

紫外二阶导数光谱法测定中药复方制剂中合成鱼腥草素的含量

中国药科大学(南京210009) 姜新民* 严拯宇 严雪芹

摘要 将紫外二阶导数光谱法用于复方药物分析,取导数光谱特征,分别以振幅D及 ΔA 作为定量信息,用2种方法测定了中药复方制剂中合成鱼腥草素的含量,消除了样品基质的干扰,所得结果一致,标准曲线的相关系数分别为0.9994与0.9996,平均回收率分别为98.10%与96.31%。

关键词 导数光谱 鱼腥草素 基质

合成鱼腥草素即癸酰乙醛亚硫酸氢钠的加成物,具有清热解毒,镇咳祛痰之功效,通常以药品中所含有合成鱼腥草素的百分标示量做为主要的质量标准。中药复方制剂的成分较为复杂,一般由多味中西药及辅料组成,因此在测量过程中由于样品基质的干扰影响了中药复方制剂中合成鱼腥草素的零阶吸收含量测定。根据各阶导数光谱峰高与浓度成正比,较高阶导数可以消除较低阶函数背景的原理^[1],通过实验,采用紫外二阶导数光谱法消除了样品基质的干扰,用2种方法测定样品中合成鱼腥草素的含量,结果一致,准确可靠。

1 实验与结果

1.1 仪器与试制:UV-2100紫外分光光度计(日本岛津公司),752紫外光栅分光光度计(上海分析仪器二厂),IBM PC/AT286计算机,醋酸铜试液(0.05%),氨试液(浓氨水稀释8倍),标准液:含0.25mg/ml癸酰乙醛亚硫酸氢钠对照品(北京第二制药厂)的50%乙醇溶液,样品液:精称中药复方制剂,得到4.00mg/ml的50%乙醇液。

1.2 干扰情况的考察与定量分析依据:合成鱼腥草素与 Cu^{++} 在碱性介质中生成螯合物^[2],其氯仿提取液在UV298nm处有最大吸收。由合成鱼腥草素标准品及不含合成鱼腥草素的阴性空白对照品的 Cu^{++} 螯合物的氯仿萃取液在UV350~250nm处的零阶吸收光谱(图1)可见,基质在UV298nm处有干扰吸收,影响合成鱼腥草素的零阶吸收含量测定。

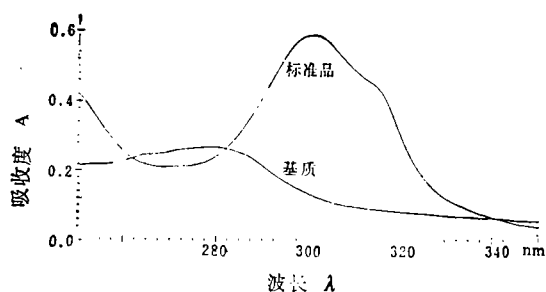


图1 标准品及阴性空白对照品的零阶吸收紫外光谱图

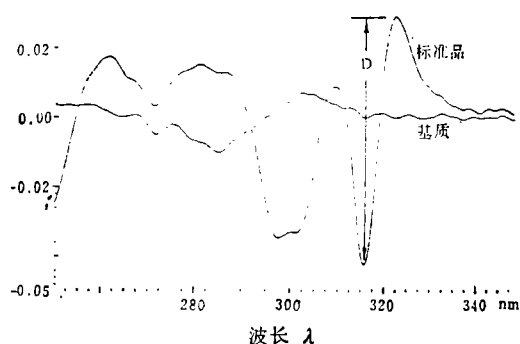


图2 标准品及阴性空白对照品的二阶导数紫外光谱图

经实验,我们用紫外二阶导数光谱,以导数光谱峰,谷间振幅D作为定量信息^[3],消除了样品基质的干扰。因为在紫外二阶导数光谱中,合成鱼腥草素在322.5nm与315.5nm处的振幅D具有导数光谱特征,而基质吸收值为零。取合成鱼腥草素导数光谱特征,以峰(322.5nm)+谷(315.5nm)的振幅D的ABS值作为待测组分定量信息,构成含量测定

*Address: Jiang Xinmin, China Pharmaceutical University, Nanjing

的依据,测定中药复方制剂中合成鱼腥草素的含量,其二阶导数光谱如图2所示。

为了推广其应用范围,我们又在普遍使用的752型光栅分光光度计上根据所测吸收光谱选择2个适当的中间波长,测出中间波长及对应相关波长的吸收值,计算出待测组分的定量信息 ΔA ,对于二阶导数其定量信息^[4] ΔA 为:

$$\Delta A = \Delta A_1 - \Delta A_2 = (A_3' - 2A_2' + A_1') - (A_3'' - 2A_2'' + A_1'')$$

所以,只要测出待测溶液6个波长处的吸收值,便可用 ΔA 作为待测组分的定量信息,以构成含量测定依据,测定中药复方制剂中合成鱼腥草素的含量。

1.3 测定条件及中间波长的确定

1.3.1 在UV-2100分光光度计上测定吸收光谱:零阶吸收光谱:扫描波长范围350~250nm,狭缝2mm,扫描速度:快速;二阶吸收光谱:扫描波长范围350~250nm,狭缝2mm,扫描速度:快速, $\Delta\lambda = 5\text{nm}$ 。

1.3.2 在752型紫外分光光度计上以2nm为间隔测定250~350nm间各波长的吸收值,以4nm为间隔,根据公式逐点求出 ΔA ,从极值得到中间波长 $A_2' = 324\text{nm}$, $A_2'' = 314\text{nm}$,同时我们将零阶吸收值与对应波长输入计算机,用导数法中间波长程序进行计算,打印出中间波长与对应的测定波长和以上结果一致,因此,本实验的6个测定波长分别为310, 314, 318, 320, 324, 328nm。

1.4 标准曲线的绘制:分别称取标准液1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0ml于60ml分液漏斗中,依次加入氨试液1.0ml,醋酸铜试液2.0ml,摇匀,静置片刻,分别用氯仿萃取(10ml×4次)于50ml容量瓶中,加氯仿至刻度,摇匀待测。

1.4.1 用UV-2100分光光度计以氯仿为空白,分别测定322.5nm与315.5nm处二阶导数光谱振幅D的ABS值,标准曲线测定结果如表1。

二阶导数光谱标准曲线回归方程: $C = 2.0468 + 250.59\text{ABS}$, $r = 0.9994$ 。

1.4.2 用752型紫外光栅分光光度计以氯仿为空白,分别测定上述标准溶液在6个测定波长处的吸收值,计算出定量信息 ΔA : $\Delta A = \Delta A_1 - \Delta A_2 = (A_{320} - 2A_{324} + A_{328}) - (A_{310} - 2A_{314} + A_{318})$,标准曲线测定结果见表2。

表1 标准曲线测定结果 (UV-2100)

样品	标准品浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	ABS 322.5nm	ABS 315.5nm	ABS
1	5.0	0.004	-0.008	0.012
2	7.5	0.009	-0.013	0.022
3	10.0	0.013	-0.018	0.031
4	12.5	0.018	-0.023	0.041
5	15.0	0.022	-0.031	0.053
6	17.5	0.025	-0.037	0.062
7	20.0	0.028	-0.042	0.071

表2 标准曲线测定结果 (752型)

样品	标准品浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	ΔA_1	ΔA_2	ΔA
1	5.0	0.004	-0.002	0.006
2	7.5	0.008	-0.009	0.017
3	10.0	0.013	-0.016	0.029
4	12.5	0.018	-0.024	0.042
5	15.0	0.022	-0.031	0.054

标准曲线回归方程 $C = 3.8889 + 206.4$

ΔA , $r = 0.9966$ 。

1.5 回收率测定:取阴性空白对照品400mg,按处方量精密称量加入合成鱼腥草素,用50%乙醇溶液浸泡,过滤,定容至100ml,取2.0ml试液至60ml分液漏斗中与标准曲线同法操作,在UV-2100上测定二阶导数光谱定量信息ABS值;在752分光光度计上测定6个波长的吸收值,计算出定量信息 ΔA 值,分别按照不同的定量信息所得结果计算回收率:a)UV-2100型分光光度计测定合成鱼腥草素回收率:98.10%, $CV = 2.9$ 。b)752型分光光度计测定合成鱼腥草素回收率:96.31%, $CV = 2.9$ 。

1.6 样品含量测定：取样品液2.0ml至60ml分液漏斗中，与标准曲线同法操作，根据不同定量信息，分别计算合成鱼腥草素相当于标示量的百分含量（已知中药复方制剂中合成鱼腥草素的标示量：423mg样品中含合成鱼腥草素20mg）。

1.6.1 UV-2100型分光光度计测定：标示量% = $\left[(2.0468 + 250.59 \text{ABS}) \times 2.5 \times 423 / (\text{合成鱼腥草素标示量} \times 400) \right] \times 100\%$ ，结果见表3。

表3 样品中鱼腥草素含量测定（UV-2100）

样品	ABS	实测量 (mg)	标示量 (mg)	标示量 (%)	平均标示量 (%)	CV (%)
1	0.022	19.98	20.00	99.90	99.20	2.1
2	0.021	19.32	20.00	96.60		
3	0.021	19.32	20.00	96.60		
4	0.022	19.98	20.00	99.90		
5	0.023	20.65	20.00	103.0		

1.6.2 752型分光光度计测定：标示量% = $\left[(3.8889 + 206.46 \Delta A) \times 2.5 \times 423 / (\text{合成鱼腥草素标示量} \times 400) \right] \times 100\%$ ，结果见表4。

表4 样品中鱼腥草素含量测定（752型）

样品	ΔA	实测量 (mg)	标示量 (mg)	标示量 (%)	平均标示量 (%)	CV (%)
1	0.016	19.01	20.00	95.07	96.71	2.6
2	0.015	18.46	20.00	92.34		
3	0.016	20.66	20.00	103.3		
4	0.017	19.58	20.00	97.08		
5	0.016	19.01	20.00	95.07		

2 讨论

2.1 应用UV-2100紫外分光光度计可以直接得到导数光谱图，直观、快速、准确。由于灵敏度高，线性关系好，范围宽，因此可进行大批量的试样测定。

2.2 紫外二阶导数光谱法应用于752型分光光度计便于推广，有使用价值及现实意义，但由于所测波长均位于吸收曲线陡坡处，因此仪器波长精度以及波长读数的误差成了该法误差的主要来源。

2.3 紫外二阶导数光谱法波长间隔 $\Delta\lambda$ 的选择主要是根据干扰组分导数光谱的形状而定，适当加大波长间隔可提高灵敏度与准确度。

参考文献

- 1 陈国珍，等。紫外-可见分光光度法。北京：原子能出版社，1987。206
- 2 施慧雯，等。药物分析杂志，1982，2(3)：140
- 3 Shibata S. Anal Chim Acta, 1976, 81: 1990
- 4 相秉仁。计算药学。北京：中国医药科技出版社，(1993-07-23收稿)

第十期中医、第五期兽医函授大专班招生

为便于具有初、中级职称的中医、兽医工作者深造和对城乡待业青年就业前进行岗位培训，经省教委批准，中医、兽医函授大专班继续向全国常年招生，随报随学，详情见招生简章。凡具有中学以上文化程度者均可报名。报名费叁元，款到寄给招生简章和入学登记表。

通信处：安徽合肥市五里墩邮政9-901信箱于毅江收。联系人何仁勋，电话562566转626。

邮政编码 230031

ABSTRACTS OF ORIGINAL ARTICLES

Studies on the Chemical Constituents of Libanjisheng

(*Helixanthera parasitica*)

Li Liangqiong, Li Meirong , Feng Wentao

Four compounds were isolated from the leaves of *Helixanthera parasitica*. They were identified as ethyl gallate (I), gallic acid (II), quercitrin (III) and 5,7,3',4'-tetrahydroxyflavan (IV) on the basis of chemical properties and spectral data. Compound IV is a new flavan.

(Original article on page 283)

Studies on the Chemical Constituents of Wangzaozi

(*Rabdosia amethystoides*)

Wang Xianrong, Wang Hongping , Li Youwen

Three compounds were isolated from the leaves of *Rabdosia amethystoides* (Benth) C.Y. Wu et Hsuan. They were identified as rabdosinaiol (I), oleanolic acid (II), β -sitosterol (III) on the basis of chemical reactions and spectral data. Compounds I and II were isolated for the first time from this plant.

(Original article on page 285)

Determination of Berberine in Processed Amur Corktree

(*Phellodendron amurense*) by HPLC

Wang Jingzhu, Chen Dingyi , Su Yingying

A HPLC method for the determination of berberine⁺ in *Phellodendron amurense* processed by four different procedures has been established. The method is simple, specific and accurate. The recovery is 102.7% and coefficient of variation is 0.69%.

(Original article on page 293)

UV Second Derivative Spectrophotometric Determination of Synthetic Decanoyl Acetaldehyde in Compounded

Chinese Medicinal Prescriptions

Jiang Xinmin, Yan Zhengyu , Yan Xueqin

UV second derivative spectrophotometry was used for the analysis of compounded Chinese medicinal prescription in order to eliminate interference from prescription base. Amplitude D and ΔA were taken as the quantitative informations. Synthetic decanoyl acetaldehyde in compounded Chinese medicinal prescription were determined by two methods. The Correlation coefficients of the standard curve were found to be 0.9994 and 0.9996, the mean recovery to be 98.10% and 96.31%.

(Original article on page 296)

On the Quality of Danshen Injection and Compound Danshen Injection

Yuan Lu, Su Guilan , Hu Guanshi

Active constituents in Danshen and Compound Danshen injections were determined by UV