

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 C₁₈ 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⁻¹,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⁻¹、0.093 μg·mL⁻¹、0.18 μg·mL⁻¹;布洛芬在 4~64 μg·mL⁻¹,4-异丁基苯甲酸和 4-异丁基苯乙酮在 0.4~6.4 μg·mL⁻¹ 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 C₁₈ 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⁻¹, 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⁻¹, 0.093 μg·mL⁻¹ and 0.18 μg·mL⁻¹, respectively. The linear ranges of ibuprofen and the impurities were 4~64 μg·mL⁻¹ and 0.4~6.4 μg·mL⁻¹, 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^[1,2]。EP 6.8^[3]和 USP 32^[4]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^[5],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 C₁₈ 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⁻¹,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⁻¹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⁻¹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C₁₂H₁₆O,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C₁₃H₁₈O₃,比布洛芬多1个羟基(OH)。由于布洛芬苯环1,4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

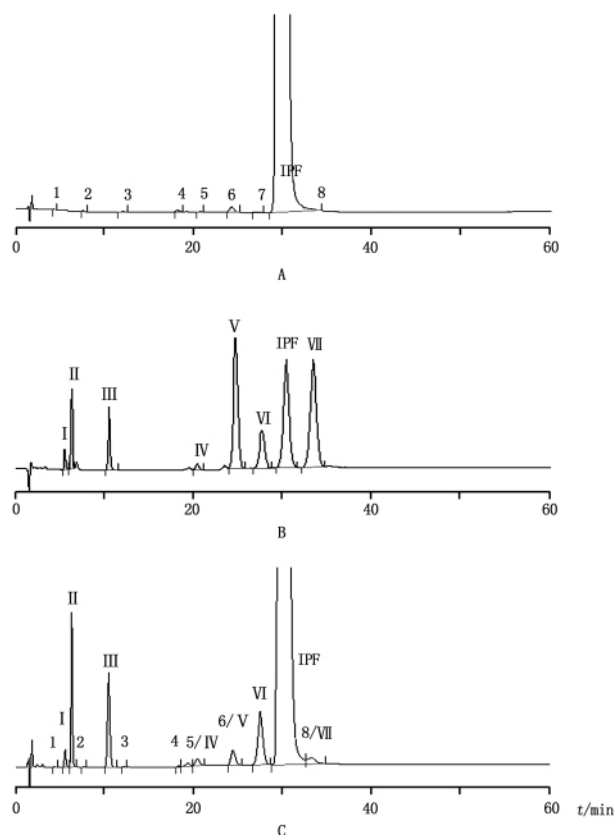


图1 布洛芬(A)、杂质对照品(B)和杂质对照品加样(C)的色谱图
 Fig 1 Chromatograms of ibuprofen (A), impurity reference substances (B) and impurity reference substances in ibuprofen (C)

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 μL 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 α -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 μL 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 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以及杂质对照品浓度分别为0.4,0.8,1.6,3.2,4.0,6.4 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 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 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,4-异丁基苯甲酸和4-异丁基苯乙酮浓度在0.4~6.4 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 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 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)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 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和杂质对照品分别为2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和4 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 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's 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。

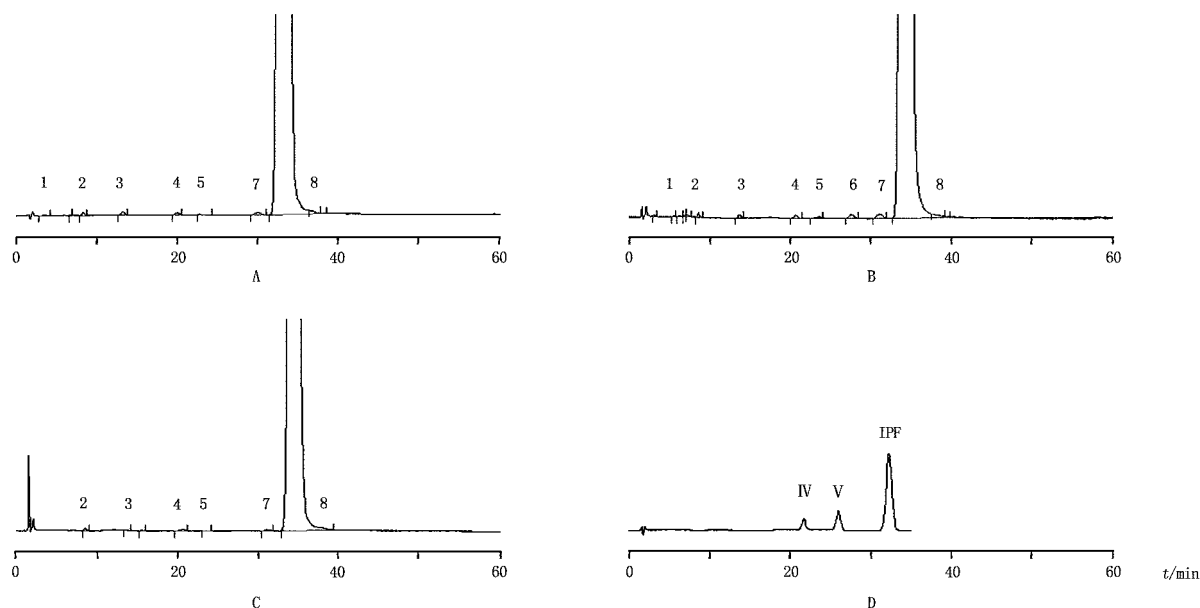


图2 布洛芬原料药(A)、布洛芬缓释胶囊(B)、布洛芬颗粒(C)和对照品(D)的色谱图

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)