

替硝唑葡萄糖输液中替硝唑含量测定

李士敏 陈启琪 吴永江

(浙江医科大学药系, 杭州 310006)

陈建方 玲 王小明

(浙江康恩贝集团开发研究中心, 杭州 310012)

摘要 报道了用 HPLC 法测定替硝唑葡萄糖输液中的替硝唑(TNZ)含量, 用 ODS 反相色谱柱, 以水:甲醇:冰醋酸(80:20:0.1)为流动相, 紫外检测波长317 nm。测得回收率为 100.4% RSD=0.66%, 最低检测浓度为 0.04 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

关键词 替硝唑 含量测定 高效液相色谱法

替硝唑, 1-[2-(乙基砒)乙基]-2-甲基-5-硝基咪唑, 属于硝基咪唑类化合物, 其抗厌氧菌和灭滴虫活性强于灭滴灵^[1]。替硝唑葡萄糖输液是替硝唑水溶液用5%葡萄糖调节等渗, 主要用于重度厌氧菌感染和外科手术厌氧菌感染的治疗和预防^[2]。替硝唑原料及替硝唑片剂含量多采用非水滴定法测定, 因替硝唑葡萄糖输液为水溶液制剂, 不能用非水滴定法。本实验试用 HPLC 法对替硝唑葡萄糖输液中的替硝唑含量进行测定, 方法简便可靠。

1 仪器与药品

1.1 仪器 岛津 LC-6A 高效液相色谱仪, SPD-6AV 紫外检测器, CR-4A 积分仪。

1.2 药品 替硝唑对照品(由浙江可立思安制药有限公司提供, 纯度>99.5%), 甲硝唑(由浙江舟山制药厂提供, 含量>99.5%), 其余试剂均为分析纯。

2 实验方法

2.1 色谱条件 色谱柱: SHIM-PACK CLC, ODS $\phi 4.6 \times 200$ mm; 流动相: 甲醇:水:冰醋酸(20:80:0.1), 检测波长317 nm; 流速1.0 ml/min, 进样量20 μl 。

2.2 标准曲线的绘制: 按替硝唑葡萄糖输液处方配制不含替硝唑的葡萄糖溶液作空白液, 另用流动相配制含有甲硝唑1.5 mg/ml 溶液作内标溶液, 用流动相配制替硝唑的标准溶液, 浓度范围在0.6~75 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 其中各含有甲硝唑内标物质的浓度为17

$\mu\text{g}/\text{ml}$, 分别进样20 μl , 结果见图1。空白葡萄糖溶液色谱图与样品色谱峰无干扰。内标物与替硝唑的分离度大于1.5。回归方程为: $A_i/A_s = 0.0051 + 0.0465C$ 。(n=6, r=0.9999)。其线性范围在0.6~77 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

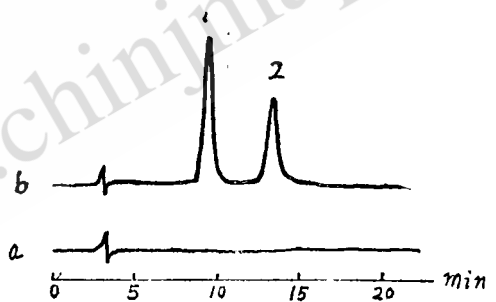


图1 替硝唑色谱图

a. 内标1与替硝唑2分离图

b. 空白葡萄糖溶液

2.3 灵敏度 将2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的替硝唑溶液用流动相分别稀释5, 25, 50倍, 分别注入上述 HPLC 系统分析, 至峰高为基线噪音的2倍左右, 测得其灵敏度为0.04 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

2.4 回收率试验 配制模拟制剂3份, 每份含替硝唑浓度分别为1.6, 2.0, 2.4 mg/ml, 葡萄糖含量为5%, 分别精密量取1 ml, 加内标液1 ml, 用流动相稀释至100 ml, 按上述色谱方法测定, 计算回

收率, 结果表明在 TNZ 为标示量的 80~120% 三个浓度的回收率为 $100.4 \pm 0.66\%$ 。RSD = 0.66%。
 2.5 重现性试验: 取上述标准曲线实验中配制的三份溶液, 每份溶液连续进样 5 次, 计算含量, 其 RSD 小于 0.50%。

2.6 样品测定 取本品每个批号三瓶, 精密量取此液 1 ml, 加入内标液 1.00 ml, 以流动相定容至 100 ml, 摇匀, 用 HPLC 测定含量, 结果见表 1、图 2。表中所列数据为三次测量平均值。

表 1 替硝唑葡萄糖输液含量测定

批号	替硝唑含量%(以标示量的百分含量表示)
940303	97.88 ± 0.32
940304	99.46 ± 0.33
940305	99.04 ± 0.39

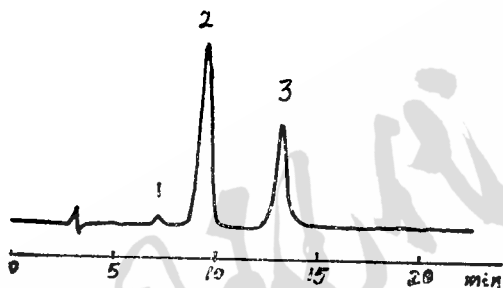


图 2 替硝唑葡萄糖输液图谱

1. 杂质 2. 内标 3. TNZ

3 讨论 由于替硝唑在水溶液中可能水解生成 2-甲基-5-硝基咪唑和极少量的替硝唑的 4-硝基异构化产物^[3,4], 而且其中 2-甲基-5-硝基咪唑又是替硝唑合成的起始原料, 它可能作为杂质带入输液中^[5], 在 317 nm 检测波长处也有一定的吸收度, 尤其当本品放置较长时间, 含量有所下降, 分解产生相对较多的 2-甲基-5-硝基咪唑时, 用紫外分光光度法测量

替硝唑输液中的替硝唑含量, 可能会引起含量偏高, 详见另文报道, 而 HPLC 能将替硝唑与 2-甲基-5-硝基咪唑及甲硝唑内标完全分离, 见图 3, 故测量准确可靠。

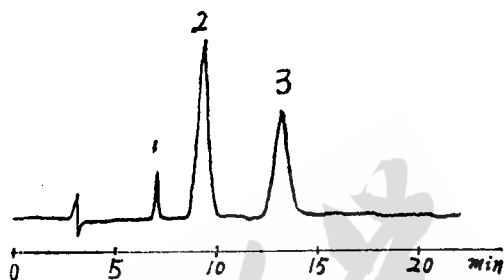


图 3 TNZ 和内标及 2-甲基-5-咪唑分离图

1. 2-甲基-5-硝基咪唑 2. 内标 3. TNZ

参考文献

- 1 Noguchi Y, Tanaka T. Aspects of the pharmacology and pharmacokinetics of nitroimidazole with special reference to tinidazole. *Drug* 1987 15(suppl. 1): 10
- 2 国家医药管理局医药工业情报中心站. 国际医药服务公司. 世界药物指南 上海: 上海医科大学出版社, 1989, 199—201.
- 3 Salomies, H. Structure elucidation of the photolysis and hydrolysis products of tinidazole. *Acta pharm. Nord.* 1991 3:211.
- 4 Rao, A. K. S. B, Prasad, R. S, Rao, C. C. et al. Isomerization of tinidazole involving a novel N-alkyl group migration. *J. chem. Soc. Perkin Trans.* 1989 7:1352.
- 5 Salomies, Salo J. P. An HPLC study of Tinidazole Hydrolysis. *Chromatographia.* 1993 36.

收稿日期, 1995—04—22

Determination of Tinidazole in Glucose Injection by High Performance

Liquid Chromatography

Li Shi-ming, Chen Qi-qi et al.

(Department of Pharmacy, Zhejiang Medical University, Hangzhou 310031)

Abstract This paper describes a HPLC procedure for the assay of Tinidazole in Glucose injection. The assay was carried out on a 200 nm × 4.6 mm column with 10 μm ODS, using methanol-water-acetic acid (20:80:0.1) as mobile phase, with UV detection at 317 nm. The elution was performed at the rate of 1 ml/min. The recovery rate was 100.0%.

Key words Tinidazole, HPLC

(on page 36)