \dots, c_N, c_0$ 分别为混合物中各组分的浓度。用下述方法对矩阵 A 进行归一化:

$$\begin{aligned} x_i &= \sum_{j=1}^1 a_{ij}^2 & \left(\begin{array}{l} V \ i = 1, 2, \dots, n, n+1 \\ V \ j = 1, 2, \dots, 1 \end{array} \right) \\ a_{ij} &= a_{ij} / \sqrt{x_i} \end{aligned} \quad (5)$$

然后用 NIPALS 法⁽¹²⁾将矩阵 A 分解为两个矩阵:

$$A = TB \quad (6)$$

其中矩阵 B 为 $(N+1) \times l$ 行正交矩阵, 由矩阵 $(A^T A)$ 的非零特征值的特征向量组成。显然, 当体系不存在未知背景干扰时, 矩阵 A, T, B 的秩为 N, 否则, 矩阵 A, T, B 的秩为 $N+1$, 即矩阵 A 行线性无关。

对照(4)和(5)式得:

$$CK = A = TB = TQ^{-1}QB \quad (7)$$

令 $Q = KB^T$, 这里 Q 为变换矩阵。因为 $CQ = T$ (满秩), 所以 Q 是满秩方阵。则:

$$C = TQ^{-1} \quad (8)$$

所以由已知吸收系数矩阵即可求出各组分的浓度。

但是未知背景的光谱事先无任何信息, 有报道⁽¹³⁾可用已知光谱作为检验矢量, 选择匹配的物质作为背景干扰组分。由于实际工作中, 背景干扰往往比较复杂, 并非仅有一种物质组成, 故不宜采用检索的方法。本文利用目标转换因子分析中正交矩阵 B 具有使纯组分光谱向自身逐步逼近的性质, 采用迭代算法计算背景光谱。先取一初始背景光谱 \vec{k}_0 作为检验矢量, 计算出预示矢量 \vec{k}_0^* 。

$$\vec{q}_0 = \vec{k}_0 B^T \quad (9)$$

$$\vec{k}_0^* = \vec{q}_0 B \quad (10)$$

用 \vec{k}_0 取代 \vec{k}_0^* , 将所有小于零的元素赋为零(因为任何物质的光谱都为正吸收), 且按下式进行归一化:

$$\vec{k}_0 / \sqrt{\vec{k}_0^T \vec{k}_0} \Rightarrow \vec{k}_0 \quad (11)$$

然后返回(9)和(10)式计算出新的预示矢量, 如此循环直至 $\|\vec{k}_0^* - \vec{k}_0\|$ 小于给定的域值(本文取 10^{-25}), 终止迭代。此时, 预示矢量即可表示背景干扰的光谱, 代入(8)式即可求出各组分的含量。

背景光谱初始值的选择是本法的关键, 这需要包含背景光谱的基本信息, 而已知组分光

谱的影响应尽量扣除, 这样迭代结果必朝背景光谱自身收敛, 否则估计背景光谱必会包含待测的已知组分的信息, 致使已知组分含量的计算值下降。为解决这一问题, 本文使用由 N 个已知组分光谱矢量构成的直交投影算子 $P^{(14)}$ 来解决这一问题。

$$P = I - X(X^T X)^{-1} X^T \quad (12)$$

这里 I 为单位矩阵, X 由 N 列已知光谱矢量组成。用投影算子 P 对待测混合物的光谱矢量 r 进行投影运算, 得:

$$\begin{aligned} \vec{r} &= P \vec{r} \\ &= P (c_1 \vec{k}_1 + c_2 \vec{k}_2 + \dots + c_N \vec{k}_N + c_0 \vec{k}_0) \\ &= c_1 P \vec{k}_1 + c_2 P \vec{k}_2 + \dots + c_N P \vec{k}_N + c_0 P \vec{k}_0 \\ &= c_0 P \vec{k}_0 \end{aligned} \quad (13)$$

因此, P 的作用相当于将混合物的光谱矢量 r 向由已知组分光谱构成的 N 维线性空间的正交补空间即背景组分构成的子空间的投影。显然混合物光谱的投影矢量 \vec{r} 包含背景的基本信息, 而不包含已知组分的信息, 可作为背景光谱的初始矢量。当 \vec{r} 接近零时, 表示无干扰组分存在, 否则即表示有干扰组分存在。

实验部分

一. 仪器与药品

Shimadzu UV-260 可见紫外分光光度计; IBM PC/XT 微型计算机。

扑热息痛、安替比林均为合格原料药。

二. 吸收光谱曲线的绘制和样品稳定性考察

以水为溶剂, 按处方配比分别配制扑热息痛、安替比林和附加剂的供试液, 以及共存组分供试液, 从 300 ~ 200 nm 测定紫外吸收光谱, 见图 1。其中附加剂的量按比例增加了 5 倍。

混合溶液每隔 1h 测定一次, 其稳定性试验表明至少在 10 h 内稳定。

三. 回收率试验

以水为溶剂, 分别配制每毫升含扑热息痛 50 μ g、安替比林 62.3 μ g 和附加剂的三种储备液。

用已校正过的滴定管分别精密放取两种主要组分储备液 18 ~ 22 ml 至 100 ml 量瓶中, 再加相应的不同量的附加剂储备液, 加水至刻度, 共配制 16 份各组分比例不同的混合溶液, 以水为空白, 从 260 ~ 230 nm, 间隔 0.5 nm 测定各波长处的吸收度, 输入微机, 使用本法运算。扑热息痛和安替比林的平均回收率均为 100.0%, 变异系数分别为 1.1% 和 1.0% (表 1)。

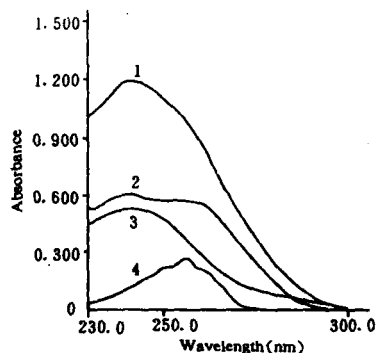


Fig 1. UV absorption spectra. 1. Paracetamol, antipyrine and other components; 2. Antipyrine; 3. Paracetamol; 4. Other components.

Tab 1. Recovery of two components contained in compound injection of paracetamol

No.	Paracetamol			Antipyrine		
	Added (mg)	Found (mg)	Recovery (%)	Added (mg)	Found (mg)	Recovery (%)
1	44.70	44.91	100.5	56.70	55.25	99.2
2	44.85	44.69	99.6	59.74	60.24	100.8
3	46.14	46.36	100.5	65.99	65.75	99.6
4	48.39	48.38	100.0	69.70	69.41	99.6
5	52.44	52.09	99.3	66.40	66.41	100.0
6	55.46	54.71	98.6	61.60	62.69	101.8
7	54.62	54.35	99.5	59.24	59.58	100.5
8	44.90	45.17	100.6	66.59	66.72	100.2
9	47.38	47.73	100.7	56.60	56.56	99.9
10	47.45	48.19	101.6	60.02	59.33	98.8
11	47.38	45.94	97.0	63.35	63.77	100.7
12	47.40	47.20	99.6	66.34	67.55	101.8
13	49.88	50.26	100.8	57.71	57.01	99.1
14	49.88	50.30	100.8	59.74	59.56	99.7
15	49.81	50.23	100.8	63.20	62.33	98.6
16	52.31	52.53	100.4	69.20	68.78	99.4
Mean recovery (%)			100.0	100.0		
CV (%)			1.1	1.0		

讨 论

一. 复方扑热息痛注射液中的附加剂在紫外区有一定的吸收, 由于附加剂中苯甲醇在放置过程中易被氧化, 故背景光谱的组成较为复杂。尽管背景物质的吸收不大, 但对分析结果仍有一定的影响, 为提高分析结果的准确性, 必须给予应有的考虑。表 1 的结果表明, 本法为克服此类背景的干扰提供了可行的途径。

二. 当未知组分吸收很小时, 使用自模拟曲线分辨法计算出的未知组分分解域过宽, 而本法可以给出低于实验误差的背景光谱解。为了提高干扰背景光谱的计算精度, 应尽量拓宽测量范围, 减小测定间隔, 以提供更多的信息。

三. 本法不仅可以用于复方合成药品的分析, 更重要的是由于中药其干扰组分往往非常复杂, 直接采用基于最小二乘原理的一系列方法, 常难获得满意结果, 故本法也为中药中有效成分的测定及植物化学研究增添了一个新的有力工具。

参 考 文 献

1. 胡鑫尧, 等. 完全未知混合物的计算机分离和鉴定. 科学通报 1985; (5): 398.
2. Spjøtvoll E. et al. Restricted least squares estimation of the spectra and concentration of two unknown constituents available in mixture. *Technometrics* 1982; 24: 173.
3. Gampp H. et al. Calculation of equilibrium constants from multiwavelength spectroscopic I. *Talanta* 1985; 32: 95.
4. Gampp H. et al. Calculation of equilibrium constants from multiwavelength spectroscopic II. *Ibid* 1985; 32: 257.

5. Gampp H. et al. Calculation of equilibrium constants from multiwavelength spectroscopic III. *Ibid* 1985; 32: 1133.
6. Gampp H. et al. Calculation of equilibrium constants from multiwavelength spectroscopic IV. *Ibid* 1986; 33: 943.
7. Osten DW and Kowalski BR. Background detection and correction in multicomponent analysis. *Anal Chem* 1985; 57: 908.
8. Sharaf MA and Kowalski BR. Extraction of individual mass spectra from gas chromatography-mass spectrometry data of unseparated mixtures. *Ibid* 1981; 53: 518.
9. Saxberg BEH and Kowalski BR. Generalized standard addition method. *Ibid* 1979; 51: 1031.
10. Lorber A. Validation of hypothesis on a data matrix by target factor analysis. *Ibid* 1984; 56: 1004.
11. Maeder M. Evolving factor analysis for the resolution of overlapping chromatographic peaks. *Ibid* 1987; 59: 527.
12. Vandeginste BGM, et al. The NIPALS algorithm for the calculation of the principle components of a matrix. *Trends Anal Chem* 1988; 7: 286.
13. Malinowski ER, et al. *Factor Analysis in Chemistry*. 1st ed. New York: Wiley, 1980: 50.
14. 南京大学数学系计算数学专业. 线性代数. 第一版. 北京: 科学出版社, 1978: 92.

DETERMINATION OF COMPOUND PREPARATION CONTAINING UNKNOWN ABSORPTIVE BACKGROUND BY UV SPECTROPHOTOMETRY

YL Guo, BR Xiang and DK An

(Department of Pharmaceutical Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009)

ABSTRACT A novel algorithm of target factor analysis has been developed for detection and correction of unknown absorptive background in multicomponent analysis. The algorithm is based on the property that the estimated spectra can gradually approach the true ones by iterative refinements. Paracetamol and antipyrine contained in compound injection of paracetamol were determined by this method without any preliminary chemical separation. The average recoveries were both 100.0% and the coefficients of variation were 1.1% and 1.0% respectively. The results clearly indicate that the proposed method may also provide a new approach to the analysis of traditional Chinese medicine containing some unknown absorptive components.

Key words Iterative target factor analysis; Paracetamol; Antipyrine; Spectrophotometry