

表 1 各不确定度分量汇总表

分量	来源	相对标准不确定度
$u(W_r)$	对照品重量不确定度	I: $1.27 \times 10^{-4}$ ; II: $2.28 \times 10^{-4}$ ; III: $9.64 \times 10^{-4}$
$u(W_T)$	10包供试品重量不确定度	$3.16 \times 10^{-5}$
$u(W_x)$	供试品重量不确定度	$8.41 \times 10^{-4}$
$u[V_{100}]$	对照品、供试品储备液体积不确定度	$7 \times 10^{-4}$
$u[V_{25}]$	对照品、供试品溶液定容体积不确定度	$8 \times 10^{-4}$
$u[V_5]$	量取对照品、供试品储备液体积不确定度	$1.4 \times 10^{-3}$
$u[A_x]$	HPLC仪供试品进样重复性不确定度	$4 \times 10^{-4}$
$u[A_r]$	HPLC仪对照品进样重复性不确定度	$4 \times 10^{-4}$

I:  $u[X]/X = 96.2\% \times [(4 \times 10^{-4})^2 + (4 \times 10^{-4})^2 + (3.16 \times 10^{-5})^2 + (8.41 \times 10^{-4})^2 + (1.27 \times 10^{-4})^2 + 2 \times (7 \times 10^{-4})^2 + 2 \times (8 \times 10^{-4})^2 + 2 \times (1.4 \times 10^{-3})^2]^{1/2} = 0.0015$

II:  $u[X]/X = 96.3\% \times [(4 \times 10^{-4})^2 + (4 \times 10^{-4})^2 + (3.16 \times 10^{-5})^2 + (8.41 \times 10^{-4})^2 + (2.28 \times 10^{-4})^2 + 2 \times (7 \times 10^{-4})^2 + 2 \times (8 \times 10^{-4})^2 + 2 \times (1.4 \times 10^{-3})^2]^{1/2} = 0.0016$

III:  $u[X]/X = 94.7\% \times [(4 \times 10^{-4})^2 + (4 \times 10^{-4})^2 + (3.16 \times 10^{-5})^2 + (8.41 \times 10^{-4})^2 + (9.64 \times 10^{-4})^2 + 2 \times (7 \times 10^{-4})^2 + 2 \times (8 \times 10^{-4})^2 + 2 \times (1.4 \times 10^{-3})^2]^{1/2} = 0.0021$

## 7.2 扩展不确定度的评定

扩展不确定度  $U = K \times u[X]$ , 按 95% 置信概率, 取包含因子  $K = 2$  则有  $U = 2 \times u[X]$ , 则按此计得、II、III的扩展不确定度分别为: 0.003 0.003 0.004

## 8 结果表示

根据评定结果, 本次实验阿咖酚散中阿司匹林、对乙酰氨基酚、咖啡因的标示百分含量分别表示为:

(96.2 ± 0.3)%; (96.3 ± 0.3)%; (94.7 ± 0.4)% (K = 2)。

## 9 讨论

9.1 本次试验不确定度的主要来源为体积类不确定度, 其中由温度产生的不确定度最大。因此, 建议尽量使实验室的温度与仪器校准时的温度接近, 以减少由温度引起的不确定度对测定结果的影响。

9.2 本试验在同样的条件下同时评定三种成分含测结果的不确定度, 结果表明 I、II 的不确定度相同, 而 III 略高。其主要原因是, III 对照品的取样量较小。在按标准操作的前提下, 取样量越小, 不确定度越大。提示在进行含量测定时, 对照品的取样量以不低于 20mg 为宜。

## 参考文献

- [1] 检测和校准实验室能力的通用要求. ISO Geneva 2005. 10.
- [2] JJF 1059-1999 测量不确定度的评定与表示. 北京: 中国计量出版社, 1999.
- [3] JJG 196-2006 常用玻璃仪器检定规程. 北京: 中国计量出版社, 2007.

# 注射用头孢哌酮钠舒巴坦钠中头孢哌酮降解物的定性研究

李涛<sup>1</sup>, 巩丽萍<sup>1</sup>, 谢元超<sup>1</sup>, 王文莹<sup>2</sup> (1. 山东省药品检验所, 济南 250101; 2. 山东鲁抗医药股份有限公司, 济宁 272021)

**摘要** 目的: 考察高效液相色谱中溶质的保留行为, 以更好地对溶质进行定性。方法: 采用不同仪器、不同色谱柱、不同配比流动相及不同柱温测定注射用头孢哌酮钠舒巴坦钠中头孢哌酮降解物的保留行为, 并比较了用相对容量因子法 ( $\alpha$ 法) 和相对保留时间法 (RRT法) 的校正结果。结果: 头孢哌酮降解物的保留行为受各因素影响较大。结论: 校正结果表明  $\alpha$ 法与 RRT法相比, 能更好地校正溶质的保留行为。

**关键词:** 头孢哌酮钠舒巴坦钠; 降解物; 相对保留时间; 相对容量因子

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1009-3656(2010)-4-265-3

作者简介: 李涛, 男, 副主任药师。学科及研究方向: 药物分析。联系电话: 0531-81216588

# Qualitative Investigation of the Degrading Substances in Cefoperazone Sodium and Sulbactam Sodium for Injection

Li Tao<sup>1</sup>, Gong Liping<sup>1</sup>, Xie Yuan-chao<sup>1</sup>, Wang Wen-sheng<sup>2</sup> (1. Shandong Provincial Institute for Drug Control, Jinan 250104; 2. Shandong Lukang Pharmaceutical Co., Ltd, Jinan 272021)

**Abstract Objective** To study the retention behavior of the solute in HPLC, and to determine the nature of the solute. **Method** The retention behavior of the Degrading Substances was determined by different chromatograph of liquid instrument, different chromatographic column, different composition proportion of the mobile phase and different column temperature, and the result through the relative capacity factor compared ( $\alpha$  method) and the relative retention time (RRT method). **Result** The retention behavior of the degrading substances cefoperazone sodium and sulbactam sodium was influenced greatly by different factors. **Conclusion** Compared  $\alpha$  method and RRT method, the retention behavior of the degrading substances was corrected better by the former.

**Key Words** cefoperazone sodium sulbactam sodium; degrading substances; relative retention time; relative capacity factor

注射用头孢哌酮钠舒巴坦钠是由头孢哌酮与舒巴坦混合的无菌粉末<sup>[1]</sup>,其中头孢哌酮为第三代头孢菌素,是主要抗菌成分;舒巴坦为合成的 $\beta$ -内酰胺酶抑制剂;两药联合使用对耐药革兰阴性菌具有明显协同抗菌作用,且敏感菌液更易被杀灭,临床上用于多种感染的治疗。《中国药典》2005年版(二部)<sup>[2]</sup>中其含量测定方法为HPLC法。在本研究中我们考察了系统适用性试验中的色谱保留行为,结果表明利用相对容量因子法<sup>[3]</sup>能更好地对头孢哌酮降解物进行定性。

## 1 仪器与试剂

美国 Waters 600 型高效液相色谱仪;日本 Shimadzu LC-20AT 型高效液相色谱仪,美国 Agilent 1100 型高效液相色谱仪,乙腈为色谱纯,水为蒸馏水,氢氧化四丁基铵(北京化工厂),磷酸溶液,硝酸钠(上海试剂厂)均为分析纯,头孢哌酮、舒巴坦及头孢哌酮降解物对照品(中国药品生物制品检定所),注射用头孢哌酮钠舒巴坦钠(样 1, 厂家 A 提供);注射用头孢哌酮钠舒巴坦钠(样 2, 厂家 B 提供)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Sinadzu C<sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 5  $\mu$ m) 色谱柱, Diamonsil<sup>TM</sup> C<sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 5  $\mu$ m) 色谱柱, Kromasil C<sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 5  $\mu$ m) 色谱柱, 三根色谱柱均为日常药品检验使用的色谱柱;流动相: 0.005 mol·L<sup>-1</sup> 氢氧化四丁基铵溶液(取 40% 氢氧化四丁基铵溶液 6.6 ml 加水 1800 ml

后,用 1 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸溶液调节 pH 值至 4.0,再用水稀释至 2 000 mL)-乙腈,检测波长: 220 nm。采用硝酸钠水溶液(0.1 g·L<sup>-1</sup>)测试不同 C<sub>18</sub> 色谱柱的死时间( $t_0$ )。

### 2.2 溶液制备

**2.2.1 对照品溶液** 头孢哌酮、舒巴坦及头孢哌酮降解物对照品对照品溶液: 取各对照品适量,分别用少量磷酸盐缓冲液(取 0.2 mol·L<sup>-1</sup> 的磷酸二氢钠溶液 39.0 mL 与 0.2 mol·L<sup>-1</sup> 的磷酸氢二钠溶液 61.0 mL 混匀,用磷酸调节 pH 值至 7.0)溶解,再分别加流动相稀释成浓度约为 1.0 g·L<sup>-1</sup> 的溶液。

**2.2.2 样品溶液** 取注射用头孢哌酮钠舒巴坦钠,称取适量,加流动相溶解并稀释成浓度约为 3.0 g·L<sup>-1</sup> 溶液。

### 2.3 头孢哌酮降解物保留行为影响因素的考察

以舒巴坦为参比物质,计算头孢哌酮降解物的相对保留值(相对容量因子  $\alpha$  和相对保留时间 RRT),计算公式如下:

$$RRT = \frac{t_r}{t_{ref}}, \quad \alpha = \frac{t_r - t_0}{t_{ref} - t_0}$$

其中  $t_r$ ,  $t_{ref}$ ,  $t_0$  分别为头孢哌酮降解物、参比物质(舒巴坦)和硝酸钠的保留时间。

**2.3.1 不同仪器的影响** 以同一色谱柱(Diamonsil<sup>TM</sup> C<sub>18</sub>柱),在不同仪器上测试,考察仪器对溶质色谱峰保留时间的影响,并采用 RRT 法和  $\alpha$  法进行了校正,见表 1。结果表明,不同仪器对头孢哌酮降解物的保留时间影响较大。

**2.3.2 不同色谱柱的影响** 在同一仪器上(岛津 LC-20AT 型高效液相色谱仪),以同一色谱条件考

表 1 不同仪器对头孢哌酮降解物保留值的影响

仪器	RRT* 样 1	RRT* 样 2	$\alpha^*$ 样 1	$\alpha^*$ 样 2
Shimadzu	0.930	0.929	0.666	0.667
Agilent	0.920	0.929	0.653	0.656
Waters	0.892	0.893	0.671	0.671
RSD% /%	2.171	2.255	1.394	1.185

注: \* 代表参比物质为舒巴坦。

察不同色谱柱对溶质保留行为的影响, 并采用 RRT 法和  $\alpha$  法进行了校正(表 2)。结果表明, 色谱柱对头孢哌酮降解物的保留时间影响较大。

表 2 不同色谱柱对头孢哌酮降解物保留值的影响

色谱柱	RRT* 样 1	RRT* 样 2	$\alpha^*$ 样 1	$\alpha^*$ 样 2
Shimadzu C <sub>18</sub> 柱	0.878	0.877	0.646	0.645
Diamonsi™ C <sub>1</sub> 柱	0.930	0.929	0.666	0.667
Kromasil C <sub>18</sub> 柱	0.920	0.919	0.638	0.638
RSD %	3.025	3.035	2.219	2.314

**2.3.3 流动相配比的影响** 将流动相磷酸二氢铵溶液-乙腈比例分别设为 62:38、65:35、67:33、70:30, 在同一仪器上, 以同一色谱柱考察不同比例流动相对溶质保留行为的影响, 并采用 RRT 法和  $\alpha$  法进行了校正(表 3)。结果表明, 流动相的配比变化与溶质保留行为密切相关, 对头孢哌酮降解物的保留时间影响较大。

表 3 不同流动相比对头孢哌酮降解物保留值的影响

流动相比	RRT* 样 1	RRT* 样 2	$\alpha^*$ 样 1	$\alpha^*$ 样 2
70:30	0.930	0.929	0.666	0.667
72:28	0.882	0.883	0.661	0.661
75:25	0.838	0.837	0.662	0.661
RSD %	5.178	5.204	0.416	0.501

**2.3.4 柱温的影响** 在同一仪器上(岛津 LC-20AT 型高效液相色谱仪), 考察色谱柱柱温对溶质保留行为的影响, 并采用 RRT 法和  $\alpha$  法进行了校正

(表 4)。结果表明, 色谱柱柱温对头孢哌酮降解物的保留时间影响较大。

表 4 色谱柱柱温对头孢哌酮降解物保留值的影响

柱温 /℃	RRT* 样 1	RRT* 样 2	$\alpha^*$ 样 1	$\alpha^*$ 样 2
25	0.919	0.918	0.669	0.668
35	0.930	0.929	0.666	0.667
40	0.930	0.930	0.664	0.664
RSD %	0.693	0.704	0.339	0.341

通过比较上述结果, 表明在相同影响因素下  $\alpha$  法较 RRT 法能更好地对溶质保留行为进行校正。

### 3 讨论

**3.1 头孢哌酮降解物的保留时间受仪器、色谱柱、流动相配比以及柱温影响较大, 尤其是受流动相配比变化影响较大, 但在现行各国药典中, 通常允许调节流动相的比例。因此若想提高 HPLC 法定性的准确性, 必须严格控制流动相的比例。**

**3.2 比较相对容量因子和相对保留时间的计算结果可以看出: 由于  $\alpha$  法考虑了色谱柱的死体积, 因此能更好地校正溶质的保留行为。**

**3.3 本实验可以解决药品标准色谱峰定位问题, 考察了各种色谱条件的影响, 比较两方法的优缺点得出: 对与参比溶质性质相接近的溶质可用相对保留时间和相对容量因子进行定性, 后者校正结果更好, 对与参比溶质性质相差较大的溶质应用相对容量因子进行定性。**

### 参考文献

- [1] 黄莉, 万江陵. HPLC 法测定注射用头孢哌酮钠舒巴坦钠中两组分的含量和有关物质[J]. 化学与生物工程, 2006, 23(1): 60.
- [2] 国家药典委员会. 《中国药典》. 2005年版. 二部[S]. 2005 786.
- [3] 王明娟, 李娅萍, 杨亚莉, 等. 提高高效液相色谱法定性准确性的方法探讨[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(4): 102.

## 《实用中西医结合临床》征订、征稿

本刊由江西省中医药研究院、江西省中西医结合学会主办。系综合性中西医结合学术期刊( ISSN 1671-4040 CN 36-1251/R, 邮发代号 44-126 国外代号 BM 1734), 为《中国核心期刊(遴选)数据库》《中国学术期刊(光盘版)》《中国期刊网》全文数据库入选期刊, 获《CAJ-CD 规范》执行优秀期刊奖。本刊以弘扬中西医结合学术、贴近临床、注重实用、鼓励创新、中西医并重为宗旨; 适用于中西医结合、中医、中西医、西医临床教学科研人员和基层医护人员订阅。本刊为大 16 开, 96 页, 双月刊, 定价 8.50 元, 全年 6 期共 51 元, 可在全国各地邮局订阅。亦可直接汇款至本刊编辑部订阅。

本刊地址: 江西省南昌市文教路 529 号, 邮编: 330046, 电话: 0791-8525626, 8528704, 传真: 0791-8528704, 联系人: 刘丹。  
E-mail: szx@chinapumal.net.cn jnc5621@tom.com。