

HPLC测定硝呋酮片剂中硝呋酮及有关物质的含量

李玮玲, 王健松, 胡育筑*

(中国药科大学分析化学教研室, 南京 210038)

摘要 目的 建立 RP-HPLC法测定硝呋酮片中硝呋酮及其有关物质的含量。方法 以甲醇-水(45: 55, v/v)为流动相, Lichrospher C₁₈色谱柱(5 μ m, 6.0 mm \times 150 mm)为固定相, 流速为 1 ml/min, 检测波长 210 nm。结果 辅料对样品测定不干扰, 硝呋酮在 1~300 μ g/ml 浓度范围内线性关系良好, RSD 为 0.76%, 平均回收率为 99.6%, 最低检测限为 15.1 ng/ml。结论 方法可用于硝呋酮片剂及有关物质的含量测定。

关键词 硝呋酮; 高效液相色谱法; 有关物质; 含量测定

中图分类号: TQ 460.72 R978.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-5048(2002)06-0540-04

硝呋酮(nifuratel)是一种抗真菌药, 对导致妇女生殖系统感染的细菌、原虫和霉菌等有强烈而有效的杀灭作用, 对细菌、滴虫或霉菌感染引起的各种阴道炎, 具有疗效好、副作用小的特点^[1-3], 剂型有片剂、软膏剂和栓剂等。

文献报道^[4]在乙腈-水(磷酸调节 pH 至 3.0)系统中用 RP-HPLC 法可测定硝呋酮, 作为测定其他药物的内标物, 其保留时间在 8 min 左右; 未见文献报道测定硝呋酮片剂含量的方法。本文建立了测定硝呋酮片中主药及其有关物质含量的高效液相色谱方法。

1 实验材料

1.1 仪器

岛津 LC-10A vp型高效液相色谱仪; 岛津 LC-10AT vp型紫外检测器; 杭州 2000 色谱工作站。

1.2 药品与试剂

硝呋酮样品和对照品由南京生命源保健实业有限公司提供; 甲醇为优级纯, 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适应性试验

色谱柱: Lichrospher C₁₈(5 μ m, 6.0 mm \times 150 mm); 流动相: 甲醇-水(45: 55), 流动相使用前经

0.45 μ m 有机滤膜抽滤并脱气; 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 210 nm; 柱温: 室温。

2.2 色谱行为

在实验确定的色谱条件下, 硝呋酮在 11.0 min 出峰, 有关物质在 8.6 min 和 13.1 min 出峰, 峰形良好, 测得拖尾因子为 1.06, 理论塔板数为 8849, 无杂峰干扰测定(图 1)。

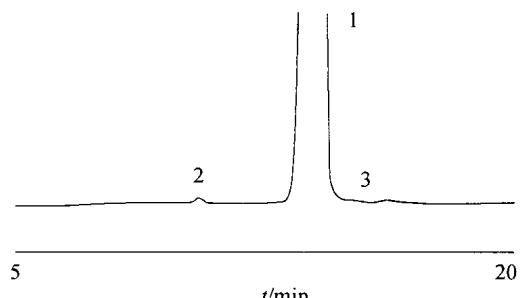


Fig. 1. Chromatograms of nifuratel and related compound in tablets
1. nifuratel; 2 and 3. relative substance

2.3 标准曲线的制备

精密称取经 105°C 干燥至恒重的硝呋酮对照品约 25 mg, 置 25 ml 的容量瓶中, 加乙腈溶解, 并稀释至刻度, 摆匀, 作为对照品贮备液。精密移取贮备液 5 ml 至 100 ml 容量瓶中, 用流动相配制成浓度为 50 μ g/ml 的标准溶液, 分别精密移取标准溶液 0.2,

0.5, 3, 5 ml和对照品贮备液 1, 3 ml至 10 ml的容量瓶中, 用流动相稀释成准确浓度分别为 1.020, 15.30, 25.50, 51.00, 102.0, 306.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的系列对照溶液, 分别取上述溶液 20 μl 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 以峰面积 (Y) 与浓度 (X) 作线性方程, $Y = 33.83 + 1.179 \times 10^5 X, r = 0.9999$, 结果表明硝呋噁酮在 1~300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度范围内具有良好的线性关系。

2.4 进样精密度

取浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的对照品溶液 20 μl 注入液相色谱仪, 平行测定 6 次, 其 RSD 为 1.07%。

2.5 方法专属性

2.5.1 辅料干扰试验 取处方量辅料适量, 按含量测定项下操作, 记录色谱图, 另取硝呋噁酮对照品适量, 按含量测定项下方法配制成 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的溶液, 取 20 μl 注入液相色谱仪中, 记录色谱图。辅料和对照品色谱图见图 2a 和 2b。实验结果表明, 辅料对硝呋噁酮的测定不产生干扰。

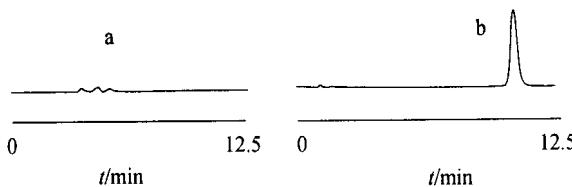


Fig. 2. Chromatograms of excipient (a); nifuratel (b)

2.5.2 破坏性试验 贮备液配制: 取本品 20 片, 除去包衣, 研细, 精密称取适量 (约相当于硝呋噁酮 25 mg), 置于 25 ml 容量瓶中, 加乙腈至近刻度, 超声 5 min, 并用乙腈稀释至刻度即得。

移取贮备液 2 ml 置 10 ml 容量瓶中, 分别在强酸、强碱、光照及高温条件下试验, 然后配制成浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的溶液。分别取上述溶液各 20 μl 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 见图 3a, 3b, 3c 和 3d。实验结果表明, 在本文选定的色谱条件下, 各降解产物与硝呋噁酮均有良好分离, 对含量测定不产生干扰。

2.6 检测限

取对照品溶液, 配制成浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的溶液, 平行进样 5 次, 按照 $S/N = 3$ 计算检出限 $D = C \times 3 / S/A$ (S 为 5 次进样标准偏差, C 为样品浓度, A 为 5 次进样平均峰面积), 计算后得到检测限为 15.1 ng。

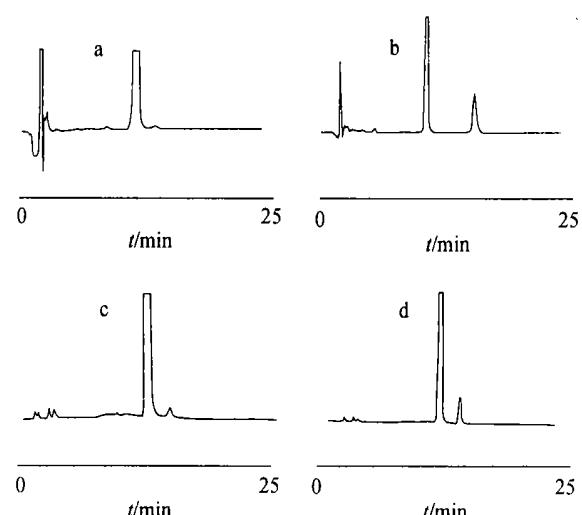


Fig. 3. Chromatograms of nifuratel and its related compounds: acid degradation (a); alkali degradation (b); thermo-degradation (c); photo degradation (d)

2.7 回收率试验

分别精密称取硝呋噁酮对照品 80, 100 和 120 mg, 并精密称取处方量辅料置研钵中, 混匀, 研细。取上述细粉约 35 mg, 精密称定, 置 25 ml 量瓶中, 加乙腈约 20 ml, 超声 15 min, 加乙腈稀释至刻度, 摆匀, 过滤, 弃去初滤液, 精密量取续滤液 0.5 ml 置 10 ml 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摆匀, 制成供试品溶液。另取对照品适量, 精密称定, 加乙腈溶解并稀释成 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的溶液, 在加流动相稀释成 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的对照品溶液。在上述色谱条件下分别取 20 μl 注入液相色谱仪中, 记录峰面积, 计算回收率, 结果见表 1。

Tab. 1. Recovery test ($n = 9$)

No.	Added ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Found ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Recovery (%)	Average recovery (%)	RSD (%)
1	20.60	20.38	98.93		
2	20.50	20.40	99.51		
3	19.60	19.71	100.6		
4	25.10	25.02	99.70		
5	25.50	25.76	101.0	99.6	0.76
6	24.70	24.43	98.91		
7	29.00	28.69	98.93		
8	29.10	28.87	99.20		
9	29.30	29.15	99.49		

2.8 含量测定

取硝呋噁酮片剂 20 片, 研细, 取细粉适量 (约相当于硝呋噁酮 25 mg), 精密称定, 置 25 ml 量瓶中, 加乙腈约 20 ml, 超声 15 min, 加乙腈稀释至刻度, 摆匀, 过滤, 弃去初滤液, 精密量取续滤液 0.5 ml 置 10 ml 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摆匀, 制成供试品溶液。另取对照品适量, 精密称定, 加乙腈溶解并稀释成 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的溶液, 在加流动相稀释成 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的对照品溶液。在上述色谱条件下分别取 20 μl 注入液相色谱仪中, 记录峰面积, 计算回收率, 结果见表 1。

匀。过滤,弃去初滤液,取续滤液作为贮备液。精密量取贮备液 0.5 ml 置 10 ml 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,制得供试品溶液。另取对照品适量,精密称定,加乙腈溶解并稀释成 1 mg/ml 的溶液,在加流动相稀释成 50 μg/ml 的对照品溶液。在上述色谱条件下分别取 20 μl 注入液相色谱仪中,记录峰面积,计算标示百分含量,结果见表 2

Tab 2 Assay of tablets (n= 3)

Batch No.	Labeled amount (%)	Relative average bias (%)
20010401	97.24	0.12
20010402	97.51	0.20
20010403	97.36	0.29

2.9 方法精密度试验

取同一批号片剂(批号 20010401),按含量测定项下操作测定含量 6 次,考察方法的重复性,得平均标示含量为 97.22%,RSD 为 0.33%;另用两根不同厂家的色谱柱,在两台仪器上同法测定,考察方法的中间精密度,得平均标示含量为 97.34%,RSD 为 0.45%。

2.10 有关物质的测定(自身对照法)

精密量取含量测定项下贮备液 2 ml 置 10 ml 量瓶中,用流动相稀释成 0.2 mg/ml 的溶液作为供试品溶液,再精密量取供试品溶液 0.1 ml 置 10 ml 量瓶中,用流动相稀释成 2 μg/ml 的溶液作为自身对照的稀溶液。取稀溶液 20 μl 注入液相色谱仪,记录主成分峰面积,调整检测灵敏度,使主成分峰高达满量程的 10%~15%,再取供试品溶液 20 μl 注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分保留时间的 2 倍,量测除主成分峰和溶剂峰以外的各峰的峰面积,计算有关物质的含量。采用本法测定 3 批样品(批号 20010401 20010402 20010403)有关物质含量(%)分别为 0.96, 0.81 和 0.35

3 讨论

3.1 方法评价

本文建立的方法能实现硝呋喃酮与有关物质的有效分离,分离度均大于 1.5,色谱柱效高,理论塔板数达到 8000 以上,流动相系统比文献报道简单,可以达到含量测定和有关物质的检查要求。

硝呋喃酮在 1~300 μg/ml 浓度范围内线性关系

良好,含量测定平均回收率达到 99.6%,可见回收率较高,重现性好,RSD 值为 0.76%,检测限低。

片剂辅料对测定不干扰,通过专属性考察,主成分峰和杂质峰达到基线分离,杂质均不干扰测定,所以该色谱条件剂可以用于含量测定,又可以用于有关物质检查。

3.2 溶剂的选择

由于硝呋喃酮只有在乙腈和二甲基甲酰胺中有较好的溶解性,所以在流动相中的溶解性较差,只能采用先在乙腈中溶解^[4],然后用流动相稀释,在 3 min 左右有溶剂峰出现,但不影响测定。在实验过程中曾采用二甲基甲酰胺溶解样品,结果在色谱系统中出峰较快,与溶剂峰干扰,并且峰形不好,严重拖尾,故采用乙腈作为溶剂,溶剂直接影响测定的分离度,峰形,如果溶剂不恰当,无论如何选择流动相,都无法进行含量测定和有关物质检查。

3.3 检测波长的选择

由于杂质为 5 硝基呋喃类化合物,硝呋喃酮在 380 nm 以下均有吸收,但为了兼顾主药和杂质同时能被检出,故选择 210 nm 作为测定波长。

3.4 溶液的稳定性

在实验过程中发现溶液在见光的条件下比较容易发生降解,所以进行了溶液稳定性考察实验,取浓度为 51.60 μg/ml 的对照品溶液,照含量测定项下,分别在避光和不避光的条件下于 0, 1, 2, 4, 8, 24, 48 h 进行测定,结果表明在避光条件下,测定液放置 48 h 稳定,其 RSD 为 0.31%,而不避光得条件下溶液发生降解,48 h 后降解了 18.68%。实验表明本品溶液应放置在棕色瓶中,并在避光条件下保存。

参 考 文 献

- [1] Pail, Sang G. Micronucleus induction in mouse bone marrow cells of some nitrofuran, 5-nitroimidazole and nitrothiazole derivatives used as trichomonacides in Korea [J]. *Environ Mutagens Cacinog*, 1985, 5 (2): 61~72.
- [2] Sreedhar, Reddy N Y, Jayarama S, et al. Electrochemical behavior of nitrofurans [J]. *J Indian Chem Soc*, 1991, 68 (1): 562~566.
- [3] Garcia-March F J, Garcia-Domenech R, Galvez J, et al. Pharmacological studied of 1-(p-chlorophenyl)-propanol and 2-(1-hydroxy-3-butenyl) phenol: two new nonarcotic analgesics designed by molecular connectivity [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1997, 49 (1): 10~15.
- [4] Guinebault PR, Broquaire M. Determination of rifuroxazine in

biological fluids by automated high-performance liquid chromatography with large-column injection [J]. *J*

Chromatogr, 1981, **204**(1): 329-323.

Determination of Nifuratel and Its Related Compounds in Tablets by RP HPLC

LI Wei-Ling, WANG Jian-Song, HU Yu-Zhu

Department of Analytical Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China

ABSTRACT **AIM** The purpose is to develop RP-HPLC method for the assay of nifuratel and its related compounds in nifuratel tablets. **METHODS** Separation was performed on a Lichrospher C₁₈ column. The mobile phase consists of CH₃OH:H₂O(45: 55, v/v). The flow rate was 1 ml/min. The UV detection was set at 210 nm. **RESULTS** The excipient did not interfere with nifuratel. Nifuratel had a good linear relation in the range of 1~300 μg/ml, the RSD was 0.76%, the average recovery was 99.6% and the limit of detection was 15.1 ng/ml. **CONCLUSION** The method was simple, sensitive and rapid. It can be applied to the determination of nifuratel and related compounds in nifuratel tablets.

KEY WORDS Nifuratel; RP-HPLC; Related compound; Determination of content

· 产业动态 ·

13个大型制药项目入驻南京生物医药科技工业园

中创网南京分站信息: 投资为 5000万元的南京制药有限公司制剂工程项目在南京生物医药科技工业园竣工投产。至此,已有 13个大型制药项目落户其间,象征着以新药研发生产为核心、集多种药剂型于一体、重点发展生物及中西药制剂的南京“药谷”已初显端倪。

生物医药与电子信息、新材料并列为 21世纪全球性的热门产业,发展前景极为广阔。南京是我国重要的生物医药基地,也是我国生物医药教育最为集中和发达的城市之一,具有雄厚的科研、教育、产业基础。到 2002年 9月下旬,全市有药品研究机构 100多家,生物医药类专业院校 10余所,制药企业 50多家,其中 13家已通过国家医药质量体系认证,近年全市实现医药工业总产值近 20亿元。南京市已成为众多医药企业与国际接轨、参与国际竞争的重要平台。

南京市委、市政府高度重视生物医药产业的发展,于去年批准在南京经济技术开发区设立了南京生物医药科技工业园。该工业园位于南京东北郊乌龙山风景区两侧,占地面积 2平方公里,环境优美,交通便利,具备制药企业国家医药质量体系所需的外部环境。如今,园区内已建成和在建的有金陵制药、臣功制药、先灵制药、美瑞制药等 13个大型制药项目,总投资 10亿元。省药物研究所、臣功制药已在此成立了专门的新药开发机构。园区内各项目间既有利益互补,又有良性竞争,集聚效应越来越明显。去年,园区医药工业的总产值占全市的 40%以上。随着更多项目的入园建设,该比例将逐年扩大,园区已成为南京名副其实的医药产业重要基地。