维普资讯 http://www.cqvip.com

多波长数据线性回归法和正交函数分光光度法的应用——复方新诺明片的测定

化学教研室 尚京川 欧阳瑜

摘 要 用多波长数据线性回归法和正交函数分光光度法，不经分离直接测定复方新诺明片中磺胺甲基异恶唑(SMZ)和甲氧苄氨嘧啶(TMP)的含量。本法方法简单，操作迅速。磺胺甲基异恶唑的平均回收率为99.72—100.5%，变异系数小于0.48%，甲氧苄氨嘧啶的平均回收率为99.25—99.46%，变异系数小于0.83%。其准确度和精密度能满足制剂分析的要求。

关键词 线性回归法；正交函数法；复方新诺明片；磺胺甲基异恶唑；甲氧苄氨嘧啶

复方新诺明片是常用的磺胺制剂，它的主要成份为磺胺甲基异恶唑(SMZ)和甲氧苄氨嘧啶(TMP)，中国药典[1]测定SMZ用重氮化法，测定TMP用提取比色法，操作复杂，费时。应用数学处理方法消除干扰，如双波长法[2]、三波长法[3]可简化其操作程

31也是癌基因C—Fos位点，上述说明三种位点(即脆性位点、癌断裂点和癌基因位点)在染色体同一区带内重迭的排列[10]。这些关系值得进一步研究。

Ag—AA及Ag—NOR检测 Ag—AA在HCL病例接近于对照、因病例少有待观察。随体联合可使染色体不分离导致染色体数量不稳定。Ag—NOR指人类D、G组染色体短臂次缢痕处的银染情况，该处系18S、28S rRNA基因位点，该基因有转录活性时可被银染，在慢性粒细胞白血病ph阳性病人的Ag—NOR有升高趋势[11]，本实验患者的Ag—NOR为5.21/细胞、高于对照3.22/细胞，说明患者rRNA基因转录活性增高、其意义待研究。本例自发畸变与对照接近、但经MMC诱发后染色体畸变率大大超过对照，这与BLoom's综合征及着色性干皮病等罕见染色体不稳定综合征中见到的情况相似，这主要是DNA损伤后修复功能有缺陷，若在致癌物的作用下细胞易于恶变。总之，了解染色体不稳定性是研究肿瘤病因学中遗传基础的主要内容。

参 考 文 献

[1] Wyngaarden JB, et al. Cecil Textbook of Medicine 1982; 1:934
[2] Vasantha BB, et al. Leukemia Res 1986; 10(2):131
[3] Berger R, et al. Cancer Genet Cytogenet 1986; 16:91
[4] 毛 新, 等. 遗传与疾病 1988; 5(2):87
[5] 薛开先, 等. 中华肿瘤杂志 1986; 7:398
[6] Heddle JA, et al. Cancer Res 1978; 38:2983
[7] 区宝祥, 等. 中山医学院学报 1980; 1:43
[8] 吴 旻, 等. 实验生物学报 1979; 12(1):31
[9] 许嘉, 等. 细胞生物杂志 1984; 6(2):70
[10] Berger R, et al. Cytogenet Cell Genet 1985; 40:490
[11] Janice M, et al. Cancer Genet Cytogenet 1984; 11:61

维普资讯 http://www.cqvip.com

序。但多波长数据线性回归法[4]和正交函数分光光度法[5]对复方新诺明片的测定未见报道。我们应用这两种方法测定SMZ和TMP，不经分离，直接测定，结果均较满意。

仪器和试剂

国产751G型分光光度计（上海分析仪器厂）

磺胺甲基异恶唑（SMZ）、甲氧苄氨嘧啶（TMP）和淀粉（均由西南制药一厂提供），均符合中国药典的规定。

硫酸和乙醇均为分析纯。

复方新诺明片为市售品。

原理以及实验条件的选择

分别以SMZ、TMP和淀粉的0.1N H_2SO_4溶液绘制紫外吸收曲线(见图1)。由图1可见，淀粉几乎不吸收，SMZ、TMP相互重叠，相互干扰，

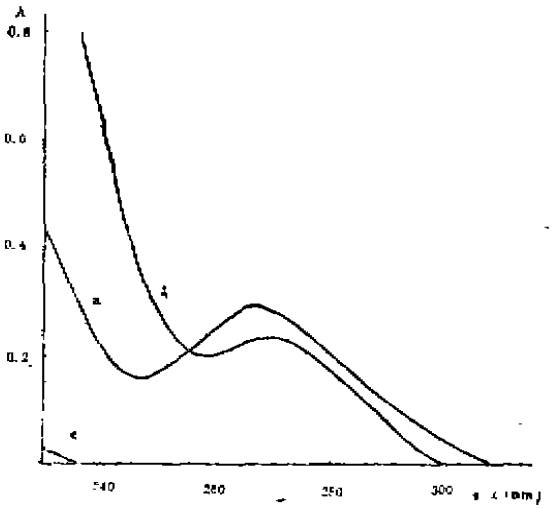


图1 SMZ、TMP和淀粉的吸收曲线
a.SMZ b.TMP c.淀粉

不能直接测定二者的含量。

1 多波长数据线性回归法 对于双组分SMZ、TMP在波长 j 时的总吸光度为

$$A_j=\varepsilon_{sj}C_s+\varepsilon_{Tj}C_T,\quad j=1,2,3\cdots \qquad (1)$$

C_s和C_T分别表示SMZ、TMP的浓度，ε_{sj}、ε_{Tj}分别表示SMZ、TMP在波长 j 处的吸收系数。整理(1)得

$$A_j/\varepsilon_{Tj}=C_T+\varepsilon_{sj}/\varepsilon_{Tj}C_s,\quad j=1,2,3\cdots \qquad (2)$$

用已知各浓度的SMZ、TMP测定在不同波长下的吸光度，根据$A_{sj}=\varepsilon_{sj}C_s$和$A_{Tj}=\varepsilon_{Tj}C_T$($j=1,2,3\cdots$)确定$\varepsilon_{sj}$、$\varepsilon_{Tj}$，求其平均值$\bar{\varepsilon}_{sj}$、$\bar{\varepsilon}_{Tj}$和$\bar{\varepsilon}_{sj}/\bar{\varepsilon}_{Tj}$，代入(2)得

$$A_j/\bar{\varepsilon}_{Tj}=C_T+\bar{\varepsilon}_{sj}/\bar{\varepsilon}_{Tj}C_s,\quad j=1,2,3\cdots \qquad (3)$$

测定SMZ、TMP只需测定不同波长下总吸光度A_j，计算$A_j/\bar{\varepsilon}_{sj}$，按一元线性回归方程$Y=a+bX$处理，求得参数$a$、$b$，即得组分浓度$C_T$、$C_s$。从吸收曲线选择测定波长区间为238—262nm，波长间隔为2nm，测试点数目为13点。

2 正交函数分光光度法 从吸收曲线图1可见，在247—266nm区间，TMP的吸收呈二次曲线，SMZ的吸收近似为直线，在258—274nm区间TMP的吸收近似为直线，SMZ的吸收呈二次曲线，分别选择二次正交多项式的分析用特征多项式，可分别消除干扰。SMZ、TMP的测定条件均为：测试点数目为9，波长间隔为2nm。将SMZ、TMP分别配制成适当浓度溶液，从240—280nm波长区间内，以1nm波长间隔测定吸光度，按下式分别计算P_3值，

$$P_3=28A_1+7A_2-8A_3-17A_4-20A_5$$
$$-17A_6-8A_7+7A_8+28A_9$$

(为计算方便，均不除以归一化因子)

并分别以P_3与中间波长λ_m绘制SMZ、TMP的转换曲线(见图2)。从图2看出，在波长$\lambda_m=257$nm处，P_{3TMP}较大，而$P_{3SMZ}\approx 0$，则$|P_{3SMZ}/P_{3TMP}|<1\%$；

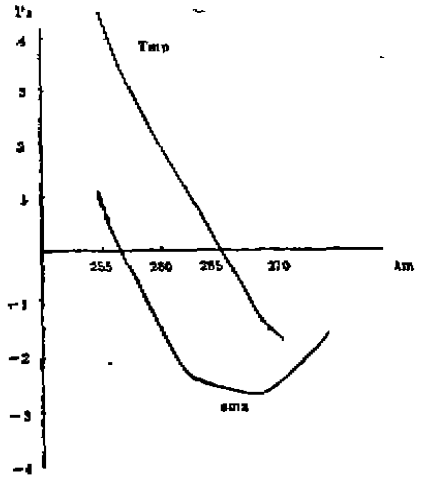


图2 SMZ、TMP的P_3-λ_m转换曲线

在$\lambda_m=265$nm处，P_{3SMZ}较大，$P_{3TMP}\approx 0$，则$|P_{3TMP}/P_{3SMZ}|<1\%$，因此，选择265nm为中间波长作为

维普资讯 http://www.cqvip.com

SMZ的定量信息，消除TMP的干扰；选择257nm为中间波长作为TMP的定量信息，可消除SMZ的干扰。

$\bar{\varepsilon}_{Sj}$、ε_{Tj}和$\bar{\varepsilon}_{Sj}/\bar{\varepsilon}_{Tj}$的测定以及$P_{2S}$、$P_{2T}$值的测定

（1） 多波长数据线性回归法中$\bar{\sigma}_{sj}$、$\bar{\sigma}_{Tj}$和$\bar{\sigma}_{sj}/\bar{\sigma}_{Tj}$值的测定 准确称取干燥恒重的SMZ、TMP各10mg，分别置于100ml容量瓶中，用10ml无水乙醇振摇溶解，并用0.1N H_2SO_4稀释至刻度，摇匀后，分别吸取2.0、4.0、6.0、8.0、10.0ml于50ml容量瓶，再用0.1N H_2SO_4稀释至刻度，摇匀，以0.1N H_2SO_4作为空白，每间隔2nm在238—262nm测定吸光度，计算出$\bar{\sigma}_{sj}$、$\bar{\sigma}_{Tj}$和$\bar{\varepsilon}_{sj}/\bar{\varepsilon}_{Tj}$。见表1。

（2） 正交函数分光光度法中P_{2s}、P_{2T}的测定

按多波长数据线性回归法相同的方式配制SMZ、TMP的标准溶液，以0.1N H_2SO_4作为空白，SMZ在257、259、261、263、265、267、269、271、273nm处分别测定吸光度；TMP在249、251、253、255、257、259、261、263、265nm处测定吸光度，分别计算P_{2s}、P_{2T}值。回归方程为：

SMZ：$P_{2s}=0.03504-0.1547C_s$

$\gamma=-0.9998$

TMP：$P_{2T}=0.2290+0.2079C_T$

$\gamma=0.9999$

具体数据见表2。

表1 $\bar{\sigma}_{sj}$、$\bar{\sigma}_{Tj}$和$\bar{\varepsilon}_{sj}/\bar{\varepsilon}_{Tj}$值的确定

$\bar{\lambda}$	238	240	242	244	246	248	250	252	254	256	258	260	262
$\bar{\sigma}_{sj}$	19.11	16.92	15.22	14.22	14.12	14.43	14.96	16.32	17.63	19.06	20.71	21.99	23.50
$\bar{\sigma}_{Tj}$	60.43	52.39	43.96	36.48	30.48	25.78	23.33	19.82	18.23	17.36	17.02	17.16	17.78
$\bar{\sigma}_{sj}/\bar{\sigma}_{Tj}$	0.3144	0.3230	0.3462	0.3898	0.4633	0.5597	0.6408	0.8234	0.9671	1.098	1.217	1.282	1.322

（$n=5$ $\bar{\sigma}_{sj}$ $CV\%<0.45\%$ $\bar{\sigma}_{Tj}$ $CV\%<0.56\%$）

表2 SMZ和TMP的C与P_2的关系

SMZ	C_s(ug/ml)	3.95	7.90	11.84	19.73	23.68
	P_{2s}	−0.656	−1.43	−2.20	−3.63	−4.30
TMP	G(ug/ml)	4.26	8.51	12.78	17.04	21.30
	P_{2T}	1.12	1.99	2.88	3.79	4.65

回收率测定

按复方新诺明片处方(SMZ与TMP的比例为5:1，加入适量淀粉)配制，精确称取相当于SMZ10mg的样品于100ml容量瓶中，加10ml无水乙醇溶解，用0.1N H_2SO_4稀释至刻度，摇匀，过滤不溶物，弃去初滤液，精密吸取滤液10ml，分别按多波长数据线性回归法(一法)和正交函数分光光度法(二法)进行测定，计算测得回收率如下：一法SMZ和TMP的回收率分别为99.72%、CV%=0.35 $n=5$；99.25%CV%=0.64 $n=5$。二法SMZ和TMP的回收率分别为100.5% CV%=0.47 $n=5$；99.46%CV%=0.82 $n=5$。在二法测定TMP时应加入标准TMP溶液10ml(30ug/ml)，否则，就会因TMP含量少，使$|P_{2SMZ}/P_{2TMP}|>1\%$，产生较大的误差。

样品测定

取市售品10片，准确称量，研碎，混匀，精密称取相当于SMZ10mg的样品，按上述回收率相同的方法进行测定，结果见表3。

讨 论

1 多波长数据线性回归法和正交函

维普资讯 http://www.cqvip.com

表3　样品含量测定

批　号	一　法		二　法	
	SMZ 标示量（%）	TMP 标示量（%）	SMZ 样示量（%）	TMP 标示量（%）
（AJ）87020492	99.82	99.27	100.6	100.3
（BJ）880804—4	100.4	100.1	101.3	100.9

均为 5 次测定平均值

数分光光度法对仪器要求都不高，用手动式分光光度计即可得出较满意结果，便于推广使用。在药物分析的应用方面，目前国内这两种方法的应用还较少，尚处于发展阶段。这两种方法特别对复方制剂的测定有着特殊重要的意义。

2　两种方法的测定波长点较多，特别是在正交函数分光光度法中的转换曲线较陡，波长稍有不准就会引起较大误差，因此波长在测定前必须进行校正。

3　两种方法相比，多波长数据线性回归法更简便，但波长点究竟取多少个最佳有待进一步研究。

参　考　文　献

[1] 中国药典(二部)1985; 299

[2] 胡育筑, 等.南京药学院学报 1982; (1), 29

[3] 刘承叶. 药物分析杂志1986; 6(4); 213

[4] 王保宁. 化学学报1953; 41(8); 709

[5] 吴玉田、国外医学(药学分册)1981; (4); 203

APPLICATION OF LINEAR REGRESSION METHOD OF MULTIWAVELENGTH DATA AND ORTHOGONAL FUNCTIONS SPECTROPHOTOMETRY----- DETERMINATION OF SULFAMETHOXAZOLE AND TRIEMETHOPRIM IN CO-TRIMOXAZOLE TABLETS

Shang Jingchuan and *Ouyang Yu*

(Department of Chemistry)

The linear regression method of multiwavelength data and orthogonal functions spectrophotomtry have been used for the determination of sulfamethoxazole and triemethoprim in co-trimoxazole tablets without any preliminary separation. The methods are simple and rapid. Good results have been obtained. The average recovery of sulfamethoxazole was 99.72–100.5%, with coefficient of variation below 0.48%, and the average recovery of triemethoprim was 99.25–99.46%, with coefficient of variation below 0.83%. The accuracy and precision meet the requirements of analysis of the pharmaceutical preparations

KEY WORDS Linear regression method; Orthogonal functions method; co-trimoxazole tablets; Sulfamethoxzole; Triemethoprim