

塞克硝唑的质量标准研究

潘勇^{1*}, 何鸽飞², 郑金凤³, 童达³, 邱细敏⁴(1.湖南省肿瘤医院, 长沙 410013; 2.长沙市第一医院, 长沙 410005; 3.湖南省食品药品检验院, 长沙 410001; 4.湖南师范大学医学院药理学系, 长沙 410005)

中图分类号 R927.11 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)09-1266-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.09.41

摘要 目的: 建立塞克硝唑的质量标准。方法: 分别采用理化鉴别法、紫外光谱和红外光谱对塞克硝唑进行鉴别; 采用气相色谱法(GC)、高效液相色谱法(HPLC)对残留溶剂、有关物质等进行检查; 采用非水滴定法测定塞克硝唑的含量。结果: 塞克硝唑理化鉴别的专属性强, 紫外光谱和红外光谱鉴别方法均可行; 按外标法以峰面积计算未检测到残留溶剂; 以Agilent C₁₈为色谱柱, 甲醇-水(20:80, V/V)为流动相, 主峰能与相邻杂质峰很好地分离; 非水滴定法测得每1 ml的高氯酸滴定液(0.1 mol/L)相当于18.52 mg的塞克硝唑(C₇H₁₁N₃O₃)。结论: 本方法统一了塞克硝唑的性状、鉴别、检查与含量测定方法, 可为其质量标准的修订提供参考。

关键词 塞克硝唑; 有关物质; 电位滴定法; 质量标准

Study on the Quality Standard of Secnidazole

PAN Yong¹, HE Ge-fei², ZHENG Jin-feng³, TONG Da³, QIU Xi-min⁴(1.Hunan Provincial Tumor Hospital, Changsha 410013, China; 2.The First Hospital of Changsha, Changsha 410005, China; 3.Food and Drug Inspection Institute of Hunan Province, Changsha 410001, China; 4.Dept. of Pharmacy, College of Medical, Hunan Normal University, Changsha 410005, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard of secnidazole. METHODS: The physicochemical identification, UV spectrum and IR spectrum were used for the identification of secnidazole, respectively. The residual solvents and the related substances were determined by GC and HPLC. Besides, the content of secnidazole was determined by the non-aqueous titration method. RESULTS: The physicochemical identification had strong specificity, the UV and IR spectrums were workable. The residual solvents had not been detected by using the external standard method with peak area calculation. Performed on the Agilent C₁₈ column with the mobile phase of methanol-water(20:80, V/V), main peak was completely separated from the adjacent impurity peak. According to non-aqueous titration method, per 1 ml of perchloric acid solution(0.1 mol/L) was equivalent to 18.52 mg of secnidazole (C₇H₁₁N₃O₃). CONCLUSIONS: The article unifies the characters, identification, examination and content determination method of secnidazole and can provide reference for the revision of quality standard.

KEYWORDS Secnidazole; Related substances; Potentiometric titration method; Quality standard

塞克硝唑(Secnidazole)化学名是1-(2-羟基丙基)-2-甲基-5-硝基咪唑,具有抗多种厌氧菌和原虫的作用,特别是溶解宿主组织内阿米巴病、贾第鞭毛虫等^[1-2]。该药由罗纳普朗克乐安(Rhone-Poulenc Rorer)公司研制,于1980年在瑞士上市。我国塞克硝唑的现有质量标准为国家食品药品监督管理局标准(试行)YBH09922005和国家食品药品监督管理局标准YBH00562010。目前,《美国药典》(USP)33版、《英国药典》(BP)2009版、《日本药典》(JP)15版以及2010年版《中国药典》均未收载该品种。本研究考察了塞克硝唑原料药的性状、鉴别、检查、含量测定等项目,以为2015年版《中国药典》塞克硝唑质量标准的拟订提供参考。

1 材料

1.1 仪器

YRT-3型熔点测定仪(天津天光光学仪器有限公司);UV-2550紫外分光光度计(日本岛津公司);pHS-3C型精密pH计(上海精科仪器有限公司);1100高效液相色谱(HPLC)仪,

配有VWD紫外检测器(美国安捷伦公司);GC-2010气相色谱(GC)仪(日本岛津公司);Precisa-120A电子天平(上海分析仪器厂)。

1.2 药品与试剂

塞克硝唑(A公司,生产批号:200910F01、201006F01、201007F14;B公司,生产批号:20071226、20100724、20100725);甲醇、乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲苯为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 性状

根据化学原料药质量标准制定指导原则,性状应分别记述药品的外观、嗅、味、溶解度以及有关物理常数。本研究参照现行的质量标准对塞克硝唑的外观、溶解性、熔点及吸收系数进行了考察和统一。

2.1.1 外观 取本品适量,目视法观察其外观性状。结合6批样品的实际外观,将其外观性状项统一修订为:本品为类白色或微黄色结晶或结晶性粉末,无臭,味苦。

2.1.2 溶解性 取本品适量,依2010年版《中国药典》(二部)凡例试验,结合6批样品的实测结果,将其溶解性行为统一修

* 副主任药师。研究方向:药物分析及临床药学。电话:0731-84667642。E-mail:326366726@qq.com

订为:在甲醇、乙醇、三氯甲烷、丙酮中易溶,在0.1 mol/L 盐酸溶液中溶解,在乙醚中略溶,在水中微溶。

2.1.3 熔点 取本品适量,依2010年版《中国药典》(二部)附录VI C测定,结合6批样品的实测结果,将本品熔点统一修订为:73~78 ℃。

2.1.4 吸收系数 取本品适量,精密称定,加0.1 mol/L 盐酸溶液溶解并稀释制成每1 ml中含塞克硝唑13 μg的溶液,依2010年版《中国药典》(二部)附录IV A紫外-可见分光光度法,在277 nm波长处测定吸光度,计算吸收系数。结合6批样品的实际测定值,同时参照国家食品药品监督管理局标准YBH00562010,将吸收系数修订为:331~349。

2.2 鉴别

我国现行的两个质量标准中均记载了化学反应、紫外光谱鉴别和红外光谱鉴别。笔者通过对6批样品进行考察,化学反应和红外光谱鉴别未作修订;紫外光谱鉴别考虑到样品的溶解性,参照国家食品药品监督管理局标准YBH00562010进行了统一:取“2.1.4”项下的溶液,依2010年版《中国药典》(二部)附录IV A紫外-可见分光光度法测定,在277 nm波长处有最大吸收,在241 nm波长处有最小吸收。

2.3 检查

根据《化学原料药质量标准制定指导原则》,检查项目的设置应考虑药品的有效性、纯度要求和安全性。笔者参照现行质量标准设置了乙醇溶液的澄清度与颜色、酸碱度、一般杂质检查(硫酸盐、炽灼残渣、重金属)、水分或干燥失重、有关物质及残留溶剂检查项。

2.3.1 乙醇溶液的澄清度与颜色 取本品适量,加乙醇溶解并稀释制成每1 ml中约含20 mg塞克硝唑的溶液。结果,6批样品的溶液均澄清,其所显溶液的颜色均浅于黄色或黄绿色2号标准比色液。

2.3.2 酸碱度 取本品约0.1 g,加水10 ml使溶解,依2010年版《中国药典》(二部)附录VI H测定。结合6批样品的实际测定值,同时参照国家食品药品监督管理局标准(试行)YBH09922005,将其酸碱度确定为:pH为5.5~7.5。

2.3.3 硫酸盐 取本品1.0 g,加水100 ml使溶解,滤过,取滤液40 ml,依2010年版《中国药典》(二部)附录VIII B检查,与标准硫酸钾溶液2.0 ml制成的对照液(0.05%)比较。结果,6批样品的供试品溶液所显浑浊均浅于对照溶液。

2.3.4 炽灼残渣 取本品1.0 g,依2010年版《中国药典》(二部)附录VIII N法检查,遗留残渣不得超过0.1%。结果,6批样品均符合规定。

2.3.5 重金属 取“2.3.4”项下遗留的残渣适量,依2010年版《中国药典》(二部)附录VIII H第二法检查。结果,6批样品重金属的质量分数均不超过百万分之十。

2.3.6 水分和干燥失重 取本品适量,分别依2010年版《中国药典》(二部)附录VIII M第一法水分测定法和附录VIII L干燥失重法测定,结果显示两种方法结果无显著性差异。由于采用60 ℃减压干燥的方法,操作更简单快捷,所以拟定采用60 ℃减压干燥至恒质量的方法来测定样品的水分。由于本品含半

分子结晶水^[3],按理论值计算含水量应为4.6%,考虑样品的半分子结晶水和储存过程中的吸附水,将其限度定为:干燥失重应为4.0%~6.0%。

2.3.7 有关物质 采用HPLC法对有关物质进行考察。现行的质量标准中均记载有此检查项,但色谱条件不尽相同,并且由于本品是以2-甲基-5-硝基咪唑作为起始原料,现行的标准均未对2-甲基-5-硝基咪唑进行控制,不利于控制产品质量^[4-5],因此有必要对其标准进行研究。

(1)方法的确定。依照2010年版《中国药典》(二部)附录VD HPLC法测定^[6],用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,以甲醇-水(20:80, V/V)为流动相,检测波长为318 nm。理论板数按塞克硝唑峰计算不低于2 000,塞克硝唑峰与相邻杂质峰的分离度应符合要求。取本品适量,加流动相溶解并稀释制成1 ml中约含0.3 mg的溶液,作为供试品溶液;另取2-甲基-5-硝基咪唑对照品约15 mg,精密称定,置于100 ml量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取2 ml,置于10 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液。分别精密量取供试品溶液1 ml与对照品贮备液1 ml,置于同一100 ml量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。精密量取对照品溶液20 μl注入HPLC仪,调节检测灵敏度,使塞克硝唑色谱峰的峰高为满量程的10%~20%,再精密量取供试品溶液及对照品溶液各20 μl,分别注入HPLC仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的2倍。

(2)样品有关物质检查。取本品适量,按上述色谱条件检查有关物质,结果见表1。

表1 有关物质检查结果

Tab 1 Results of related substances

批号	检出杂质个数	最大单成分杂质, %	总杂质, %
200910F01	3	0.34	0.50
201006F01	3	0.19	0.30
201007F14	3	0.15	0.40
20071226	3	0.04	0.10
20100724	2	0.04	0.10
20100725	3	0.04	0.10

2.3.8 残留溶剂 由于原料生产工艺中可能使用了乙酸乙酯、二氯甲烷、甲苯,所以本研究对这3种残留溶剂进行了考察。

(1)方法的确定。取本品适量,精密称定,加二甲亚砜稀释制成每1 ml中约含20 mg的溶液,作为供试品溶液;另取甲苯、乙酸乙酯、二氯甲烷各适量,精密称定,加二甲亚砜溶解,制成每1 ml中约含甲苯0.017 8 mg、乙酸乙酯0.1 mg和二氯甲烷0.012 mg的溶液,作为对照品溶液。依2010年版《中国药典》(二部)附录VIII P第三法残留溶剂法测定,以6%氰丙基苯基-94%二甲基聚硅氧烷作为固定液;起始柱温90 ℃,维持5 min,以每分钟20 ℃的速率升温至170 ℃,维持5 min;检测器温度为200 ℃;进样口温度为220 ℃。甲苯、乙酸乙酯、二氯甲烷的分度应符合要求。精密量取供试品和对照品溶液各0.5 μl,注入GC仪,按外标法以峰面积计算,应符合要求。

(2)样品残留溶剂检查。取本品适量,按上述方法检查残留溶剂,结果均未检出甲苯、乙酸乙酯、二氯甲烷。

2.4 含量测定

由于本品分子结构中含有咪唑环,依据原料药首选容量分析法测定含量的原则^[7-9],采用非水滴定法测定含量。由于现行质量标准中所选溶剂和指示剂不尽相同,故有必要对其进行研究和统一。

2.4.1 溶剂和指示剂的选择 取本品(厂家:A公司,批号:201006F01)约0.13 g,共8份,其中2份加入冰醋酸20 ml,2份加入冰醋酸10 ml+醋酐10 ml,2份加入冰醋酸5 ml+醋酐15 ml,2份加入醋酐20 ml使溶解。在同一溶剂溶解的2份样品中,分别加入结晶紫指示液及荼酚苯甲醇指示液,均用高氯酸滴定液(0.1 mol/L)滴定,用电位滴定法指示终点。结果表明,采用冰醋酸20 ml作为溶剂时,滴定终点突跃明显;采用结晶紫作为指示液时,突跃点时溶液的颜色突变为亮绿色;采用荼酚苯甲醇作为指示液时,突跃点时溶液的颜色突变为亮绿色,两者无显著性差异。考虑到检验的经济性,选择结晶紫作为指示剂。

2.4.2 方法的确定 取本品约0.13 g,加入冰醋酸20 ml使溶解,加入结晶紫指示液1滴,用高氯酸滴定液(0.1 mol/L)滴定至溶液现亮绿色,并将滴定的结果用空白试验校正。每1 ml的高氯酸滴定液(0.1 mol/L)相当于18.52 mg的C₇H₁₁N₃O₃。电位滴定曲线详见图1(样品批号:201006F01)。

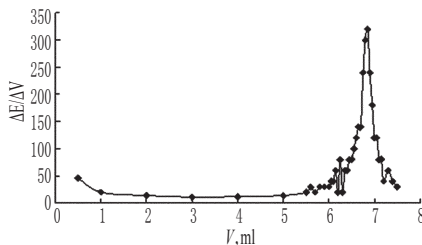


图1 电位滴定曲线

Fig 1 The profile of the potentiometric titration

2.4.3 电位滴定法与容量分析法的比较 取本品(A公司,批号:201006F01)约0.13 g,加入冰醋酸20 ml使溶解,用高氯酸滴定液(0.1 mol/L)滴定,分别采用电位滴定法和容量分析法(结晶紫为指示液)进行测定。结果,两种方法测定结果无显著性差异,详见表2。

表2 含量测定方法结果比较(%)

Tab 2 Results of content determination(%)

批号	电位滴定法	容量分析法
201006F01	100.08	100.15
	99.81	99.88

2.4.4 回收率试验 精密称取本品(A公司,批号:201006F01)约0.052、0.065、0.078 g,各3份,分别置于锥形瓶中;另精密加入60℃减压干燥至恒质量的塞克硝唑对照品约0.052、0.065、0.078 g,各3份,分别加入冰醋酸20 ml溶解后,加结晶紫指示液1滴,用高氯酸滴定液(0.1 mol/L)滴定至溶液现亮绿色,并将滴定结果用空白试验校正。每1 ml的高氯酸滴定液(0.1 mol/L)相当于18.52 mg的C₇H₁₁N₃O₃,结果见表3。

2.4.5 重复性试验 取本品约0.13 g(A公司,批号:201006F01),共6份,精密称定,加入冰醋酸20 ml溶解后,加结晶紫指示液1滴,用高氯酸滴定液(0.1 mol/L)滴定至溶液现亮绿色,并将滴

表3 回收率试验结果

Tab 3 Results of recovery rates

编号	加入量,g	测得量,g	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
1	0.105 5	0.106 2	100.66		
2	0.104 1	0.104 5	100.38		
3	0.109 7	0.108 7	99.08		
4	0.132 5	0.131 2	99.01		
5	0.135 2	0.136 0	100.59	99.99	0.74
6	0.130 8	0.131 6	100.61		
7	0.152 0	0.153 1	100.72		
8	0.158 6	0.157 5	99.30		
9	0.158 1	0.157 4	99.55		

定结果用空白试验校正。每1 ml的高氯酸滴定液(0.1 mol/L)相当于18.52 mg的C₇H₁₁N₃O₃。结果,RSD=0.42%(n=6),表明该方法重复性良好。

2.4.6 样品含量测定 样品含量测定结果详见表4。

表4 样品含量测定结果(%)

Tab 4 Results of sample's content(%)

批号	质量分数	批号	质量分数
200910F01	98.6	20071226	100.1
201006F01	100.0	20100724	100.3
201007F14	99.9	20100725	100.1

3 讨论

塞克硝唑是硝基咪唑类化合物,与甲硝唑等传统的硝唑类药物有相似的化学结构,具有生理活性更强、不良反应少、半衰期长等特点^[9]。本文统一了其性状、鉴别、检查与含量测定方法,可为塞克硝唑质量标准的修订提供依据。

参考文献

- [1] Rossignol JF, Maisonneuve H, Cho YW. Nitroimidazoles in the treatment of trichomoniasis, giardiasis and amebiasis[J]. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol*, 1984, 22(2): 63.
- [2] Edwards DI. Nitroimidazole drugs-action and resistance mechanisms: mechanisms of action[J]. *J Antimicrob Chemother*, 1993, 31(1): 9.
- [3] 向红琳,胡高云,徐康平,等.塞克硝唑1/2水合物的研究[J]. *中南药学*, 2004, 2(2): 85.
- [4] 张锦琳,袁耀佐,钱文,等.HPLC法测定塞克硝唑的含量及有关物质[J]. *中国药科大学学报*, 2009, 40(6): 527.
- [5] 孟婷,赵敏,吕韶敏,等.高效液相色谱法测定塞克硝唑中有关物质[J]. *第四军医大学学报*, 2007, 28(3): 282.
- [6] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S]. 2010年版.北京:中国医药科技出版社, 2010:附录VD.
- [7] 杭太俊. *药物分析*[M]. 北京:人民卫生出版社, 2012: 143.
- [8] 申献玲.塞克硝唑温敏性水凝胶的处方设计与含量测定[J]. *中国药房*, 2010, 21(9): 840.
- [9] Nunez JT, Gomez M. Lowdose secnidazole in the treatment of bacterial vaginosis[J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2005, 88(3): 281.

(收稿日期:2014-07-16 修回日期:2015-01-20)

(编辑:申琳琳)