

HPLC 法同时测定甲硝唑栓和替硝唑栓的含量

郑彩虹 楼亚敏 (浙江医科大学附属妇产科医院, 杭州 310006)

摘要 采用高效液相色谱法一次进样同时测定甲硝唑栓和替硝唑栓的含量, 均在 $6 \sim 36 \mu\text{g/ml}$ 浓度范围内呈良好的线性关系 ($r = 0.9999$), 甲硝唑和替硝唑的平均回收率分别为 100.09% 和 99.47% , RSD 分别为 0.69% 和 0.38% 。取低、中、高三种浓度的甲硝唑溶液和替硝唑溶液, 测得日内 RSD 和日间 RSD 均小于 1.2% 。

关键词 高效液相色谱法 甲硝唑 替硝唑 栓剂

甲硝唑作为抗滴虫和抗阿米巴的首选药物以及世界卫生组织推荐的抗厌氧菌感染的首选药物, 已

被制成多种剂型广泛地应用于临床。同属硝基咪唑的替硝唑则因其更高的疗效和更好的耐受性^[1]亦备

受重视。目前,甲硝唑和替硝唑制剂的主要分析方法为非水滴定法^[2],紫外分光光度法^[3,4]及高效液相色谱法^[5,6]。其中,栓剂的高效液相色谱法分析尚未见报道。作者在探讨高效液相色谱法分析甲硝唑栓和替硝唑栓时采用外标法可单独或同时测定两种药物的含量。结果准确,方法简捷。现报道如下:

1 药品与试剂 甲硝唑对照品(天津河北制药厂,930319,99.8%);替硝唑对照品(湖北广济制药厂,951110,99.6%);甲醇,色谱纯;冰醋酸,分析纯;水为重蒸馏水。

2 仪器及色谱条件 Beckman-System Gold 高效液相色谱仪,包括125泵,166紫外检测器;色谱柱为 Ultraspheere ODS(250 mm×4.6 mm,粒径 5 μm);流动相为甲醇-水-冰醋酸(20:80:0.1);检测波长为317 nm;流速为1.0 ml/min;柱温:15~20℃;纸速2.0 mm/min;进样量:20 μl。

3 测定方法与结果

表1 方法学精密度、重现性

序 号	M T	浓 度 (μg/ml)	日内误差(n=5)		日间误差(n=5)	
			x̄(标示量的%)		x̄(标示量的%)	
			RSD(%)		RSD(%)	
1		4.0	97.34	0.51	97.47	0.43
		6.0	102.48	0.58	104.04	0.99
2		20.0	98.86	0.79	99.55	0.93
		28.0	100.12	0.97	99.14	0.90
3		36.0	102.81	1.02	100.78	1.04
		50.0	98.26	0.55	99.57	1.18

3.3 回收率试验 精密称取甲硝唑、替硝唑对照品适量,按处方比例加入相应量的空白栓剂基质(PEG 400及 PEG 6000,极少量作脱模剂的液状石

3.1 标准曲线制作 精密称取105℃干燥至恒重的甲硝唑和替硝唑对照品各100 mg,用流动相分别溶至100 ml容量瓶内,稀释至刻度、摇匀,两两吸取上述甲硝唑溶液和替硝唑溶液0.2、0.3; 0.6、0.8; 0.8、1.1; 1.0、1.4; 1.2、1.7; 1.4、2.0; 1.8、2.5 ml,各加入至同一50 ml容量瓶内,再用流动相稀释至刻度。结果,甲硝唑在4~36 μg/ml浓度范围内: $C = 1.00390A - 0.00074$, $r = 0.9999$ ($n = 7$);替硝唑在6~50 μg/ml浓度范围内: $C = 1.35025A + 0.43729$, $r = 0.9999$ ($n = 7$)。

3.2 精密度试验 精密配制低、中、高三种浓度的甲硝唑、替硝唑混合液,在同一天内按操作连续进样5次,每次20 μl,得日内精密度;上述三种浓度,每天测1次,连续测5 d,得日间精密度。甲硝唑(M)、替硝唑(T)的平均回收率及RSD见表1。

蜡和极微量作着色剂的叶绿素铜钠),按方法操作,得M、T的回收率。结果见表2。

表2 回收率试验

序 号	投入量(g)		测得量(标示量的%)		平均回收率(%)		RSD(%)	
	M	T	M	T	M	T	M	T
1	0.1013	0.1003	100.22	99.36				
2	0.1001	0.1007	100.78	100.00	100.09	99.47	0.69	0.38
3	0.1025	0.1025	100.22	99.42				
4	0.1016	0.1024	99.12	99.09				

3.4 样品含量测定 取待测栓剂各10粒,精密称重后置研钵捣碎、研匀,再精密称取适量(约相当于甲硝唑或替硝唑100 mg),两两组合,用流动相溶解、过滤,稀释至约20 μg/ml,摇匀,进样20 μl,根据

出峰面积计算药物含量。另精密称取上述各研匀后栓剂适量(约相当于甲硝唑100 mg或替硝唑200 mg),加醋酐20 ml,置水浴上加热振摇至粉末溶化,加孔雀绿指示液2滴,用0.1 mol/L高氯酸滴

定液滴定至溶液显黄绿色,并用空白试验校正。两种方法测定结果见表3。

表3 样品含量测定

序 号	名 称	批 号	HPLC法	非水滴定法
			(平均标示量的%)	
1	甲硝唑栓	960704	99.81	100.52
	替硝唑栓	960815	91.82	93.40
2	甲硝唑栓	960715	102.13	104.66
	替硝唑栓	970116	95.76	97.98
3	甲硝唑栓	961225	93.05	92.85
	替硝唑栓	970122	100.46	101.97

4 讨论

4.1 在探讨 HPLC 法测定甲硝唑栓或替硝唑栓的含量时,作者开始采用的紫外检测波长分别是甲硝唑与替硝唑各自在流动相中的最大紫外吸收峰处 $\lambda_M = 318 \text{ nm}$, $\lambda_T = 316 \text{ nm}$, 结果两者在 $4 \sim 10 \mu\text{g/ml}$ 浓度范围内各以对方作内标或采用外标法均有良好的线性关系($r \geq 0.9998$),分离度 R 不小于 5,加之两者检测波长非常相近,故考虑一次进样同时测定两种栓剂含量的可行性。

4.2 HPLC 法进样前对样品进行过滤时,发现微孔滤膜($\phi 25 \text{ mm}$, 孔径 $0.3 \mu\text{m}$, 上海医药工业研究院高东药用净化器材厂,批号为九一年三月。)对替硝唑含量测定影响极显著。作者反复试验多次,结果表明微孔滤膜对 $4 \sim 50 \mu\text{g/ml}$ 替硝唑溶液的吸

附可达 $10 \sim 60\%$ 之多,而对甲硝唑溶液却无影响。用紫外分光光度法扫描,结果与 HPLC 法相一致。甲硝唑溶液过滤前后基本稳定而替硝唑溶液在微孔滤膜过滤后吸收光谱图形基本不高但吸收值普遍下降。原因待查。故在采用 HPLC 法测定药物含量时,对微孔滤膜的选择和使用也要十分谨慎。

4.3 由甲硝唑和替硝唑低、中、高三种浓度的回收率及 RSD 的结果可知,测定样品含量在具体操作时宜稀释在中间或较高浓度测得的结果更准确,重现性更好。

参 考 文 献

- 1 乐永箕,严玉萍.替硝唑(Tinidazole)抗厌氧菌及抗原虫作用.中国医院药学杂志,1994,14(2): 92
- 2 中国药典.二部.1995: 155
- 3 罗东,马文秀,刘松青.双波长分光光度法测定栓剂中甲硝唑、诺氟沙星的含量.中国医院药学杂志,1996,16(1): 22
- 4 谷杰,周仲强,卢宇平等.复方替硝唑栓的制备、质量控制及临床应用.中国药房,1996,7(6): 262
- 5 唐先哲,董慧,冯佩宁等.高效液相色谱法测定人血中的甲硝唑浓度.药物分析杂志,1988,8(3): 161
- 6 李士敏,陈启琪,吴永江等.替硝唑葡萄糖输液中替硝唑含量测定.现代应用药学,1996,13(4): 36

收稿日期: 1996—04—30