

RP-HPLC 测定甲硝唑阴道泡腾片中甲硝唑含量

陈雪帆¹,李会林¹,吴佩盛² (1.浙江省食品药品检验所, 杭州 310004; 2.台州市食品药品检验所, 浙江 台州 318000)

摘要:目的 采用反相高效液相色谱法测定甲硝唑阴道泡腾片中甲硝唑的含量。方法 采用 Alltima C₁₈ 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以甲醇-水 (20:80) 为流动相, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 紫外检测器检测波长为 320 nm。结果 RP-HPLC 测定的线性范围为 0.13~0.40 mg · mL⁻¹, $r=1.000$; 样品溶液在 24 h 内稳定; 平均回收率为 100.1%, RSD 为 1.0% ($n=9$); 日内和日间 RSD 分别为 0.7% 和 1.2%。结论 采用 RP-HPLC 测定甲硝唑阴道泡腾片中甲硝唑的含量, 专属性强, 结果准确可靠。

关键词:甲硝唑;含量测定;反相高效液相色谱法;阴道泡腾片

中图分类号: R917.101;R97.74

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693 (2009) 05-0415-03

Determination of Metronidazole in Metronidazole Vaginal Effervescent Tablet by RP-HPLC

CHEN Xuefan¹, LI Huilin¹, WU Peisheng² (1.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Zhejiang, Hangzhou 310004, China; 2.Taizhou Institute for Food and Drug Control, Zhejiang, Taizhou 318000, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE Establish a RP-HPLC method for the determination of the content of metronidazole in metronidazole vaginal effervescent tablet. **METHODS** Alltima C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm) was used as the stationary phase. The mobile phase was methanol-water (20:80). The flow rate was 1.0 mL · min⁻¹, and the detection wavelength was 320 nm. **RESULTS** The method was proved to be linear in the range of 0.13-0.40 mg · mL⁻¹ ($r=1.000$). The average recovery of the method was 100.1% with RSD=1.0% ($n=9$). The RSD of average contents of inter and intra-day was 0.7% and 1.2% respectively. **CONCLUSIONS** This method is simple, rapid, accurate and is suitable for determination of the content of metronidazole in metronidazole vaginal effervescent tablet.

KEY WORDS: metronidazole; assay; RP-HPLC; vaginal effervescent tablet

甲硝唑是广谱强效抗菌杀虫药, 其阴道泡腾片具有病变部位疗效明显、不良反应较少的优点。原甲硝唑阴道泡腾片质量标准收载于中国药典 2005 年版^[1], 采用紫外-可见分光光度法测定含量, 由于辅料等因素的干扰误差大, 且专属性不强, 本试验采用 HPLC 测定其含量, 方法简便, 易于控制。

1 仪器与试药

Agilent 1100 高效液相色谱仪; 甲醇为色谱纯; 水为重蒸水; 甲硝唑阴道泡腾片 (某药厂 A, 批号: 071102、070501; 某药厂 B, 批号: 080303、080304); 甲硝唑对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 100191-200305, 含量 100%)

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适应性试验^[2-3]

色谱柱: Alltima C₁₈ 柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 柱温: 室温; 流动相: 甲醇-水 (20:80); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 理论板数按甲硝唑峰计算不低

于 3 000; 检测波长: 320 nm; 进样量: 10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 取甲硝唑对照品约 25 mg, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀。

2.2.2 供试品溶液的制备 取甲硝唑阴道泡腾片样品, 研细, 取粉末适量 (约相当于含甲硝唑 0.25 g), 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇适量, 振摇使甲硝唑溶解, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 5 mL 置 100 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 按处方配比, 制备不含甲硝唑的阴性样品, 按供试品溶液方法制备。

2.3 专属性

精密取上述溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 结果空白辅料不干扰主峰测定。见图 1。

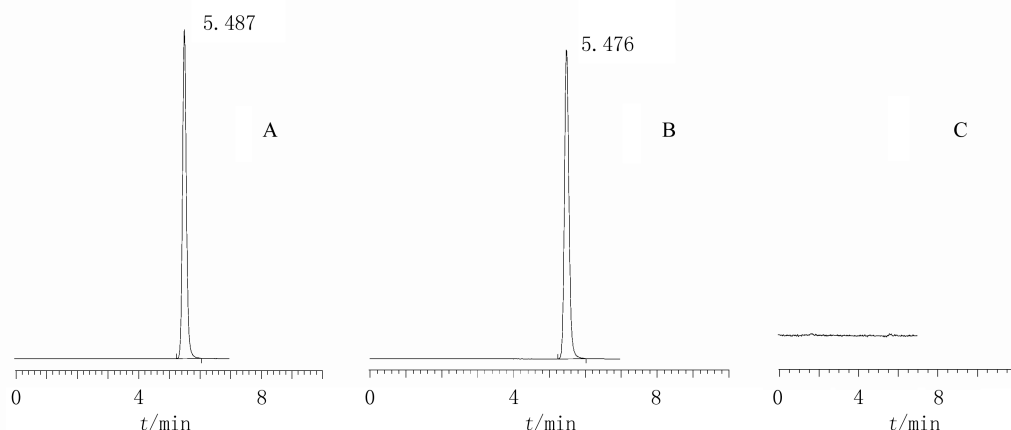


图1 高效液相色谱图

A-对照品溶液; B-供试品溶液 (071102); C-空白溶液

Fig 1 HPLC chromatograms

A-standard solution; B-solution of sample; C-solution of blank excipients

2.4 线性关系及范围

精密称取甲硝唑对照品 39.86 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 分别精密量取 2.5, 3, 3.5, 5, 6, 7.5 mL, 置 15 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 分别精密量取 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 以浓度 (C) 和峰面积 (A) 绘标准曲线, 回归方程和相关系数如下:

$$A = 18\,808.9\,C + 28.7, \quad r = 1.000.$$

结果表明, 甲硝唑在 0.13~0.40 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度范围内呈良好线性关系。

2.5 仪器精密度及溶液的稳定性试验

按上述色谱条件, 精密量取对照品溶液 10 μ L, 重复进样 5 次, 峰面积值的 RSD 为 0.2%。取同一份供试品溶液, 分别于 0、6、8、24 h 进样测定, 24 h 内峰面积值稳定, RSD 为 0.3%。

2.6 日内、日间精密度试验

取本品 (批号: 071102) 称取 6 份, 按样品测定方法于同一日内分别制备溶液, 进样测定得含量的日内精密度; 另取 5 份样品在不同的 5 日内分别制备溶液, 进样测定得含量的日间精密度。结果: 日内平均含量为 98.9% (RSD 为 0.7%); 日间平均含量为 100.0% (RSD 为 1.2%)。

2.7 回收率试验

精密称取样品 (批号: 071102, 含量为 98.9%) 粉末适量 (约相当于甲硝唑 0.025 g), 置 10 mL 量瓶中, 分别加入甲硝唑对照品 15、25、35 mg 各 3 份, 加 50% 甲醇适量, 振摇使溶解, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 1 mL 置

20 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 分别精密量取 10 μ L 注入液相色谱仪, 记录色谱图; 按上述标准曲线计算回收率, 结果见表 1。

表1 回收率试验结果 ($n=9$)

Tab 1 Recovery determination results ($n=9$)

本底量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
24.78	15.17	15.11	99.60	100.1	1.0
24.82	15.32	15.21	99.28		
25.11	15.26	15.17	99.41		
24.78	25.31	25.70	101.54		
24.69	25.55	25.38	99.33		
24.52	25.41	25.60	100.75		
25.20	34.62	35.12	101.44		
24.31	35.71	35.90	100.53		
24.48	36.69	36.20	98.66		

2.8 样品含量测定

分别取不同厂家样品, 按所拟定的方法试验, 结果见表 2。

表2 样品的含量测定结果 ($n=3$)

Tab 2 Determination results of the samples ($n=3$)

样品批号	甲硝唑含量/%	RSD/%
071102	98.9	0.7
070501	98.5	0.5
080303	98.8	0.8
080304	100.0	0.1

2.9 UV 法测定样品含量

分别取不同厂家样品, 按中国药典 2005 年版二部甲硝唑阴道泡腾片含量测定方法试验, 结果见表 3。

表3 采用 UV 法测得样品的含量测定结果 ($n=3$)

Tab 3 Determination results of the samples by UV ($n=3$)

样品批号	甲硝唑含量/%	RSD/%
071102	101.0	0.9
070501	101.4	1.1
080303	95.4	1.2
080304	95.7	1.0

3 讨论

3.1 在 HPLC 含量测定方法研究中, 取供试品溶液, 在 200 nm~400 nm 波长范围内扫描, 结果在 320 nm 波长处有最大吸收, 故选择 320 nm 波长作为检测波长。

3.2 实验证明, 用 HPLC 测定甲硝唑阴道泡腾片含量, 选择性、准确度高, 专属性强, 且重复性好, 自动化程度高, 可避免杂质干扰, 测定结果更为准确。原药典方法采用紫外 E 值法测定甲硝唑含量, RSD 偏高, 且不能鉴别样品中是否含甲硝唑, 专属

性不强。故建议在新版药典中采用 HPLC 测定本品含量。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2005) Vol II (中国药典 2005 年版.二部) [S]. 2005: 124.
- [2] LU J Y, CAO Y H, LIAO L, et al. Determination of metronidazole in metronidazole capsule by RP-HPLC [J].China Pharm (中国药业), 2006, 15(6): 19.
- [3] LIU M J,WANG J,XIE H,et al.Determination of metronidazole in metronidazole tablet by HPLC [J].Haerbin Med J (哈尔滨医药), 2002, 22(4): 44-45.

收稿日期:2008-07-18