

酮基布洛芬搽剂的高效液相色谱分析及其稳定性研究

栾立标 苗 岩¹ 朱央央

(药剂学教研室; ¹ 天津津东制药厂, 300163)

摘 要 建立了酮基布洛芬搽剂含量测定的高效液相色谱法, 该法简便, 快速, 专属性强, 回收率为 100.20% ($CV=0.52\%$), 同时进行了光、热稳定性加速试验, 结果表明该搽剂遇光不稳定, 对热较稳定, 在避光条件下室温贮存有效期为 2.1 年。

关键词 酮基布洛芬; 搽剂; 稳定性; 贮存期; 高效液相色谱

酮基布洛芬是一种高效非甾体抗炎镇痛药^[1], 英国药典 1980 和 1988 版均已收载此药^[2], 但其外用搽剂各国药典均未收载, 其搽剂含量测定方法和稳定性也未见文献报道。本文建立了酮基布洛芬搽剂的 HPLC 含量测定方法, 进行了光、热稳定性加速试验, 并预测了该搽剂的贮存有效期。

1 药品与仪器

HP-1090 高效液相色谱仪 (惠普公司); 乙腈 (光谱纯, 上海脑研究所); 三氟乙酸 (AR, 英国 BDH 公司); 酮基布洛芬搽剂 (921003, 921004, 921005 自制); 酮基布洛芬 (含量 99.9%, 西南合成药厂); 布洛芬 (内标, 常州制药厂)。

1.1 酮基布洛芬标准贮备液

精密称取 50 °C 减压干燥恒重的酮基布洛芬 500 mg, 置 100 ml 棕色容量瓶中, 用无水乙醇溶解, 并稀释至刻度 (5 mg/ml), 置冰箱中备用。

1.2 布洛芬内标标准贮备液

精密称取恒重的布洛芬 1800 mg 置 500 ml 容量瓶中, 用无水乙醇溶解, 并稀释至刻度, 置冰箱中备用。

1.3 样品溶液的配制

精密吸取搽剂样品液 1 ml, 置 25 ml 棕色容量瓶中, 用无水乙醇稀释至刻度。精密吸取该稀释液 1 ml, 置 25 ml 棕色容量瓶中, 以內标液定容至刻度, 摇匀。

2 实验与结果

2.1 高效液相色谱法

2.1.1 色谱条件 流动相: 乙腈-0.05% 三氟乙酸水溶液 (55 : 45); 色谱柱: upondpak C₁₈ 柱, 30 cm × 4.6 mm; 流速: 1.00 ml/min; 检测波长: 256 nm; 柱温: 30 °C; 进样: 20 μl。

2.1.2 干扰物质的考察 取光照试验 (4000 Lux, 6 d) 前、后搽剂样品, 分别照样品溶液配制项下的方法稀释配制, 进样, 得 HPLC 色谱图 1、2, 从图 1 看出, 酮基布洛芬与布洛芬的保留时间分别是 5.173 min 和 8.044 min, 两者之间有着良好的分离度 (分离度 = 4.4)。从图 2 看出光照试验后的降解产物色谱峰保留时间为 6.478 min, 不对酮基布洛芬和布洛芬产生干扰。另按处方配制不含酮基布洛芬的空白样品液, 用无水乙醇稀释 625 倍后进样, HPLC 色谱图见图 3, 从图 3 看出搽剂空白介质也不对酮基布洛芬和布洛芬产生干扰。说明该 HPLC 法专属性较强, 可用于稳定性研究。

收稿日期: 1993-05-14

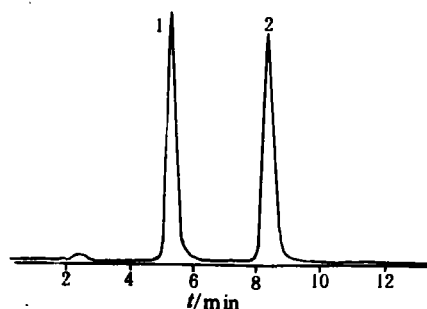


Fig 1. Chromatogram of ketoprofen liniment to which internal standard had been added

1. ketoprofen; 2. ibuprofen (3.6 mg/ml)

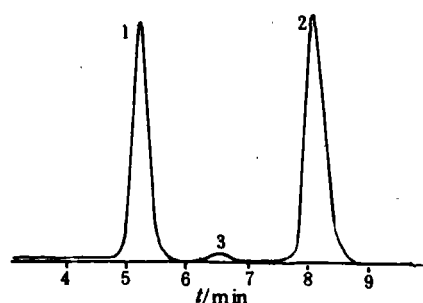


Fig 2. Chromatogram of ketoprofen liniment following light accelerated test

1. ketoprofen; 2. ibuprofen; 3. degradation products

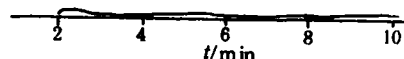


Fig 3. Chromatogram of blank liniment

2.1.3 线性关系 精密吸取酮基布洛芬标准贮备液 2, 4, 6, 8, 10 ml 至 25 ml 容量瓶中, 分别用无水乙醇稀释至刻度, 吸取 1 ml 分别置 25 ml 棕色容量瓶中, 以内标液稀释至刻度, 进样, 计算峰面积之比, 以酮基布洛芬与布洛芬峰面积之比为纵坐标(Y), 以相应的酮基布洛芬浓度为横坐标(X)进行线性回归, 线性回归方程为 $Y = 0.00686 + 17.58X$, $r = 0.9999$, $n = 5$ 。从上看出, 在 0.016—0.080 mg/ml 浓度范围内, 峰面积之比与酮基布洛芬浓度之间存在着良好的线性关系。

2.1.4 制剂回收率 精密吸取酮基布洛芬

标准贮备溶液 1 ml, 置 25 ml 棕色容量瓶中, 用无水乙醇稀释至刻度, 吸取该溶液 1 ml 至 25 ml 棕色容量瓶中, 以内标液稀释至刻度, 进样, 计算峰面积比值 $A_{\text{样/标}}$, 另精密吸取酮基布洛芬标准贮备溶液 1 ml, 置 25 ml 棕色容量瓶中, 加入 1 ml 制剂空白介质溶液, 以无水乙醇稀释至刻度, 吸取该溶液 1 ml 于 25 ml 棕色容量瓶中, 以内标液稀释至刻度, 进样, 计算峰面积之比值 $A'_{\text{样/标}}$, 以 A/A' 计算制剂回收率。经测定制剂回收率为 100.20% ($CV = 0.52\%$, $n = 5$), 说明该 HPLC 法有较高的回收率和较小的变异系数。

2.1.5 制剂的含量测定 取三个批号的样品, 分别按 1.3 方法配制样品溶液, 进样, 进行 HPLC 测定, 结果见表 1。

Tab 1. Assay of ketoprofen Liniment ($n = 3$)

Batch No.	Cont., %	CV, %
921003	100.50	0.59
921004	102.23	0.55
921005	97.66	0.24

2.2 光照实验

取样品置光照度为 4000 Lux 处(距 40 W 日光灯 15 cm 处), 于放样后 1, 3, 6, 10 d 取出, 观察外观色泽, 用上述 HPLC 法测定含量。结果见表 2。从结果看出, 本品光照后不稳定, 易变色, 含量也有所下降, 所以本品应避光保存。

Tab 2. Result of light accelerate test

Time, d	921003		921004		921005	
	Cont., %	Color	Cont., %	Color	Cont., %	Color
1	98.18	—	96.20	—	100.36	—
3	/	+	94.60	+	98.93	+
5	98.67	+	92.30	+	97.49	+
10	91.16	++	91.08	+	94.80	++

— unchange(colorless); + change into yellow;
++ change into deep yellow.

*Cont. (%) = $\frac{\text{amount of drug at } t \text{ time}}{\text{amount of drug at } 0 \text{ time}} \times 100\%$

2.3 初均速法加速试验

初均速法是基于药物降解反应初阶段时反应级数对测定结果影响并不重要的理论而设计的一种预测贮存期的简化方法。就是在若干个加速稳定性试验温度下, 测定反应的初始平均速度(即反应开始阶段单位时间浓

度的变化 V_0), 进而按 Arrhenius 指数规律, 以 V_0 代替 K 值推求室温贮存期^[3]。本文用该法预测搽剂的室温贮存有效期。

将样品分别置于 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70℃ 的恒温水浴中, 一定时间后取样, 观察外观色泽, 用上述 HPLC 法测定含量。按 $V_0 = (C_0 - C_t)/t$ 求各个温度下的药物分解初始平均速度 V_0 (见表 3)。根据 Arrhenius 公式, 以 V_0 的对数 ($\log V_0$) 代替反应速率常数 K_i 的对

数 ($\log K_i$) 对温度的倒数 ($1/T$) 作线性回归, 线性回归方程见表 4。

取室温为 25℃ ($T = 298^\circ\text{K}$), 代入到 $\log V_0 - 1/T$ 的线性回归方程中, 求出 $V_{0.25}$, 再将 $V_{0.25}$ 代入公式 $t_{0.9} = 0.1 C_0 / V_{0.25}$, 得 $t_{0.9}$ (见表 4)。从上述结果看出, 酮基布洛芬搽剂对热较稳定, 降解速率较小, 色泽也未改变, 经计算, 避光条件下室温贮存有效期 ($t_{0.9}$) 均大于 2.1 年, 故可暂定贮存期为 2.1 年。

Tab 3. Average rate of the initial stage of degradation reaction V_0 (%/d) and color of ketoprofen liniment at various temperature

Temp, °C	Time, d	921003		921004		921005	
		V_0 , %/d	Color	V_0 , %/d	Color	V_0 , %/d	Color
70	1	0.480	—	0.380	—	0.240	—
65	2	0.340	—	0.540	—	0.152	—
60	3	0.357	—	0.287	—	-0.040	—
55	4	0.218	—	0.365	—	-0.034	—
50	5	0.170	—	0.132	—	0.034	—
45	6	0.082	—	-0.058	—	0.062	—
40	7	0.029	—	0.027	—	0.041	—

— unchange (colorless)

Tab 4. linear regression equation of $\log V_0 - 1/T$ and result of shelflife ($t_{0.9}$)

Batch No.	Regression equation	r	$V_{0.25}$, %/d	$t_{0.9}$, year
921003	$\log V_0 = 11.5506 - 4032.69 \times 1/T$	0.9483	1.0425×10^{-2}	2.6
921004	$\log V_0 = 12.3801 - 4303.56 \times 1/T$	0.9051	8.6830×10^{-3}	3.1
921005	$\log V_0 = 10.0025 - 3541.43 \times 1/T$	0.9222	1.3138×10^{-2}	2.1

3 讨论

3.1 英国药典 1988 版和重庆市药品地方标准收载的酮基布洛芬原料药含量测定方法均是酸碱中和滴定法, 这种方法不能消除基质和降解产物的干扰, 因而不能作为稳定性研究的分析方法。本文建立的 HPLC 方法具有专属性, 适用于酮基布洛芬搽剂的稳定性研究。

3.2 初均速法预测药物贮存期, 只需在每个加速温度下取样分析一次, 与经典恒温法相

比, 大大节约了时间和样品, 减少了数据处理量, 而且不必知道反应级数。当实验温度取 7 个以上时其预测贮存期的精度也是可以的, 其结果与我们后来用 FDA 法预测的贮存期结果相似。

参考文献

- 1 陈新谦, 金有豫主编. 新编药理学. 第 13 版. 北京: 人民卫生出版社, 1992, 165
- 2 British Pharmacopoeia. 1988, 325
- 3 庞貽慧, 鲁纯素. 药物稳定性预测方法的简化-初均速法. 药学报, 1982; 17(3): 207

HPLC Analysis of Ketoprofen Liniment and Its Stability Study

Luan Libiao, Miao Yan¹, Zhu Yangyang

Division of Pharmaceutics, ¹Tianjin Jin Dong Pharmaceutical Factory 300163

A rapid and specific HPLC method of ketoprofen liniment for stability testing was established. The stability of ketoprofen liniment was studied by light and heat accelerated test. The result showed that ketoprofen liniment had better thermostability and bad photostability. When ketoprofen liniment was protected from light, the shelf life ($t_{0.9}$) of ketoprofen liniment was 2.1 years.

Key words Ketoprofen; Liniment; Stability; Shelflife; HPLC

石斛类生药学研究

马国祥 导师:徐国钧 菊池微

(生药学教研室)

云南是名贵中药石斛产区之一,石斛种类多,分布广。通过药源调查,基本上搞清了云南西南部石斛类药用资源,对采集植物标本 105 份进行了分类学鉴定,计石斛属(*Dendrobium*)26 种、石仙桃属(*Pholidota*)1 种、金石斛属(*Ephemerantha*)1 种,并发现 1 新变种布朗山石斛(*Dendrobium chrysseum* Rolfe var. *bulangense* G. X. Ma. et G. J. Xu)。

对来源于 28 种石斛的生药进行性状鉴定,就其外形特征分成细茎组、肿节组、扁茎组等 10 个组加以分类鉴别,以利应用;对 22 种石斛属生药进行详细的显微分析,主要比较表皮和角质层、皮下层细胞、维管束及其内、外侧的纤维群,还建立了显微定量方法即单位面积维管束数、维管束外侧纤维群外周单位长度硅质块数等,为石斛的显微鉴别增加新的内容。

对从鼓槌石斛中分得的 3 个单体 erianin、chrysotoxene、confusarin 进行抗肝癌、艾氏腹水瘤的药理实验,发现均具有较强的抗肿瘤活性。探索应用 HPLC 法测定 18 种石斛类生药中双苯酚类、菲酚类化合物的含量,结果表明该方法灵敏、准确、稳定性好。依据 Shannon 信息理论和主成分分析法对 32 种石斛样品氯仿提取物的紫外光谱进行分析,分析结果与植物分类学及前人所进行的化学成分研究结果基本一致。本研究结果为石斛类品种鉴定、质量评估、资源开发利用及保护提供科学依据。

(全文待发表)

中药白头翁类生药学研究

崔宪民 导师:徐国钧 难波恒雄

(生药学教研室)

白头翁为常用中药,具清热解毒、凉血止痢、抗真菌、抗肿瘤等作用。其植物来源复杂,生药鉴定困难。作者对白头翁类生药进行了较系统的生药学研究,为其品质评价提供了科学依据。

药源调查采集植物标本 300 余份,鉴定出 13 个药用种,来自于 3 科 5 属。全国 25 省区收集 86 件商品,药典种白头翁 *Pulsatilla chinensis* 为主流品种。对 13 种白头翁类药材进行生药性状、组织和粉末鉴定研究;对白头翁属 9 种植物的叶柄基表面特征进行了扫描电镜观察。从细叶白头翁中首次分离、鉴定出 7 个三萜皂甙;从毛茛草中首次分离鉴定出 9 个化合物。以 7 个化合物对照,对 13 种白头翁类氯仿、甲醇提取物分别进行了 TLC 定性分析;对 9 种白头翁属生药进行总皂甙含量测定;对毛茛草中香豆素甙(marmesinin)进行了含量测定。对白头翁乙醇提取物及一种单体皂甙的降血脂、降血糖作用进行了研究;对白头翁类生药、原白头翁素进行了体外抗真菌作用研究。

(全文待发表)