

· 药物分析和鉴定 ·

正交函数分光光度法测定锡类散中靛蓝的含量

上海医科大学药学院(上海 200000) 姚桂根 张 莉 张 歆*

锡类散是一类常用中药,具有解毒化腐的功效,可用于咽喉糜烂肿痛。锡类散中除含有青黛外,尚有人工牛黄、冰片、人指甲、象牙屑、珍珠粉等其它成份的存在。青黛中靛蓝的测定方法,文献^[1-5]记载甚多,但多有重现性差、操作繁琐等缺点。本文用氯仿提取锡类散中靛蓝、靛玉红及其它成份后,在 754 型分光光度计上,用六点正交函数分光光度法,选择二次正交多项式,波长区间 450~700 nm,间隔 4 nm,求二次多项回归系数 P_2 值。本法通过统计处理,可消除靛玉红及其它成份的干扰,故用本法可测定锡类散中靛蓝的含量。

仪器与药品

国产 754 型分光光度计(上海市第三分标仪器厂);索氏提取器;

靛蓝对照品(上海市药品检验所中药室提供);靛玉红对照品(中国药品生物制品检定所提供);锡类散样品(上海市中药制药一厂生产,批号 870710 A 2);人工牛黄、冰片、人指甲、象牙屑、珍珠粉等(上海市中药制药一厂提供)。氯仿(AR 级)。

实验条件和方法

1. 靛蓝和靛玉红的吸收光谱 精密称取于 105℃ 干燥至恒重的靛蓝和靛玉红各 1 mg,分别用氯仿溶解,各置于 50 ml 量瓶中,稀释至刻度,配成各含 20 ug/ml 的标准液。

(1) 精密量取上述新鲜配制的靛蓝标准液(20 ug/ml) 5 ml,置 10 ml 容量瓶中,用氯仿稀释至刻度,得 10 ug/ml 的靛蓝标准液。以氯仿为空白,在 450~700 nm 波长处测定其吸收度,绘制吸收光谱曲线(见图 1 中

a)。

(2) 精密量取上述新鲜配制的靛玉红标准液(20 ug/ml) 0.5 ml,置于 10 ml 容量瓶中,用氯仿稀释至刻度,得 1 ug/ml 的靛玉红标准液。以氯仿为空白,在 450~700 nm 波长处测定吸收度,绘制吸收光谱曲线(见图 1 中 b)。

2. 锡类散样品的吸收光谱 精密称取锡类散 30.6 mg,置索氏提取器中,用氯仿 130 ml 回流提取 2 h,待靛蓝提尽后,浓缩置 100 ml 量瓶中,稀释至刻度,以氯仿为空白,在 450~700 nm 波长处测定吸收度,绘制吸收光谱曲线(见图 1 中 c)。

3. 干扰组份对照液的吸收光谱 按锡类散处方中的药材,除去青黛外,精密称取其各药品 10 mg,混合后置于索氏提取器中,用氯仿加至 130 ml 回流提取 2 h 然后将氯仿提取液,浓缩置 100 ml 量瓶中,稀释至刻度,以氯仿为空白,在 450~700 nm 波长处测定吸收度,绘制吸收光谱曲线。(见图 1 中 d)。

4. P_2 转换曲线的绘制

(1) 将靛蓝和靛玉红分别配成浓度为 10 ug/ml 和 1 ug/ml 的氯仿液。

(2) 精密称取于 105℃ 干燥至恒重的锡类散 50.1 mg,置索氏提取器中,用氯仿 130 ml 回流提取 2 h,提取液浓缩置于 100 ml 量瓶中,用氯仿稀释至刻度,精密吸取 5 ml,置 10 ml 量瓶中,用氯仿稀释至刻度。

(3) 按锡类散的处方,除去青黛外,取其余各药,用氯仿 130 ml 提取 2 h,提取液浓缩后,置 100 ml 量瓶中,用氯仿稀释至刻度,得干扰组份的提取液。

取上述 4 种氯仿溶液,在 590~630 nm

* 本院 87 级本科毕业生

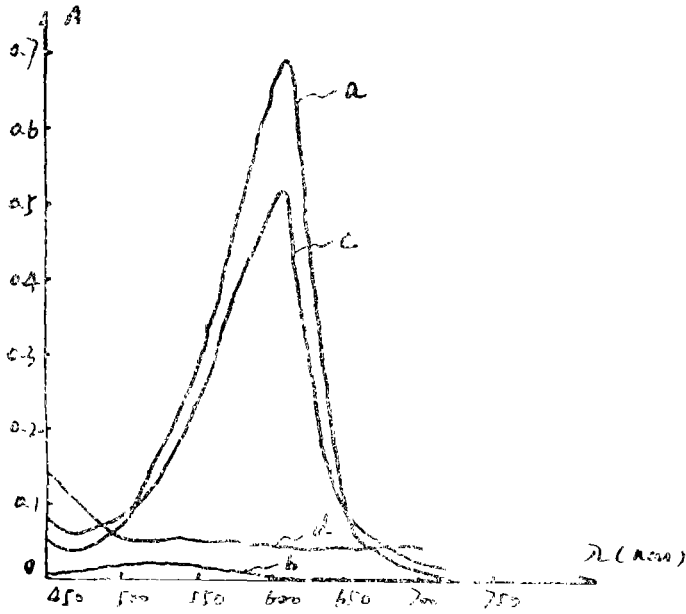


图 1 吸收光谱图

a. 靛蓝 b. 靛玉红 c. 锡类散 d. 干扰组分

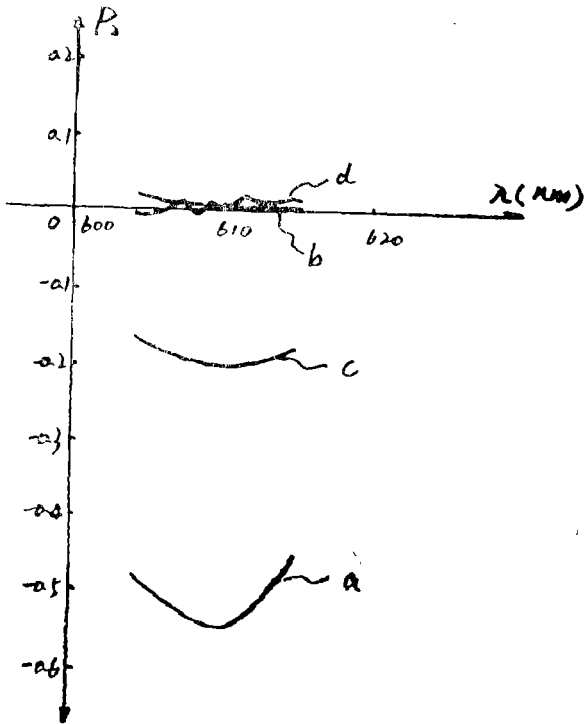


图 2 P₂ 转换曲线

a. 靛蓝 b. 靛玉红 c. 锡类散 d. 干扰组分

波长区间, 以 1 nm 间隔测定吸收值, 然后分别以 604、605……614、615 nm 为中间波长, 4 nm 间隔, 按式(1)计算四种溶液的各中间波长的 P₂ 值, 并换算成各自的转换曲线(见图 2)。

$$P_2 = 5 \times A_1 - A_2 - 4 \times A_3 - 4 \times A_4 - A_5 + 5 \times A_6 \quad \text{式(1)}$$

式(1)为计算方便, 不除归一化因子

从 P₂ 转换曲线得知, 当中间波长为 610 nm 时, 靛蓝的 P₂ 值等于 -0.553, 锡类散的 P₂ 值等于 -0.21; 而靛玉红及干扰组份的 P₂ 值均等于 0, 靛蓝、锡类散的 P₂ 值均具有最大灵敏度, 故选用 610 nm 为中间波长。

5. 百分回归系数 P₂ 的测定精密称取于 105℃ 干燥至恒重的靛蓝 1 mg, 用氯仿溶解后, 置 100 ml 量瓶中, 稀释至刻度, 以氯仿作空白, 610 nm 为中间波长, 分别测定得下列吸收值(见表 1)

表 1 吸收值数据

| 吸收值 A | 波长 λ(nm) | | | | | |
|----------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 600 | 604 | 608 | 612 | 616 | 620 |
| | 0.689 | 0.702 | 0.699 | 0.677 | 0.634 | 0.571 |

根据式(1) 计算 P₂ 和 P_{1cm}[%] 值

$$P_2 = 5 \times A_{600} - A_{604} - 4 \times A_{608} - 4 \times A_{612} - A_{616} + 5 \times A_{620}$$

$$= 5 \times 0.689 - 0.702 - 4 \times 0.699 - 4 \times 0.677 - 0.634 + 5 \times 0.571$$

$$= 0.540$$

$$P_{1cm}^{1\%} = \frac{P_2}{W} \times 100 = \frac{0.540}{1} \times 100$$

$$= 54.0 \quad (W \text{ 靛蓝重量})$$

6. 锡类散样品的回收率实验: 将锡类散的处方, 除去青黛外, 取其余各药品 10mg, 加入标准靛蓝 1 mg, 置索氏提取器中, 用氯仿提取, 于 85℃ 回流提取 4 h, 至氯仿层无色, 浓缩后置 100 ml 量瓶中, 并用氯仿稀释至刻度。以氯仿作空白, 在 λ = 600、604、608、612、616、620 nm 处测其吸收值, 根据式(1)计算 P₂ 值; 根据式(2) 计算靛蓝的含量, 得出样品的回收率(见表 2)。

表 2 样品的回收率

| 编号 | 干扰组份 (mg) | 加入靛蓝量 (mg) | P ₂ | 回收率(%) |
|----|-----------|------------|----------------|--------|
| 1 | 46.3 | 1 | -0.541 | 100.19 |
| 2 | 47.8 | 1 | -0.543 | 100.56 |
| 3 | 48.2 | 1 | -0.542 | 100.37 |
| 4 | 48.8 | 1.1 | -0.595 | 100.17 |
| 5 | 58.0 | 1 | -0.544 | 100.74 |

$$\bar{x}(\%) = 100.40 \quad SD = 0.25 \quad CV(\%) = 0.24$$

7. 锡类散样品的含量测定 精密称取于 105℃ 干燥恒重的锡类散适量, 置索氏提取器中, 加入氯仿 130 ml 回流提取 2 hr, 浓缩后置 100 ml 量瓶中, 稀释至刻度, 以氯仿

为空白, 在 λ = 600、604、608、612、616、620 nm 处测定其吸收值, 根据式(1)计算 P₂ 值, 得锡类散样品 P₂, 再根据靛蓝的 P_{1cm}[%] 及样品取样量, 按式(2) 计算锡类散样品含量(见表 3)。

表 3 锡类散中靛蓝的百分含量

| 编号 | 样品重量 (mg) | 测定波长 (nm) | 吸收值 (A) | P ₂ | P _{1cm} [%] | 含量 (%) |
|----|-----------|-----------|---------|----------------|-------------------------------|--------|
| 1 | 20.0 | 600 | 0.334 | -0.259 | 54.0 | 2.40 |
| | | 604 | 0.342 | | | |
| | | 608 | 0.341 | | | |
| | | 612 | 0.332 | | | |
| | | 616 | 0.315 | | | |
| | | 620 | 0.284 | | | |
| 2 | 25.3 | 600 | 0.422 | -0.326 | 54.0 | 2.39 |
| | | 604 | 0.431 | | | |
| | | 608 | 0.431 | | | |
| | | 612 | 0.418 | | | |
| | | 616 | 0.394 | | | |
| | | 620 | 0.357 | | | |
| 3 | 30.0 | 600 | 0.514 | -0.399 | 54.0 | 2.46 |
| | | 604 | 0.522 | | | |
| | | 608 | 0.520 | | | |
| | | 612 | 0.502 | | | |
| | | 616 | 0.469 | | | |
| | | 620 | 0.422 | | | |
| 4 | 30.1 | 600 | 0.531 | -0.390 | 54.0 | 2.40 |
| | | 604 | 0.541 | | | |
| | | 608 | 0.542 | | | |
| | | 612 | 0.527 | | | |
| | | 616 | 0.502 | | | |
| | | 620 | 0.454 | | | |
| 5 | 30.4 | 600 | 0.502 | -0.392 | 54.0 | 2.39 |
| | | 604 | 0.513 | | | |
| | | 608 | 0.511 | | | |
| | | 612 | 0.497 | | | |
| | | 616 | 0.467 | | | |
| | | 620 | 0.422 | | | |

$$\text{锡类散中靛蓝的含量 \%} = \frac{P_2 \div P_{\text{靛蓝}}}{W_{\text{样}}} \times 100\% \quad \text{式(2)}$$

由表 3 可知, 锡类散中靛蓝的百分含量平均为 2.41%, SD = 0.0269, CV = 1.12%

讨论

1. 颜色的稳定性: 经实验证明, 靛蓝在 6 h 内, 吸收值无变化; 8 h 后, 吸收值略有降低; 靛玉红在 8 h 内无变化。故两种成份的测定依本法在 6 h 内完成, 颜色变化影响均不大。

2. 靛蓝在氯仿中溶解较慢, 要注意靛蓝的溶解是否完全, 否则会给实验带来一定误差。溶解过程中, 可以在 75℃ 水浴上进行, 以加速溶解。

3. 本法操作简便, 成本低, 精密度高, 可供生产单位控制产品质量时参考。

参考文献

- [1] 中国药典(一部). 1977. 320
- [2] 邓伯林. 中草药, 1981, 12(6): 12
- [3] 陆瑞兰. 中药材, 1990, 13(11): 34
- [4] 陆瑞兰. 实验室研究与探索, 1999, 1: 80
- [5] 戴光宇. 中成药, 1991, 5: 32

倍增差示双波长分光光度法同时测定水杨酸和苯甲酸的含量

上海市嘉定县中心医院(上海 201800) 桑锡祺

左本成等^[1]研究了用单波长分光光度计同时测定相互干扰组份的新方法——倍增差示法, 用 Cu(II) 和 Bi(III) 的混合液验证本法的可行性; 沈玉刚^[2]用该法测定了安钠咖注射液中咖啡因和苯甲酸钠的含量; 邱细敏等^[3]用该法测定复方雷琐辛涂剂中苯酚和苯二酚的含量, 均取得成功。

根据本法原理, 笔者建立了复方苯甲酸酊中水杨酸和苯甲酸的含量测定, 操作简便, 准确度和精密度能满足医院制剂的质控要求。

仪器和试剂

UV—730 紫外分光光度计, 上海第三分析仪器厂。水杨酸(SA), 苯甲酸(BA), 乙醇, 盐酸均为 AR 级。复方苯甲酸酊由本院制剂室配制(水杨酸, 南京制药厂, 900501, 外用; 苯甲酸, 镇江前进药厂, 870806, 中国药典 1985 年版; 酒精, 金山县张堰酒厂)

实验方法和结果

1. 溶剂的选择 考虑到实用性和经济

性, 选用水和 HCl 液(0.1 mol/L) 为介质, 观察两酸的紫外光谱行为, 发现在 HCl 液(0.1 mol/L) 中两酸具有较大的吸收波长和吸收值, 且稳定性好, 故本实验以 HCl 液(0.1 mol/L) 为溶剂。

2. 测定波长的确定 精密称取 SA, BA 各适量, 以 75% 乙醇溶解, 定容到 100ml, 作为贮备液。精密吸取贮备液适量, 以 HCl 液(0.1 mol/L) 定容, 配成下列三种标准液 (a) 水杨酸(4 ug/ml); (b) 苯甲酸(5 ug/ml); (c) 水杨酸(4 ug/ml) 和苯甲酸(5 ug/ml) 混合液。在分光光度计上, 由 300nm 向 200nm 扫描, 记录光谱曲线, 见图 1。经精细核对, 确定 $\lambda_{\text{max}}^{\text{SA}} 237.0 \text{ nm}$; $\lambda_{\text{max}}^{\text{BA}} 230.5 \text{ nm}$

| | |
|-----|---------------------------|
| a—a | SA(4 ug/ml) |
| b—b | BA(5 ug/ml) |
| c—c | SA(4 ug/ml) + BA(5 ug/ml) |

按本法要求, 为获得较大的倍增差示值, 选用该两波长为测定波长 药用酒精稀释 10000 倍, 在该两波长处均无吸收。