

差示—线性组合导数光谱法 测定扑咳灵片中扑尔敏和溴化丙胺太林

林黎明 张乃吉* 王焕玉

(潍坊市药品检验所, 潍坊 261041; 山东省药品检验所, 济南 250012)

摘要 本文提出了差示—线性组合导数光谱法用于测定混合组分体系的基本原理和实验方法。并试用本法消除了扑尔敏、溴化丙胺太林、灵芝粉及附加剂之间的相互干扰, 从而分别测定了扑咳灵片中扑尔敏和溴化丙胺太林的含量, 其平均回收率分别为 $100.2 \pm 1.49\%$ (CV) 和 $99.89 \pm 1.03\%$ (CV)。其精密度、准确度均好。

关键词 差示—线性组合导数光谱法; 扑咳灵片; 扑尔敏; 溴化丙胺太林

扑咳灵片是一种国产中西药结合的复方制剂, 对治疗急慢性支气管炎有较好疗效。该片剂由扑尔敏、溴化丙胺太林和灵芝粉另加适量辅料配比组成。由于多组分共存, 相互干扰, 其吸收光谱严重重叠, 且西药主药为低含量成分, 难以选择适当波长进行直接测定。采取提取分离的方法⁽¹⁾则操作较繁, 消耗大量有机试剂, 且误差较大, 尤其不适宜生产企业的快速质量控制。实验表明: 单纯用导数光谱也无法排除三组分以上成分的相互干扰。本文提出用差示—导数光谱—数学解析相结合的方法, 可以变换导数光谱图形使其较为特征; 并从中解析出与待测成分相关的定量信息, 从而排除了各成分之间的严重干扰, 使各待测成分的定量信息的不确定性完全消失, 获得了较大信息容量。

原 理

在光谱测定中, 设组分间线性无关, 并符合 Beer 定律。

设: 组分分别为 M, N, Q 的混合体系, 在分别为 R, L 的两种不同的 pH 介质体系 (或两种不同的化学反应体系) 中, 所形成的反应物分别为: MR, NR, QR 及 ML, NL 和 QL。如果以某一体系反应物为参比液, 另一体系反应物为测定液, 则可得三组分差示吸收光谱, 其各组分的吸收度差值分别为: $\Delta A_M = A_{MR} - A_{ML}$; $\Delta A_N = A_{NR} - A_{NL}$; $\Delta A_Q = A_{QR} - A_{QL}$ 。

此时, 可分为三种情况:

一. 在一定波长范围内, 其中某成分的 ΔA 值等于零 (或其差示光谱为一条直线), 则可消除一种组分 (如 Q) 的影响, 转化为两组分溶液的同时测定。

二. 在一定波长范围内, 其中某一成分的差示光谱为一次函数, 则可用一阶导数消除一种组分 (如 Q) 的影响。如为二次函数, 则可用二阶导数消除⁽²⁾。从而转化为两组分溶液的重叠的导数光谱的解析。

三. 对于仍然重叠的二组分差示导数光谱, 设其光谱特点如图 1 所示。

设在波长 $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ 处二组分溶液中待测组分和干扰组分的差示导数值分别为 $D_{M1}, D_{M2}, D_{M3}, D_{N1}, D_{N2}, D_{N3}$ 。如果选择 D_{N1}, D_{N3} 绝对值相等而符号相反处的波长 λ_1, λ_3 , 则 $D_{N1} + D_{N3} = 0$; 而波长 λ_2 处为干扰组分的零交点即 $D_{N2} = 0$, 故干扰成分在此三波长处的组合值(代数和) $D_{N1} + D_{N2} + D_{N3} = 0$, 而待测成分在此三波长处的线性组合值 $\Delta D_M = D_{M1} + D_{M2} + D_{M3}$ 仍与待测浓度成线性关系。对于类似于图 1 所示的重叠导数光谱而言, 由于 D_{M1}, D_{M2}, D_{M3} 符号相同, 故绝对值增大。同理, 选择 D_{N1}, D_{N3} 绝对值相等符号也相等, 而待测成分导数值 D_{M1}, D_{M3} 符号相反的波长组合, 实行差减组合, 也可获相同效果。

综上所述可总结出解析此类导数光谱特点的数学模型:

(一) 选择适当波长组合 λ_i , 使 $\sum_{i=1}^m \frac{d\varepsilon_{Ni}}{d\lambda_i} = 0$, 则:

$$\Delta D_M = \left(\sum_{i=1}^m \frac{d\varepsilon_{Mi}}{d\lambda_i} \right) \cdot C_M \cdot L$$

(二) 选择测定波长组合 λ_i 和参比波长组合 λ_j , 使 $\sum_{i=1}^m \frac{d\varepsilon_{Ni}}{d\lambda_i} - \sum_{j=1}^n \frac{d\varepsilon_{Nj}}{d\lambda_j} = 0$, 则:

$$\Delta D_M = \left[\sum_{i=1}^m \frac{d\varepsilon_{Mi}}{d\lambda_i} - \sum_{j=1}^n \frac{d\varepsilon_{Nj}}{d\lambda_j} \right] \cdot C_M \cdot L$$

(三) 如在待测成分特征峰测定波长处, 无法选择干扰成分的等导数值时, 则可选择测定波

长组合 λ_i (可 1~3 点) 参比波长组合 (1~2 点) 使 $\sum_{i=1}^m D_{Ni} / \sum_{j=1}^n D_{Nj} = K$, 即: $\left[\sum_{i=1}^m \frac{d\varepsilon_{Ni}}{d\lambda_i} - \right.$

$$\left. K \cdot \sum_{j=1}^n \frac{d\varepsilon_{Nj}}{d\lambda_j} \right] = 0, \text{ 则: } \Delta D_M = \left[\sum_{i=1}^m \frac{d\varepsilon_{Mi}}{d\lambda_i} - K \cdot \sum_{j=1}^n \frac{d\varepsilon_{Nj}}{d\lambda_j} \right] \cdot C_M \cdot L$$

以上各式中 $\frac{d\varepsilon}{d\lambda}$ 为吸收系数导数值, ($i=1, 2, \dots, m$) ($j=1, 2, \dots, n$) K 为校正系数,

因此, $\Delta D_M \propto C_M$ 。也即消除了 N 组分的影响。

如果将干扰组分轮换当成待测组分, 并通过适当选择不同的反应体系 R, L 以及选择适当的波长组合, 可进行二组分乃至三组分混合物的同时测定。

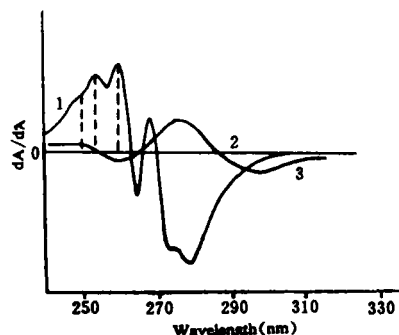


Fig 1. Differential - first derivative spectrum. Reference solution: water; Measured solution: 0.2 mol/L H_2SO_4 . 1. Chlorphenamine (8.00 $\mu g/ml$); 2. Proprantheline bromide (39.52 $\mu g/ml$); 3. *Ganoderma lucidum* powder (502.80 $\mu g/ml$).

实验部分

一. 仪器与试剂

岛津 UV-210A 型分光光度计 DES-2 型导数附件。扑尔敏、溴化丙胺太林 山东省

药品检验所提供, 均符合药典规定; 灵芝粉 莱阳制药厂; 硫酸 AR, 潍坊市化工四厂。

二. 实验条件的选择

(一) 吸收光谱的绘制

以水为溶剂, 按扑尔敏片剂处方比例, 配制各组分的溶液及相应浓度的混合液, 分别从 400 ~ 200 nm 进行扫描, 其紫外吸收图谱见图 2, 其一阶导数光谱见图 3。由图可见, 按现有方法均无法对扑尔敏和溴化丙胺太林选择定量依据。

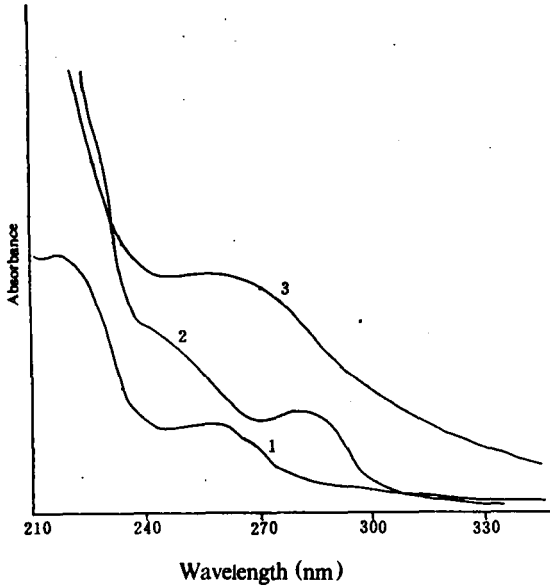


Fig 2. Absorption spectrum of chlorphenamine, propantheline bromide, and *Ganoderma lucidum* powder in water. 1. Chlorphenamine (9.36 $\mu\text{g/ml}$); 2. Propantheline bromide (35.76 $\mu\text{g/ml}$); 3. *Ganoderma lucidum* powder (522.1 $\mu\text{g/ml}$).

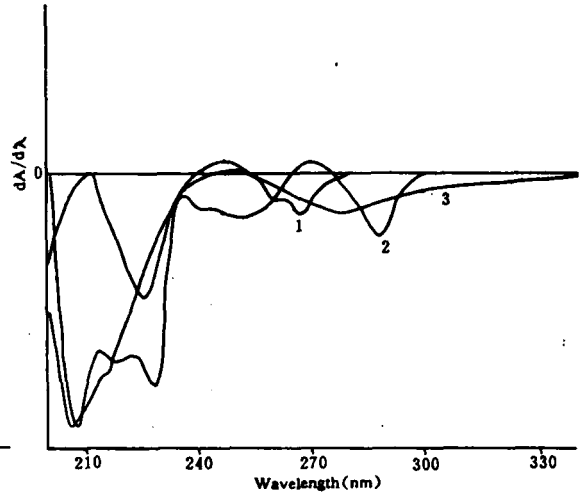


Fig 3. First derivative spectrum of chlorphenamine, propantheline bromide and *Ganoderma lucidum* powder in water. 1. Chlorphenamine (9.36 $\mu\text{g/ml}$); 2. Propantheline bromide (35.76 $\mu\text{g/ml}$); 3. *Ganoderma lucidum* powder (522.1 $\mu\text{g/ml}$).

(二) 扑尔敏测定条件

用差示—线性组合导数光谱法对扑尔敏进行测定。用相同浓度的水溶液作为参比液, 酸溶液用 0.2 mol/L 硫酸稀释样品作为测定液, 分别对各组分溶液进行一阶导数扫描, 得差示—一阶导数光谱见图 1。

1. 稳定性试验 其差示—一阶导数光谱分别间隔 2, 4, 8 h 进行观察, 基本未发生变化。
2. 波长间隔($\Delta\lambda$)的选择 $\Delta\lambda = 2 \text{ nm}$, 其导数光谱峰形较为特征, 符合测量要求。
3. 测定波长组合的选择 由图 1 可见, 通过差示—一阶导数光谱, 基本排除了辅料、糖衣色素及溴化丙胺太林的干扰, 但灵芝粉溶液与扑尔敏溶液的差示导数光谱仍然互相重叠。配制高、中、低三种浓度的灵芝粉溶液, 绘制水—酸差示—一阶导数光谱, 选择灵芝粉导数值(绝对值)相等(符号相反)的两点作为波长 λ_1 和 λ_3 ; 其“零点”为 λ_2 。以此三波长组合作为扑尔敏测定波长分别为 λ_1 250 nm; λ_2 254 nm; λ_3 260 nm。此时, 灵芝粉的线性组合导数值 $\Delta D^{\text{导}} = D_{\lambda_1}^{\text{导}} + D_{\lambda_2}^{\text{导}} + D_{\lambda_3}^{\text{导}} = 0$ 。以 $\Delta D^{\text{扑}} = D_{\lambda_1}^{\text{扑}} + D_{\lambda_2}^{\text{扑}} + D_{\lambda_3}^{\text{扑}}$ 作为定量信息, 可排除灵芝粉的干扰。

4. 其它条件 扫描区间 350 ~ 230 nm, 狭缝为 1 nm, 量程范围为 $\pm 2 \text{ abs} \times 5$; 扫描速度:

100 nm/min.

(三) 溴化丙胺太林测定条件

溴化丙胺太林在水中易溶, 以水溶液为参比液, 以碱溶液(0.2 mol/L NaOH 溶液稀释样品)为测定液, 按处方比例配制各组分相应溶液。绘制差示一阶导数光谱见图 4。

1. 稳定性试验 各组分差示导数光谱在 8h 内基本稳定。

2. 波长间隔 ($\Delta\lambda$) $\Delta\lambda = 2$ nm.

3. 测定波长组合的确定 由图 4 可见, 通过差示一阶导数光谱, 辅料、糖衣色素、扑尔敏的导数光谱基本与基线重合而被排除。灵芝粉溶液导数光谱仍与溴化丙胺太林相互重叠。配制高中低三种浓度灵芝粉溶液, 绘制水—碱差示一阶导数光谱, 选择其导数值(绝对值)相等(符号相反)而对溴化丙胺太林而言又有极值的两点作为波长 λ_1 和 λ_2 。以此二波长组合作为溴化丙胺太林测定波长, 分别为 λ_1 260 nm; λ_2 292 nm。此时灵芝粉的线性组合导数值 $\Delta D^{\text{灵}} = D_{\lambda_1}^{\text{灵}} + D_{\lambda_2}^{\text{灵}} = 0$, 以溴化丙胺太林的线性组合值, $\Delta D^{\text{溴}} = D_{\lambda_1}^{\text{溴}} + D_{\lambda_2}^{\text{溴}}$ 作为定量信息, 可排除灵芝粉的干扰。

4. 其它条件 同扑尔敏测定条件。

三. 线性试验

(一) 扑尔敏浓度与 ΔD 的线性关系 精密称取扑尔敏对照品约 5 mg, 置 50 ml 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 作为贮备液。精密量取以上贮备液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 ml 各两份, 分别置 25 ml 量瓶中, 一份用水稀释, 一份用 0.2 mol/L 硫酸溶液稀释至刻度后摇匀。用稀释液为空白作一基线。取上述各对应浓度溶液, 水溶液放入参比池, 酸溶液放入样品池, 作一阶导数扫描。测量 λ_1 250 nm, λ_2 254 nm, λ_3 260 nm 波长处的导数值, 按线性组合值 $\Delta D^{\text{扑}} = D_{\lambda_1}^{\text{扑}} + D_{\lambda_2}^{\text{扑}} + D_{\lambda_3}^{\text{扑}}$ 计算 $\Delta D^{\text{扑}}$ 。其回归方程为: $\Delta D = 0.8105 C - 0.073$, $r = 0.9997$ 。

(二) 溴化丙胺太林浓度与 ΔD 的线性关系 精密称取溴化丙胺太林对照品约 20 mg, 置 50 ml 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 作为贮备液。同上吸取贮备液, 分别置 25 ml 量瓶中, 一份用水稀释, 一份用 0.2 mol/L NaOH 溶液稀释至刻度后同上作一阶导数扫描, 测量 λ_1 260 nm, λ_2 292 nm 处的导数值, 按 $\Delta D^{\text{溴}} = D_{\lambda_1}^{\text{溴}} + D_{\lambda_2}^{\text{溴}}$ 计算线性组合值 $\Delta D^{\text{溴}}$, 其回归方程为: $\Delta D = 0.1384 C - 0.0217$, $r = 0.9999$ 。

四. 回收率测定

(一) 扑尔敏

按扑咳灵片处方(每片含扑尔敏 2 mg, 溴化丙胺太林 7.5 mg, 灵芝粉 100 mg, 辅料适量)制备模拟片。精密称取上述模拟片粉末适量(约相当于含扑尔敏 5 mg), 置 50 ml 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀。精密量取 2.0, 3.0, 4.0 ml 各两份, 分别置 25 ml 量瓶中, 一份用水稀释至刻度, 一份用 0.2 mol/L H_2SO_4 溶液稀释至刻度, 摇匀。按上述线性试验项下操作, 作一阶导数光谱扫描, 测量 λ_1 250 nm, λ_2 254 nm, λ_3 260 nm 波长处导数值, 计算线性组合值 $\Delta D^{\text{扑}}$, 用回归方程计算回收率, 结果见表 1。

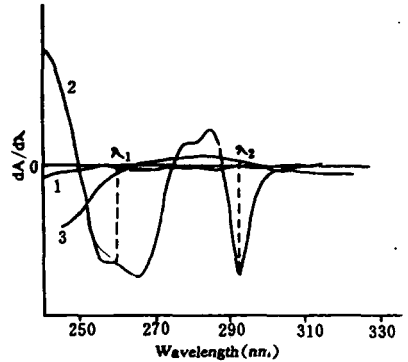


Fig 4. Differential - first derivative spectrum. Reference solution: water; Measured solution: 0.2 mol/L NaOH. 1. Chlorphenamine (8.00 $\mu\text{g/ml}$); 2. Proprantheline bromide (39.52 $\mu\text{g/ml}$); 3. *Ganoderma lucidum* powder (502.80 $\mu\text{g/ml}$).

(二) 溴化丙胺太林

精密称取上述模拟片粉末适量 (约相当于含溴化丙胺太林 20 mg), 置 50 ml 量瓶中, 同上进行一阶导数光谱扫描, 测量 λ_1 260 nm 及 λ_2 292 nm 处导数值, 计算线性组合值 ΔD , 用回归方程计算回收率, 结果见表 1。

Tab 1. Recoveries of chlorphenamine and propantheline bromide in laboratory prepared tablets

NO.	Chlorphenamine			Propantheline bromide		
	Added ($\mu\text{g/ml}$)	Found ($\mu\text{g/ml}$)	Recovery (%)	Added ($\mu\text{g/ml}$)	Found ($\mu\text{g/ml}$)	Recovery (%)
1	8.00	7.97	99.58	39.52	39.88	100.9
2	8.00	8.02	100.3	39.52	39.07	98.87
3	8.00	7.94	99.21	39.52	39.95	101.1
4	12.00	12.00	100.0	59.16	59.01	99.75
5	12.00	12.44	103.7	59.16	59.08	99.87
6	12.00	12.10	100.9	59.16	59.92	101.3
7	16.00	15.80	98.75	79.04	78.71	99.58
8	16.00	16.03	100.2	79.04	77.90	98.56
9	16.00	15.84	98.97	79.04	79.12	100.1
Mean recovery	100.2 \pm 1.49% (CV)			99.89 \pm 1.03% (CV)		

四. 样品测定

取市售扑咳灵片 20 片, 精密称定, 研细。精密称取适量 (约相当于含扑尔敏 5 mg), 置 50 ml 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀。干燥滤纸过滤。精密吸取续滤液 2 ml 三份分别置 25 ml 量瓶中, 一份加水, 一份加 0.2 mol/L H_2SO_4 溶液, 一份加 0.2 mol/L NaOH 溶液, 稀释至刻度后摇匀。分别按回收率试验项下方法测定扑尔敏和溴化丙胺太林的含量。结果见表 2。

Tab 2. Results of sample analysis

Batch No.	Labelled content (%)	
	Chlorphenamine	Propantheline bromide
881009	101.5	99.00
881023	96.74	99.62
881102	100.9	96.14
881007	100.9	99.80

讨 论

本文通过递阶处理的方法, 拟寻求一种可供选择的解决两组分乃至三组分混合体系的重叠导数光谱的新的解析法。经实验证实通过适当选择参比—测定反应体系和最佳波长组合, 该法不仅能有效的提高选择性、灵敏度和精密度, 而且还能使定量信息明显增多, 并能进行同时测定。在实践上具有更大的适应性。

信息科学的观点认为: 信息是使体系的不确定性减小的测度。分析化学即是从样品中获得定性或定量等信息的过程⁽³⁾。显然, 如果我们以一定方式从分析体系内获取信息, 并使其不确定性完全消失, 则信息量最大。当性能指标一定时, 系统问题的复杂性可能被分解或转

移⁽⁴⁾。基于以上思路,本文提出了差示—导数光谱—数学解析分时处理,多法并行的递阶处理方法。

以上提到的每一次处理(下称一阶)都将对最终目标带来信息增益,即所得到的一定的信息容量。如果以 T 表示单一(一阶)处理方法的信息容量, V 表示方法的阶次, J 表示达到多组分定量测定目标时的信息指标。我们可用公式 $T \times V \geq C(J)$ 来表示信息指标和递阶次数的关系。其含义可理解为当测定信息数目受限时,可增加处理次数进行补偿,使单一方法的信息容量和处理方法的阶次的乘积大于或等于一个与该系统中测定信息指标 J 有关的常数 C 。实验表明该方法从理论上是符合信息论的一般原理的。

对于分析化学而言,信息容量除选择性指标外,还应包含精密性、准确度、灵敏度、检出限等参量。本文用 Louderback⁽⁵⁾ 推荐的分析系数(coefficient of analysis, CA) 从精密性与准确度两方面,将本法与常规方法⁽¹⁾进行了对比,通过对模拟片中标准加入的扑尔敏用两法各测定 7 次,其回收率结果,用公式 $CA = 100 - \sqrt{(CB)^2 + (CV)^2}$ 进行统计处理,式中 CB 为偏差系数, CV 为变异系数, CA 是一种既反映偶然误差,也可反映系统误差的单一参量,其大小直接受 CV, CB 的影响,只有当 CV, CB 等于 0 时, CA 才能最大。其结果:本法和文献法的分析系数分别为 99.30 和 98.50; 检测限分别为 0.96 和 1.65 $\mu\text{g/ml}$ 。

统计分析结果表明,本法明显优于常规方法。

本法具有以下特点:

由于参比池与样品池中含有相同浓度的供试物,为测定提供了近似理想的参比溶液;通过递阶处理的方法使选择性进一步增强;由于噪音是一随机函数,通过加减组合而变小,而信号没有随机性,所以通过线性组合可改善信噪比;如果选择适当的波长组合,可使表观吸收系数导数值增大,因此可在排除干扰的同时带来增加灵敏度的效果。从校正曲线(回归方程)也可分析出三点组合导数值较单波长导数值与浓度的校正曲线的斜率大得多。

本法成功应用的关键在于,一是要选择一种对待测组分较专属的反应体系;二是要选择适当的波长组合,并使其满足干扰组分导数组合值等于 0,待测组分导数组合值与浓度成线性并足够大。我们曾发现用钨酸钠作为反应试剂,用本法可不经任何分离直接测定在 7 种中药材成分存在下总绿原酸的含量,该文章另文发表。

由于本法是在记录了各成分的导数光谱的基础上,对其进行解析并获得定量信息,故其波长组合的选择及等导数值和校正系数 K 的计算均较直观和简便。用自行开发的软件,本法可在手动分光光度计上实现。

参 考 文 献

1. 山东省卫生厅, 山东省药品标准. 1986 版. 济南: 1986: 331.
2. 徐嘉凉, 于如银. 导数光谱法及其在药物分析中的应用. 药物分析杂志 1984; 4: 124.
3. Eckschlager K, Stepaned V. Information theory in analytical chemistry. *Anal Chem* 1982; 54: 1115 A.
4. 胡平. 信息科学的两个原理. 系统工程 1986; 5: 11.
5. Loudeback AL, et al. The coefficient of analysis, a new figure of merit for laboratory performance. *Clin Chem* 1980; 26: 774.

DETERMINATION OF CHLORPHENAMINE AND PROPANTHELINE BROMIDE IN PUKELING TABLETS BY DIFFERENTIAL – LINEAR COMBINATION DERIVATIVE SPECTROPHOTOMETRY

LM Lin , NJ Zhang* and HY Wang

(Weifang Institute for Drug Control, Weifang 261041; * Shandong Province Institute for Drug Control, Jinan 250011)

ABSTRACT This paper provides the basic principle and experimental technique of differential – linear combination equal value derivative spectrophotometry. Quantitative analysis of three or four component – mixture can be done without separation. This method was investigated to assay the contents of chlorphenamine and propantheline bromide in Pukeling tablets by using UV – 210A spectrophotometer. The average recoveries of chlorphenamine and propantheline bromide were $100.2 \pm 1.49\%$ (CV) and $99.89 \pm 1.03\%$ (CV) respectively. The results showed that it not only can effectively remove disturbances from each other, but also give higher sensitivity and accuracy.

Key words Differential – linear combination derivative spectrophotometry; Pukeling tablet; Chlorphenamine ; Propantheline bromide