

布洛芬缓释片中布洛芬含量测定方法的优化

王博, 吴杰连*, 吴明明 (江西科技师范大学药学院, 江西南昌 330013)

摘要 [目的]建立布洛芬缓释片的含量测定的最佳方法。[方法]采用紫外分光光度法(检测波长为263 nm)和高效液相色谱法(色谱柱为Agilent C₁₈,流速为1.0 mL/min,检测波长263 nm)测定布洛芬缓释片中布洛芬的含量,最终确定布洛芬缓释片中布洛芬含量的最佳质量控制方法。[结果]以流动相为乙酸铵缓冲液:乙腈(40:60)的HPLC方法最佳,布洛芬质量在1.05~6.30 μg范围内线性关系很好($r=1.0000$),平均回收率为99.71%, $RSD=1.14\%$,重现性好。[结论]采用高效液相色谱法测定布洛芬缓释片含量最佳,该方法操作简单、分离效果好、重现性好、灵敏度高。

关键词 布洛芬缓释片;紫外分光光度法;HPLC法;含量测定;优化

中图分类号 R971.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2016)16-119-03

Optimization of the detection of Ibuprofen Content in Ibuprofen Sustained Release Tablet

WANG Bo, WU Jie-lian*, WU Ming-ming (College of Pharmacy, Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang, Jiangxi 330013)

Abstract [Objective] To establish the optimal method for the content determination in ibuprofen sustained release tablet. [Method] Ultraviolet spectrophotometry (263 nm detection wavelength) and HPLC method (Agilent C₁₈ chromatographic column, 1.0 mL/min flow rate, 263 nm detection wavelength) were used to detect the content of ibuprofen in ibuprofen sustained release tablet. The optimal quality control method was finally established to determine the ibuprofen content in ibuprofen sustained release tablet. [Result] When the mobile phase was ammonium acetate:acetonitrile (40:60), HPLC method was the optimal. There were good linear relationship when the ibuprofen was within the range of 1.05 - 6.3 μg ($r = 1.0000$). The average recovery rate was 99.71% with $RSD = 1.14\%$ and good reproducibility. [Conclusion] The optimal content of ibuprofen sustained release tablet is detected by HPLC method. This method is simple and effective, with good reproducibility and high sensitivity.

Key words Ibuprofen sustained release tablets; Ultraviolet spectrophotometry; HPLC method; Content determination; Optimization

布洛芬缓释片在临床上一般用于解热镇痛^[1-2],其作用机理是通过抑制环氧化物酶作用而抑制前列腺素的合成与释放,从而起到镇痛和抗炎等作用^[3-4]。目前,药品中布洛芬含量的测定方法主要有化学计量法^[5]、酸碱滴定法^[6]、紫外分光光度法^[7]、离子色谱法^[8]、高效液相色谱法^[9]等,每种方法都有其各自的优缺点,《中国药典(二部)》中采用酸碱滴定法测定含量,此方法误差较大,且操作过程易造成样品损失。为了进一步完善布洛芬的质量控制方法,近几年较多学者采用高效液相色谱和紫外分光光度法测定布洛芬的含量^[7,9],并在药物分析中得到日趋广泛的应用,但针对这2种方法没有进行系统的比较。笔者通过优化HPLC的流动相,确定最佳色谱条件测定布洛芬缓释片中布洛芬的含量,并与紫外分光光度法比较,最终确定布洛芬缓释片中布洛芬含量的最佳质量控制方法。

1 材料和方法

1.1 材料 布洛芬对照品(中国药品生物制品检定所,批号100179-200804,供HPLC测定,含量99.5%;供UV测定,含量为100.0%),布洛芬缓释片(标示量0.3 g,西南药业股份有限公司,批号为国药准字H20013193);Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国),Agilent C₁₈ 色谱柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm);日本岛津 UV-265 紫外分光光度计;垂熔玻璃漏斗;碱式滴定管;乙腈和甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 色谱条件和系统适用性试验。色谱柱为Agilent C₁₈

柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm),检测波长263 nm,进样量10 μL,流速1.0 mL/min,柱温25 °C,流动相分别为I 甲醇:磷酸二氢钾:磷酸(700:300:0.1)、II 乙腈:0.01 mol/L 磷酸溶液(40:60)、III 乙酸铵缓冲液(称取乙酸铵5.762 2 g,加水750 mL,振荡溶解,用冰醋酸调pH至2.5):乙腈(40:60)^[10-11]。

1.2.2 溶液制备。

1.2.2.1 对照品溶液的制备及对照品处理方法的选择。称取布洛芬对照品10.50和5.68 mg,分别置2个25 mL容量瓶中,在分别用100%和60%甲醇稀释至刻度,超声滤过。分别吸取10 μL,按“1.2.1”色谱条件,分别以I、II、III 3种流动相进行试验。当改用60%甲醇处理时,以“1.2.1”色谱条件,乙酸铵缓冲液:乙腈(40:60)为流动相,同样进样10 μL进行试验。

1.2.2.2 供试品溶液的制备。先取布洛芬10片,精密称其总重量3.301 g,其平均每片重为0.330 g,再精密称取布洛芬缓释片5.50 mg,置于10 mL容量瓶中,加60%甲醇适量,超声15 min,用60%甲醇稀释至刻度,摇匀滤过,即得。

1.2.3 高效液相色谱法。

1.2.3.1 线性关系考察。以“1.2.1”色谱条件,将2种不同浓度甲醇制备好的对照品溶液分别精密量取2.5、5.0、7.5、10.0、12.5、15.0 μL进样,以各溶液的进样体积为横坐标、峰面积积分为纵坐标绘制标准曲线,计算回归方程。

1.2.3.2 精密度试验。以“1.2.1”色谱条件,取对照品溶液连续进样5次,进样量为10 μL,以外标法计算样品的含量。

1.2.3.3 重复性试验。取同一批号样品,精密称量布洛芬缓释片5份,各约15 mg,按“1.2.1”色谱条件操作,平行进样5次,测其含量样品进行方法重现性试验。

作者简介 王博(1992-),男,河南周口人,硕士研究生,研究方向:药物分析。*通讯作者,讲师,硕士,从事海洋活性物质筛选研究。

收稿日期 2016-04-10

1.2.3.4 回收率试验。精密称取已知布洛芬含量的样品7份(相当布洛芬10 mg),每份加入布洛芬对照品10 mg的溶液,按“1.2.2.2”供试品溶液制备方法制备,在“1.2.1”色谱条件下测定含量,计算回收率。

1.2.3.5 样品含量的测定。分别称取布洛芬样品5.03、5.19、5.24 mg样品,置10 mL容量瓶中,用60%甲醇稀释至刻度,超声滤过。分别吸取10 μ L,在选定的色谱条件下测定布洛芬的峰面积,计算布洛芬的含量。标示量(%) = $C_x \times D \times w / W \times B \times 100\%$,式中, C_x 为样品的浓度; D 为稀释体积; w 为平均片重; W 为供试品的称取量; B 为制剂的标示量。

1.2.4 紫外分光光度法。

1.2.4.1 线性关系考察。精密称取布洛芬对照品36.48 mg,置于100 mL容量瓶中,加0.4%氢氧化钠溶液超声并过滤。再量取滤液2、4、6、8、10 mL分别置10 mL量瓶中,加0.4%氢氧化钠溶液稀释至刻度,摇匀后按照“1.2.1”色谱条件测定吸光度^[12]。

1.2.4.2 精密度试验。在“1.2.1”色谱条件下,精密量取样品溶液10 μ L,连续进样5次,测峰面积和RSD。

1.2.4.3 重复性试验。取一样品7份,按“1.2.1”色谱条件操作,平行进样7次,评价试验重现性。

1.2.4.4 样品含量测定。精密称取布洛芬样品33.45、34.04、33.88 mg,置于100 mL容量瓶中,加入0.4%氢氧化钠溶液超声30 min,稀释至刻度,过滤,测定吸收值,按回归方程计算含量。

2 结果与分析

2.1 流动相的选取 按照“1.2.1”色谱条件和方法,分别以I甲醇:磷酸二氢钾:磷酸(700:300:0.1)、II乙腈:0.01 mol/L磷酸溶液(40:60)、III乙酸铵缓冲液:乙腈(40:60)3种流动相进行试验。结果显示(图1),在其他色谱条件相同的情况下,乙酸铵缓冲液:乙腈(40:60)为流动相效果最好,故以III流动相测定布洛芬含量。

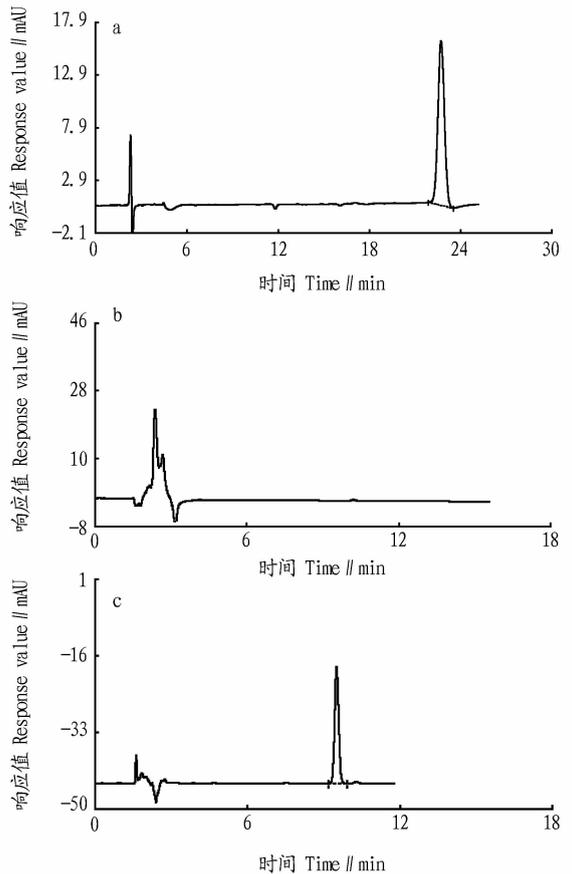
2.2 对照品处理方法的选择 由图2可见,使用不同浓度的甲醇溶解对对照品主峰的峰形有一定的影响,对照品采用60%甲醇溶解测得峰面积大于纯甲醇溶解的峰面积,故测得60%甲醇溶解的含量较高,说明布洛芬在60%甲醇中的溶解率大于纯甲醇,故采用60%甲醇作为对照品和样品的前处理溶剂,能取得最佳的提取率。

2.3 高效液相色谱试验

2.3.1 方法学考察。按照线性范围考查方法,测得回归方程为 $Y = 39.146x + 0.359$ ($r = 1.000$),说明布洛芬质量在1.05~6.30 μ g范围内线性关系良好(图3)。按精密度试验方法,测得色谱峰面积平均值为357.71,RSD为0.576%,表明精密度很好。按重复性试验方法操作,得出RSD为0.56%,表明该方法重现性良好。按回收率试验方法测定,结果发现(表1),平均回收率为99.71%,RSD = 1.14% ($n = 7$)。

2.3.2 样品含量的测定。按“1.2.3.5”方法操作,测得布洛芬的峰面积分别为306.01、330.48、335.29,通过HPLC测定

布洛芬的含量分别为96.9%、101.3%和102.0%。



注:a. 甲醇:磷酸二氢钾:磷酸(700:300:0.1);b. 乙腈:0.01 mol/L磷酸溶液(40:60);c. 乙酸铵缓冲液:乙腈(40:60)。

Note: a. Methanol: monopotassium phosphate: phosphoric acid (700:300:0.1); b. Acetonitrile:0.01 mol/L phosphoric acid (40:60); c. Ammonium acetate buffer: acetonitrile (40:60).

图1 不同流动相的对照品溶液HPLC图

Fig. 1 HPLC of control solutions with different mobile phases

2.4 紫外分光光度试验

2.4.1 线性关系考察。按照“1.2.4.1”方法操作,测得5种不同体积的样品在263 nm波长处吸光值分别为0.151、0.210、0.420、0.542和0.683。以浓度 C (mg/L)为横坐标、吸光度 A 为纵坐标进行线性回归,得方程 $A = 1.8161C + 0.0179$ ($r = 0.9997$),说明布洛芬在0.07~0.36 mg/L内吸光度和溶液的浓度呈良好的线性关系。

2.4.2 精密度试验。按“1.2.4.2”方法操作,得色谱峰面积平均值为357.71,RSD为0.576%,表明紫外分光光度计精密度很好。

2.4.3 重复性试验。按“1.2.4.3”方法操作,测定7份样品吸光值,计算布洛芬含量为0.21%,RSD为1.05%,说明该方法重现性良好。

2.2.4 样品含量测定。按“1.2.4.4”方法操作,测得3份布洛芬吸收值分别为0.595、0.608、0.602,按回归方程计算布洛芬含量分别为103.3%、103.9%和103.2%。

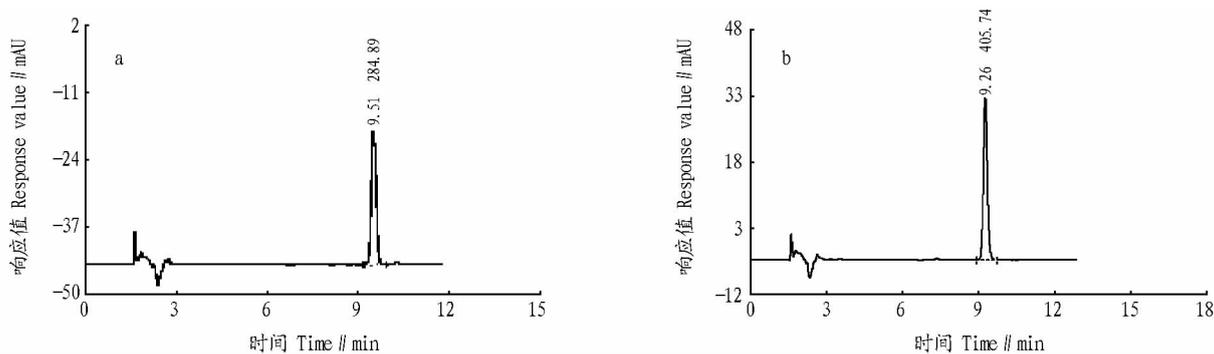


图 2 纯甲醇(a)和60%甲醇(b)溶解后的对照品溶液 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of reference solutions after dissolved by pure methanol (a) and 60% methanol (b)

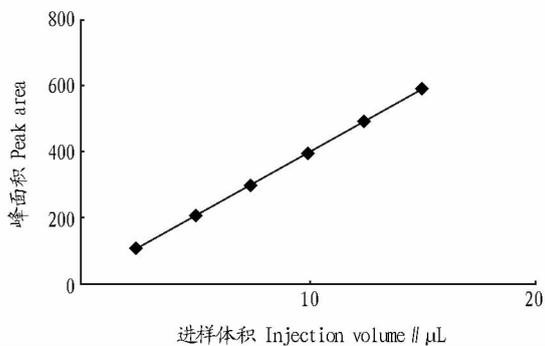


图 3 对照品溶液标准曲线

Fig. 3 Standard curve of reference solution

表 1 回收率试验结果 ($n=7$)

Table 1 Test results of recovery rate

样品量 Sample amount mg	加入量 Adding amount mg	测定量 Measured amount mg	回收率 Recovery rate %	平均回收率 Average recovery rate//%	RSD %
8.675	10	18.621	99.46	99.71	1.14
8.985	10	19.043	100.58		
9.987	10	19.902	99.15		
9.996	10	20.012	100.06		
10.140	10	19.997	98.57		
10.030	10	20.007	99.77		
10.110	10	20.143	100.33		

3 小结与讨论

该试验通过优化 HPLC 的流动相,确定最佳色谱条件测定布洛芬缓释片中布洛芬的含量,并与紫外分光光度法比较。结果发现,使用不同浓度的甲醇溶解对对照品主峰的峰形有一定的影响,对照品选用 60% 甲醇溶解较好,且以流动相为乙酸铵缓冲液:乙腈(40:60)的 HPLC 方法最佳,布洛芬在 1.05 ~ 6.30 μg 范围内线性关系很好,平均回收率为 99.71%, $RSD = 1.14\%$,重现性好。在紫外分光光度法试验

中,4-异丁基苯乙酮结构上存在共轭体系并在 263 nm 的吸收远远强于布洛芬,如用自身对照法进行杂质控制是不合适的,需采用杂质对照品法试验。虽然 2 种方法测定布洛芬含量相差较小,但从 2 种方法与其试验过程可知,紫外分光光度法采用不同浓度的氢氧化钠溶液处理样品会影响测定结果,200 ~ 400 nm 波长下扫描,效果不理想;HPLC 法能够排除有关辅料物质及人为误差的干扰,专属性强,该方法操作简便、重现性好、实用性强,可作为布洛芬缓释片中布洛芬含量的质量控制方法。

参考文献

- [1] 刘忠,宋红萍,徐隽,等. 高效液相色谱法测定布洛芬注射液的含量及有关物质[J]. 中国医院药学杂志,2009,29(10):856-858.
- [2] 张轶突,陈尧,谌志荣,等. 布洛芬缓释胶囊单剂量与多剂量给药的人体药代动力学及生物等效性研究[J]. 中国临床药理学与治疗学,2014,19(3):297-301.
- [3] CHEN W W, HU X H, HONG Y Z, et al. Ibuprofen nanoparticles prepared by a PGSS TM-based method[J]. Powder technology, 2013, 245(2):241-250.
- [4] ORTEGA-ALVARO A, BERROCOSO E, REY-BREA R, et al. Comparison of the antinociceptive effects of ibuprofen arginate and ibuprofen in rat models of inflammatory and neuropathic pain[J]. Life sciences, 2012, 90(1/2):13-20.
- [5] 雷艳虹,梁淑彩,叶姍. 化学计量学法测定阿司匹林与布洛芬[J]. 四川理工学院学报(自然科学版),2008,21(4):65-67.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:二部[S]. 北京:化学工业出版社,2005:96.
- [7] KHOSHAYAND M R, ABDOLLAHI H, SHARIATPANAHI M, et al. Simultaneous spectrophotometric determination of paracetamol, ibuprofen and caffeine in pharmaceuticals by chemometric methods[J]. Spectrochimica acta part A: Molecular and biomolecular spectroscopy, 2008, 70(3):491-499.
- [8] 傅厚墩,周姣. 离子色谱法分析布洛芬片剂中的布洛芬含量[J]. 分析化学,2001(7):46-47.
- [9] RAO D D, RAOL P V, SAITL S S, et al. Simultaneous determination of ibuprofen and diphenhydramine citrate in tablets by validated LC[J]. Chromatographia, 2009, 69(9):1133-1136.
- [10] 尹辉,胡容峰,高宇,等. 右旋布洛芬缓释片的含量测定及体外释放特性研究[J]. 安徽中医学院学报,2010,29(1):60-63.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2010年版一部[S]. 北京:化学工业出版社,2010:120.
- [12] 谭博,赵悦辉. 紫外分光光度法测定布洛芬片的含量[J]. 中国药业,2007,16(23):21.