

四、小结

1. 据报道丹皮酚的提取方法有冷浸法、连续加热回流法和水蒸汽蒸馏法。由于氯仿比重比较大,冷浸法易致药粉粘到容器壁上,而水蒸汽蒸馏法较繁琐,故本实验采用氯仿加热回流法提取。丹皮酚具有挥发性,提取时温度不宜太高。

2. 本方法简便、回收率满意,并经稳定性、重现性试验,结果准确、方法可靠。样品测试与临床疗效相一致,可以控制药品质量的均匀性和稳定性。

3. 丹皮酚是本品中主要有效成分之一,因此可将消银散中丹皮酚进行鉴别、含量测定作为本品质量控制的标准之一。

吸收度线性组合分光光度法测定溴咖合剂中 苯甲酸钠咖啡因的含量

无锡市第四人民医院(无锡 214062) 朱虬 顾沧一 钱琬已 向金生

溴咖合剂为医院常用制剂,由溴化钾和安钠咖组成,常用 0.05% 尼泊金乙酯作为抑菌剂。制剂中安钠咖的含量测定方法有碘量法^[1]、中和法^[2]。本文根据安钠咖和尼泊金乙酯的紫外吸收光谱特征,采用吸收度线性组合分光光度法测定安钠咖含量。

一、仪器与试药

岛津 UV-260 紫外可见分光光度计,日本岛津公司;53W_B 紫外可见分光光度计,上海光学仪器厂。

安钠咖,符合 1963 年版中国药典,上海星火制药厂(840115);尼泊金乙酯、药用,南京市医药公司分装(821110);溴化钾、药用;自贡制药厂(870823-1)。

二、测定条件的选择

精密称取安钠咖,尼泊金乙酯和溴化钾适量(均为干燥品),分别用蒸馏水溶解并稀释成含安钠咖为 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$,尼泊金乙酯为 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (尼泊金乙酯可先用适量乙醇溶解),溴化钾为 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的测定液,在 UV-260 型分光光度计上,以蒸馏水为空白,于 200—320nm 波长范围内进行扫描,得紫外吸收光谱图(见图 1)。

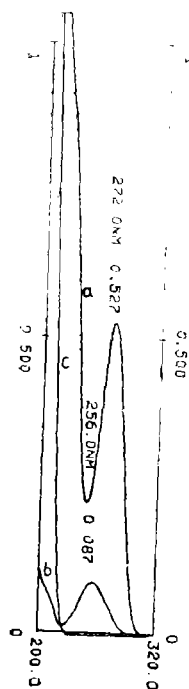


图 1 紫外吸收光谱图

a. 安钠咖水溶液(20.08 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

b. 尼泊金乙酯水溶液(0.982 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

c. 溴化钾水溶液(61.68 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

由图 1 可见,安钠咖在 272nm 波长处有最大吸收,在 248nm 波长处有最小吸收。

尼泊金乙酯在 256nm 波长处有最大吸收,溴化钾在 230nm 以上无干扰吸收,安纳咖和尼泊金乙酯的吸收曲线相互重叠,用普通分光光度法无法测定。根据吸收度线性组合法选择波长点应选在波峰、波谷或接近波峰波谷的原则^[34],确定安纳咖线性组合式的测试点 $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ 和 λ_4 分别为270, 272, 274和248nm。

三、线性考察

表1 安纳咖和尼泊金乙酯的线性考察结果(n=5)

λ_{nm}	安纳咖		尼泊金乙酯	
	方程	r	方程	r
270	$A = 0.02653C + 0.0014$	0.9999	$A = 0.05574C - 0.001267$	0.9998
272	$A = 0.02695C + 0.0009$	0.9999	$A = 0.4977C - 0.001361$	0.9999
274	$A = 0.02675C + 0.0019$	0.9999	$A = 0.0430C - 0.00005184$	0.9997
248	$A = 0.0112C - 0.0004$	0.9999	$A = 0.08083C - 0.001598$	0.99996
At	$At = 0.05958C + 0.0055$	0.9999		

由表1可见,安纳咖和尼泊金乙酯在一定的波长和浓度范围内,浓度和吸收度呈良好的线性关系。

四、安纳咖测定方法的确定

根据文献^[3]公式

$$A_t = \sum_{i=1}^m A_i - K \sum_{i=1}^n A_i \dots\dots\dots (1)$$

$$K = \frac{\sum_{i=1}^m A_i b - \sum_{i=1}^n A_i b}{\sum_{i=1}^n A_i b} \dots\dots\dots (2)$$

设安纳咖为组分a,尼泊金乙酯为组分b,则安纳咖的线性组合成式可确定为

$$A_t = A_1^{a+b} + A_2^{a+b} + A_3^{a+b} - K A_4^{a+b} \dots\dots\dots (3)$$

$$K = (A_{b1} + A_{b2} + A_{b3}) / A_{b4} \dots\dots\dots (4)$$

式中: A_t 为总吸收度, K 为组合系数
小标1、2、3、4分别代表波长270、272、274和248nm处。

1. K值的测定

将上述线性考察项下,尼泊金乙酯的测定数据代入(4)式,得 $\bar{K}=1.8427$, $CV=0.23\%$, $n=5$ 。

2. E_t^{a+b} 值的测定

精密称取安纳咖和尼泊金乙酯的干燥品适量,分别用蒸馏水溶解并稀释成含安纳咖依次为5,10,15,20和25 $\mu\text{g/ml}$ 的测试液,含尼泊金乙酯分别为0.25、0.50、0.75、1.00和1.25 $\mu\text{g/ml}$ 的测试液,在53W_B分光光度计上,以蒸馏水为空白,在248、270、272和274nm波长处分别测定上述测试液的吸收度,并将测定结果进行回归处理,结果见表1。

将上述线性考察项下各测定数据分别代入 $A_t = A_1^{a+b} + A_2^{a+b} + A_3^{a+b} - 1.8427A_4^{a+b}$ 式,得不同浓度时的 A_t 值,将 A_t 与 C 进行回归处理,结果表明 A_t 与 C 之间线性关系良好(见表1)。

将上述各 A_t 值代入 $E_t^{a+b} = \frac{A_t}{C}$ 式,得 $E_t^{a+b} = 600.5$, $CV=0.74\%$, $n=5$,式中, C 为安纳咖的百分浓度

3. 计算公式

安纳咖含量测定计算公式为

$$C\%(g/ml) = \frac{A_t}{600.5} \times \text{稀释倍数}$$

稀释液中含安纳咖浓度计算式为:

$$C(\mu\text{g/ml}) = \frac{A_t}{600.5} \times 10^4$$

五、回收率试验

按处方^[1]比例,精密称取适量安纳咖,尼泊金乙酯和溴化钾干燥品,用蒸馏水溶解并稀释成含安纳咖为15 $\mu\text{g/ml}$ 或20 $\mu\text{g/ml}$ 的测定液,在53W_B分光光度计上,以蒸馏水为空白,分别测定270、272、274和248nm混

长处的吸收度,按上述计算方法计算回收率,结果见表2。

表2 回收率试验结果(n=7)

投入量 ($\mu\text{g/ml}$)	吸收度				测得量 ($\mu\text{g/ml}$)	回收率 (%)
	270nm	272nm	274nm	248nm		
15.984	0.485	0.487	0.479	0.263	16.0866	100.64
20.06	0.587	0.590	0.580	0.304	19.9334	99.37
20.076	0.587	0.590	0.580	0.304	19.9334	99.29
20.456	0.601	0.603	0.594	0.309	20.4663	100.05
20.146	0.591	0.593	0.584	0.299	20.2664	100.60
14.88	0.439	0.442	0.436	0.230	14.8709	99.94
15.63	0.461	0.462	0.455	0.238	15.637	100.04
平均						99.99
CV						0.53

六、样品测定

精密量取样品溶液适量,用蒸馏水稀释成含安纳咖为 $16\mu\text{g/ml}$ 的测试液,照回收率项下方法进行测定,计算标示量%,并将测定结果与中和法进行对照,结果见表3。

表3 样品测定结果(n=5)

编号	标示量% (%)	
	本法	中和法
1	100.02	100.57
2	102.83	102.84
3	100.96	102.27
4	100.12	101.14
5	102.21	101.70

七、讨论

1. 本文用吸收度线性组合分光光度法测定溴咖合剂中安纳咖的含量,可排除制剂中尼泊金乙酯的干扰,实验表明,本法灵敏度高,准确性好,简便快速,适用于医院制剂快速检验。

2. 本法采用四个波长测定一个组分,由于有自由度存在,故在统计学上具有优势,且本法选择的点均在波峰、波谷附近,故测定时仪器波长刻度误差对测定结果影响相对较小。

3. 本法也可采用三点测定法,用上述实验数据,以 270、272 和 248nm 三个波长进行计算,得 $\bar{K} = 1.2918$, $RSD = 1.32\%$, $E_{1/2}^{\%} = 292.6$, $RSD = 0.78\%$, 平均回收率 100.17% , $RSD = 0.54\%$ 。其结果精度不如以四点测定为好。

4. 本法只需求出 $E_{1/2}^{\%}$, 每次测定的数据用简易计算器处理,很快即可获得满意的结果。同时本法也可以通过 A_{1-C} 回归方程进行计算,用方程式法对回收率测定项下数据进行计算,得平均回收率为 100.26% , $CV = 0.52\%$ 。

5. 将本法测定样品的结果和中和法测定结果进行 t 检验,得 $P < 0.05$, 表明方法间无显著性差异。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药政局编. 中国医院制剂规范. 第一版. 天津科技翻译出版公司出版, 1989. 58
- [2] 南京市卫生局编. 医院制剂规范. 第一版. 南京大学出版社出版. 1989. 194.
- [3] 孙汉涛. 药学报. 1988, 23(5): 375.
- [4] 孙汉涛. 药学报. 1988, 23(9): 693.