

PLS—紫外分光光度法同时测定 复方阿斯匹林片中三组分含量

罗国安 兰其田 王镇浦* 周国华*

(中国药科大学分析化学教研室, 南京 210009; *南京化工学院, 南京 210009)

提要 本文研究了复方阿斯匹林片中阿斯匹林、非那西丁和咖啡因含量同时测定的紫外分光光度法的最佳实验条件, 并简述偏最小二乘法(PLS)在多组分同时测定中的基本原理和应用。三组分模拟试样回收率平均值的置信区间分别为 $100.1 \pm 0.23\%$, $100.0 \pm 0.25\%$ 和 $100.1 \pm 0.33\%$ (置信度 95%)。PLS 法是一种理想的多组分测定方法, 计算速度较快, 结果更准确可靠, 尤其适用于成批试样的分析, 为微机控制的紫外可见分光光度计提供了一种新方法。

关键词 偏最小二乘法(PLS); 紫外分光光度法; 复方阿斯匹林片; 阿斯匹林; 非那西丁; 咖啡因

由于复方制剂大量出现, 为复方制剂制订简便易行、准确度高、能控制药品质量的分析方法已成迫切任务。复方阿斯匹林(APC)是一种三组分的复方制剂, 测定阿斯匹林、非那西丁、咖啡因的含量有不少方法^(1~3), 但操作繁琐, 误差源多, 分析速度较慢, 准确度不够理想。

随着分析仪器的的发展, 药物分析中化学分析法迅速被仪器分析法所代替。现已广泛使用带微机的紫外可见分光光度计来同时测定多组分复方制剂含量, 常用有多元回归法、双波长法、三波长法和导数光谱等, 但对吸收光谱严重重叠、组分间有相互作用的体系, 用上述方法处理有时无法解决。Wold 等⁽⁴⁾提出一种用于多元校准模型的方法——偏最小二乘法(partial least squares method, 简称PLS)。PLS 法较多元回归、主成分回归和岭回归等计算方法好⁽⁵⁾。目前该法已用于红外光谱分析⁽⁶⁾、荧光光度分析⁽⁴⁾及紫外可见光度分析⁽⁷⁾。但国内外迄今尚未见其在药物分析中的应用报道, 本文通过 PLS—紫外分光光度法同时计算测定了复方制剂 APC 片中三组分的含量, 实验结果表明, 该法速度快、结果准确, 很有推广使用价值。

原 理

先规定下列符号: 设 $Y(n \times m)$ 表示 n 个试样 m 个组分的浓度矩阵, $X(n \times p)$ 表示 n 个试样在 p 个波长处的吸收度矩阵。校准问题的数据模型如图 1 所示。

通常用矢量 Y 对 X 的线性模型通过多元回归来解决校准问题。有 m 个组分, 对每个 Y 而言, 就有 m 个独立的回归模型。然而对于多元回归, 光谱数据 X 很少适合方阵 $X'X$ 求逆运算。因为变量 X_{ik} 之间通常高度相关联, 使矩阵 X 较少满秩, 这样 $X'X$ 的逆矩阵就有可能为奇异矩阵, 当然就不能得到正确的解。一般有如下三种方法进行解决: 一种是在 X 中选择 n 个尽可能不相关联的变量组成一组(即逐步回归); 第二种是在方阵 $X'X$ 求逆之前, 在

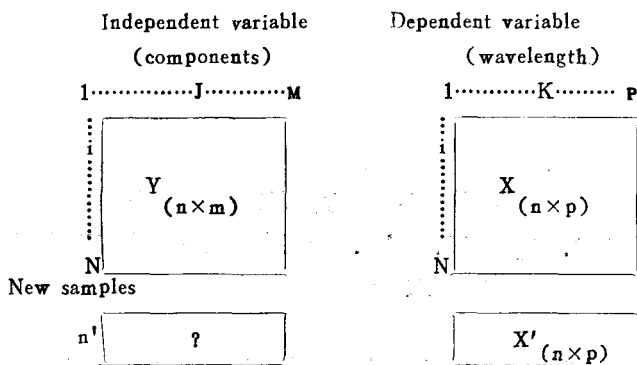


Fig 1. Organization of data for a multivariate calibration problem.

它的对角元上加一个小的常数 (即岭回归法); 第三种是对 X 进行主成分分析, 给出一组互不相关的新变量 (目标得分), 然后用这些新变量代替原来的变量进行多元回归 (即主成分回归, PCR)。

PLS 法与主成分回归相似; 所不同的是, 在 PCR 中仅对吸收度阵 X 进行主成分分析, 而在 PLS 中还对浓度阵 Y 也进行主成分分析。模型如下:

$$X(n \times p) = T(n \times a) \cdot B_x(a \times p) + E(n \times p) \quad (1)$$

$$Y(n \times m) = U(n \times a) \cdot B_y(a \times m) + F(n \times m) \quad (2)$$

$$U(n \times a) = T(n \times a) \cdot D(a \times a) + G(n \times a) \quad (3)$$

式中 $T(n \times a)$ 是吸收度 $X(n \times p)$ 的潜变元矩阵, $B_x(a \times p)$ 是 $X(n \times p)$ 的载荷矩阵, $U(n \times a)$ 是浓度 $Y(n \times m)$ 的潜变元矩阵, $B_y(a \times m)$ 是浓度 $Y(n \times m)$ 的载荷矩阵, $D(a \times a)$ 是对角阵, E, F, G 为随机误差阵。 a 为目标得分。其中 T 和 B_x 分别具有正交的列和行。矩阵 B_x 和 B_y 的计算既要使 $\|X - T \cdot B_x\|$ 和 $\|Y - U \cdot B_y\|$ 最小, 也要使 U 和 T 彼此列的相关性比 X 和 Y 进行单独主成分分析的相关性更大。

由校准模型可以得出载荷矩阵 B_x, B_y 和对角阵 D , 目标得分 a 可通过交叉证实法确定⁽⁸⁾。所谓交叉证实, 就是将 Y 中部分数据排斥在一维 PLS 计算之外, 从保留下来的数据计算参数矢量。然后从相应的 X 值和计算模型来预测“被剔除”的 Y 值, 从而得到“观测” Y 值和计算 Y 值之差的平方和 (SS)。再对 Y 的第二部分进行删除, 计算一直重复, 直到许多轮后, 平方和只含有一个来自 Y 元的一项。如 SS 比 $\|Y\|$ 小, 那么可判断本维模型具有预测性相关。

若有 n' 个试样的吸收度阵 $X(n' \times p)$, 则其浓度阵 $Y(n' \times m)$ 可按如下方法求出:

先按下式确定 $T(n' \times a)$

$$X(n' \times p) = T(n' \times a) \cdot B_x(a \times p) \quad (4)$$

再求 Y 的潜变量 $U(n' \times a)$:

$$U(n' \times a) = T(n' \times a) \cdot D(a \times a) \quad (5)$$

最后由下式求得 $Y(n' \times m)$:

$$Y(n' \times m) = U(n' \times a) \cdot B_y(a \times m) \quad (6)$$

其中 B_x, B_y, D 和 a 均由校准试样求得。

实 验 部 分

一. 仪器和试剂

岛津 UV-300 型分光光度计; 紫金-II微机。

阿斯匹林、非那西丁、咖啡因(精制品); 复方阿斯匹林片(南京第二制药厂); pH 6.5 磷酸盐缓冲液(KH_2PO_4 0.68g 和 15.2ml 0.1 mol/L NaOH 溶液混合后, 以水稀释至 1000ml, 用 pH 计检查); 其余试剂均为 AR 级。

二. 实验条件的确定

(一) 溶剂系统的选择 阿斯匹林、非那西丁和咖啡因均溶于乙醇, 但乙醇温度系数大, 操作难控制。若用水作溶剂, 则非那西丁不溶解。故本文采用先以 95% 乙醇溶解三组分, 再用大量水稀释作溶剂。

(二) 体系的 pH、测定型体和共存物质的干扰

使用乙醇-水溶剂系统时, 阿斯匹林部分水解, 难以定量测定。为此加入 0.2mol/L NaOH 溶液, 轻轻振荡, 放置 15 min, 使阿斯匹林完全水解成水杨酸钠。水解完全后, 再以 2mol/L HCl 溶液中和至 pH 为 6.5, 再在 pH6.5 的缓冲液中测水杨酸钠的吸收度(其值在 24h 内稳定不变), 通过测得的水杨酸钠量求算阿斯匹林的量。主要副产物水杨酸和乙酰基酚钠干扰小于千分之一, 故可忽略不计; 其它辅料均无干扰。上述处理过程不影响非那西丁和咖啡因的测定。

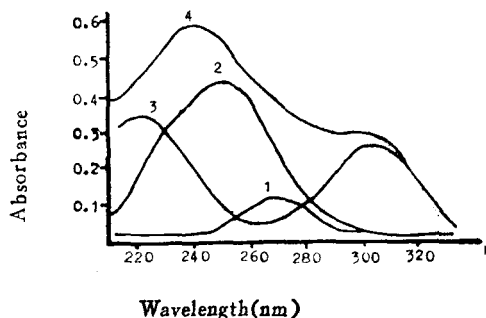


Fig 2. Absorption spectrum. 1. Caffeine(1.92 $\mu\text{g}/\text{ml}$); 2. Phenacetin(8.22 $\mu\text{g}/\text{ml}$); 3. Sodium salicylate(hydrolystate of aspirin); 4. Mixture of 1, 2 and 3.

(三) 吸收光谱和测量波长 咖啡因、非那西丁、水杨酸钠(阿斯匹林水解产物)及其混合物的吸收光谱如图 2 所示, 三组分吸收光谱严重重叠。本文选用 232~290nm 为测量波长范围, 每隔 2nm 测量一次吸收度。

三. 回收率试验

精密称取按处方比例配制的模拟片粉末适量(相当于阿斯匹林约 60mg)置于 50ml 烧杯中, 加入 20ml 95% 乙醇, 充分搅拌至完全溶解。定量转入 100ml 量瓶中, 用水定容, 摇匀。用干滤纸过滤, 弃去初滤液, 吸取 10.00 ml 续滤液于 50 ml 容量瓶中, 用水定容, 摇匀。吸取 10.00 ml 该溶液于 100 ml 量瓶中, 加 0.2 mol/L NaOH 溶液 10 ml, 轻轻振荡, 放置 15 min 后, 以 2 mol/L HCl 溶液中和, 再用 pH6.5 缓冲溶液稀释至刻度, 摇匀。用 1 cm 吸收池, 以试剂空白为参比, 于 232~290 nm 范围, 每隔 2 nm, 分别测量吸收度。然后将测量结果输入微机用 PLS 法程序处理。

测定试样前必须先用标准试样决定有关参数, 本文按正交设计法选八组标准试样进行校准。然后配制九组模拟试样测定回收率, 结果见表 1。

四. 样品测定

取本品 20 片, 精密称定, 研细。精密称取适量(约相当于阿斯匹林 60.28 mg)。按回

收率项下步骤进行测定并经微机处理后得出相当于标示量的百分含量, 结果见表 2。

Tab 1. Recovery of the three components(95% confidence level)

No.	Aspirin			Phenacetin			Caffeine		
	Added (mg)	Found (mg)	Recovery (%)	Added (mg)	Found (mg)	Recovery (%)	Added (mg)	Found (mg)	Recovery (%)
1	73.80	73.78	99.97	51.81	51.80	99.98	11.20	11.2	100.2
2	75.16	75.20	100.1	52.24	52.23	99.98	11.87	11.84	99.75
3	83.61	83.62	100.0	51.46	51.46	100.0	12.24	12.23	99.92
4	75.51	75.46	99.93	50.36	50.37	100.0	11.53	11.58	100.4
5	75.40	75.42	100.0	50.40	50.09	99.39	11.59	11.56	99.74
6	83.68	83.68	100.0	51.84	51.84	100.0	11.20	11.20	100.0
7	74.08	74.06	99.97	50.04	50.06	100.0	11.40	11.43	100.3
8	75.32	75.42	100.1	51.40	51.39	99.98	11.25	11.23	99.82
9	76.69	77.38	100.9	51.70	52.05	100.7	11.79	11.92	101.1
Mean (%)	100.1±0.23			100.0±0.25			100.1±0.33		
CV(%)	0.30			0.32			0.43		

Tab 2. Assay of APC tablets (mean content%, n=5)

Batch No.	Aspirin(%)		Phenacetin(%)		Caffeine(%)	
	PLS	PM	PLS	PM	PLS	PM
I	98.07 SD=1.35	97.17	98.38 SD=1.58	95.67	96.21 SD=1.86	98.27
II	99.34 SD=0.80	96.03	97.75 SD=0.82	96.59	96.60 SD=2.33	98.39
III	101.1 SD=1.37	101.1	98.67 SD=1.11	98.23	97.46 SD=1.28	101.0

PLS: Partial least squares method; PM: Pharmacopoeial method.

讨 论

一. 目标得分数(即标准部分的循环次数)对测定的准确度有一定影响。用标准偏差 $\sqrt{\sum (Y_{测}-Y_{真})^2/n}$ 对 PLS 法回归的目标得分作图, 得图 3。由图可见, 当目标得分数大于 4 以后, 标准偏差减少不明显。当目标得分数为 4 时, APC 三组分的 CV 分别为 0.48, 0.45 和 1.26%, 满足一般的误差要求, 因此目标得分数取 4 就可以了。经过交叉证实, 目标得分数确定为 7。如果取 7, 结果会更准确。但此时计算时间成倍增加, 而多循环一次, 准确度增加不大。为节省机时, 我们认为, 交叉证实所确定的目标得分数可用组分数加 1 来代替。这样机时只需原来的五分之一。准确度也能满足分析要求。笔者曾对两组分⁽⁹⁾、三组分、四组分的样品进行计算, 发现这一规律均适用, 其理论依据是可把噪音、基体效应、组

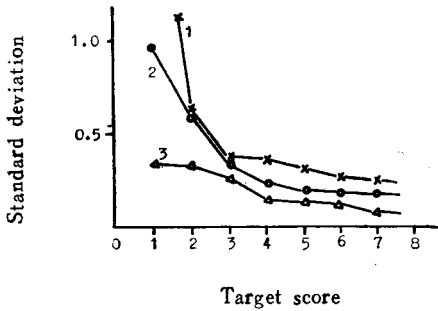


Fig 3. Effects of target scores on standard deviations.

1. Aspirin; 2. Phenacetin; 3. Caffeine.

分间的相互使用等产生的系统误差及其它随机误差作为一个目标考虑。对这结论还有待作深入研究。

二. PLS法与主成分分析(PCR)的主要区别在于PLS法利用了浓度阵Y中的信息,也利用了吸收度阵X中的信息,而PCR仅利用了X中的信息。这就是PLS往往比PCR给出较好结果的原因。

三. PLS法利用校准试样对预测模型进行校准,充分考虑组分之间的相互作用及基体效应诸因素,因此测定结果比共轭梯度法和线性规划法⁽⁹⁾好,因为后者只是利用标准品的百分吸收系数来确定组分的浓度。

四. PLS法计算速度快于通常的主成分分析法、共轭梯度法和卡尔曼滤波法。一旦校准模型中的参数确立,就可快速处理成批试样,为联机自动化提供了一种新的计算测定方法。

参 考 文 献

1. 中华人民共和国卫生部药典委员会编, 中华人民共和国药典, 二部, 北京: 化学工业出版社、人民卫生出版社, 1977: 386.
2. 殷龙彪、刘亦瑛, 电子计算机在紫外光谱中的应用——阿斯匹林、非那西丁和咖啡因在其混合物中的含量分析. 华东化工学院学报 1982; 1:71.
3. Pisani GF. Quantitative analysis of APC tablets: an easy experimental method based on the use of ion exchange resins. *J Chem Educ* 1976; 53:733.
4. Wold S, et al. The collinearity problem in linear regression. The partial least squares(PLS) approach to generalized inverses. *Report UMINF-83.80. version. Dept Information Processing, Umea University, 1982.*
5. Wold S, et al. The multivariate calibration problem in chemistry solved by PLS method. *Proceedings on the symposium matrix pencils, Pitea.1982.* Berlin and Heidelberg: Springer Verlag, 1982.
6. Martens M, Martens H. Near-infrared reflectance determination of sensory quality of peas. *Appl Spectrosc* 1986; 40:303.
7. Otto M, Wegscheider W. Spectrophotometric multicomponent analysis applied to trace metal determinations. *Anal Chem* 1985; 57: 63.
8. Wold S. Crossvalidatory estimation of the number of components in factor and principal components analysis. *Technometrics* 1978; 20:397.
9. 罗国安, 等. 偏最小二乘法测定复方磺胺林片的含量. 中国药科大学学报 1988; 19:104.

DETERMINATION OF THREE COMPONENTS IN ASPIRIN COMPOUND TABLETS BY USE OF UV-PLS METHOD

GA Luo, QT Lan, ZP Wang* and GH Zhou*

(*Department of Analytical Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009;*

** Nanjing Institute of Chemical Technology, Nanjing 210009*)

ABSTRACT The optimum experimental condition for simultaneous UV-spectrophotometric determination of the contents of aspirin, phenacetin and caffeine in aspirin compound tablets (APC) and the basic principle and application of partial least squares method(PLS) in simultaneous multi-component determination have been studied. Confidence intervals of the three components are $100.1 \pm 0.23\%$ (aspirin), $100.0 \pm 0.25\%$ (phenacetin) and $100.1 \pm 0.33\%$ (caffeine) (confidence 95%). No information has ever been available in the literature for the application of PLS in pharmaceutical analysis. Compared with other traditional computing methods, PLS is a more perfect multicomponent determination method. It is especially applicable to analyzing samples in batches. It is faster and produces more accurate and reliable results. PLS provides a new method for in-line UV-visible spectrophotometric automation.

Key words Partial least squares method (PLS); UV-spectrophotometry; Aspirin compound tablets (APC); Aspirin; Phenacetin; Caffeine