(RSD=1.85%)和 0.04%(RSD=1.64%)。结果表明，本法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取丹酚酸 A(批号：100702)约 0.5 g，精密称定，置 5 mL 量瓶中，共称取 9 份，平均分成 3 组。每组分别精密加入对照品溶液各 0.4，0.5，0.6 mL，加 DMF 溶液溶解并稀释至刻度，制备成分别低、中、高 3 种浓度溶液，每个浓度 3 份。按“2.1”项下色谱条件测定，计算回收率，结果乙醇、乙酸乙酯的平均回收率分别为 100.97%(RSD =3.59%)和 102.19%(RSD=1.73%)。

2.9 样品的测定

精密称取 0.1 g 样品，按“2.2”项方法制得供试品溶液和对照品溶液，按“2.1”项下色谱条件测定，用外标法计算有机溶剂的残留量，结果见表 1。

表 1 丹酚酸 A 样品溶剂残留测定结果

Tab 1 Residue level of the organic solvents

残留溶剂	残留量/%		
	100702	100709	100716
乙醇	0.08	0.07	0.07
乙酸乙酯	0.04	0.05	0.05

3 讨论

本实验采用顶空进样法，使待测物挥发后直接进样检测分析，避免了待测样品中非挥发性组分对色谱柱的污染。结果表明，该方法分离度好、灵敏度高，方法简便易行，适用于丹酚酸 A 样品中有机残留溶剂的控制。

选择 DMF 溶液作为溶剂，使样品充分溶解，完全释放出残留有机溶剂，并且 DMF 不干扰乙酸乙酯和乙醇的测定，各有机组分分离情况良好，本方法灵敏度较高。本方法 2 种有机组分的定量限为 2.5 $\mu g \cdot mL^{-1}$ 和 0.50 $\mu g \cdot mL^{-1}$，灵敏度完全可以满足中药丹酚酸 A 中有机溶剂残留量测定的需要。

依据 ICH[6]和中国药典 2010 版[7]有溶剂残留量要求，乙醇、乙酸乙酯均属第 3 类低毒性残留溶剂，应控制其残留量，限度均为 0.5%。测定结果表明，样品中有机溶剂残留量均符合规定。

REFERENCES

[1] ZHANG L, ZHANG W K, ZHAO Y, et al. Research progress of salvianolic acid [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2011, 36(19): 2603-2609.

[2] HE K, WANG H Q, WANG K, et al. Headspace GC determination of residual chloroform in matrine [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2011, 31(9): 1824-1826.

[3] LI Z G, GU Q, QU S F, et al. Salvianolic acid A, pharmaceutical compositions containing the compound, their use and processes for preparing them: China, 200610145453.9 [P]. 2007-7-18.

[4] QIU Y H. Determination of residual organic solvents in benproperine phosphate by headspaee GC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2010, 27(10): 936-939.

[5] DIAO Y Z, YI M J, JIA J, et al. Determination of residual organic solvents in nelarabine by GC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28 (10): 956-958.

[6] ZHOU H J, DENG Z P, WANG Q L, et a1. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registra(药品注册的国际技术要求) [M]. Vol Quality. Beijing: People’s Medical Publishing House, 2007: l34-136.

[7] Ch.P(2010)VolⅡ(中国药典 2010 年版. 二部) [S]. 2010: Appendix 63-65.

收稿日期：2012-04-01

近红外光谱法快速分析注射用盐酸头孢甲肟及其水分的含量

刘咏梅[1]，阮丹[2]，王建[1*](1.浙江省食品药品检验研究院，杭州 310004；2.浙江工业大学，杭州 310014)

摘要：目的 建立近红外通用性模型，对注射用盐酸头孢甲肟及其水分进行无损、快速定量分析。**方法** 以不同企业生产的注射用盐酸头孢甲肟为分析对象，用光纤测定近红外漫反射光谱，并通过聚类分析方法确定校正集和预测集，考察不同预处理方法、谱段的影响，选择建立最佳的注射用盐酸头孢甲肟及其水分的定量模型。**结果** 注射用盐酸头孢甲肟定量分析模型由 36 个校正集样品建立校正模型，17 个样品用于外部验证，验证集相关系数为 96.33%，校正集均方差为 1.19%，验证集均方差为 1.66%。注射用盐酸头孢甲肟水分定量分析模型由 34 个样品校正集样品建立校正模型，19 个样品用于外部验证，验证集相关系数为 96.39%，校正集均方差为 0.22%，验证集均方差为 0.26%。**结论** 2 个模型结合可

基金项目：国家药典委员会国家药品标准提高研究项目(国药典化发[2010]84 号)

作者简介：刘永梅，女，副主任药师 Tel: (0571)86455354 E-mail: lym5008@sina.com *__通信作者：__王建，男，博士，博导，主任药师 Tel: (0571)86459458 E-mail: wangjianhw2000@yahoo.com.cn

以对注射用盐酸头孢甲肟含量和水分进行快速测定，方法简便，结果准确可靠，适合大量重复性样品的分析测定。
关键词：盐酸头孢甲肟；水分；近红外漫反射光谱；定量分析
中图分类号：R917.101　　**文献标志码**：B　　**文章编号**：1007-7693(2013)01-0061-05

Rapid Determination of Cefmenoxime and Moisture in Cefmenoxime Hydrochloride for Injection by Near-infrared Spectroscopy

LIU Yongmei[1], RUAN Dan[2], WANG Jian[1*](*1.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China; 2.Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a universal near-infrared reflectance model for rapid and nondestructive determination of cefmenoxime and moisture in cefmenoxime hydrochloride for injection. **METHODS** Using cluster analysis method, cefmenoxime hydrochloride for injection from different pharmaceutical companies were measured by a fiber optic probe and were divided into calibration and validation groups. Then, the quantitative models were established using partial least square through selection of different wavelength ranges, preprocessing methods. **RESULTS** For the quantitative model of cefmenoxime content, 36 batches of samples were used as calibration set, and 17 batches as validation set. The root mean square error of calibration was 1.19%, and the root mean square error of validation was 1.66%, and correlation coefficients was 96.33%. For the quantitative model of water content, 34 batches of samples were used as calibration set, and 19 batches as validation set. The root mean square error of calibration was 0.22%, and the root mean square error of validation was 0.26%, and correlation coefficients was 96.39%. **CONCLUTION** Using this two quantitative models, cefmenoxime hydrochloride for injection can be quickly evaluated. The method is simple and rapid, and can be used in the mobile lab.
KEY WORDS: cefmenoxime hydrochloride; moisture content; near-infrared diffuse reflectance spectroscopy; quantitative determination

近红外光谱是近年来发展较为迅速的一种高新分析测试技术，是光谱测量技术、计算机技术、化学计量学技术与基础测量技术的有机结合。与传统分析技术相比，具有无损检测、分析效率高、分析速度快、分析成本低、重复性好、样品测量一般无需预处理、光谱测量方便、适合于现场检测和在线分析等独特优势。利用近红外漫反射光谱分析技术，针对药品的活性成分建模，能够直接分析不同厂家的相同品种，实现现场对药品进行快速定性定量分析[1-5]。

盐酸头孢甲肟为半合成的第 3 代头孢霉素，其抗菌谱与其他第 3 代头孢菌素类似，对革兰阴性菌有高效，对各种阴性菌产生的 β-内酰胺酶特别稳定，具有杀菌作用。注射用盐酸头孢甲肟的含量测定主要采用高效液相色谱法，但该方法会破坏样品，预处理过程复杂且耗时较长。目前，国内外尚无盐酸头孢甲肟近红外定量分析的报道。本实验采用近红外漫反射光谱法建立了注射用盐酸头孢甲肟中头孢甲肟和水分定量分析模型，样品无需预处理，且方法简便，结果可靠。

1　仪器与试药

MPA 型近红外光谱仪(德国 Bruker 公司)，配有光纤探头测样附件，铟加砷(InCaAs)检测器，OPUS 5.0 光谱分析软件；Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司)；Sartorius BP 211 电子分析天平(德国赛多利斯公司)。

盐酸头孢甲肟原料药(批号：101217)、辅料(无水碳酸钠，批号：1011003)及 16 批注射用盐酸头孢甲肟工业样品分别来自浙江尖峰药业有限公司、桂林澳林制药有限责任公司、海南天煌制药有限公司。

2　方法

2.1　自制样品

由于工业样品及其水分含量无法涵盖实验测试范围，故模拟生产工艺，自制注射用盐酸头孢甲肟。按注射用盐酸头孢甲肟配方，配制盐酸头孢甲肟浓度范围为 56.91%~91.42%，水分含量范围为 1.58%~7.64%的 37 个实验样品，分别装入西林瓶中。采用高效液相色谱法测定 16 批工业样品及 37 批自制样品中头孢甲肟的含量作为理论值，按中国药典 2010 年版附录规定的方法测定注射用盐酸头孢甲肟的水分，作为近红外水分定量模型的理论值。

2.2　光谱测定

用光纤探头直接抵住药品西林瓶底，在 12 000~4 000 cm^{-1} 内扫描，测定其近红外漫反射光谱。以

仪器内置背景做参比，扫描次数 64 次，分辨率 8 cm^{-1}。每批样品分别于瓶底的不同部位测定 5 次，计算平均光谱用于建模。

3 结果

3.1 注射用盐酸头孢甲肟近红外定量分析模型的建立

3.1.1 近红外漫反射光谱 注射用盐酸头孢甲肟的近红外漫反射光谱图见图 1。

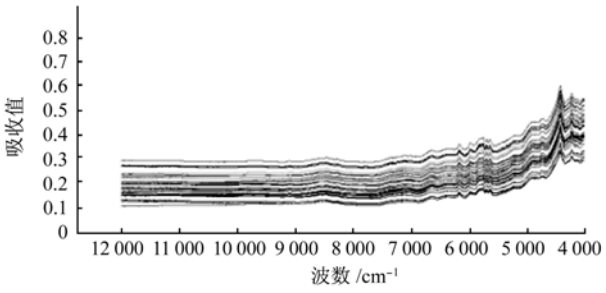

图 1 注射用盐酸头孢甲肟近红外光谱图

Fig 1 NIR spectra of cefmenoxime hydrochloride for injection

3.1.2 校正集样品的选择和模型建立 OPUS Quant 2 定量分析软件建模采用偏最小二乘回归算法(PLS)建立浓度与吸收强度间的线性关系。借助计算机软件进行回归时，校正集和预测集的选择直接关系到模型的稳定性。为了确保校正集和验证集样品的代表性，首先将样品采用全谱段、矢量归一方法进行聚类分析，分成 15 类，结果见图 2。分别从中挑取具有代表性的 17 个工业样品和自制样品作为外部验证的验证集，其余 36 个样品作为校正集。采用仪器 OPUS 软件包中定量模型建立功能下的 11 种预处理方法，选择合适的谱段，结合 PLS 建立模型，结果见表 1。

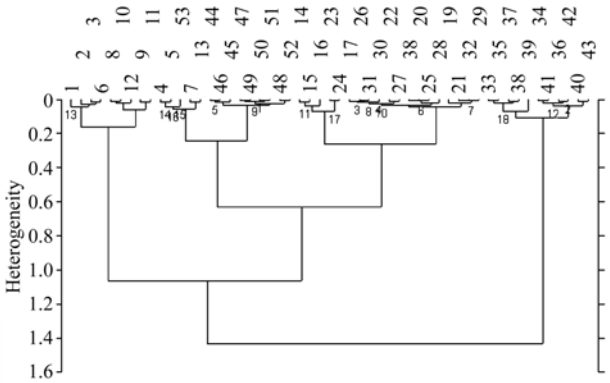

图 2 注射用盐酸头孢甲肟近红外图谱的聚类分析图

Fig 2 Cluster analysis of cefmenoxime hydrochloride for injection

表 1 注射用盐酸头孢甲肟定量分析模型的优化结果

Tab 1 The optimized results of the quantitative model of cefmenoxime in cefmenoxime hydrochloride for injection

校正模型	回归谱段/cm⁻	预处理方法	主因子数	校正集均方根误差/%	校正集相关系数 %	验证集均方根误差/%	验证集相关系数 %
1	6 102.0~4 246.	常数偏移消除	9	1.19	98.37	1.66	96.33
2	6 102.0~4 246.	光谱未处理	9	1.33	97.97	1.68	96.23
3	5 450.1~4 246.	直线差值	7	1.58	96.87	1.70	96.17

由于近红外光谱谱带复杂，信号重叠严重，在建立定量分析模型时，需要采用一定的数据处理才能获得准确的分析结果。由结果可知，各模型间的校正集和验证集的均方根误差均显示出一定差异，说明图谱预处理方法对模型的预测效果有影响。本实验中，常数偏移消除的预处理方法对消除注射用盐酸头孢甲肟的基线漂移具有良好的效果。3 个模型中，模型 1 的校正集和验证集的均方根误差均为最小，主因子数 Rank 值适中，相关系数 r 均优于其他模型，故选择模型 1 作为注射用盐酸头孢甲肟的定量模型验证参数。

3.1.3 外部验证结果 用建立的模型对验证集样品的注射用盐酸头孢甲肟含量进行预测，结果见图 3。由结果可知，验证集样品与 HPLC 测得值之间能较好的拟合，r=0.963 3。

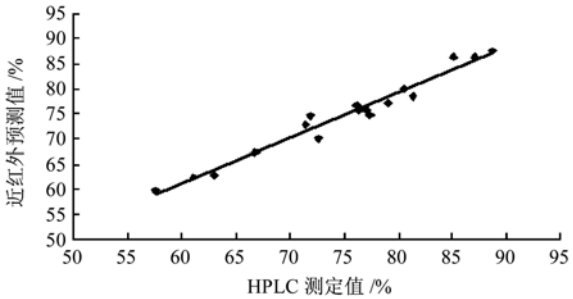

图 3 注射用盐酸头孢甲肟 HPLC 测定结果与 NIR 外部验证测试结果相关性图

Fig 3 HPLC and NIR prediction relativity graph of cefmenoxime content in cefmenoxime hydrochloride for injection

3.2 注射用盐酸头孢甲肟水分近红外定量分析模型的建立

空气的水蒸气在近红外图谱中有较强的吸收，

干扰样本中水分的测定。因此，在建立注射用盐酸头孢甲肟水分定量模型时，不是直接选择水分子吸收谱段，而是选择药物与水分子相互作用的相关谱段，尽可能减少环境对光谱的影响。本实验采用多种预处理方法对平均光谱进行预处理，运用 PLS 法提取信息为注射用盐酸头孢甲肟水分含量建立定量测定模型，结果见表 2。将结果从小到大的顺序排列，考察不同预处理方法对模型的影响。3 个模型中，模型 1 的谱段选择较为合适，校正集和验证集的均方根误差均为最小，故选择模型 1 作为注射用盐酸头孢甲肟水分含量测定的定量模型。用建立的模型对验证集样品的注射用盐酸头孢甲肟的水分含量进行预测，结果见图 4。由结果可知，验证集样品与 HPLC 测得值之间能较好的拟合，r=0.963 9。

表 2 注射用盐酸头孢甲肟水分定量分析模型的优化结果

Tab 2 The optimized results of the quantitative model of water content in cefmenoxime hydrochloride for injection

校正模型	回归谱段/cm^{-1}	预处理方法	主因子数	校正集均方根误差/%	校正集相关系数/%	验证集均方根误差/%	验证集相关系数/%
1	7 502.1~6 098.1 4 601.6~4 246.7	一阶导数+直线差值	9	0.22	98.29	0.26	96.39
2	5 450.1~4 246.7	一阶导数+直线差值	7	0.22	98.05	0.29	95.50
3	6 102.0~4 246.7	一阶导数+直线差值	7	0.21	98.21	0.30	95.24

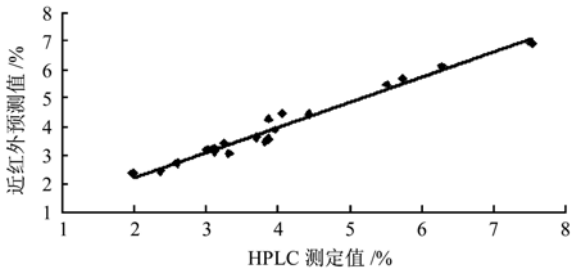

图 4 注射用盐酸头孢甲肟水分含量 HPLC 测定结果与 NIR 外部验证测试结果相关性图

Fig 4 HPLC and NIR prediction relativity graph of water content in cefmenoxime hydrochloride for injection

3.3 近红外定量分析模型的验证

3.3.1 专属性试验 用样品的马氏距离与限定值进行比较检验异常样品：限定值=Factor×Rank/M。式中，Rank 为阶数即主因子维数，M 为建模样品数，Factor 为因子。本实验因子数选择 2。为了验证建立的定量模型的专属性，收集了 30 种其他头孢菌素类注射用粉针，测定近红外图谱。结果其马氏距离均大于限定值(限定值为 0.340)，被认为异常。说明所建立的盐酸头孢甲肟定量模型具有良好的专属性。同时，也说明注射用盐酸头孢甲肟水分定量分析模型只适用于注射用盐酸头孢甲肟水分的测定，不能用于对其它品种的水分测定。

3.3.2 仪器精密度试验 取浙江尖峰药业有限公司样品(批号：100705)重复测量 5 次近红外光谱，分别求取平均光谱。用注射用盐酸头孢甲肟及其水分定量分析模型对其分别预测，盐酸头孢甲肟测定结果的 RSD 值为 1.39%；水分测定结果的 RSD 值为 0.39%；分别计算以无水物计盐酸头孢甲肟含量，其 RSD 值为 1.41%，说明仪器精密度良好。

3.3.3 准确性 对盐酸头孢甲肟定量模型的校正集样品进行内部交叉验证，交叉验证均方差为 1.19%，与 HPLC 测定结果相比，近红外测定结果平均相对偏差为 0.98%，最大相对误差为 3.06%。外部验证均方差为 1.66%，与 HPLC 测定结果相比，近红外测定结果平均相对偏差为 0.68%，最大相对偏差为 3.28%。对盐酸头孢甲肟水分定量模型的校正集样品进行内部交叉验证，交叉验证均方差为 0.22%，与 HPLC 测定结果相比，近红外测定结果平均相对偏差为 0.63%，最大相对误差为 3.56%。外部验证均方差为 0.26%，与 HPLC 测定结果相比，近红外测定结果平均相对偏差为 0.75%，最大相对偏差为 3.24%。将验证集样品近红外结果与参考方法(HPLC 测定法)在 95%置信区间内进行配对 t 检验，近红外检测与参考方法结果差异无统计学意义。

3.3.4 稳定性实验 取浙江尖峰药业有限公司样品(批号：100705)，5 d 内每天测定光谱，用模型分析其含量，考察其稳定性。结果盐酸头孢甲肟测定的 RSD 为 1.06%；水分测定的 RSD 为 0.48%，说明模型具有良好的稳定性。

4 讨论

粉针剂样品性质比较均一，对光谱的影响主要来源于其颗粒产生的散射。本试验通过选择盐酸头孢甲肟的特征谱段以及预处理方法，建立了

注射用盐酸头孢甲肟中头孢甲肟和水分定量分析模型，方法结果准确可靠、专属性强、重复性、线性良好。该技术适于药品的快速检查及不具备实验条件的基层和现场的药品质量控制，方便企业考察其产品质量，具有广阔的应用前景。

REFERENCES

[1] NI Z, HU C Q, FEN F. Development of a near IR method for rapid determination of cefuroxime sodium for injection [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2008, 43(2): 138-141.

[2] BAI Y, LI S, ZHANG W, et al. Rapid determination of moisture in honeysuckle by near-infrared spectroscopy [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(11): 1024-1027.

[3] FENG H H, FEN Y C, HU C Q. Construction of universal quantitative models for determination of cefoperazone sodium for injection from different manufacturers using near infrared reflectance spectroscopy [J]. Spectrosc Spectral Anal(光谱学与光谱分析), 2006, 26(12): 2214-2218.

[4] LI Y F, JING L Q, LIU Z Q, et al. The research progress on pyrazinamide [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2010, 27(4): 307-312.

[5] CHEN G B, YANG W F, TAO Q F, et al. Establishment of universal NIR model to determine the content of pyrazinamide tablets [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(10): 934-938.

收稿日期：2012-04-05

HPLC 测定脱氧核苷酸钠的含量和有关物质

吕雯，纪宏，丁锐，周长明*(北京市药品检验所，北京 100035)

摘要：目的 HPLC 测定脱氧核苷酸钠的含量和有关物质方法的建立。**方法** 色谱柱为 Agilent Zorbax SAX(4.6 mm×250 mm，5 μm)，流动相为 0.05 mol·L^{-1} 磷酸盐缓冲液(取磷酸二氢钾 6.80 g 加水 800 mL，用磷酸调节 pH 值至 3.3，加水稀释至 1 000 mL)，流速 0.5 mL·min^{-1}，检测波长 258 nm。**结果** 脱氧核苷酸钠中脱氧胞嘧啶核苷酸(d-CMP)、脱氧腺嘌呤核苷酸(d-AMP)、脱氧胸腺嘧啶核苷酸(d-TMP)、脱氧鸟嘌呤核苷酸(d-GMP) 4 种单核苷酸的进样量分别在 0.017 6~3.382 7 μg、0.019 6~ 3.758 0 μg、0.014 8~2.847 7 μg 和 0.018 0~3.452 8 μg 内与峰面积线性关系良好(r 均为 1.000)；d-CMP、d-AMP、d-TMP、d-GMP 的平均回收率分别为 96.73%，97.51%，97.98%，98.39%；RSD 分别为 0.17%，0.39%，1.32%，0.32%(n=9)；精密度、重复性良好。**结论** 采用本方法主峰与杂质峰的分离度好，结果准确可靠，灵敏度高，为本品质量标准的修订和提高提供了基础。

关键词：脱氧核苷酸钠；脱氧胞嘧啶核苷酸；脱氧腺嘌呤核苷酸；脱氧胸腺嘧啶核苷酸；脱氧鸟嘌呤核苷酸；高效液相色谱法；含量测定；有关物质

中图分类号：R917.101 **文献标志码：**B **文章编号：**1007-7693(2013)01-0065-05

Determination of the Content and Related Substances of Sodium Deoxyribonucleotide by HPLC

LÜ Wen, JI Hong, DING Rui, ZHOU Changming*(*Beijing Institude for Drug Control, Beijing 100035, China*)

ABSTARCT: OBJECTIVE To establish a method for determining the content and related substances of sodium deoxyribonucleotide by HPLC. **METHODS** The Agilent Zorbax SAX(4.6 mm×250 mm, 5 μm) was used, the mobile phase was 0.05 mol·L^{-1} potassium dihydrogen phosphate solution (adjust pH to 3.3 by phosphoric acid) at the flow rate of 0.5 mL·min^{-1}, the detective wavelength was 258 nm. **RESULTS** The calibration curves showed good linearity of 2'-deoxycytidine 5'-monophosphate (d-CMP), 2'-deoxyadenosine 5'-monophosphate (d-AMP) , 2'-deoxythymidine 5'-monophosphate (d-TMP), 2'-deoxyguanosine 5'-monophosphate (d-GMP) over the range of 0.017 6~3.382 7 μg, 0.019 6~3.758 0 μg, 0.014 8~2.847 7 μg and 0.018 0~3.452 8 μg, r=1.000. The average recovery rates of d-CMP, d-AMP, d-TMP and d-GMP were 96.73%, 97.51%, 97.98% and 98.39%, RSD were 0.17%, 0.39%, 1.32% and 0.32%(n=9). **CONCLUSION** The established method has excellent resolution for the related substances, and it is accurate and sensitive for testing the content and related substances of sodium deoxyribonucleotide which can be used for control of the production.

KEY WORDS: sodium deoxyribonucleotide; 2'-deoxycytidine 5'-monophosphate; 2'-deoxyadenosine 5'-monophosphate; 2'-deoxythymidine 5'-monophosphate; 2'-deoxyguanosine 5'-monophosphate; HPLC; assay; related substances

作者简介：吕雯，女，博士，主管药师 Tel: (010)83222411 E-mail: lvwen-bidc@163.com *通信作者：周长明，男，副主任药师 Tel: (010)83222411 E-mail: ZCM.602@163.com