

非相关成分参比一倍率导数光谱法 测定制剂中甲氧苄啶和磺胺甲噁唑

林黎明

(潍坊市药品检验所, 潍坊 261041)

提要 提出了非相关成分参比一倍率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。本法可用于待测成分和非相关成分导数光谱严重重叠且待测成分含量较低时的不经分离直接测定。试用本法消除了甲氧苄啶(TMP)和磺胺甲噁唑(SMZ)及附加剂之间的相互干扰,从而测定了部分制剂中的TMP;用“零交法”测定了SMZ,平均回收率分别为: $102.5 \pm 1.63\%$ (CV)和 $100.3 \pm 0.99\%$ (CV)。

关键词 非相关成分参比一倍率导数光谱法; 甲氧苄啶; 磺胺甲噁唑

前文曾报道过几种对重叠导数光谱进行数学解析的方法^[1~3],并成功地应用于多组分混合物或中成药的不经分离直接测定^[4,5]。但当组分间的导数光谱重叠很严重时,且待测组分的含量相对较低时,给导数光谱的进一步解析带来困难或误差较大。本文提出了非相关成分参比一倍率导数光谱法的原理和实验方法,可提高待测成分和非相关成分在测定状态下的相对浓度比,使方法的适应性大大增强。

磺胺甲噁唑(SMZ)与甲氧苄啶(TMP)的复方制剂有多种剂型^[6,7],其中TMP的含量相对较低,测定方法多为用氯仿提取,干燥后用高氯酸滴定,操作较繁,误差较大。用本法可不经分离快速测定制剂中的TMP,用“零交法”测定SMZ,从而达到同时测定目的。方法简便快速,结果满意。

原 理

设有带混浊背景或有其它辅形剂干扰的二组分体系。一成分定为待测成分X,一成分定为非相关成分Y,且加和性良好;组分间线性无关;并符合Beer定律;X较Y组分浓度低。

当混浊背景曲线为平行于横轴的直线,或为一次曲线,或为二次曲线,可随导数光谱的递阶处理而消除成为与基线重合的直线。

对于求导后仍然重叠的待测组分X和非相关成分Y的导数光谱,当混合测试液对空白在 λ 处测量时,其导数值为:

$$D_{\lambda_1} = \frac{dc_x}{d\lambda_1} \cdot C_x + \frac{dc_y}{d\lambda_1} \cdot C_y \quad (1)$$

当试液以非相关成分Y为参比液,在 λ_1 处测定时,其导数值为:

$$\begin{aligned}
 D_{R_1} &= \frac{d\varepsilon_x}{d\lambda_1} \cdot C_x + \frac{d\varepsilon_y}{d\lambda_1} \cdot C_y - \frac{d\varepsilon_y}{d\lambda_1} \cdot C_R \\
 &= \frac{d\varepsilon_x}{d\lambda_1} \cdot C_x + \frac{d\varepsilon_y}{d\lambda_1} (C_y - C_R)
 \end{aligned} \quad (2)$$

同理：以非相关成分 Y 为参比液在 λ_2 处测量时，其导数值为：

$$D_{R_2} = \frac{d\varepsilon_x}{d\lambda_2} \cdot C_x + \frac{d\varepsilon_y}{d\lambda_2} \cdot (C_y - C_R) \quad (3)$$

式中 C_R 为参比液的浓度，因此 $C_y - C_R$ 表示混合测试液中 Y 组分与参比液中 Y 组分浓度之差，也即相对降低了 Y 组分的浓度，或称相对提高了 X 组分浓度，从而有利于测定和解析。解上述两联立方程式得：

$$D_{R_2} - \left(\frac{d\varepsilon_y}{d\lambda_2} / \frac{d\varepsilon_y}{d\lambda_1} \right) \cdot D_{R_1} = \left[\frac{d\varepsilon_x}{d\lambda_2} - \left(\frac{d\varepsilon_x}{d\lambda_2} / \frac{d\varepsilon_y}{d\lambda_1} \right) \cdot \frac{d\varepsilon_x}{d\lambda_1} \right] \cdot C_x \quad (4)$$

如果用 K 表示公式左端导数吸收系数项，用 ΔE 表示公式右端导数吸收系数项。式(4)可写成：

$$D_{R_2} - K \cdot D_{R_1} = \Delta E \cdot C_x \quad (5)$$

由式(5)可知， $\Delta D = D_{R_2} - K D_{R_1} \propto C_x$

K 值可由 $K = \frac{d\varepsilon_y}{d\lambda_2} / \frac{d\varepsilon_y}{d\lambda_1}$ (6) 求得； ΔE 值可由 $\Delta E = \frac{D_{R_2} - K \cdot D_{R_1}}{C_x}$ (7) 求得，也可利

用回归方程求得。

实验方法和结果

一. 仪器与试剂

岛津 UV-210A 型分光光度计，DES-2 型导数附件。磺胺甲噁唑、甲氧苄啶(山东新华制药厂)；无水乙醇(AR，潍坊市化工四厂)。

二. TMP 的测定

(一) 紫外吸收光谱及一阶导数光谱的绘制

SMZ、TMP 及赋形剂在无水乙醇中的吸收光谱图和一阶导数光谱见图 1、图 2。

(二) 测定条件的选择

用非相关成分参比一倍率导数光谱法对 TMP 进行测定，SMZ 为非相关成分溶液，配制适当低于非相关成分溶液的 SMZ 溶液作为参比液；对含有 TMP 和 SMZ 的混和溶液作一阶导数光谱扫描，见图 3。仪器参数为：狭缝 2 nm，扫描速度：100 nm/min，波长范围：350 ~ 220 nm，量程范围： $\pm 2\text{ABS} \times 2$ 。测定波长组合选择在 λ_1 292 nm， λ_2 254 nm 处，混合物图谱和非相关成分图谱较为特征，适合于测量。

(三) K 值及 ΔE 值的确定

1. K 值的确定 以浓度约为 40, 50, 60 $\mu\text{g/ml}$ 的 SMZ 乙醇溶液作为测定液；以浓度约为 20 $\mu\text{g/ml}$ 的 SMZ 乙醇溶液作为参比液，按以上测定条件作一阶导数光谱扫描，测量

λ_1 292 nm, λ_2 254 nm 波长处的导数值, 基线以上取正值, 基线以下取负值, 代入式(6)计算 K 值, 取平均值: $K = -1.57$ 。

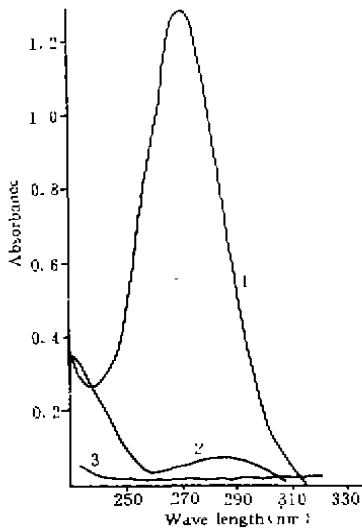


Fig. 1. Absorption spectrum of SMZ and TMP.

1. SMZ; 2. TMP; 3. Excipient.

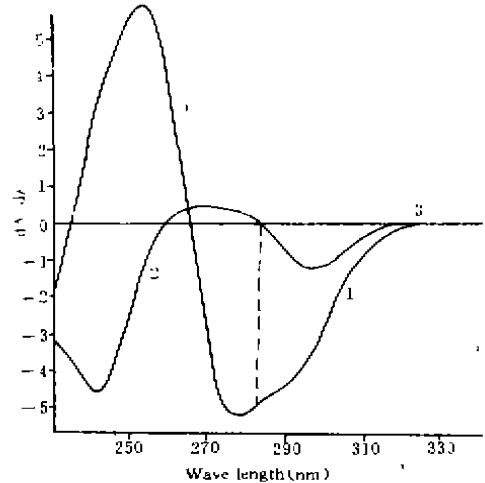


Fig. 2. First derivative spectrum of SMZ and TMP.

1. SMZ; 2. TMP; 3. Excipient.

2. ΔE 值的确定 精密称取 TMP 约 0.02 g, 置 100 ml 量瓶中, 用无水乙醇溶解并稀释至刻度, 精密吸取 2.0、2.5 ml 分别置 50 ml 量瓶中, 再加入与之相应处方比例量的 SMZ, 用无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 以前述 SMZ 参比液为参比, 作一阶导数光谱扫描, 测量 λ_1 292 nm, λ_2 254 nm 处的导数值 $D_{R\lambda_1}$ 和 $D_{R\lambda_2}$ 代入(7)式, 得 $\Delta E = -0.1825$ (均值)。

由式(5)可得测定混合物中 TMP 浓度的数学模型: $(D_{R\lambda_2} + 1.57 \cdot D_{R\lambda_1}) = -0.1825 \cdot C_x$ ($D_{R\lambda_1}$ 为负值)。

(四) 回收率测定

按复方新诺明处方比例制备模拟注射液, (每 ml 含 SMZ 200 mg, TMP 40 mg) 按前述方法操作, 并作一阶导数光谱扫描, 测量 λ_1 292 nm, λ_2 254 nm 处的导数值, 代入上述数学模型计算回收率。结果见表 1。

三. SMZ 的测定

(一) 一阶导数光谱的绘制及测定条件

按 TMP 的测定(一)项下, 绘制一阶导数光谱(图 2)。用“零交法”测定 SMZ, 选择波长 283 nm, TMP 零交点处作为 SMZ 的测定波长, 其它实验条件均同 TMP。

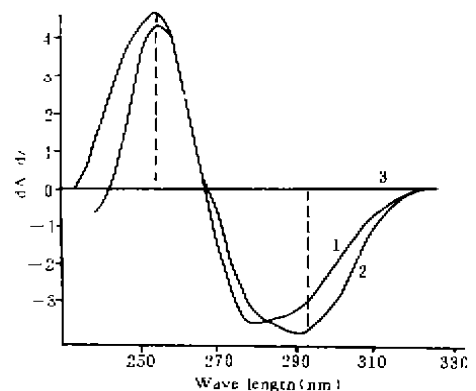


Fig. 3. Non-relative component reference first derivative spectrum of non-relative component (SMZ) and mixture of components (TMP+SMZ). 1. Non-relative component (SMZ); 2. Mixture (TMP+SMZ); 3. Excipient.

Tab 1. Recoveries of trimethoprim and sulfamethoxazole in laboratory prepared injection

No.	Trimethoprim			Sulfamethoxazole		
	Added ($\mu\text{g/ml}$)	Found ($\mu\text{g/ml}$)	Recovery (%)	Added ($\mu\text{g/ml}$)	Found ($\mu\text{g/ml}$)	Recovery (%)
1	8.28	8.63	104.2	9.70	9.66	99.60
2	8.28	8.56	103.4	9.70	9.72	100.2
3	8.28	8.50	102.7	9.70	9.63	99.27
4	10.35	10.52	101.6	19.40	19.32	99.59
5	10.35	10.30	99.50	19.40	19.38	99.90
6	10.35	10.68	103.2	19.40	19.87	102.4
7	12.42	12.66	101.9	29.10	29.36	100.9
8	12.42	13.02	104.8	29.10	28.98	99.59
9	12.42	12.53	100.9	29.10	29.39	101.0
Mean recovery			102.5 \pm 1.63% (CV)			100.3 \pm 0.99% (CV)

(二) 线性试验

精密称取 SMZ 约 100 mg, 置 100 ml 量瓶中, 用无水乙醇溶解、稀释至刻度备用。精密吸取 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 ml 置 50 ml 量瓶中, 用无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 以无水乙醇为参比, 作一阶导数光谱扫描, 测量 λ 283 nm 处的导数值作为定量信息, 其回归方程为: $\Delta D = 0.1857 C - 0.0080$, $r = 0.9999$ 。

(三) 回收率测定

精密吸取前述模拟复方新诺明注射液 0.5, 1.0, 1.5 ml 置 50 ml 量瓶中并稀释至刻度, 摇匀。按前述实验条件作一阶导数光谱扫描, 测量 λ 283 nm 处的导数值, 代入回归方程, 计算回收率, 结果列入表 1。

四. 样品测定

取市售复方新诺明注射液、复方新诺明片、小儿复方新诺明冲剂, 分别用前述方法对 TMP 和 SMZ 进行不经分离同时测定, 并与药典方法测定结果进行比较, ($t < t_{(n)} 0.05$, $P > 0.05$) 结果无显著性差异 (表 2)。

Tab 2. Results of sample analysis (n=3)

Batch	Labelled content %			
	Trimethoprim		Sulfamethoxazole	
	Present method	Conventional method	Present method	Conventional method
Injection				
890120	90.68	92.14	89.65	89.02
881213	97.52	96.28	97.80	98.41
Tablet				
880820	98.02	97.61	99.23	98.88
880823	97.93	97.76	99.41	100.0
Pulvis				
890618	99.53	98.91	100.72	99.54
890619	99.26	99.05	99.87	99.47

讨 论

本文提出了非相关成分参比—倍率导数光谱法的原理和实验方法。本法旨在解决混合组分体系中待测组分与非相关成分的导数光谱严重重叠,且待测组分含量较低、信号较弱时的不经分离直接测定。本方法的特点是,用非相关成分参比、可允许适当加大样品取样量,使低含量待测成分的导数光谱信号增强、便于测量,也即提高了在测定状态下待测组分与非相关组分的信号的相对强度比、更便于进行数学解析;对于选定的测定波长对处,待测组分导数光谱在不十分特征的情况下,也能进行测量,只要与非相关成分的加和导数光谱比较特征,就能满足测定要求。本文是在记录了导数光谱的基础上对图谱进行解析,波长组合的选择以及系数 K , ΔE 的求算均较直观简便;由于整个计算都是通过测量非相关成分的导数光谱及非相关成分与待测成分的加和导数光谱的信号值来确定的,其信号值足够大,所以尽管待测浓度很低,信号较弱,仍能获得较好的测定灵敏度;对于导数光谱峰严重重叠,且峰高较接近而不易选择适当的测定波长组合的情况,用本法也能解决。

本法与“零交点”法结合完成了对制剂中 TMP 和 SMZ 的不经分离直接测定,方法快速简便。回收率结果及样品测定结果表明其准确度和精密度均较满意,符合制剂检验要求。

参 考 文 献

1. 林黎明, 系数倍率导数光谱法和等导数值导数光谱法测定息热痛注射液中盐酸异丙嗪和对乙酰氨基酚, 药学报 1988; 23: 49.
2. 林黎明, 线性组合导数光谱法及应用于测定克喘片中盐酸麻黄碱和盐酸苯海拉明, 分析化学 1990; 18: 775.
3. Lin LM, Zhao NX. Simultaneous determination of poisonous metabolites by linear combination derivative spectrophotometry. *Analyst* 1991; 116.
4. 林黎明, 等导数值导数光谱法测定万代牛黄清心丸中黄连总生物碱的含量, 中国中药杂志, 1990; 15: 32.
5. 李同芬, 比色—等导数值导数光谱法测定牛黄解毒片中胆酸的含量 同上, 1990; 15: 34.
6. 中华人民共和国药典, 1985 版, 二部, 北京: 人民卫生出版社, 1985: 299.
7. 山东省卫生厅编, 山东省药品标准, 济南: 山东科技出版社, 1986: 283.

DETERMINATION OF TRIMETHOPRIM AND SULFAMETHOXAZOLE IN PHARMACEUTICAL PREPARATIONS BY NON-RELATIVE COMPONENT REFERENCE-MULTIPLIER DERIVATIVE SPECTROPHOTOMETRY

LM Lin

(Weifang Institute for Drug Control, Weifang 261041)

ABSTRACT This paper provides the basic principle and experimental technique of non-relative component reference-multiplier derivative spectrophotometry. The procedure overcomes the problem of overlapping in derivative spectrophotometry and quantitative analysis of lower content component in mixture can be done without separation. This method was investigated to assay the contents of trimethoprim (TMP) and used to assay the zero crossing derivative spectrophotometry for the assay of sulfamethoxazole (SMZ) in pharmaceutical preparations. The average recoveries of TMP and SMZ were $102.5 \pm 1.63\%$ (CV) and $100.3 \pm 0.99\%$ (CV) respectively. The results show that it not only can effectively remove the interference from each other, but also give a higher sensitivity and accuracy.

Key words Non-relative component reference-multiplier derivative spectrophotometry; Trimethoprim; Sulfamethoxazole

英文季刊《中国药学》杂志 试刊及征稿通知

中国药学会主办的英文季刊《中国药学》(Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences)已获上级批准,将于1991年12月出版试刊。本刊为英文的高级综合性药学期刊,每年出版四期,向国内外公开发行。

本刊刊载药理学各学科(包括药物化学、天然药物及生药学、药剂学、药理学、药物分析学等)的高水平的科研原著,目的在于向国外及国内的英文读者介绍我国药理学科学的最新研究成果,促进国际学术交流。

本刊编辑部设在北京医科大学药学院,由楼之岑教授任主编。

现公开征集稿件,内容包括药理学各学科的科研论文及研究简报,投稿须知:

1. 来稿一式两份并附中文稿。
2. 所有稿件请用A4纸间行打字。中文稿如不能打字,则字体须清晰。
3. 科研论文字数不超过A4纸12页,研究简报不超过3页。
4. 引用的参考文献应列出所有的作者名,除书籍需列出书名外,期刊文章不列题目。
5. 来稿需有单位介绍信(除编辑部特约作者外),请勿一稿两投(包括中文稿)。
6. 其余各项请参见《药学报》投稿须知。
7. 来稿请寄:100083 北京 海淀区学院路

北京医科大学药学院

英文季刊《中国药学》编辑部