

高效液相色谱测定甲硝唑注射液含量

★ 杨海秀 万红英 黄武军 黄庆 (江西制药有限责任公司 南昌 330006)

关键词:甲硝唑;甲硝唑注射液;高效液相色谱法

中图分类号:TQ 460.7⁺2 文献标识码:A

甲硝唑注射液是中国药典 2000 年版收载的品种,含量测定时采用分光光度法测定。由于裸眼读数易产生偏差,造成了该法测定精度较低。本文采用高效液相色谱法测定甲硝唑注射液中甲硝唑的含量,方法快速,简便准确且重现性好,适用于该产品的质量控制。

1 仪器与试剂

Shinadzu 高效液相色谱仪 SPD-10 Avp;LC-10 Atvp 分离单元;HW-2000 色谱工作站。

甲硝唑对照品(100191-200305,中国药品生物制品检定所);甲硝唑注射液,江西制药有限责任公司生产(批号 0409181、0409182、0409183);甲醇为色谱纯,水为注射用水,其它试剂为分析纯。

2 色谱条件

色谱柱:Waters Nova-Pak C18 (3.9 nm × 150 mm);流动相:甲醇-水(15:85);流速 0.8 mL/分钟;检测波长为 275 nm;进样量为 10 μL;内标溶液:邻苯二甲酸二丁酯溶液(8 mg/mL)。

3 方法学考察

3.1 系统适用性试验 按本文所述的方法制备供试品溶液、空白对照、内标溶液和对照品溶液以及色谱条件测得高效液相图。甲硝唑和内标物质的保留时间是 2.53 分钟和 5.64 分钟,理论塔板数分别是 386 0 和 571 0,分离度是 5.30。

3.2 线性范围 精密称定甲硝唑对照品 500.20 mg,置于 50 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为贮备液,精密量取贮备液 1.0、3.0、5.0、7.0、9.0 mL 置 100 mL 容量瓶中,精密加入内标物质 10 mL,加甲醇溶液至刻度,摇匀,进样 10 μL,测定甲硝唑和内标物质的峰面积,以甲硝唑与内标物质的峰面积比值为纵坐标,以甲硝唑的浓度为横坐标绘制标准曲线,得回归方程: $Y_{\text{甲硝唑}} = 1.9579X - 0.0012$, $r = 0.9999$ 。结果表明,甲硝唑在 0.100 04~0.903 60 mg/mL 范围内,其峰面积

与浓度有良好的线性关系。

3.3 回收率试验 精密量取已知甲硝唑含量的样品(批号 0409181)25 mL,共 6 份,置 100 mL 容量瓶中,每两份一组,分别加入甲硝唑对照液(浓度:2 mg/mL)5、10、15 mL,按 4 项下方法处理后,各进样 3 次,按内标法以峰面积计算,甲硝唑的平均回收率为 99.7%, $RSD = 0.37\%$ 。

3.4 重复性试验 取批号 0409181 的样品,照 4 项下方法平均配制 6 份样品溶液进行测定,得甲硝唑的平均相对标含量为 102.2%, RSD 为 0.45($n = 6$)。

4 样品的测定

精取甲硝唑注射液 10 mL,置 100 mL 容量瓶中,精密加入内标溶液 10 mL,加甲醇稀释至刻度,摇匀滤过,取滤液 10 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图,另取甲硝唑对照品适量同法测定。按内标法以峰面积计算含量,测得 3 批样品结果见表 1。

表 1 样品测定结果(标示量%, $n = 3$)

批号	HPLC		紫外法	
	含量(%)	RSD (%)	含量(%)	RSD (%)
0409181	102.4	0.25	101.8	1.06
0409182	101.7	0.29	101.5	1.10
0409183	101.4	0.28	101.2	1.09

5 讨论

(1)样品处理:中国药典 2000 年版采用盐酸(9-1000)稀释样品,本文采用甲醇稀释,实验结果表明,本文所用方法测定甲硝唑注射液含量准确、可靠,可替代中国药典 2000 版的分光光度测定法。

(2)检测波长的选择:甲硝唑在 275 nm 处有较大吸收,且内标物质与样品甲硝唑之间有良好的分离,用于含量测定。根据药典选择 330 nm 测定有关物质,有利于各个杂质的检出。

(3)方法的确定:因溶剂是甲醇等易挥发液体,为减少操作中因为溶剂挥发对含量测定产生的影响而选择内标法测定。

(收稿日期:2005-03-28)