

高效液相色谱法测定甲硝唑原料药中有关物质及稳定性研究

张文琴,叶松华,阮文辉,王晓燕,王进东*

(山西省药品审评中心 山西省医药与生命科学研究院,山西 太原 030006)

摘要:利用高效液相色谱法测定甲硝唑原料药中有关物质,并考察甲硝唑原料药在不同影响因素下的稳定性。采用 Athena C₁₈-WP 色谱柱,流动相为甲醇-水(25:75, V/V);流速为 1.0 mL/min;检测波长为 315 nm;柱温为 25 °C;进样量 20 μL。考察了甲硝唑在高温、高湿、强光条件下的稳定性。结果表明:甲硝唑原料药在高温、高湿、光照条件下相对稳定。甲硝唑与有关物质能很好地分离,杂质 I(2-甲基-5-硝基咪唑)的质量浓度线性范围为 4.8 ng/mL~479.2 ng/mL($r=0.9999$);定量限为 15.3 ng/mL,检测限为 4.8 ng/mL;精密度、稳定性、重复性试验的相对标准偏差(Relative Standard Deviation, RSD)<10.0%;加样回收率为 103.77%~108.61%(RSD=1.48%)。该方法操作简便、结果准确,可用于测定甲硝唑原料药中的有关物质。甲硝唑稳定性良好,可为甲硝唑质量控制及其相关制剂的研究提供一定依据。

关键词:甲硝唑;高效液相色谱法;定量测定;稳定性;质量控制

中图分类号:R917 文献标志码:A 文章编号:0253-2395(2024)01-0207-07

Determination of Related Substances of Metronidazole Raw Material by HPLC and Study on Its Stability

ZHANG Wenqin, YE Songhua, RUAN Wenhui, WANG Xiaoyan, WANG Jindong*

(Shanxi Center for Drug Evaluation, Shanxi Institute of Medicine and Life Science, Taiyuan 030006, China)

Abstract: The related substances in metronidazole was determined by High-performance liquid chromatography and the stability of raw materials was studied with different factors. HPLC was performed on the column of Athena C₁₈-WP with mobile phase of methanol-water (25 : 75, V/V) at a flow rate of 1.0 mL/min, the detection wavelength was 315 nm, the column temperature was 25 °C, and the injection volume was 20 μL. The stability of metronidazole raw materials under high temperature, high humidity, intense light was investigated. Under the optimized conditions, metronidazole and related substances could be separated well, the linear range of impurity I (2-methyl-5-nitroimidazole) concentration was 4.8 - 479.2 ng/mL ($r = 0.9999$), limit of quantitation was 15.3 ng/mL, limit of detection was 4.8 ng/mL, relative standard deviation (RSD) of precision, stability and repeatability tests were lower than 10.0%, and recovery was 103.77% - 108.61% (RSD% = 1.48%). The raw material of Metronidazole is relatively stable under the conditions of high temperature, high humidity and intense light. The method is simple, accurate and can be used for the determination of related substances in metronidazole raw material. The stability of metronidazole is very good, which provides a basis for the study of metronidazole quality control and its related preparations.

Key words: metronidazole; high performance liquid chromatography; quantitative detection; stability; quality control

收稿日期:2022-11-30;接受日期:2023-03-10

基金项目:山西省省属科研院所技术开发实验室建设项目

作者简介:张文琴(1984-),女,山西吕梁人,硕士研究生,高级工程师,研究方向为药物分析。E-mail:zhangwenqin0505@163.com

* 通信作者:王进东(WANG Jindong),E-mail:844381238@qq.com

引文格式:张文琴,叶松华,阮文辉,等. 高效液相色谱法测定甲硝唑原料药中有关物质及稳定性研究[J]. 山西大学学报(自然科学版),2024,47(1):207-213. DOI:10.13451/j.sxu.ns.2023052

0 引言

甲硝唑为硝基咪唑类抗菌药,化学名称为:2-甲基-5-硝基咪唑-1-乙醇,目前主要用于预防或治疗厌氧菌^[1-2]引起的女性生殖系统、皮肤、消化道、牙周炎等^[3-6]局部或系统感染。甲硝唑自1960年1月在法国上市后,至今已在临床使用60余年。甲硝唑有片剂、胶囊剂、注射剂、栓剂^[7]等多种剂型,因适用症状较多,临床应用十分广泛。

甲硝唑在工业生产中是通过原料2-甲基-5-硝基咪唑和环氧乙烷发生羟乙基化反应^[8]而得,目前甲硝唑原料药中有关物质主要是未反应的起始原料:2-甲基-5-硝基咪唑,其他可能的有关物质包括,起始原料的有关物质:4-硝基咪唑,起始原料中有关物质的反应产物:2-(4-硝基-1H-咪唑-1-基)乙醇、2-(5-硝基-1H-咪唑-1-基)乙醇,反应副产物:2-(2-甲基-4-硝基-1H-咪唑-1-基)乙醇、2-[2-(2-甲基-5-硝基-1H-咪唑-1-基)乙氧基]乙醇、2-(2-甲基-5-硝基-1H-咪唑-1-基)乙酸等,这些有关物质在文献^[9-10]检测中并未检出或者含量很低,所以本试验主要对有关物质杂质^[11]:2-甲基-5-硝基咪唑进行检测。甲硝唑原料药中有关物质的检查随着现代分析技术的应用不断发展,早期使用银氨法^[12]或薄层层析方法^[13-15]来检测杂质I,这些方法既无法准确量化杂质又无法识别其他杂质;近年来通过利用高效液相色谱法对杂质I进行限度检测,进而对总杂含量进行限定。高效液相色谱法检测波长根据最大吸收由225 nm^[16]、300 nm^[13]逐步优化为315 nm。流动相的选择也由乙腈和水体系^[16]优化为甲醇和水^[17]体系或1.36 g/L的磷酸二氢钾和甲醇^[18-19]体系。

药品中有关物质是影响药品安全性的一个重要因素,对有关物质的研究^[20]是药品质量控制的关键环节。所以本试验对甲硝唑原料药中有关物质进行研究,依据2020年版《中国药典》(二部)^[11]收录的高效液相色谱法进行检测,试验过程中发现该方法的分离度不够理想,各杂质不能有效分离,故对色谱条件进行调整,建立了更为实用的甲硝唑原料药中有关物质的测定方法。同时考察了甲硝唑原料药在不同影响因素作用下的稳定性,以期为甲硝唑原料药的

质量控制以及制剂的生产工艺、包装、贮藏和运输条件提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

甲硝唑原料药(山西同济药业有限公司,批号1807001);甲硝唑对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100191-201808);杂质I,2-甲基-5-硝基咪唑对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100512-202106);甲醇为色谱纯,其他试剂为分析纯。

Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);LC-2010AHT 高效液相色谱仪(日本岛津公司);BXS-250 稳定性试验箱(上海博讯);BXS-250 药品强光照箱(上海博讯);XSR205DU/AC 十万分之一电子天平(瑞士梅特勒)。

1.2 高效液相色谱条件

色谱柱:Athena C₁₈-WP(250 mm×4.6 mm, 5 μm);检测波长:315 nm;流动相:甲醇-水(25:75, V/V);柱温:25 °C;流速:1.0 mL/min;进样量:20 μL。

1.3 溶液的制备

1.3.1 供试品溶液

称取原料药约100 mg,精密称定,置100 mL量瓶中,加甲醇适量,振摇使甲硝唑溶解,用甲醇稀释至刻度,摇匀,精密量取5 mL,置25 mL量瓶中,然后用流动相定量稀释制成每1 mL含0.2 mg的溶液。

1.3.2 对照品溶液

取杂质I对照品约20 mg,精密称定,置100 mL量瓶中,加甲醇适量,振摇使杂质I溶解,用甲醇稀释至刻度,摇匀。

1.3.3 混合对照溶液

分别精密量取供试品溶液2 mL与对照品溶液1 mL,置同一100 mL量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,精密量取5 mL,置50 mL量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀。

1.3.4 自身对照溶液

精密量取供试品溶液2 mL,置100 mL量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,精密量取5 mL,置50 mL量瓶中,用流动相稀释至刻度,

摇匀。

1.3.5 灵敏度溶液

精密量取供试品溶液 1 mL,置 100 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,精密量取 5 mL,置 100 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀。

1.4 方法学考察

1.4.1 系统适用性试验及专属性

取“1.3.1”项下供试品溶液、“1.3.3”的混合对照溶液、“1.3.5”项下灵敏度溶液及空白溶剂,按“1.2”项下色谱条件进行测定分析,记录各色谱图。

1.4.2 线性关系考察

取“1.3.2”项下杂质 I 对照品溶液适量,用流动相稀释成质量浓度分别为:4.8、47.9、119.8、239.6、359.4、479.2 ng/mL 的系列对照品溶液。按“1.2”项下色谱条件进行分析,记录峰面积。

1.4.3 精密度试验

取“1.3.3”项下的混合对照溶液,按“1.2”项下色谱条件重复进样 6 次,测定分析并记录峰面积。

1.4.4 重复性试验

1.4.4.1 重复性

按照“1.3.1”“1.3.4”项下方法分别制备 6 份相同浓度的供试品溶液和自身对照溶液,按“1.2”项下色谱条件进行进样分析,记录峰面积。

1.4.4.2 中间精密度

由不同的分析人员按照重复性试验制备供试品溶液,采用不同的仪器在不同日期检测,按“1.2”项下色谱条件进行测定,记录峰面积。

1.4.5 溶液稳定性考察

取“1.3.1”项下的供试品溶液,置室温(25℃±5℃)条件下,放置 0、1、2、3、4、5、6、7、8、10、12 h,各时间点的供试品溶液按“1.2”项下色谱条件进样测定,注入色谱仪,记录峰面积。

1.4.6 定量限和检测限考察

用流动相逐级稀释“1.3.3”项混合对照品溶液,然后按“1.2”项下色谱条件进行测定分析。以信噪比 10:1、3:1 分别计算定量限、检测限。

1.4.7 加样回收率试验

取样品适量,共 6 份,分别置于 25 mL 量瓶中,分别加入杂质 I 对照品储备液适量,用“1.3.1”项下方法制备样品溶液,然后按“1.2”项下色谱条件进样测定分析,计算加样回收率及相对标准偏差(Relative Standard Deviation, RSD)。

1.4.8 耐用性考察

分别考察柱温(22℃、28℃)、流动相流速(0.9、1.1 mL/min)、流动相中甲醇比例(体积分数分别为 72.5%、77.5%)、采用不同型号的色谱柱(CNW Athena C₁₈-WP、CNW Athena C₁₈规格:250 mm×4.6 mm, 5 μm)及不同型号色谱仪(岛津 LC-2010、Agilent 1260)进行测定供试品溶液、混合对照溶液、灵敏度溶液时的色谱结果的变化,按“1.2”项下色谱条件进样测定。

1.5 原料药不同影响因素下的稳定性试验考察

取甲硝唑原料药适量,精密称定,平铺在称量瓶中,厚度约为 3 mm,平行称取 3 份。根据《中国药典》2020 版四部通则 9001 指导原则要求,分别将药物置于高温(50℃)、高湿(相对湿度为 92.5%、25℃)、强光照(4 500 lx),于 0 d、5 d 和 10 d 取样^[21],观察外观并将各条件下的样品制备供试品溶液、自身对照溶液,进样分析。

1.6 总杂质含量的计算

总杂质含量为供试品溶液中除甲硝唑色谱峰以外的其他所有杂质峰的峰面积之和与甲硝唑峰面积的比值。按“1.3.1”“1.3.4”配置溶液,供试品溶液中甲硝唑浓度为 0.2 mg/mL,自身对照溶液中甲硝唑浓度为 0.4 mg/mL。

总杂质含量(%)= $S_{\text{总}}/(500 \times S_{\text{甲}}) \times 100\%$,式中 $S_{\text{总}}$ 是供试品溶液中所有杂质峰的峰面积, $S_{\text{甲}}$ 是自身对照溶液中甲硝唑峰的峰面积。

2 结果与讨论

2.1 方法学考察结果

2.1.1 系统适用性试验及专属性

结果如图 1 所示,空白溶剂无干扰,甲硝唑峰与杂质 I 峰之间的分离度 6.8,甲硝唑峰理论板数 11 281,灵敏度溶液色谱图中,主成分峰高的信噪 29.46,表明该色谱条件适用于本品有关物质的测定。

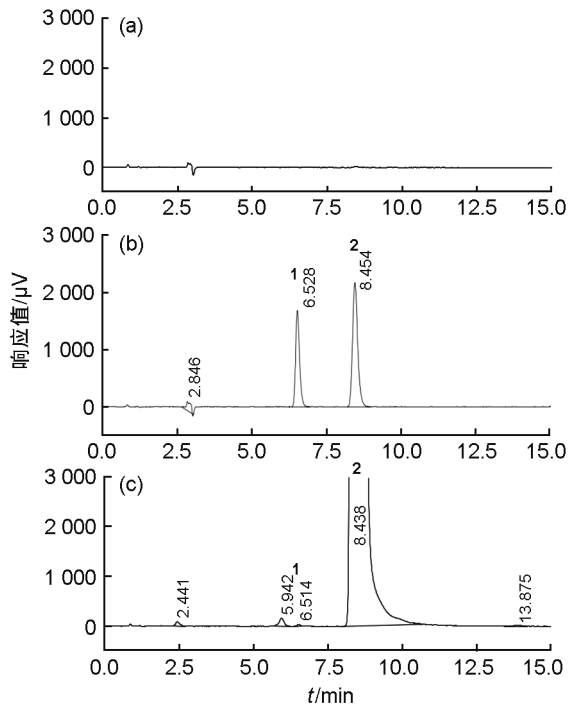


图1 甲硝唑原料药专属考察色谱图

(a) 空白溶剂; (b) 混合对照品溶液, 峰1: 杂质I, 峰2: 甲硝唑; (c) 供试品溶液

Fig. 1 Chromatograms of specific test of metronidazole raw (a) Blank solvent; (b) Mixed control solution, peak 1: impurity I, peak 2: metronidazole; (c) Sample solution

2.1.2 线性关系考察

以杂质I质量浓度(x , ng/mL)为横坐标, 峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归, 得杂质I回归方程为 $Y=67.4659x-4.03385$, 相关系数为0.9999, 线性范围为: 4.8 ng/mL~479.2 ng/mL。

2.1.3 精密度试验

杂质I和甲硝唑峰面积RSD分别为0.38%、0.26%, 可得仪器精密度良好。

2.1.4 重复性试验

2.1.4.1 重复性

测得杂质I和总杂质含量的RSD分别为

9.25%、2.18%, 均小于10.0%, 表明该方法重复性良好。

2.1.4.2 中间精密度

测得供试品中杂质I和总杂质含量的RSD分别为2.16%、2.83%, 均小于10.0%。表明该方法中间精密度良好。

2.1.5 溶液稳定性考察

结果表明, 杂质I含量及RSD在12 h内无明显变化, 但总杂含量增大趋势明显, 其中8 h时前RSD值未超过10%。表明原料药供试品溶液在室温下放置8 h内稳定性良好。

2.1.6 定量限和检测限考察

定量限浓度为15.3 ng/mL, 检测限浓度为4.8 ng/mL。

2.1.7 加样回收率试验

结果见表1, 杂质I的回收率为103.77%~108.61%, RSD为1.48%, 说明该方法准确可靠。

2.1.8 耐用性考察

结果如表2, 各条件中系统适用性均符合要求, 杂质I和总杂含量与原条件(色谱条件“1.2”, 岛津LC-2010)比较, RSD均不大于10%, 表明方法的耐用性良好。

试验中依据药典方法对甲硝唑原料药中有关物质进行检测, 发现流动相比比例为甲醇:水(20:80, V/V)条件时, 杂质I和其他杂质同时出峰, 无法分离。所以对流动相进行了调整。

同时试验中考察了Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Thermo Syncronis C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、CNW Athena C₁₈-WP、CNW Athena C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 4种色谱柱, 但是在“1.2”色谱条件下, 利用Agilent Zorbax SB C₁₈和Thermo Syncronis C₁₈色谱柱测定时, 杂质I不能与其他杂质分

表1 加样回收率试验结果($n=6$)

Table 1 Result of sample recovery experiment ($n=6$)

Sample weight /mg	Original amount /ng	Added amount /ng	Detected amount /ng	Recovery /%	Average recovery /%	RSD /%
101.65	7.22	95.84	111.31	108.61	106.23±1.57	1.48
102.33	7.26	95.84	108.43	105.55		
101.44	7.20	95.84	109.33	106.56		
101.58	7.21	95.84	109.33	106.55		
102.33	7.26	95.84	106.72	103.77		
103.11	7.32	95.84	109.25	106.35		

表2 色谱条件的耐用性试验结果

Table 2 Test results for durability under chromatographic conditions

Chromatographic conditions	Impurity I /%	RSD/% (impurity I/original conditions)	Total impurities /%	RSD/% (total impurities /original conditions)
Original conditions ^a	0.002 3		0.027	
Column temperature: 22 °C	0.002 2	5.39	0.031	8.97
Column temperature: 28 °C	0.002 1	8.84	0.030	8.21
Flow rate: 0.9 mL/min	0.002 4	0.69	0.026	3.69
Flow rate:1.1 mL/min	0.002 2	3.18	0.030	7.68
Mobile phase: Methanol 22.5	0.002 2	5.56	0.029	4.22
Mobile phase: Methanol 27.5	0.002 5	6.29	0.030	7.03
Chromatograph 2 Column 2 ^b	0.002 4	2.16	0.026	2.83

注:a: Original conditions:岛津 LC-2010 色谱仪、色谱条件“1.2”;b: Chromatograph 2 Column 2: Agilent 1260、CNW Athena C₁₈ 色谱柱、其他条件同色谱条件“1.2”。

表3 不同影响因素下的稳定性($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 3 Stability under different influence factors ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Impact factors	High temperature (50 °C)			High humidity (RH 92.5%)		Intense light(4 500 lx)	
	0 d	5 d	10 d	5 d	10 d	5 d	10 d
Appearance	white	white	white	white	white	light brown	yellow brown
Loss on drying/%	0.055±0.007	0.071±0.014	0.115±0.014	0.070±0.003	0.073±0.004	0.139±0.004	0.116±0.015
Metronidazole/%	99.501±0.650	99.872±0.571	99.652±0.688	99.164±0.703	99.845±0.239	99.314±0.031	99.312±0.522
Impurity I/%	0.023±0.003	0.016±0.003	0.024±0.003	0.026±0.003	0.028±0.004	0.031±0.002	0.029±0.002
Total impurities/%	0.027±0.008	0.036±0.011	0.036±0.006	0.038±0.011	0.037±0.007	0.051±0.014	0.065±0.016

离;只有在 CNW Athena C₁₈ 色谱柱上测定时才能达到比较满意的分离效果,因此本试验选择 CNW Athena C₁₈ 色谱柱。

2.2 稳定性考察

甲硝唑原料药外观、水分、含量及有关物质的变化由表3可见,甲硝唑原料药在高温、高湿试验后其含量和有关物质变化不明显,无显著性差异,稳定性良好;但强光照射后粉体颜色随着时间增加而加深,表层由白色逐步变为褐色,含量略微减少,总杂含量也略微增加,但无显著性差异。并在相关文献[22-23]中报道,甲硝唑水溶液和注射液在强光照射条件下可能出现了光降解,所以在甲硝唑原料药及后续制剂的生产、运输和存储等过程中需要避光保存,包装材料的选择上要充分考虑避光性。

3 结论

有关物质的研究是药品质量控制的关键环节,甲硝唑剂型多样且临床科室应用广泛,所以本试验建立了测定甲硝唑原料药中有关物质的高效液相色谱法,并进行了方法学的验

证。色谱条件为:Athena C₁₈-WP 色谱柱;流动相为甲醇-水(25:75, V/V);流速1.0 mL/min;检测波长315 nm;柱温25 °C;进样量20 μL。该方法操作简便,可准确测定甲硝唑原料药中有关物质。为甲硝唑原料药及制剂的质量控制提供了依据。

此外,还考察了甲硝唑原料药在高温(50 °C)、高湿(RH 92.5%)、强光条件(4 500 lx)下0 d、5 d、10 d的稳定性。结果表明:甲硝唑原料药在高温和高湿条件下,外观、水分、含量、杂质含量都相对稳定;但是在光照条件下药粉色泽有所加深,总杂含量也略微有所增加。所以甲硝唑原料药及制剂在生产、运输和存储等过程中需要避光保存。

参考文献:

- [1] AFZAL A, BAL A M. Metronidazole[M]//Comprehensive Pharmacology. Amsterdam: Elsevier, 2022: 313-321. DOI: 10.1016/b978-0-12-820472-6.00187-0.
- [2] STOVER K R, RICHE D M, GANDY C L, *et al.* What would we do without Metronidazole?[J]. *Am J Med Sci*, 2012, **343**(4): 316-319. DOI: 10.1097/MAJ.0b013e3182

- 254bd6.
- [3] 张岱. 妊娠期阴道毛滴虫病的筛查与诊治[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2021, **37**(10): 1005-1007. DOI: 10.19538/j.fk2021100106.
- ZHANG D. Screening and Diagnosis and Treatment of *Trichomonas vaginalis* During Pregnancy[J]. *Chin J Pract Gynecol Obstet*, 2021, **37**(10): 1005-1007. DOI: 10.19538/j.fk2021100106.
- [4] 张嫣, 过芳, 李楠. 1, 4-环己二醇与己酰胺协同增加甲硝唑对皮肤的靶向性研究[J]. 华西药理学杂志, 2014, **29**(1): 20-22. DOI: 10.13375/j.cnki.wcjps.2014.01.007.
- ZHANG Y, GUO F, LI N. Synergistic Effect of 1, 4-Cyclohexanediol and Hexanamide to Enhance Skin Target of Metronidazole[J]. *West China J Pharm Sci*, 2014, **29**(1): 20-22. DOI: 10.13375/j.cnki.wcjps.2014.01.007.
- [5] 孙毅超. 阿莫西林联合甲硝唑治疗消化性溃疡患者的效果探讨[J]. 中国现代药物应用, 2022, **16**(5): 165-167. DOI: 10.14164/j.cnki.cn11-5581/r.2022.05.060.
- SUN Y C. Effect of Amoxicillin Combined with Metronidazole on Patients with Peptic Ulcer[J]. *Chin J Mod Drug Appl*, 2022, **16**(5): 165-167. DOI: 10.14164/j.cnki.cn11-5581/r.2022.05.060.
- [6] SOYSA N S, WAIDYARATHNE H, RANAWEERA M, *et al.* Clinical Efficacy of Local Application of Sustained-release Metronidazole in Periodontal Therapy[J]. *Dent Rev*, 2021, **1**(1): 1-11. DOI: 10.1016/j.dentre.2021.100006.
- [7] 舒心, 汪梦蝶, 施春阳. 顶空气相色谱法测定甲硝唑原料药中环氧乙烷含量[J]. 临床医药文献电子杂志, 2019, **6**(11): 181-182. DOI: 10.16281/j.cnki.jocml.2019.11.128.
- SHU X, WANG M D, SHI C Y. Determination of Ethylene Oxide in Metronidazole by Headspace Gas Chromatography [J]. *J Clin Med Lit*, 2019, **6**(11): 181-182. DOI: 10.16281/j.cnki.jocml.2019.11.128.
- [8] 赵涛涛, 汪兆普, 伍成城, 等. 甲硝唑合成的管式反应工艺研究[J]. 湖北大学学报(自然科学版), 2021, **43**(4): 448-453. DOI: 10.3969/j.issn.1000-2375.2021.04.014.
- ZHAO T T, WANG Z P, WU C C, *et al.* Process Research of Tubular Reaction for Synthesis of Metronidazole[J]. *J Hubei Univ Nat Sci Ed*, 2021, **43**(4): 448-453. DOI: 10.3969/j.issn.1000-2375.2021.04.014.
- [9] 向东, 杨志勇, 何建武, 等. 甲硝唑有关物质测定及杂质谱研究[J]. 医药导报, 2017, **36**(3): 308-311. DOI: 10.3870/j.issn.1004-0781.2017.03.016.
- XIANG D, YANG Z Y, HE J W, *et al.* Determination and Impurity Profile of Related Substances of Metronidazole by HPLC[J]. *Her Med*, 2017, **36**(3): 308-311. DOI: 10.3870/j.issn.1004-0781.2017.03.016.
- [10] 汪梦蝶. 甲硝唑片的质量一致性评价研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2018: 14-27. DOI: 10.7666/d.D01546689.
- WANG M D. Study on Quality Consistency Evaluation of metronidazole Tablets[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2018: 14-27. DOI: 10.7666/d.D01546689.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典-二部: 2020年版[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 253-254.
- Chinese Pharmacopoeia Commission. People's Republic of China (PRC) Pharmacopoeia-part II: 2020 Edition[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 253-254.
- [12] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中国药典二部[M]. 北京: 化学工业出版社, 广东科技出版社, 1995: 152.
- Chinese Pharmacopoeia Commission. *ChP* 1995. Vol II [M]. Beijing: Chemical Industry Press, Guangdong Technology Press. 1995: 152.
- [13] 许鸣镛, 牛秀华, 朱维华, 等. 甲硝唑及其片剂中有关物质检查方法的研究[J]. 中国药品标准, 2002, **3**(1): 35-36. DOI: 10.19778/j.chp.2002.01.012.
- XU M D, NIU X H, ZHU W H, *et al.* Study on the Test Method of Related Substances in Metronidazole and Its Tablets[J]. *Drug Standoaros China*, 2002, **3**(1): 35-36. DOI: 10.19778/j.chp.2002.01.012.
- [14] The Japanese Pharmacopoeia. JP. XVIII[M]. Tokyo: The Ministry of Health, Labour and Welfare, 2021: 1354.
- [15] 苏中利. 关于甲硝唑片有关物质检查的探讨[J]. 中国基层医药, 2003, **10**(6): 552-553. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-6706.2003.06.043.
- SU Z L. Discussion on Related Substances Inspection of Metronidazole Tablets[J]. *Chin J Prim Med Pharm*, 2003, **10**(6): 552-553. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-6706.2003.06.043.
- [16] 聂小春, 冯光, 陈品江. 甲硝唑及注射液有关物质的测定及稳定性的初步研究[J]. 药物分析杂志, 1999, **19**(2): 96-100. DOI: 10.16155/j.0254-1793.1999.02.008.
- NIE X C, FENG G, CHEN P J. Determination of the Related Substances and Preliminary Study of Stability on Metronidazole and Its Injection by HPLC[J]. *Chin J Pharm Anal*, 1999, **19**(2): 96-100. DOI: 10.16155/j.0254-1793.1999.02.008.
- [17] The United States Pharmacopeial Convention. USP 43 - NF 38[M]. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, 2021: 2931.
- [18] European Directorate for the Quality of Medicines and Health-Care. EP 10[M]. Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare of Council of Europe, 2020: 3261.
- [19] The British Pharmacopoeia Commission. BP 2017[M]. London: The Stationery Office, 2017: 288.

- [20] 彭双, 张敏娟, 陈学艳, 等. 硫酸吗啡原料药中有关物质检查方法研究[J]. 中国药学杂志, 2022, **57**(13): 1112-1117. DOI:10.11669/cpj.2022.13.010.
PENG S, ZHANG M J, CHEN X Y, *et al.* Detection Method of Related Substances in Morphine Sulfate[J]. *Chin Pharm J*, 2022, **57**(13): 1112-1117. DOI:10.11669/cpj.2022.13.010.
- [21] 宋小容, 杨国宝, 姚青, 等. 新型镇痛药S-1903原料药的有关物质检查及稳定性研究[J]. 军事医学, 2021, **45**(7): 543-547. DOI: 10.7644/j.issn.1674-9960.2021.07.011.
SONG X R, YANG G B, YAO Q, *et al.* Related Substances and Stability of a New Analgesic Drug S-1903[J]. *Mil Med Sci*, 2021, **45**(7): 543-547. DOI: 10.7644/j.issn.1674-9960.2021.07.011.
- [22] 何佳佳. 硝基咪唑类药物杂质研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2013: 54-56.
HE J J. Research of Impurity Analyses of Nitroimidazoles [D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2013: 54-56.
- [23] 陈美玲, 许红霞, 袁伟峰, 等. 甲硝唑光降解杂质的研究及对药典有关物质方法的优化建议[J]. 药物分析杂志, 2022, **42**(9): 1667-1674. DOI: 10.16155/j.0254-1793.2022.09.21.
CHEN M L, XU H X, YUAN W F, *et al.* Study on Photodegradant Impurities of Metronidazole as well as Suggestions for Optimization of Pharmacopoeia Related Substances and Methods[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2022, **42**(9): 1667-1674. DOI: 10.16155/j.0254-1793.2022.09.21.