

## 布洛芬及其制剂中有关物质的分析

陈静, 余丽, 晁若冰\*

(四川大学华西药学院, 成都 610041)

**摘要** 目的:建立高效液相色谱法测定布洛芬及其制剂中的有关物质。方法:采用 Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱,以甲醇-乙腈-水-甲酸(50:9:41:0.02)为流动相,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长为 214 nm。结果:在选定的条件下,布洛芬与其中的 10 余种杂质分离良好;布洛芬和杂质 4-异丁基苯甲酸、4-异丁基苯乙酮的检测限分别为 0.16 μg·mL<sup>-1</sup>、0.093 μg·mL<sup>-1</sup>、0.18 μg·mL<sup>-1</sup>;布洛芬在 4~64 μg·mL<sup>-1</sup>,4-异丁基苯甲酸和 4-异丁基苯乙酮在 0.4~6.4 μg·mL<sup>-1</sup> 范围内峰面积与浓度呈良好的线性关系;以布洛芬为参比,测得以上 2 种杂质的校正因子分别为 1.68 和 0.77。结论:本法简便、专属、准确,可用于布洛芬及其制剂中有关物质的检查。

**关键词**:非甾体消炎药;布洛芬;原料;制剂;有关物质;杂质;高效液相色谱法

中图分类号:R917 文献标识码:A 文章编号:0254-1793(2011)08-1480-05

## Analysis of related substances in ibuprofen and its preparations

CHEN Jing, YU Li, CHAO Ruo-bing\*

(West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

**Abstract Objective:** To establish an HPLC method to determine the related substances of ibuprofen and its preparations. **Method:** The HPLC method was performed on a Kromasil C<sub>18</sub> column with the mobile phase of methanol-acetonitrile-water-formic acid (50:9:41:0.02) at the flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, and the detection wavelength was set at 214 nm. **Result:** Under the described chromatographic condition, ibuprofen was completely separated from the related substances. The LOD of ibuprofen, [4-(2-methylpropyl)phenyl]formic acid and 1-[4-(2-methylpropyl)phenyl]ethanone were 0.16 μg·mL<sup>-1</sup>, 0.093 μg·mL<sup>-1</sup> and 0.18 μg·mL<sup>-1</sup>, respectively. The linear ranges of ibuprofen and the impurities were 4-64 μg·mL<sup>-1</sup> and 0.4-6.4 μg·mL<sup>-1</sup>, respectively. And the correction factors of the impurities were 1.68 and 0.77, respectively. **Conclusion:** The method is simple, specific, accurate and suitable for analysing the related substances in ibuprofen and its preparations.

**Key words:** non-steroid antiinflammatory drug; ibuprofen; raw material; preparation; related substances; impurity; foreign matter; HPLC

布洛芬{2-[4-(2-甲基丙基)苯基]丙酸, ibuprofen, IPF}是一种常用的解热镇痛非甾体抗炎药,主要用于感冒、风湿及类风湿性关节炎的治疗。有文献报道,布洛芬中可能存在的有关物质有 10 余种,其中降解产物 1-(4-异丁基苯基)乙醇和 4-异丁基苯乙酮具有成纤维细胞和红细胞毒性<sup>[1,2]</sup>。EP 6.8<sup>[3]</sup>和 USP 32<sup>[4]</sup>均已采用 HPLC 法检查布洛芬的有关物质。经试验,在 EP 和 USP 的色谱条件下,国产的布洛芬中有一些杂质不能完全分离。中国药典 2010 年版仍采用 TLC 法检查布洛芬的有关

物质<sup>[5]</sup>,TLC 法灵敏度较低,背景干扰大,不能定量。为了更有效地控制布洛芬及其制剂的质量,本文参考文献[6,7]建立高效液相色谱法测定布洛芬中的有关物质,在选定的色谱条件下,布洛芬中 10 余种存在的杂质和潜在的杂质可同时得到分离,对布洛芬中的杂质进行了初步的鉴定,并对杂质的检查方法进行了验证,应用建立的方法检查了布洛芬原料和布洛芬缓释胶囊、颗粒剂中的有关物质。本文报道的方法简便、专属、准确,适用于布洛芬及其制剂中有关物质的检查。

\* 通讯作者 Tel: (028) 85501454; E-mail: rbchao@scu.edu.cn

## 1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10AT 型高效液相色谱仪, SPD-10Avp 紫外检测器, SPD-M10Avp 二极管阵列检测器。

布洛芬原料(JH 集团制药厂);布洛芬缓释胶囊(SK 制药有限公司,10040469),布洛芬缓释胶囊(MT 制药有限公司,20091205),布洛芬缓释胶囊(LB 制药有限公司,91002006),布洛芬颗粒(ZN 药业有限公司,09045972)。

有关物质对照品:2-(4-异丁酰苯基)丙酸和 4-异丁基苯甲酸购于中国药品生物制品检验所;1-羟基布洛芬购于加拿大 TRC 公司;4-异丁基苯乙酮购于上海梯希爱化成工业发展有限公司;2-(4-丁基苯基)丙酸和 EP 布洛芬峰鉴别用杂质对照品(含 2-(4-乙基苯基)丙酸、2-(3-异丁基苯基)丙酸购于欧洲药品质量管理局。

乙腈、甲醇,HPLC 级,Sigma-Aldrich 公司;甲酸,HPLC 级,成都市科龙化工试剂厂;水为乐百氏纯净水;其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件的选择

首先本文考察了甲醇/乙腈-水-甲酸系统,结果有机相为甲醇时,有利于布洛芬和 4-异丁基苯乙酮的分离,不利于 1-羟基布洛芬和 2-(4-异丁酰苯基)丙酸的分离;有机相为乙腈时,分析时间较短,有利于 1-羟基布洛芬和 2-(4-异丁酰苯基)丙酸的分离,但不利于布洛芬与 4-异丁基苯乙酮的分离。两者各有利弊,故选择甲醇、乙腈的混合系统作为有机相。

由于布洛芬及其杂质大多含有羧基,流动相中需加入酸性试剂,以抑制其离解。在 EP 及 USP 色谱条件下,流动相中加入磷酸。经试验,在该条件下,国产布洛芬中的杂质 3 和 2-(4-乙基苯基)丙酸不能分离,杂质 4 和 4-异丁基苯甲酸不能分离。本文使用甲酸作为酸性试剂。考察了甲酸浓度对色谱分离的影响,结果随着甲酸浓度的增加,各杂质的容量因子均增大,而对 4-异丁基苯乙酮的影响较小,当甲酸浓度为 0.02% 时,各杂质的分离最好,所以选择流动相中甲酸的浓度为 0.02%。

此外,本文还对有机相比例进行了优化,最终确定的流动相组成为甲醇-乙腈-水-甲酸(50:9:41:0.02),在选定的色谱条件下,布洛芬、布洛芬中

存在的杂质和杂质对照品均能完全分离。此色谱条件不含非挥发性成分,还可以用于 LC-MS 分析。

将样品及杂质对照品用 DAD 检测器扫描,结果表明,布洛芬和多数杂质在 214 nm 的波长处有肩峰,吸收较强,其余杂质在 214 nm 处也有较大响应。为了提高检测灵敏度,选择 214 nm 作为检测波长。

**2.2 色谱条件** 色谱柱:Kromasil C<sub>18</sub> 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相:甲醇-乙腈-水-甲酸(50:9:41:0.02),流速:1.0 mL · min<sup>-1</sup>,检测波长:214 nm。

### 2.3 杂质的初步鉴定

称取布洛芬适量,加流动相溶解并定量稀释成 4 mg · mL<sup>-1</sup> 的供试品溶液;另称取各杂质对照品适量,加流动相溶解并稀释制成浓度约为 4 μg · mL<sup>-1</sup> 的杂质混合对照品溶液。分别取供试品溶液和杂质混合对照品溶液各 10 μL 进样,按上述色谱条件测定,记录色谱图,并将杂质混合对照品溶液加入供试品溶液中混合进样。所得布洛芬原料药、混合杂质对照品溶液以及二者混合溶液的色谱图见图 1。由图 1-A 可见,在选定的条件下,布洛芬原料药中可检出 8 个杂质,按出峰顺序分别将布洛芬中存在的杂质编号为杂质 1~8。由图 1-B 和图 1-C 可以看出,布洛芬中的杂质 5、杂质 6 和杂质 8 的保留时间分别与 4-异丁基苯甲酸、4-异丁基苯乙酮和 2-(4-丁基苯基)丙酸相同,应为同一物质。说明布洛芬中的杂质 5、杂质 6 和杂质 8 分别为 4-异丁基苯甲酸、4-异丁基苯乙酮和 2-(4-丁基苯基)丙酸。布洛芬中的其他杂质与对照品的保留时间不同,有待进一步鉴定。

使用 LC-ESI/TOFMS 测定了布洛芬中主要杂质的相对分子质量,以便对鉴定的杂质进行确认。测得杂质 6 的精确相对分子质量为 176.1191,分子式为 C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>O,确认其为 4-异丁基苯乙酮。4-异丁基苯乙酮的相对分子质量为 176.1201,测定误差为 -5.7 ppm。

测得杂质 3 的相对分子质量为 222.1256,分子式为 C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>O<sub>3</sub>,比布洛芬多 1 个羟基(OH)。由于布洛芬苯环 1 位取代基的 α 位易被氧化,而本文中 1-羟基布洛芬的保留时间与杂质 3 不同,所以杂质 3 可能为 2-(4-异丁基苯基)-α-羟基丙酸。

杂质 7 的相对分子质量与布洛芬相同,可能为布洛芬的同分异构体。杂质对照品 2-(3-异丁基

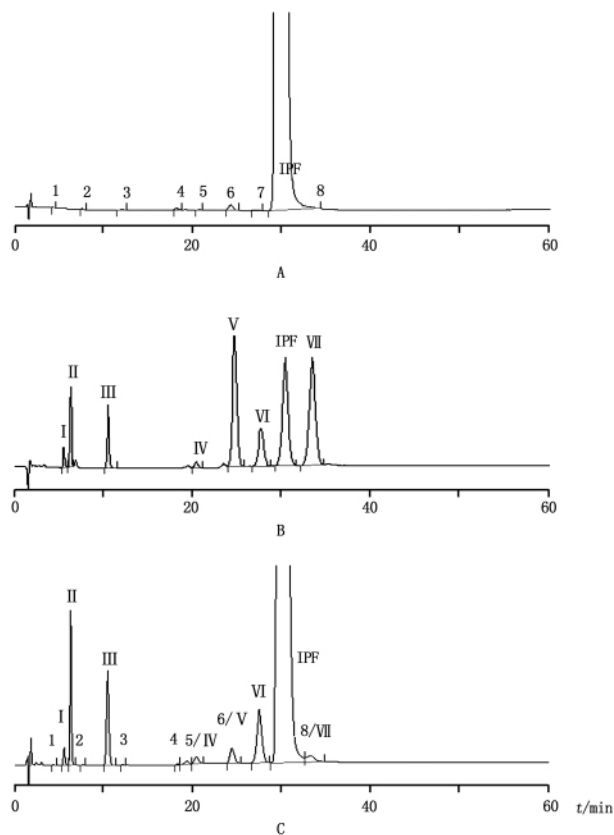


图1 布洛芬(A)、杂质对照品(B)和杂质对照品加样(C)的色谱图  
Fig 1 Chromatograms of ibuprofen (A), impurity reference substances (B) and impurity reference substances in ibuprofen (C)

1. 杂质1 (impurity 1, 4.3 min)    2. 杂质2 (impurity 2, 7.6 min)  
3. 杂质3 (impurity 3, 12.1 min)    4. 杂质4 (impurity 4, 18.3 min)  
5. 杂质5 (impurity 5, 20.4 min)    6. 杂质6 (impurity 6, 24.5 min)  
7. 杂质7 (impurity 7, 27.3 min)    8. 杂质8 (impurity 8, 33.3 min)  
I. 1-羟基布洛芬 (2-[4-(1-hydroxy-2-methylpropyl)phenyl]propanoic acid, 5.5 min)    II. 2-(4-异丁酰苯基)丙酸 (2-[4-(2-methylpropanoyl)phenyl]propanoic acid, 6.2 min)    III. 2-(4-乙基苯基)丙酸 (2-(4-ethylphenyl)propanoic acid, 10.5 min)  
IV. 4-异丁基苯甲酸 ([4-(2-methylpropyl)phenyl]formic acid, 20.4 min)    V. 4-异丁基苯乙酮 (1-[4-(2-methylpropyl)phenyl]ethanone, 24.5 min)    VI. 2-(3-异丁基苯基)丙酸 (2-[3-(2-methylpropyl)phenyl]propanoic acid, 27.5 min)    VII. 2-(4-丁基苯基)丙酸 (2-(4-butylphenyl)propanoic acid, 33.3 min)

苯基)丙酸和2-(4-丁基苯基)丙酸均为布洛芬的同分异构体,但杂质7与这2个对照品的保留时间不同,应不是这2个成分。

杂质2及4的相对分子质量分别为208.1093和192.1137,其结构还有待进一步鉴定。其他杂质因含量太低未能测得其质谱图。

**2.4 测定方法** 样品中已鉴定的杂质4-异丁基苯甲酸和4-异丁基苯乙酮采用外标法测定,其他

杂质采用主成分自身对照法进行检查。方法为:称取布洛芬适量,加流动相溶解并定量稀释制成 $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,作为供试品溶液;分别称取杂质对照品适量,加流动相溶解并定量稀释制成 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,作为4-异丁基苯甲酸和4-异丁基苯乙酮对照品溶液;精密量取供试品溶液、4-异丁基苯甲酸和4-异丁基苯乙酮对照品溶液各1 mL,置同一100 mL量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照溶液。精密量取供试品溶液和对照溶液各10  $\mu\text{L}$ 进样,记录色谱图至主成分峰保留时间的2倍,供试品溶液中如有与对照溶液中4-异丁基苯甲酸和4-异丁基苯乙酮保留时间一致的峰,按外标法以峰面积计算,其他杂质将其峰面积与对照溶液中主峰的峰面积比较,计算其含量。

## 2.5 杂质检查方法的验证

**2.5.1 专属性** 按“2.2”项下方法测定,得布洛芬原料药、混合杂质对照品溶液以及二者混合溶液的色谱图见图1。由图1-A可以看出,在选定的条件下,布洛芬原料药中可检出的杂质共8个,布洛芬和存在的杂质均可以完全分离。由图1-B和图1-C可以看出,7个杂质对照品和布洛芬及其杂质也可以完全分离。在本文的色谱条件下,布洛芬中存在的8个杂质和杂质的对照品(潜在的杂质)均可以完全分离,说明本法分离效果良好,专属性高。

**2.5.2 破坏试验** 为了考察本法对布洛芬降解产物的分离情况,对其进行了破坏试验。结果在高湿、光照、酸、碱条件下破坏后,布洛芬的有关物质含量无明显增加;而经高温(121  $^{\circ}\text{C}$ , 1 h)和高锰酸钾氧化破坏后,杂质1、杂质5和杂质6的含量明显增加,并新增一些保留时间短、极性大的杂质。在本文的色谱条件下,布洛芬和降解产物分离良好。试验结果还表明,布洛芬在高温和氧化条件下不稳定。布洛芬苯环上2个取代基的 $\alpha$ -C和羧基不稳定,在加热和氧化剂存在的条件下,易发生羟化、脱羧、聚合等反应。所以在布洛芬的生产及贮藏时应避免高温,并密闭保存。

**2.5.3 检测限与定量限** 分别取布洛芬、4-异丁基苯甲酸和4-异丁基苯乙酮的对照品溶液,稀释后吸取10  $\mu\text{L}$ 进样,按信噪比为3:1 ( $S/N=3$ )测定其检测限,结果分别为0.16, 0.093, 0.18  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;按信噪比为10:1 ( $S/N=10$ )测定其定量限,结果分别为0.40, 0.30, 0.41  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

**2.5.4 线性和范围** 分别称取布洛芬、4-异丁基苯甲酸和4-异丁基苯乙酮对照品适量,配制成含布洛芬浓度为4.8,16,24,32,40,64 μg·mL<sup>-1</sup>以及杂质对照品浓度分别为0.4,0.8,1.6,3.2,4.0,6.4 μg·mL<sup>-1</sup>的混合溶液,吸取10 μL进样,分别以布洛芬及杂质对照品的峰面积(A)对相应的浓度(C)进行线性回归。布洛芬、4-异丁基苯甲酸和4-异丁基苯乙酮的回归方程分别为:

$$A = 1.392 \times 10^4 C + 430.0 \quad r = 0.9999$$

$$A = 8.052 \times 10^3 C + 1.200 \times 10^3 \quad r = 0.9988$$

$$A = 2.345 \times 10^4 C - 4.404 \times 10^3 \quad r = 0.9994$$

结果表明,布洛芬浓度在4~64 μg·mL<sup>-1</sup>,4-异丁基苯甲酸和4-异丁基苯乙酮浓度在0.4~6.4 μg·mL<sup>-1</sup>范围内,峰面积与浓度呈良好的线性关系。

**2.5.5 回收率** 精密称取已知杂质含量的布洛芬样品100 mg,置25 mL量瓶中,分别精密加入4-异丁基苯甲酸和4-异丁基苯乙酮对照品溶液(约50 μg·mL<sup>-1</sup>)1,2,3 mL,各平行做3份,加流动相稀释至刻度,吸取10 μL进样测定,按外标法计算,测得杂质4-异丁基苯甲酸和4-异丁基苯乙酮的平均回收率分别为101.3%和98.0%,RSD分别为2.0%和3.6%。

**2.5.6 精密度和溶液的稳定性**

精密吸取对照溶液10 μL,连续进样6次,测定组分的峰面积,并计算峰面积的RSD,测得布洛芬、4-异丁基苯甲酸和4-异丁基苯乙酮峰面积的RSD分别为0.5%,2.1%,0.6%,表明样品的进样精密度良好。

取供试品溶液,分别于0,2,4,6,8 h进样,按峰面积归一化法测定杂质的含量,结果在8 h内各杂质的含量均无变化,表明供试品溶液在8 h内稳定。

**2.6 校正因子的测定** 为了解杂质与布洛芬检测信号的相对强度,测定了主要杂质的校正因子。取布洛芬和杂质对照品适量,配制成含布洛芬40 μg·mL<sup>-1</sup>和杂质对照品分别为2 μg·mL<sup>-1</sup>和4 μg·mL<sup>-1</sup>的高低2种浓度的混合溶液,吸取10 μL进样分析。以布洛芬为参比,测得杂质4-异丁基苯甲酸和4-异丁基苯乙酮的校正因子分别为1.68和0.77。

**2.7 样品中杂质的测定**

采用上述方法测定了6批布洛芬原料和市售布洛芬缓释胶囊及布洛芬颗粒中的有关物质,结果见表1。

表1 布洛芬样品中有关物质的测定结果(%)  
Tab 1 The results of the related substances in samples

样品 (sample)	批号 (Lot No.)	杂质峰号(impurities No.)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
布洛芬原料(IPF material)	091219	0.01	0.02	0.04	0.03	0.01	—	0.05	0.01
布洛芬原料(IPF material)	091226	0.01	0.02	0.03	0.04	0.01	—	0.06	—
布洛芬原料(IPF material)	091228	0.01	0.02	0.03	0.03	0.01	—	0.04	—
布洛芬原料(IPF material)	100209	0.01	0.01	0.02	0.03	0.03	—	0.04	0.01
布洛芬原料(IPF material)	100210	0.01	0.01	0.03	0.04	—	—	0.04	—
布洛芬原料(IPF material)	100211	0.01	0.01	0.02	0.03	0.01	—	0.03	—
布洛芬缓释胶囊(IPF sustained-release capsules)	10040469	—	0.01	—	0.03	0.01	0.01	0.04	0.02
布洛芬缓释胶囊(IPF sustained-release capsules)	20091205	0.01	0.03	0.03	0.02	—	—	0.05	—
布洛芬缓释胶囊(IPF sustained-release capsules)	91002006	—	0.04	0.03	0.04	0.03	0.08	0.09	0.04
布洛芬颗粒(IPF granules)	9045972	—	0.03	0.01	0.04	—	—	0.04	—

测定结果表明,布洛芬原料和制剂中均可检出多个有关物质,但其含量均较低,一般未超过0.1%。其中以杂质3、杂质4、杂质6和杂质7的含

量相对较高。

布洛芬原料和布洛芬缓释胶囊、布洛芬颗粒的色谱图见图2。

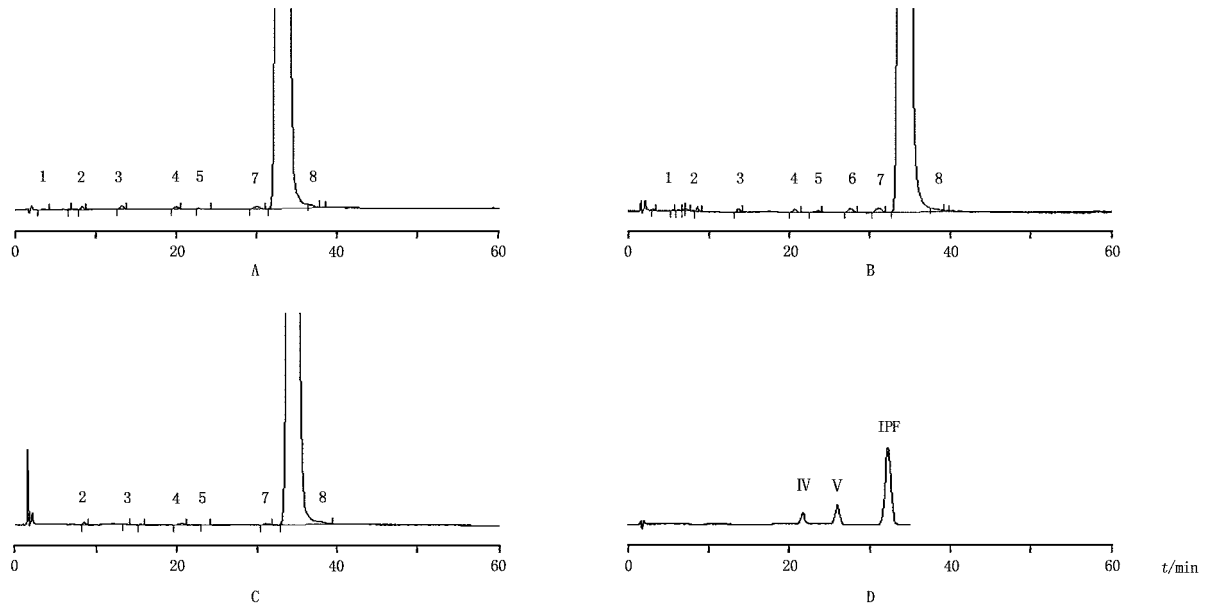


图2 布洛芬原料药(A)、布洛芬缓释胶囊(B)、布洛芬颗粒(C)和对照品(D)的色谱图

Fig 2 Chromatogram of ibuprofen material (A) ,ibuprofen sustained - release capsules (B) ,ibuprofen granules (C) and reference substances (D)

### 3 讨论

**3.1** 本文所使用的多数杂质对照品购于国外,多为EP布洛芬专论中列出的杂质。由于从国外购得的杂质2-(4-丁基苯基)丙酸为溶液状态,杂质2-(4-乙基苯基)丙酸和2-(3-异丁基苯基)丙酸为鉴别用混合溶液,未标示浓度,杂质1-羟基布洛芬和2-(4-异丁酰苯基)丙酸未在样品中检出,故未对其进行方法验证。

**3.2** 本文测定了布洛芬原料药和多个厂家的布洛芬制剂,均可检出多个有关物质,本法简便、专属、准确,可以用于布洛芬及其制剂中有关物质的检查。

### 参考文献

1 Dondoni A ,Dall'Occo T ,Fanyin G ,*et al.* Studies on the actual and po-

tential impurities in ibuprofen. *Farm Ediz Prat* ,1986 41(7) :237

2 Castell JV ,Gomez - L MJ ,Miranda ,*et al.* Photolytic degradation of ibuprofen: toxicity of the isolated photoproducts on fibroblasts and erythrocytes. *Photochem Photobiol* ,1987 46(6) :991

3 EP 6. 8. 2008. 5953

4 USP32 - NF27. 2009. 2607

5 ChP(中国药典). 2010. Vol II (二部) : 120

6 LI Cheng - ping(李成平) ,SHI Qing - hong(施青红) ,LI li(李立) ,*et al.* High Performance Liquid Chromatographic Separation of Ibuprofen Enantiomer with Chiral Mobile Phase Additives(高效液相色谱手性流动相法拆分布洛芬对映体). *Chin J Pharm Anal(药物分析杂志)* 2005 25(4) :426

7 LI Qiong (李琼) ,LIU Yu - hong(刘毓宏) 1. Chiral HPLC Determination of Ketoprofen(高效液相色谱法测定酮基布洛芬). *Chin J Pharm Anal(药物分析杂志)* 2005 25(8) :994

(本文于2010年11月14日收到)