

高效液相色谱法测定奥硝唑漱口液中奥硝唑的含量

李 冰^{①②} 齐腊梅^② 汪 燕^②

[摘要] 目的 建立奥硝唑漱口液中奥硝唑含量的测定方法。方法 采用高效液相色谱法, 色谱柱: Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-水 (50:50), 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 320 nm; 柱温: 室温。结果 奥硝唑在 2.5 ~ 50 μg/ml 范围内呈良好线性关系, $r = 0.9993$ 。平均回收率为 100.50%, RSD < 6%。结论 该法灵敏、准确、简单、快速, 可用于奥硝唑漱口液中奥硝唑的含量测定。

[关键词] 奥硝唑; 高效液相色谱法; 奥硝唑漱口液

[中图分类号] R927.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1008-9926(2011)05-0440-02

[DOI] 10.3969/j.issn.1008-9926.2011.05.020

Determination of the Content of Ornidazole in Ornidazole Mouth Rinse by High Performance Liquid Chromatography

LI Bing^{①②}, QI La-mei^②, WANG Yan^②

^①Medical Team, Reserve Army of PLA, Anqing 246003, China;

^②Anqing Hospital, Anhui Province, Anqing 246003, China

[Abstract] **Objective** To establish a high performance liquid chromatography method for the determination of ornidazole in ornidazole mouth rinse. **Methods** Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used with the mobile phase consisting of methanol-water (50:50) at a flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 320 nm under room temperature. **Results** Ornidazole showed good linear relationship in the range of 2.5-50 μg/ml, $r = 0.9993$. The average recovery was 100.50%. **Conclusion** The method is sensitive, accurate, simple and can be used for ornidazole content monitoring.

[Key words] high performance liquid chromatography; ornidazole; ornidazole cough with liquid

奥硝唑(ornidazole, ONZ)是第三代新型硝基咪唑类衍生物,作用于厌氧菌、阿米巴、贾第鞭毛虫和毛滴虫细胞的 DNA,使其螺旋结构断裂或阻止其转录复制而导致病菌死亡^[1]。由于奥硝唑口服、注射给药,药物流经血液分布到全身易引起较多的不良反应。为了充分发挥奥硝唑的局部治疗作用,减少不良反应的发生并结合临床需要,控制制剂的质量,建立了高效液相色谱法测定奥硝唑漱口液中奥硝唑含量,取得令人满意的结果,现报道如下。

1 仪器与试剂

2001 型高效液相色谱仪, ANASTAR 色谱工作站, M525 型紫外检测器, 77251 进样器, 20 μl 定量环(美国 SSI 公司); TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司); BS224S

电子天平(德国 Sartorius 公司)。奥硝唑(含量为 99.98%, 南京圣和制药有限公司, 批号: 100205); 甲硝唑(含量为 99.96%, 蚌埠丰原制药有限公司, 批号: 100908-1); 奥硝唑口服液(奥硝唑含量 0.5%, 自制, 批号见表 2), 甲醇为色谱纯, 其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-水 (50:50), 流速: 1.0 ml/min, 检测波长: 320 nm, 柱温: 室温, 进样量: 20 μl。

2.2 溶液的制备 (1) 对照品溶液 精密称取干燥 60℃ 至恒重的奥硝唑原料 250 mg, 置 50 ml 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 配成 5 mg/ml 的对照品贮备液。(2) 内标溶液 精密称取干燥至恒重的甲硝唑对照品 100 mg, 置 50 ml 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 配成 2 μg/ml 溶液。(3) 供试品溶液 取奥硝唑 5 g, 加适量蒸馏水中, 搅拌至溶解, 滤过, 另取羟苯乙酯 0.3 g 溶于适量热蒸馏水中, 搅拌至溶解后与上液合并, 并加入蒸馏水使成 1000 ml, 即得。

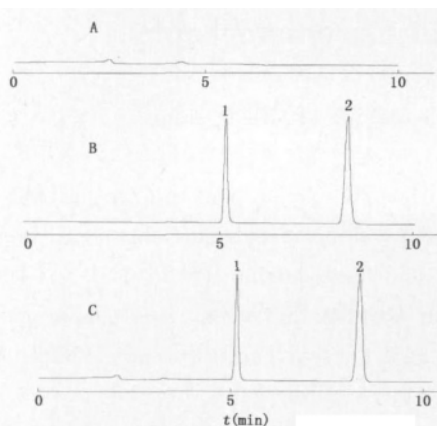
作者简介: 李 冰, 副主任药师。研究方向: 药物分析。Tel: (0556) 5223087; E-mail: libing7212@163.com

作者单位: ① 246003 安徽安庆, 安徽陆军预备役步兵师第二团卫生队; ② 246003 安徽安庆, 安徽省安庆市立医院药剂科

(4) 空白溶液 按处方比例制成不含奥硝唑的空白样品,并按(3)方法制得空白溶液。

2.3 测定方法 精密吸取奥硝唑漱口液 0.5 ml、内标溶液 1 ml 置 100 ml 量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,取 20 μ l 进样,按内标法以峰面积比计算,即得。

2.4 系统适用性试验 分别取对照品溶液、样品溶液、空白溶液各 20 μ l 按 2.3 项下方法操作,色谱峰保留时间适宜,甲硝唑、奥硝唑保留时间为 5.183、8.383 min,内标物和样品峰形对称,无干扰,理论塔板数以奥硝唑计算为 3500。见图 1。



A: 空白血浆; B: 对照品; C: 样品溶液; 1: 甲硝唑; 2: 奥硝唑

图 1 高效液相色谱图

2.5 线性关系考察 分别精密量取对照品贮备液,配成浓度分别为 2.5、5、10、20、50 μ g/ml 血清样品,按 2.3 项下方法操作,记录测定结果,求得奥硝唑与内标的峰面积比,以奥硝唑浓度(X)和峰面积比(Y)进行线性回归,得回归方程为:

$$Y = 0.0846X + 0.0371, r = 0.9993$$

奥硝唑在浓度为 2.5 ~ 50 μ g/ml 范围内线性关系良好。

2.6 精密度试验 取标准贮备液制备浓度为 10 μ g/ml 的奥硝唑对照品溶液,按 2.3 项下方法操作,连续进样 5 次,记录样品和内标物峰面积,计算峰面积比,平均峰面积比为 0.8983,结果 RSD 为 0.21%,表明仪器精密度良好。

2.7 重复性试验 取同一批号(批号: 20100522)供试品 6 份,分别按 2.3 项下方法操作,得奥硝唑平均浓度为 10.22 μ g/ml, RSD 为 1.76%,结果表明该法重复性良好。

2.8 最低检测限考察 将对照品溶液用流动相逐级稀释成一定浓度的溶液,精密量取各溶液 20 μ l 进样,以信噪比为 3:1 计,奥硝唑最低检测限为 15 ng。

2.9 稳定性试验 取对照品贮备液制备浓度分别为 2.5、10、50 μ g/ml 的奥硝唑对照品溶液,按 2.3 项下方法操作,分别于 0、3、6、12、24、48 h 进样,得奥硝唑平均浓度分别为 2.53、10.12、50.24 μ g/ml, RSD 值分别为 5.05%、2.61%、3.18%。结果表明该液 48 h 内稳定。

2.10 回收率试验 取已知含量的样品适量,按低、中、高浓度分别加入一定量的奥硝唑对照品溶液,分别按 2.3 项下方法操作,得平均回收率为 100.50% ($n = 5$),表明本法回收率良好,结果见表 1。

表 1 奥硝唑的回收率试验结果($\bar{x} \pm s, n = 5$)

样品量 (μ g/ml)	加入量 (μ g/ml)	测得量 (μ g/ml)	回收率 (%)	RSD (%)
25.00	2.54	27.49 \pm 0.13	98.03 \pm 5.24	5.36
25.00	10.16	35.63 \pm 0.49	104.62 \pm 4.86	4.64
25.00	50.80	75.22 \pm 1.58	98.86 \pm 3.11	3.14

2.11 样品含量测定 按 2.3 项下方法分取不同批号的样品进行含量测定,测得含量结果如表 2。

表 2 样品测定结果($n = 3$)

批号	含量(%)
100420	101.4
100522	99.9
100530	101.2

3 讨论

在 200 ~ 400 nm 波长范围内光谱扫描,甲硝唑和奥硝唑在波长 320 nm 处同样有最大的吸收,与文献[4]报道最大吸收波长为 318 nm 相近,经过预试验证明,将样品中内标物的浓度定为 10 μ g/ml 约在奥硝唑血药浓度的中间水平,保证了测定的准确性。本文采用内标法,以甲硝唑作为内标,两者色谱分离完全,可减少试验误差,较之文献[4]报道的外标法,更好的保证试验的准确性。另外甲硝唑和奥硝唑可互为内标,即可在测甲硝唑时以奥硝唑作为内标物。

[参考文献]

- [1] 陈新谦,金有豫,汤光.新编药理学(第 16 版)[M].北京:人民卫生出版社,2007:112
- [2] 田怀平,王美纳. HPLC 法测定家兔奥硝唑的血药浓度[J].药学服务与研究,2004,4(3):278-279
- [3] 蒋一,刘洪臣,吴霞等.奥硝唑在唾液中药浓度的测定及其药代动力学研究[J].口腔颌面修复学杂志,2008,9(3):169-171
- [4] 蔡震.奥硝唑血药浓度的高效液相色谱法测定[J].现代医药卫生,2008,24(5):655-656

(收稿日期:2011-02-09;修回日期:2011-02-25)

(本文编辑 金杨红)