

★ 交流 ★

HPLC 法测定布洛芬原料及制剂的有关物质

刘芳, 柳小秦, 徐长根, 孟新芳

(陕西省食品药品检验所, 西安 710061)

摘要 目的: 为了完善布洛芬的有关物质检查方法, 使其更适用于中国的实际生产情况。方法: 采用高效液相色谱法, 紫外检测器, 十八烷基硅烷键合硅胶柱, 固定相: phenomenex C_{18} (4.6 mm × 250 mm, 5 μ m), 流动相: 乙腈 - 水(用磷酸调节 pH 为 3.0) (1:1), 检测波长: 254 nm。结果: 3 种已知杂质和布洛芬及其他未知杂质均能得到有效分离; 3 种已知杂质在 2 ~ 50 μ g · mL⁻¹ 范围内线性关系良好, r 分别为 0.9999, 1.0000, 0.9999, 平均回收率分别为 99.7%, 99.5%, 100.1%。结论: 本方法灵敏、准确、可靠, 能够准确测定布洛芬原料及制剂的有关物质。

关键词: 高效液相色谱法; 布洛芬; 有关物质

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254 - 1793(2011)03 - 0552 - 06

HPLC determination of substance and related substances for the preparation of ibuprofen

LIU Fang, LIU Xiao - qin, XU Chang - gen, MENG Xin - fang

(Shaanxi Institute for Food and Drug Control, Xi'an 710061, China)

Abstract Objective: To perfect the determination method of the related substances in ibuprofen, for its adaptability to our country. **Methods:** Three related substances of ibuprofen are determined by HPLC. Waters Symmetry Shield™ C_{18} (4.6 mm × 250 mm, 5 μ m) was used with mobile phase consisted of acetonitrile - water (adjusted pH to 3.0 with phosphoric acid) (1:1). The detective wavelength was set at 254 nm. **Results:** In the determination of related substances by HPLC, the linearity were good within the range 2 - 50 μ g · mL⁻¹, and the regression coefficient were 0.9999, 1.0000, 0.9999, respectively, while the recoveries were 99.7%, 99.5%, 100.1%, respectively. **Conclusion:** This method is operated easily, and it can be used to accurately determinate the related substances content in ibuprofen.

Key words: HPLC; ibuprofen; related substances

布洛芬化学名为 2 - (4 - 异丁基) 丙酸, 属苯丙酸类非甾体抗炎药。布洛芬是抗炎解热镇痛类 OTC 产品, 是临床使用最普遍的 NSAID 类药物之一, 被广大医师广泛地用于治疗风湿或类风湿疾病, 以及关节肌肉痛、头痛、痛经等多种疼痛。中国药典 2005 年版对布洛芬制剂均未设置有关物质检查项, 对布洛芬原料设置了自身对照的薄层色谱法检查有关物质。而美国药典、英国药典收载有布洛芬片质量标准, 均设置有有关物质检查项。在参照英国药典和美国药典的基础上, 我们确定了测定布洛芬杂质的高效液相色谱条件, 采用中国药品生物制品检

定所下发的 2 - (4 - 异丁酰苯基) 丙酸(布洛芬杂质 A)、4 - 异丁基苯甲酸(布洛芬杂质 B)、羟苯甲酯钠(布洛芬杂质 C) 作对照, 抽取 47 厂家 49 批样品进行了有关物质测定, 同时测定了 5 批布洛芬原料。建立了布洛芬原料及制剂有关物质的测定方法, 实验结果显示, 该方法简便快速, 结果准确, 重现性好。

1 仪器与试剂

Waters alliance 高效液相色谱系统: waters 2695 泵单元, waters 2487 紫外检测器, EMPOWER 色谱工作站。

乙腈为色谱醇; 水为高纯水; 对照品 2 - (4 - 异丁酰苯基) 丙酸(布洛芬杂质 A) (100720 -

200701)、4-异丁基苯甲酸(布洛芬杂质B)(100720-200701)、羟苯甲酯钠(布洛芬杂质C)(100719-200701)、布洛芬(100179-200303)均来源于中国药品生物制品检定所;供试用制剂中38批布洛芬片、11批布洛芬缓释胶囊样品和5批布洛芬原料,具体情况见附表5、6、7。

2 方法与结果

2.1 色谱分析条件 固定相:phenomenex C_{18} (250 mm×4.6 mm,5 μ m),流动相:乙腈-水(用磷酸调节pH为3.0)(1:1),柱温:35 $^{\circ}$ C,流速:1.0 mL·min⁻¹,检测波长:254 nm,进样量:20 μ L,记录至布洛芬主峰保留时间的2倍。

2.2 系统适用性试验 精密称取布洛芬杂质A、B、C与布洛芬对照品,以流动相制成每1 mL各含20,20,20,100 μ g的混合溶液,作为系统适用性溶液。在上述色谱条件下,各杂质的保留时间分别为:布洛芬杂质C约4.3 min、布洛芬杂质A约6.7 min、布洛芬杂质B约12.8 min、布洛芬约18 min,布洛芬杂质C与布洛芬杂质A的分离度约为9.5;理论板数

以布洛芬计为9000。色谱图见图1。

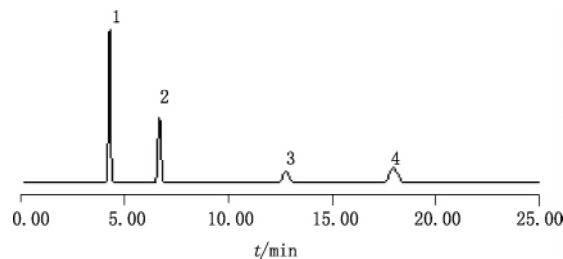


图1 布洛芬有关物质 HPLC 系统适用性分离度图

Fig 1 HPLC chromatogram of system suitability of ibuprofen

1. 杂质 C (impurity C) 2. 杂质 A (impurity A) 3. 杂质 B (impurity B) 4. 布洛芬 (ibuprofen)

2.3 专属性试验 取布洛芬片适量,加甲醇稀释制成浓度为10 mg·mL⁻¹的溶液,得供试品溶液。取供试品溶液2 mL,分别进行光照、高温、强酸、强碱、氧化破坏。分别取各破坏后样品按“2.1”项下方法测定。结果表明:经过光照、高温、强酸、强碱、氧化破坏的供试品溶液均有不同程度的杂质生成。色谱图中杂质峰与主成分峰的分度良好,色谱图见图2。

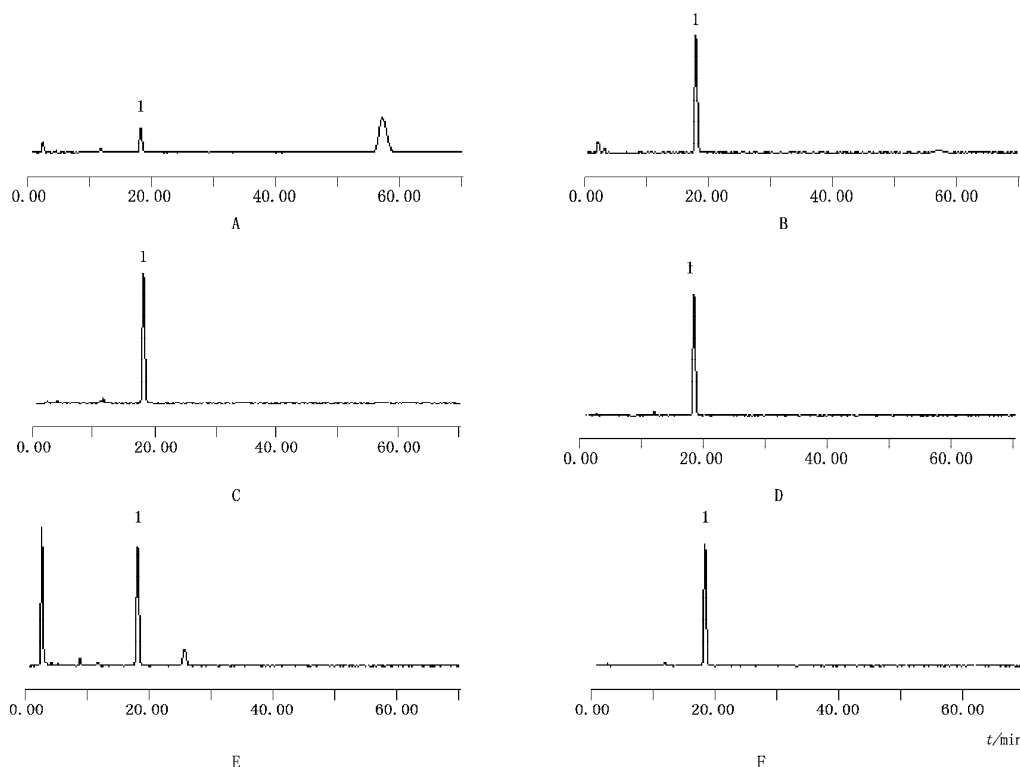


图2 布洛芬专属性 HPLC 图

Fig 2 HPLC chromatograms of ibuprofen tablets

A. 强酸破坏 (decomposed by 2 mol·L⁻¹ hydrochloric acid solution) B. 强碱破坏 (decomposed by 4 mol·L⁻¹ sodium hydroxide solution) C. 高温破坏 (decomposed by heating at about 100 $^{\circ}$ C) D. 光照破坏 (decomposed by strong light irradiation) E. 氧化破坏 (decomposed by 3% hydrogen peroxide solution) F. 未破坏 (not decomposed)

1. 布洛芬 (ibuprofen)

2.4 线性关系 精密称定布洛芬杂质A、B、C各约20 mg 分别加流动相稀释制成浓度为500 μ g·

mL⁻¹的布洛芬杂质A、B、C储备液。取各杂质储备液适量加流动相稀释制成0.4,2.0,5.0,10.0,

20.0, 50.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液。取各浓度对照品溶液各 20 μL 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 以浓度为横坐标、色谱峰面积为纵坐标进行线性回归, 得布洛芬杂质 A、B、C 的回归方程分别为:

$$Y = 5.570 \times 10^3 + 3.835 \times 10^4 X \quad r = 0.9999$$

$$Y = 2.049 \times 10^3 + 2.064 \times 10^4 X \quad r = 1.0000$$

$$Y = 5.242 \times 10^3 + 5.246 \times 10^4 X \quad r = 0.9999$$

各成分在 2 ~ 50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度范围内呈良好的线性关系。

2.5 定量限 取各杂质加流动相稀释进样测定, 以信噪比 10:1 的浓度为定量限, 布洛芬杂质 A、B、C 的定量限分别为 0.005 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、0.1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、0.01 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.6 检测限 取各杂质加流动相稀释进样测定, 按 3 倍信噪比计算, 布洛芬杂质 A、B、C 的为 0.001 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、0.03 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、0.003 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.7 精密度 取系统适用性溶液, 在以上色谱条件下分别连续进样 6 次, 进样量 20 μL , 记录峰面积计算 RSD 值, 布洛芬杂质 A、B、C 及布洛芬 RSD 分别为: 0.76%, 0.41%, 0.54%, 0.37% ($n = 6$)。结果表明: 该方法精密度良好。

2.8 稳定性 取系统适用性溶液, 于 0, 2, 4, 6, 8, 12, 16 h, 分别进样 20 μL 。布洛芬杂质 A、B、C 峰面积的 RSD 分别为: 0.86%, 0.73%, 0.69%, 0.70%。结果表明: 供试溶液在配制 16 h 内稳定。

2.9 加样回收试验 精密称取布洛芬杂质 A、B、C 对照品适量制成储备液, 称取供试品适量照“2.3”项下方法制备 9 份供试品溶液(含布洛芬为 10 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 分别加入适量布洛芬杂质 A、B、C 储备液使杂质浓度分别为 16.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、20.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、24.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 分别进样。结果平均回收率见表 1。

2.10 样品测定 取布洛芬原料及其制剂加甲醇溶解稀释, 分别制成每 1 mL 含布洛芬约 10 mg 的溶液作为供试品溶液, 精密量取供试品溶液 1 mL, 加流动相稀释至 100 mL 作为对照溶液。按上述色谱条件测定, 供试品色谱中在相应位置如显与布洛芬杂质 A、B、C 保留时间一致的色谱峰, 按外标法计算各自杂质含量; 其它未知杂质以对照溶液的布洛芬峰计算, 见图 3, 结果见表 2, 3。

3 讨论

3.1 由检测结果可看出, 所测样品均能检出已知杂质或未知杂质。49 批样品有 5 批未检出杂质 A, 除 2 批布洛芬片杂质 A 的含量较高外, 其余 42 批的含

表 1 加样回收试验结果($n = 3$)

Tab 1 Recovery determination result of related substances in ibuprofen

组分 (components)	杂质质量 (mg)	回收率 (recovery) /%	平均值 (average) /%	RSD /%
布洛芬杂质 A (ibuprofen A)	15.15	99.8	99.7	0.6
	18.94	100.2		
	22.73	99.1		
布洛芬杂质 B (ibuprofen B)	15.63	98.9	99.5	0.6
	19.54	100.1		
	23.45	99.5		
布洛芬杂质 C (ibuprofen C)	15.73	100.9	100.1	0.7
	19.66	99.5		
	23.59	99.8		

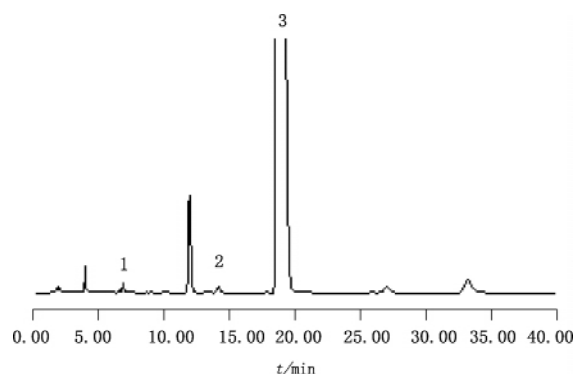


图 3 布洛芬片有关物质 HPLC 图

Fig 3 HPLC chromatogram of ibuprofen tablets

1. 杂质 A (Impurity A) 2. 杂质 B (Impurity B) 3. 布洛芬 (Ibuprofen)

量均小于 0.02%; 有 23 批检出杂质 B, 除 5 批布洛芬片杂质 B 的含量较高外, 其余 18 批的含量均小于 0.02%; 有 6 批检出杂质 C, 其中 1 批高达 0.424%; 未知杂质的含量从 0.20% 到 8.13%, 因此增加有关物质检查是非常必要也是可行的。

3.2 布洛芬片质量标准中: 英国药典规定杂质 2 - (4 - 丁基苯基) 丙酸不得过 0.3% (外标法), 其它单个杂质不得过 0.3% (主成份自身对照法), 除 2 - (4 - 丁基苯基) 丙酸以外的其它杂质总量不得过 0.7%; 美国药典杂质 4 - 异丁基苯基丙酮不得过 0.25%。

在参考上述规定的基础上, 从严要求限度, 制定本布洛芬制剂的限度为: 杂质 A、B、C 均不得过 0.3% (外标法), 其它杂质总量不得过 0.7%。49 批布洛芬制剂的杂质 A、B 均符合规定, 杂质 C 有 1 批不符合规定, 其它杂质总量有 44 批不符合规定, 不合格共 45 批。5 批原料均符合规定 (限度同制剂)。

表2 布洛芬片有关物质测定结果(%)
Tab 2 Results of related substances in ibuprofen tablets

序号	生产厂家 (Manufacturer)	生产批号 (production batch number)	杂质 A (impurity A)	杂质 B (impurity B)	杂质 C (impurity C)	其它杂质总量% (content of total other impurities)
1	哈药集团三精制药有限公司 (Harbin Pharmaceutical Group Sanjing Pharmaceutical Co. , Ltd.)	20090101	0.009	0.002	/	2.86
2	广东台城制药有限公司 (Guangdong Taicheng Pharmaceutical Co. , Ltd.)	20080802	0.001	/	/	1.76
3	河南天方药业有限公司 (Henan Tianfang Pharmaceutical Co. , Ltd.)	081110780	/	/	/	1.35
4	重庆科瑞制药有限公司 (Chongqing Corey Pharmaceutical Co. , Ltd.)	081004	0.004	0.002		3.48
5	新乡同心药业有限公司 (Xinxiang Tongxin Pharmaceutical Co. , Ltd.)	080601	0.002	/	/	1.09
6	赤峰蒙欣药业有限公司 (Chifeng Mengxin Pharmaceutical Co. , Ltd.)	090202	/	/	/	1.22
7	北京太洋药业有限公司 (Beijing Taiyang Pharmaceutical Co. , Ltd.)	80704	0.001	/	/	2.06
8	哈药集团三精千鹤制药有限公司 (Harbin Pharmaceutical Group Sanjing Qianhe Pharmaceutical Co. , Ltd.)	80311	0.007	/	/	4.12
9	山东方明药业有限公司 (Shandong Fangming Pharmaceutical Co. , Ltd.)	061212	0.002	/	/	1.14
10	山西三九同达药业有限公司 (Shanxi Sanjiu Tongda Pharmaceutical Co. , Ltd.)	081005	0.001	0.004	/	1.10
11	东北制药集团公司沈阳第一制药厂 (Dongbei Pharmaceutical Group Corporation, Shenyang First Pharmaceutical Factory)	081001	0.003	/	/	1.28
12	吉林修正药业集团有限公司 (Jilin Xiuzheng Pharmaceutical Group Co. , Ltd.)	80804	0.001	/	/	4.87
13	山西亨瑞达制药有限公司 (Sanxi hengruida Pharmaceutical Co. , Ltd.)	080501	0.002	0.007	/	1.34
14	上海全宇生物科技内乡制药有限公司 (Shanghai Quanyu Biotechnology Neixian Pharmaceutical Co. , Ltd.)	080903	0.002	0.006	/	1.07
15	哈尔滨凯程制药有限公司 (Harbin Kaicheng, Pharmaceutical Co. , Ltd.)	081107	0.001	0.014	/	0.79
16	江苏平光制药集团有限公司 (Jiangsu Pingguang Pharmaceutical Group Co. , Ltd.)	0806022	0.190	0.002	/	4.01
17	山东新华制药有限公司 (Shandong Xinhua Pharmaceutical Co. , Ltd.)	0803147	0.001	/	/	1.35
18	福建三爱药业有限公司 (Fujian Sanai Pharmaceutical Co. , Ltd.)	080401	0.001	/	/	1.31
19	临汾宝珠制药有限公司 (Linfen Sarah Pharmaceutical Co. , Ltd.)	080904	0.001	0.003	/	1.08
20	山西太原药业有限公司 (Sanxi Taiyuan Pharmaceutical Co. , Ltd.)	080203	0.001	0.001	0.009	0.52
21	山西太原药业有限公司 (Sanxi Taiyuan Pharmaceutical Co. , Ltd.)	080810	0.015	0.156	0.424	0.20
22	山西太原药业有限公司 (Sanxi Taiyuan Pharmaceutical Co. , Ltd.)	090106	0.005	0.137	0.004	/
23	山西太原药业有限公司 (Sanxi Taiyuan Pharmaceutical Co. , Ltd.)	090301	0.005	0.205	0.004	/
24	山西太原药业有限公司 (Sanxi Taiyuan Pharmaceutical Co. , Ltd.)	090502	0.007	0.142	0.004	/

续表 2

序号	生产厂家 (Manufacturer)	生产批号 (production batch number)	杂质 A (impurity A)	杂质 B (impurity B)	杂质 C (impurity C)	其它杂质总量% (content of total other impurities)
25	湖北百科亨迪药业有限公司 (Hubei Baike Hengdi Pharmaceutical Co., Ltd.)	080502	0.004	0.001	/	5.31
26	广东华南药业有限公司 (Guangdong Huanan Pharmaceutical Co., Ltd.)	90201	0.005	/	/	1.97
27	石药集团中诺药业有限公司 (CSPC Zhongnuo Pharmaceutical Co., Ltd.)	8125383	0.001	/	/	4.90
28	江苏瑞年前进制药有限公司 (Jiangsu Ruinian Qianjin Pharmaceutical Co., Ltd.)	0801153	0.009	0.001	/	5.15
29	河北东风药业有限公司 (Hebei Dongfeng Pharmaceutical Co., Ltd.)	09031501	0.006	0.002	/	1.28
30	上海华源安徽仁济制药有限公司 (Shanghai Huayuan Anhui Renji Pharmaceutical Co., Ltd.)	080302	0.002	0.002	/	0.86
31	常州制药厂有限公司 (Changzhou Pharmaceutical Factory Co., Ltd.)	08051314	0.003	0.005	/	1.37
32	昆明振华制药厂有限公司 (Kunming Zhenhua Pharmaceutical Factory Co., Ltd.)	20090401	0.016	/	/	8.13
33	昆明振华制药厂有限公司 (Kunming Zhenhua Pharmaceutical Factory Co., Ltd.)	20090401	0.165	0.082	0.076	2.59
34	安徽仁和药业有限公司 (Anhui Renhe Pharmaceutical Co., Ltd.)	20090401	0.001	0.002	/	1.80
35	甘肃新兰药业有限公司 (Gansu Xinlanyao Pharmaceutical Co., Ltd.)	20090401	0.002	/	/	4.08
36	新乡中杰药业有限公司 (Xinxiang Zhongjie Pharmaceutical Co., Ltd.)	20090403	0.001	0.005	/	1.64
37	云南雄业药业有限公司 (Yunnan Xiongye Pharmaceutical Co., Ltd.)	2008090164	0.001	0.003	/	5.84
38	市药集团欧意药业有限公司 (CSPS OUYI Pharmaceutical Co., Ltd.)	6030081002	0.001	/	/	3.98

表 3 布洛芬缓释胶囊有关物质测定结果(%)
 Tab 3 Results of related substances in ibuprofen
 sustained release capsules

序号	生产厂家 (Manufacturer)	生产批号 (Production batch number)	杂质 A 含量% (Content of impurity A)	杂质 B 含量% (Content of impurity B)	杂质 C 含量% (Content of impurity C)	其它杂质总量% (Content of total other impurities)
1	天津中美史克制药有限公司 (Tianjin Smith Kline & French Laboratories Ltd.)	8090157	/	/	/	1.71
2	上海爱的发制药有限公司 (Shanghai Aidefa Pharmaceutical Co., Ltd.)	80909	0.003	/	/	2.07
3	珠海联邦制药中山分公司 (Zhuhai United Laboratories Zhongshan Branch)	81202009	0.002	/	/	1.45
4	长春海外制药集团有限公司 (Changchun Haiwai Medicine Co., Ltd.)	20090301	0.002	/	/	1.63
5	通化茂祥制药有限公司 (Tonghua Maoxiang Pharmaceutical Co., Ltd.)	81001	0.001	/	/	0.79

续表 3

序号	生产厂家 (Manufacturer)	生产批号 (production batch number)	杂质 A (impurity A)	杂质 B (impurity B)	杂质 C (impurity C)	其它杂质总量% (content of total other impurities)
6	吉林省力胜制药有限公司 (Jilin Lisheng Pharmaceutical Co., Ltd.)	20081201	0.002	/	/	2.89
7	海南制药厂有限公司 (Hainan Pharmaceutical Co., Ltd.)	2090315	0.003	/	/	3.15
8	珠海润都制药有限公司 (Zhuhai Rundu Pharmaceutical Co., Ltd.)	20080506030	0.003	0.006	/	1.35
9	广州贝氏药业有限公司 (Guangzhou Pui's Pharmaceutical Factory Ltd)	645	/	/	/	1.61
10	协和制药有限公司 (Union Pharmaceutical Co., Ltd.)	90101	/	/	/	1.39
11	北京红林制药有限公司 (Beijing Honglin Pharmaceutical Co., Ltd.)	81005	0.004	/	/	1.55
12	巨化集团公司制药厂 (Juhua Group Pharmaceutical Factory)	0503008	0.019	0.048	0.014	/
13	淄博新华 - 百利高制药有限责任公司 (Zibo Xinhua - Perrigo Pharmaceutical Co., Ltd.)	050902	0.004	0.266	/	/
14	湖北百科亨迪药业有限公司 (Hubei Baike Hengdi Pharmaceutical Co., Ltd.)	G00 - 0802005	0.013	0.056	0.010	/
15	山东新华制药股份有限公司 (Shandong Xinhua Pharmaceutical Co., Ltd.)	0802406	0.002	0.271	/	/
16	湖北百科格莱制药有限公司 (Hubei Baike Gelai Pharmaceutical Co., Ltd.)	C100 - 0903031M	0.012	0.066	0.011	/

由于国内外布洛芬的生产工艺不同,布洛芬制剂的工艺及辅料也不同,所以应根据各国生产的实际情况制定相应的质量标准。本文建立的布洛芬原料及制剂的有关物质检测方法简便快速、结果准确、重现性好,对于保证药品质量和用药安全均具有重要的意义。

参考文献

1 CHEN Xin - qing(陈新谦), JIN You - yu(金有豫). New Edition of

Medica(新编药理学). 14th Ed(第十四版). Beijing(北京): People's Medical Publishing House(人民卫生出版社), 1997. 245

2 EP. 2004 : 1785

3 ChP(中国药典). 2005. Vol II (二部): 166

4 SHUI Qing - Hua(税庆华), QIAN Xue(钱学), ZHU Qi - Deng(朱后登). Determination of the related substances in ibuprofen liniments by HPLC(布洛芬搽剂中有关物质的 HPLC 法测定). *Qilu Pharm Aff*(齐鲁药事), 2006, 25(1): 24

(本文于 2010 年 10 月 9 日修改回)