

H-point 计算分光光度法研究及其在 复方盐酸丁卡因注射液中的应用

陈国广 相秉仁 安登魁

(中国药科大学分析计算中心, 南京 210009)

摘 要 介绍几种 H-point 法, 并与常见的计算分光光度法进行了比较. 将 H-point 法用于复方盐酸丁卡因注射液测定的数据处理, 表明 H-point 法有效地消除干扰, 有较高的精密度和准确度. 盐酸丁卡因回收率为: H-point 法 101.0%, RSD 为 2.7% ($n=7$), K 系数 H-point 法 99.1%, RSD 为 1.8% ($n=7$), 三波长 H-point 法 99.6%, RSD 为 1.4% ($n=7$).

关键词 计算分光光度法; H-point 法; 盐酸丁卡因; 对氨基苯甲酸

复方丁卡因注射液临床用于局部麻醉. 试剂, 反应条件, 终点指示等诸多因素影响亚硝酸钠滴定法进行含量测定的准确度. 对氨基苯甲酸 (分解产物) 也严重干扰紫外可见分光光度法测定的准确度. 为此有必要寻找准确、快速、简便的含量分析方法. 本文将 H-point 法用于复方丁卡因注射液测定的数据处理.

1 基本原理

1.1 等吸收双波长法^[2]与 H-point 法^[3,4]

设在 λ_1, λ_2 处待测物 a (吸收度为 A_1, A_2 ; 吸光系数 $E_1 \neq E_2$), 干扰物 b 吸收度 $B_1 = B_2$ 在两波长处分别测定待测样品及进行一系列标准加入后的吸收度, 建立吸收度与标准加入浓度的回归方程. 其中 C_0 为待测物原始浓度, C_x 为标准加入浓度.

$$Y_1 = A_1 + B_1 = E_1 C + B_1 = E_1 (C_0 + C_x) + B_1 \quad (1)$$

$$Y_2 = A_2 + B_2 = E_2 C + B_2 = E_2 (C_0 + C_x) + B_2 \quad (2)$$

在等吸收波长对有 $\Delta A = (E_1 - E_2)(C_0 + C_x) \quad (3)$

若 ΔA 对 C_x 回归则其回归直线与浓度轴交点横坐标的相反数即为待测物的浓度 (见图 1) 此法为等吸收双波长法.

将上述 (1) (2) 两直线的交点 $H(C_x, B_1)$, 称作 H 点 (H-point).

于是 $E_1 (C_0 + C_x) + B_1 = E_2 (C_0 + C_x) + B_2 \quad (4)$

$$\text{即: } (E_1 - E_2)(C_0 + C_x) + (B_1 - B_2) = 0 \quad (5)$$

因干扰物在两波长点 $B_1 = B_2$, 而 $E_1 \neq E_2$, 要使 (5) 式成立, 必须满足 $C_0 + C_x = 0$ 从而得到了待测物浓度 $C_0 = -C_x$ (见图 2), 此法为等吸收 H-point 法.

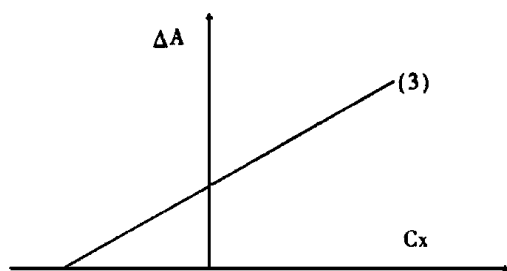


Fig 1. Two wavelength spectroscopy

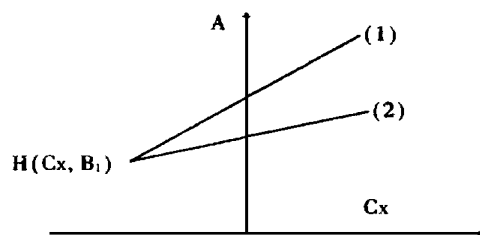


Fig 2. H-point standard additions method

1.2 K 系数法^[2]与 K 系数 H-point 法

设定在所选波长对有

$$\Delta A = (E_1 - KE_2)(C_0 + C_x) \quad (6)$$

$$\text{令 } Y_2^* = KA_2 + KB_2 = KE_2 C + KB_2 = KE_2 (C_0 + C_x) + KB_2 \quad (7)$$

K系数法以 ΔA 对标准加入浓度 C_x 回归确定待测物的浓度;而K系数H-point法利用(1)(7)两直线交点 $H(C_x, B_1)$ 确定待测物浓度

1.3 三波长分光光度法^[2]与三波长H-point法

在消除干扰的三波长 λ_1 λ_m λ_2 获得标准加入直线方程: (1) (8) (2),其中波长点 λ_1 λ_2 方程见1.

1

$$\text{波长点 } \lambda_m Y_m = A_m + B_m = E_m(C_0 + C_x) + B_m \quad (8)$$

$$\text{令 } p = \lambda_m - \lambda_1 \quad q = \lambda_2 - \lambda_m$$

$$\text{于是 } p/q = (B_m - B_1) / (B_2 - B_m) \quad \text{即 } B_m = (pB_2 + qB_1) / (p + q)$$

现将(1)式乘以系数 $q/(p + q)$, (2)式乘以系数 $p/(p + q)$ 并相加可得另一条直线方程

$$= E_1(C_0 + C_x)q/(p + q) + E_2(C_0 + C_x)p/(p + q) + B_m \quad (9)$$

三波长法以 $(A = Y_m - (Y_1q/(p + q) + Y_2p/(p + q)))A_m - (A_1q/(p + q) + B_2p/(p + q))$ 对标准加入浓度回归;三波长H-point法利用直线(8)与直线(9)的交点 $H(C_x, B_m)$,计算待测物的浓度。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

仪器: Shimadzu UV-250分光光度计, 奔腾II微机, 超声清洗仪。

试剂: 盐酸丁卡因对照品, 对氨基苯甲酸对照品, 复方盐酸丁卡因注射液。

2.2 波长对的优选

2.2.1 测定条件 扫描区间200~360 nm, 速度为10 nm/min, 狭缝宽度为2 nm

2.2.2 对照液配制 用pH 4~5盐酸溶液分别配制盐酸丁卡因(20 μ g/ml) 对氨基苯甲酸标准溶液(10 μ g/ml)

2.2.3 吸收光谱扫描 分别取上述标准溶液1, 2, 3, 4, 5 ml, 稀释至100 ml, 以pH 4~5盐酸溶液作空白参比, 进行光谱扫描(见图3)。

2.2.4 波长对优选 采集光谱数据, 在Q basic程序下运行, 进行波长对优选, 计算5次结果平均值。

2.3 回收率测定

精密称取盐酸丁卡因0.1 g, 氯化钠适量(处方: 盐酸丁卡因1 g, 氯化钠0.7 g), 加不同量的对氨基苯甲酸, 准确稀释至10 μ g/ml 分别精密量取2

ml于100 ml的不同量瓶中, 分别加入盐酸丁卡因标准溶液0, 1, 2, 3, 4, 5 ml, 稀释至刻度, 进行光谱扫描。其中样品的标准加入光谱见图4

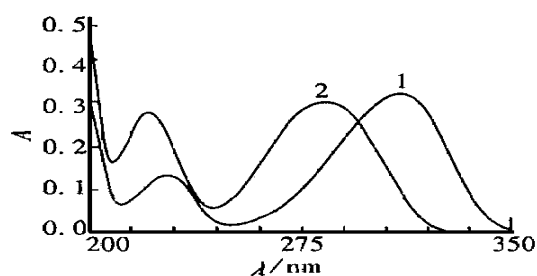


Fig 3. spectrum of hydrochloride tetracaine(0.8 μ g/ml) (1) and p-benzaminine acid (0.8 μ g/ml) (2)

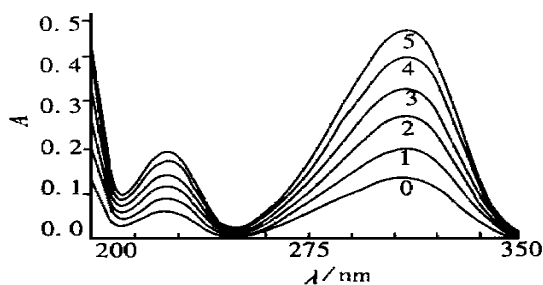


Fig 4. spectrum of series standard additions (0~5 ml hydrochloride tetracaine)

2.4 实际样品分析

精密量取试样10 ml, 于100 ml的量瓶中, 按2.3法测定, 每批样品平行操作3次。

3 结果与讨论

1) 本实验考察了不同溶液对光谱的影响, 结果发现pH 4~5盐酸溶液中, 盐酸丁卡因对照品与对氨基苯甲酸的对照品光谱稳定且具有良好的加和性。优选的等吸收点法、K系数法、三波长法的测定波长分别为: 251.9 nm, 310.5 nm; 260.2 nm, 311.6 nm ($k = 1.8952$); 310.5 nm, 260.0 nm, 221.0 nm (平均值)。

2) 回收率结果详见表1

Tab 1. Result of recovery ($n = 7$)

	Recovery(%)	RSD(%)
H-point	101.1	2.7
Two wavelength	102.2	3.7
K ratio H-point	99.1	1.8
K ratio	98.9	3.7
Three wavelength H-point	99.6	1.4
Three wavelength	103.4	5.0

3)样品分析结果见表 2

Tab 2 Content of tetracaine hydrochloride in injection (n= 3)

	951203		960614		970122	
	Content(%)	RSD(%)	Content(%)	RSD(%)	Content(%)	RSD(%)
H-point	95.9	1.0	96.7	0.7	98.1	0.5
Two wavelength	102.2	1.6	97.1	1.1	100.1	1.7
K ratio H-point	99.8	0.7	96.3	0.9	98.6	0.3
K ratio	98.1	2.3	95.4	1.6	97.6	2.0
Three wavelength H-point	101.3	0.8	96.4	0.6	99.1	0.8
Three wavelength	100.1	0.9	97.1	2.7	98.7	1.6

由于普通计算分光光度法以 ΔA 为定量基础,而 H-point 法以优选波长点的吸收度直接对标准加入浓度回归,因此后者减少了随机误差的干扰从回收率实验也可看出 H-point 法比相应的分光光度法有较好的精密度和准确度;K 系数 H-point 法克服了 H-point 法要求干扰物等吸收的限制;同样三波长 H-point 法又扩大 K 系数 H-point 法的应用范围,由于可选波长范围的扩大后者比前者的应用范围更广。在盐酸丁卡因样品测定中业已得到同样的结论

参 考 文 献

1 中国医院制剂规范.北京:科学技术出版社,1995. 63

2 相秉仁.计算药学.北京:中国医药科技出版社,1990. 109
3 Reig FB, Falco PC. H-point standard additions method part 1. fundamentals and application to analytical spectroscopy. *Analyst*, 1988, 113 1011
4 Falco PC, Reig FB, Hernandez RH. Development of the H-point standard additions method for coupled liquid chromatography and UV-visible spectrophotometry. *Anal Chim Acta*, 1992, 257 89
5 Falco PC, Andres JV, Reig FB. Generalized H-point standard additions method for analyte determinations in unknown samples. *Anal Chim Acta*, 1995, 302 323

Determinaton of Compound Injection of Tetracaine Hydrochloride by Using Different H point Standard Additions Methods

Chen Guoguang, Xiang Bingren, An Dengkui
Analysis and Computer Center,China Pharmaceutical University , Nanjing 210009

Abstract A set of new analytical methods for the determinaton of tetracaine hydrochloride in compound Injection of Tetracaine Hydrochloride are proposed by using different H-point standard additions method. By proper selection of the combination of wavelengths, the satisfactory result was obtained with the recovery as 101.0 (RSD= 2.7% ; n= 7), 99.1% (K ratio H-point standard additions method RSD= 1.8% ; n= 7), 100.9% (Three wavelenth H-point standard additions method, RSD= 1.4% ; n= 7), while the interferences of the background and *p*-benzaminic acid are obviated. Compared with the relative methods, the precision and the accuracy of the assay have been improved.

Key words Computer Spectrometry; H-point standard additions method; Tetracaine hydrochloride; *p*-Benzaminic acid