

UPLC法同时测定布洛芬及其制剂中的10种杂质



负晓斐, 张艳霞, 钱钰娟, 韩 锋, 肖宏华, 闫泽曼, 王 萌

北京市朝阳区食品药品安全监控中心 (北京 100124)

【摘要】目的 建立超高效液相色谱 (UPLC) 法同时测定布洛芬及其制剂中10种杂质的含量。**方法** 采用ACQUITY UPLC BEH C₁₈色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 以0.05%磷酸溶液和乙腈作为流动相进行梯度洗脱, 流速为0.3 mL/min; 柱温为30 °C; 检测波长为214 nm。**结果** 布洛芬主成分与各杂质峰之间均实现基线分离 (分离度 > 1.5)。各杂质在1~50 μg/mL范围内线性关系良好 ($r > 0.999 0$)。平均回收率97.96%~106.01%, 精密度RSD < 5%, 检出限为0.013~0.112 μg/mL, 定量限为0.043~0.375 μg/mL。20批次样品的杂质含量均 < 1.5‰。**结论** 该方法简便、准确、灵敏度高, 可用于布洛芬及其制剂中10种杂质的质量控制。

【关键词】 布洛芬; 超高效液相色谱; 杂质; 毒性; 质量控制

【中图分类号】 R927.2

【文献标识码】 A

Simultaneous determination of 10 impurities in ibuprofen and its preparations by UPLC method

YUN Xiaofei, ZHANG Yanxia, QIAN Yujuan, HAN Feng, XIAO Honghua, YAN Zeman, WANG Meng

Beijing Chaoyang Food and Drug Safety Monitoring Center, Beijing 100124, China

Corresponding author: ZHANG Yanxia, Email: 18748654@qq.com

【Abstract】Objective To establish an ultra-performance liquid chromatography (UPLC) method for the simultaneous determination of 10 impurities in ibuprofen and its preparations. **Methods** An ACQUITY UPLC BEH C₁₈ chromatographic column (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) was used, and gradient elution was performed with 0.05% phosphoric acid solution and acetonitrile as mobile phases at a flow rate of 0.3 mL/min. The column temperature was 30 °C, and the detection wavelength was 214 nm. **Results** Baseline separation (separation degree > 1.5) was achieved between the main component of ibuprofen and each impurity peak. The linear relationship of each impurity was good within the range of 1-50 μg/mL ($r > 0.999 0$). The average recovery rate ranged from 97.96% to 106.01%, the precision RSD was less than 5%, the limit of detection was from 0.013 to 0.112 μg/mL, and the limit of quantification was from 0.043 to 0.375 μg/mL. The impurity content in 20 batches of samples was less than 1.5‰. **Conclusion** The method is simple, accurate, and sensitive, and can be used for quality control of 10 impurities in ibuprofen and its preparations.

【Keywords】 Ibuprofen; Ultra-performance liquid chromatography; Impurities; Toxicity; Quality control

布洛芬是一种应用广泛的解热镇痛抗炎药, 属于非甾体抗炎药。其核心机制在

于抑制环氧酶 (环氧酶-1与环氧酶-2) 的活性, 进而减少前列腺素的生物合成,

最终发挥镇痛、抗炎及解热作用。该药物的解热功效源于其对下丘脑体温调节中枢的作用，通过促进散热来降低体温，因此普遍适用于由感冒、流感或其他感染因素引起的发热症状，是成人与儿童治疗发热的一线药物。鉴于其临床应用的普遍性，布洛芬制剂的质量控制至关重要。根据国家药品监督管理局截至2025年3月公布的数据，境内持有的布洛芬片、布洛芬胶囊及布洛芬混悬液批准文号分别达396、35、33个^[1]，这凸显了该药品各剂型实施严格质量监管的必要性。

细胞毒性实验结果表明，布洛芬的多种杂质均表现出不同程度的毒性。其中，杂质B在0.25 mg/mL浓度下毒性为2级；而杂质N、D、J、V均呈现3级中度毒性；尤为值得关注的是杂质E，其毒性达到4级，属于重度毒性^[2]。以上杂质均为布洛芬降解过程中的副产物^[3]。毒性杂质直接关联药品的临床安全性，药品质量标准必须对其设定严格的限度。此外，部分杂质即使无明显毒性，但其含量超标可能影响产品的工艺稳定性与质量可控性，因此也需作为关键工艺指标加以控制^[4]。因此，建立一种能够全面、高效检测上述杂质的分析方法，对于保障布洛芬制剂的质量与安全至关重要。

随着药物一致性评价工作的深入推进与分析检测技术的不断发展，采用HPLC法分析布洛芬制剂的研究已在国内外文献中有所报道^[5-7]。然而，现行各药典标准在杂质控制方面存在差异与局限。《中国药典》2025年版二部^[8]目前仍采用TLC法检测布洛芬原料药的杂质，该方法灵敏度较低。《欧洲药典》11.0版（EP 11.0）^[9]以HPLC法检测布洛芬杂质A、J、N，限度不超过0.15%；以GC法检测杂质F，限度不超过0.1%，并对其他可检测出杂质做出了相应要求。《美国药典》2025年版（USP-NF 2025）^[10]同样以液相色谱法检测其杂质，其中杂质J的限度为0.2%，杂质C的限度为0.25%。国内制药企业普遍采用HPLC法替代TLC法以提高检测精度，但由于各企业在注册标准的制定上缺乏统一指导原则，导致杂质谱的界定与限度设定呈现高度异质性。例如，布洛芬缓释胶囊标准YBH02492020^[11]规定杂质E、J、S均不得超过0.1%，单个杂质 $\leq 0.2\%$ ，总杂质 $\leq 0.5\%$ ；布洛芬颗粒标准YBH15372022^[12]规定杂质A、J、N $\leq 0.15\%$ ，杂质E $\leq 0.25\%$ ，总杂质 $\leq 0.7\%$ ；布洛芬片标准

YBH06982020^[13]、涵盖双键布洛芬等特定杂质，单个杂质限度相对较宽，总杂质 $\leq 1.0\%$ ；布洛芬混悬液标准YBH14742024^[14]采用液相色谱法，规定杂质I与杂质II均不得过0.2%（254 nm）；其他单个杂质按相对保留时间计算不得过0.2%（220 nm），杂质总量不得过0.9%。

杂质B在中国食品药品检定研究院（以下简称“中检院”）标准物质说明书中被命名为右布洛芬杂质I，而在YBH07332010^[15]和YBH00692014^[16]标准中则以2-(4-丁基苯基)丙酸表示。杂质E在中检院标准物质说明书中被命名为布洛芬杂质（4-异丁基乙酰苯），在YBH00692014标准中则以4-异丁基苯乙酮表示。由此可见，现行国内标准在杂质命名、检测方法及限度规定上均不统一，且普遍存在分析周期长、覆盖杂质种类有限等问题。值得注意的是，对于具有重度细胞毒性的杂质E及中度毒性的杂质D、V目前尚无单独的检测方法与明确的限度要求。药品中杂质的含量直接关系到质量可控性与用药安全，是引发不良反应潜在风险的关键因素^[8]。因此，基于现有质量标准中检测方法存在的不足，本研究拟建立一种超高效液相色谱（ultra-performance liquid chromatography, UPLC）检测方法，以期解决布洛芬主成分与10种杂质难以同步检测及定量的问题。

1 仪器与材料

1.1 主要仪器

UPLC ACQUITY H CLASS PLUS型超高效液相色谱仪及Empower 3处理软件（美国沃特世公司）；XP105DR型电子天平（瑞士梅特勒-托利多公司）；KQ500E型超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；明澈-D24UV型纯水机（德国默克密理博公司）。

1.2 主要药品与试剂

布洛芬对照品及各杂质对照品的详细信息见表1和图1；布洛芬原料药由某厂家馈赠，制剂的相关信息见表2；乙腈和磷酸为色谱纯，甲酸为质谱纯；其余试剂均为分析纯；水为实验室自制超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱：ACQUITY UPLC BEH C₁₈柱（100 mm×

表1 布洛芬对照品及10种杂质对照品信息

Table 1. Information of ibuprofen reference standard and 10 impurity reference standards

名称	CAS号	化学式	纯度	来源	批号
布洛芬对照品	15687-27-1	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	99.90%	中国食品药品检定研究院	100179-202308
杂质A	66622-47-7	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	97.02%	北京北化亿源公司	52189
杂质B	3585-49-7	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	0.6 mg/mL	中国食品药品检定研究院	101406-202303
杂质D	938-94-3	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	98.35%	北京北化亿源公司	40602
杂质E	38861-78-8	C ₁₂ H ₁₆ O	99.70%	中国食品药品检定研究院	100722-202206
杂质J	65813-55-0	C ₁₃ H ₁₆ O ₃	97.44%	北京北化亿源公司	52024
杂质K	43153-07-7	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	100.00%	中国食品药品检定研究院	101544-202101
杂质L	53949-53-4	C ₁₃ H ₁₈ O ₃	98.34%	北京北化亿源公司	71491
杂质N	3585-52-2	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	96.53%	北京北化亿源公司	45451
杂质S	38861-88-0	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	100.00%	中国食品药品检定研究院	100721-201102
杂质V	1340024-54-5	C ₁₄ H ₁₈ O	98.93%	北京北化亿源公司	90404

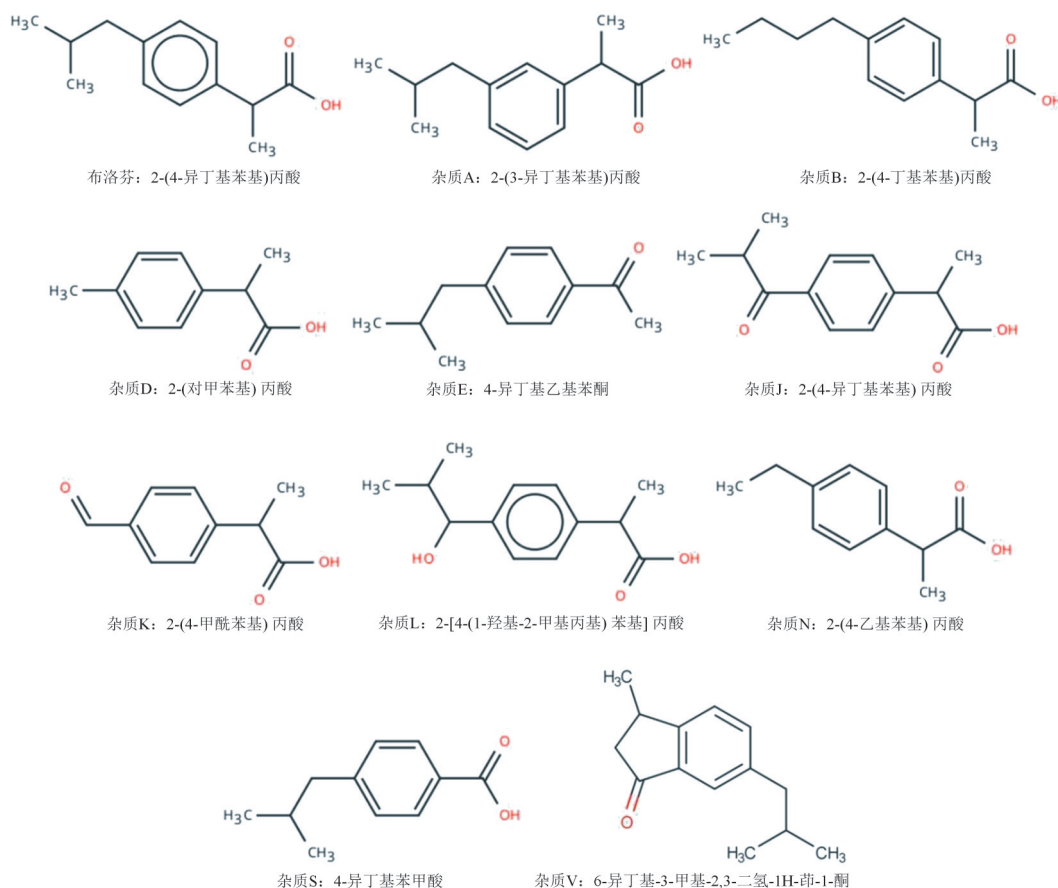


图1 布洛芬对照品及10种杂质对照品的分子结构图

Figure 1. Molecular structures of ibuprofen reference standard and 10 impurity reference standards

2.1 mm, 1.7 μ m); 流动相: 0.05%磷酸溶液 (A) - 乙腈 (B), 梯度洗脱 (洗脱程序见表3); 流速: 0.3 mL/min; 检测波长: 214 nm; 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 进样量: 2 μ L。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合溶剂

取乙腈与水按体积比3:2混合, 即得。

2.2.2 对照品储备液

取布洛芬对照品及其杂质A、B、D、E、J、K、L、N、S、V对照品适量, 精密称定, 分别置于20 mL棕色量瓶中, 加入混合溶剂制成每1 mL中约含1 mg的溶液, 作为对照品储备液。

2.2.3 片剂供试品溶液

取布洛芬片20片, 置于乳钵中研细。精密称

表2 布洛芬制剂相关信息

Table 2. Information related to ibuprofen preparations

制剂类型	厂家代号	批号	规格
片剂	厂家1	240802	0.1 g
片剂	厂家2	G221205	0.1 g
片剂	厂家3	240804	0.1 g
片剂	厂家4	20240817	0.1 g
片剂	厂家5	20240813	0.2 g
片剂	厂家5	14X04061	0.2 g
片剂	厂家6	2409372	0.2 g
片剂	厂家8	32240601	0.1 g
片剂	厂家9	20220926	0.1 g
片剂	厂家10	240306	0.1 g
片剂	厂家11	22121907	0.2 g
胶囊剂	厂家12	20240407	0.3 g
胶囊剂	厂家13	FM2C	0.3 g
胶囊剂	厂家14	K250202	0.3 g
口服混悬剂	厂家15	230727205	100 mL : 2 g
口服混悬剂	厂家16	50323083	2%
口服混悬剂	厂家17	4221133	60 mL : 1.2 g
口服混悬剂	厂家18	50323044	25 mL : 0.5 g
口服混悬剂	厂家19	20230803	100 mL : 2 g
口服混悬剂	厂家20	C230802-1	2%

表3 梯度洗脱程序

Table 3. Gradient elution program

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0~3	70→50	30→50
3~25	50→30	50→70
25~26	30	70
26~34	30→70	70→30
34~35	70	30

取细粉适量(约相当于布洛芬 50 mg), 置 50 mL 棕色量瓶中, 加入混合溶剂 30 mL, 冰浴超声(功率: 250 W, 频率: 40 kHz) 处理 5 min 使溶解, 再用混合溶剂稀释至刻度, 摇匀, 制成每 1 mL 中约含布洛芬 1 mg 的溶液。以 0.2 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液, 即得。

2.2.4 胶囊剂供试品溶液

取布洛芬缓释胶囊 20 粒, 倾出内容物, 混合均匀, 精密称取适量(约相当于布洛芬 50 mg), 置 50 mL 棕色量瓶中, 加入混合溶剂 30 mL, 后续步骤同“2.2.3”项。

2.2.5 混悬液供试品溶液

取布洛芬混悬液, 振摇均匀后精密量取 5 mL, 置 100 mL 棕色量瓶中, 加入混合溶剂 50 mL, 后续步骤同“2.2.3”项。

2.3 方法学考察

2.3.1 系统适用性试验

精密移取“2.2.2”项下各杂质对照品储备液适量, 以乙腈为溶剂稀释并定容, 制得各杂质浓度均为 1 μg/mL 的混合对照品溶液。分别精密量取空白溶剂(乙腈)、混合对照品溶液及 3 个剂型的供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图(图2)。各色谱峰出峰顺序依次为: 杂质 K、L、D、J、N、S、A, 布洛芬, 杂质 B、E、V; 空白溶剂在各杂质及主成分保留时间处均无干扰峰, 方法专属性良好; 混合对照品溶液中布洛芬与相邻杂质 A 和杂质 B 的分离度分别为 2.4 和 2.9, 各色谱峰理论塔板数均大于 2 500, 分离度均大于 1.5, 拖尾因子在 0.7~1.2 之间(表4)。

2.3.2 专属性试验

未破坏试验: 精密称取布洛芬原料药约

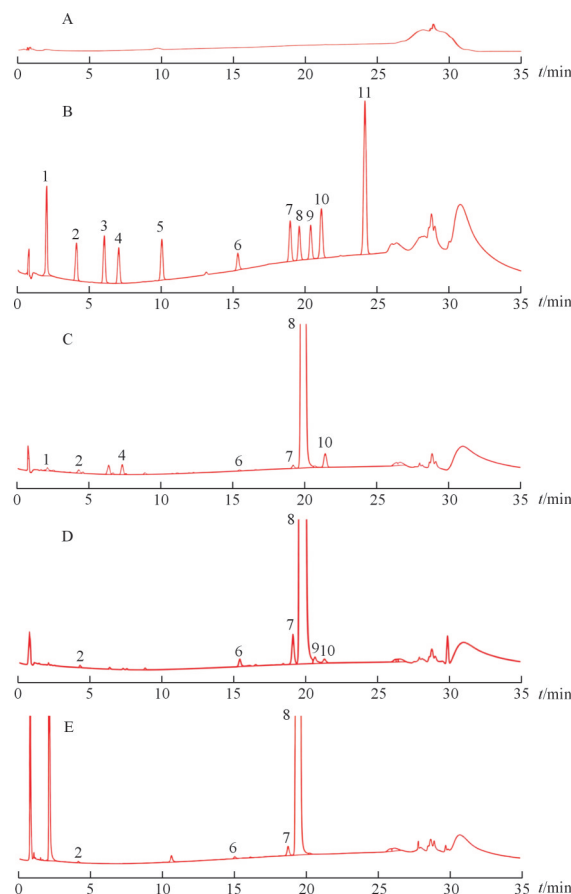


图2 系统适用性试验的UPLC色谱图

Figure 2. UPLC Chromatogram of system suitability test

注: A. 空白溶剂; B. 混合对照品溶液; C. 片剂(厂家5); D. 胶囊剂(厂家12); E. 混悬剂(厂家19); 1. 杂质K; 2. 杂质L; 3. 杂质D; 4. 杂质J; 5. 杂质N; 6. 杂质S; 7. 杂质A; 8. 布洛芬; 9. 杂质B; 10. 杂质E; 11. 杂质V。

表4 系统适用性试验结果

Table 4. Results of system suitability test

化合物名称	相对保留时间	理论塔板数	分离度	拖尾因子
杂质K	0.107	2 731	1.699	0.783
杂质L	0.214	4 205	9.494	0.858
杂质D	0.314	10 165	7.639	0.980
杂质J	0.366	12 027	3.949	0.959
杂质N	0.518	25 361	11.553	1.024
杂质S	0.784	48 076	20.069	1.180
杂质A	0.968	80 003	13.594	1.040
布洛芬	1.000	81 592	2.359	1.016
杂质B	10.040	90 764	2.900	1.050
杂质E	1.078	72 002	2.594	1.009
杂质V	1.231	95 976	9.557	1.014

100 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加混合溶剂适量, 冰浴超声 (功率: 250 W, 频率: 40 kHz) 5 min 使溶解, 用乙腈稀释至刻度, 摇匀, 即得。

强制降解试验: 另精密称取布洛芬原料药 4 份, 每份约 100 mg, 分别置于小烧杯中, 加混合溶剂 5 mL, 冰浴超声 (功率: 250 W, 频率: 40 kHz) 5 min 使溶解后, 按下述条件分别进行强制降解: ①酸破坏: 加入 1 mol/L 盐酸溶液 5 mL, 缓慢振摇, 室温静置 24 h; ②碱破坏: 加入 1 mol/L 氢氧化钠溶液 5 mL, 同法处理; ③氧化破坏: 加入 30% 过氧化氢溶液 5 mL, 同法处理; ④高温破坏: 加入混合溶剂 50 mL 使溶解, 于 60 °C 水浴中加热 24 h。降解结束后, 酸、碱及氧化破坏组溶液分别调节 pH 至中性, 与高温破坏组溶液一并定量转移至 100 mL 量瓶中。各样品容器均用乙腈润洗, 洗液并入量瓶, 加乙腈稀释至刻度, 摇匀, 即得。

取上述各溶液, 按“2.1”项下色谱条件进行测定, 采用外标法以峰面积计算各杂质含量, 并以未破坏试验溶液中的杂质含量进行校正。结果见表 5, 色谱图见图 3。根据有关物质分析方法验证可接受标准^[17]进行评估, 在酸、碱、氧化及高温强制降解条件下, 主成分布洛芬峰与各降解产物峰之间的分离度均大于 1.5。各条件的主要降解产物分别为: 酸、碱破坏生成杂质 A、E、S、V; 氧化破坏生成杂质 A、S; 高温破坏生成杂质 D、E、J、K、L。所有破坏试验的物料平衡值介于 70%~102% 之间, 表明该方法能够有效追踪降解产物, 且具有较好的专属性。

表5 破坏性试验结果

Table 5. The results of destructive test

化合物	含量 (%)			
	酸破坏	碱破坏	氧化破坏	高温破坏
布洛芬	99.006	101.345	99.233	73.332
杂质K	0.011	-	-	0.054
杂质L	-	0.022	0.033	0.146
杂质D	-	-	0.034	0.398
杂质J	-	0.023	0.020	0.055
杂质N	-	-	-	0.039
杂质S	0.067	0.064	0.062	-
杂质A	0.056	0.040	0.050	0.037
杂质B	-	-	-	-
杂质E	0.049	0.061	0.028	0.108
杂质V	0.029	0.024	0.025	0.021

注: “-”表示在相应保留时间处未显现色谱峰, 或含量低于 0.010% 可忽略不计。

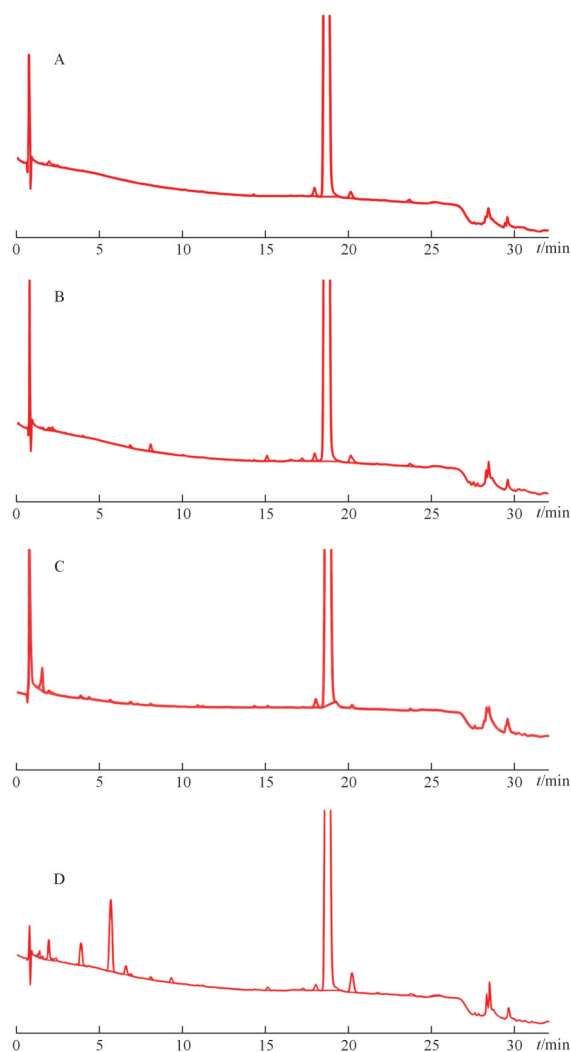


图3 破坏性试验的UPLC色谱图

Figure 3. UPLC chromatogram of destructive test

注: A. 酸破坏; B. 碱破坏; C. 氧化破坏; D. 高温破坏。

2.3.3 线性考察

取“2.2.2”项下各杂质对照品储备液，以乙腈稀释制成浓度约为1、2、2.5、5、10、20、50 $\mu\text{g/mL}$ 的系列混合对照品溶液。按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。以杂质浓度(X , $\mu\text{g/mL}$)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标绘制标准曲线，并计算回归方程，结果见表6。结果表明，各杂质在1~50 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内，浓度与峰面积呈良好线性关系， r 均大于0.999 0。

2.3.4 检出限与定量限

精密量取“2.2.2”项下各杂质对照品储备液，逐级稀释，按照“2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。以信噪比约为3时对应的样品浓度作为检出限，以信噪比约为10时对应的样品浓度作为定量限。各杂质的检出限与定量限结果见表6。

2.3.5 精密度试验

取“2.2.2”项下各杂质对照品储备液，以乙腈稀释制成浓度约为10 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液，按照“2.1”项下色谱条件连续进样6次，记录色谱图。计算得杂质K、L、D、J、N、S、A、B、E、V峰面积的RSD分别为0.2%、0.2%、0.3%、0.3%、0.3%、0.3%、0.4%、0.3%、0.3%、0.3% ($n=6$)，结果表明该仪器精密度良好。

2.3.6 稳定性试验

取浓度约为10 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液，分别于25 $^{\circ}\text{C}$ 条件下放置0、1、2、3、4、5、24 h后，按照“2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。计算得杂质K、L、D、J、N、S、A、B、E、V峰面积的RSD分别为3.5%、0.7%、1.1%、

3.6%、0.8%、4.6%、0.7%、0.7%、2.6%、1.5% ($n=7$)，结果表明对照品溶液在24 h内稳定性良好。

2.3.7 回收率试验

精密量取已知杂质含量的原料药及各杂质对照品储备液适量，分别配制含混合杂质的低、中、高3个浓度及最低线性浓度的加标溶液，每个浓度水平平行制备3份。按照“2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。采用外标法以峰面积计算得杂质K、L、D、J、N、S、A、B、E、V的平均回收率分别为105.74%、100.07%、101.28%、105.16%、101.00%、106.01%、98.91%、97.96%、105.14%、104.51%，RSD分别为6.0%、2.1%、3.2%、4.7%、0.7%、8.0%、7.8%、5.6%、2.3%、7.7% ($n=12$)。该结果满足有关物质分析方法验证接受标准^[16]中规定的回收率80%~120%、RSD $\leq 10\%$ 的限度要求，表明该方法的回收率良好。

2.4 样品检测

收集不同厂家生产的市售制剂共20批次作为检测样本，其中片剂11批、胶囊剂3批、混悬液6批。各样品均按“2.2”项下方法进行前处理，然后按照“2.1”项下色谱条件进样分析。采用外标法，以峰面积计算各样品中各杂质的含量。检测结果见表7。

检测结果显示，所有批次的总杂质含量均低于0.5%的限定标准，表明其整体纯度较高，质量可控。在重点关注的10种杂质中，除杂质N未检出外，其余9种均有检出，且不同剂型间杂质种类无明显差异。降解杂质A与S检出最为普遍且含量较高：2批次样品的杂质A接近0.15%，2批次样品的杂质S达

表6 线性、检出限及定量限考察结果

Table 6. Results of linearity, detection limit and quantification limit investigation

化合物名称	线性回归方程	r	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)	检出限 ($\mu\text{g/mL}$)	定量限 ($\mu\text{g/mL}$)
杂质K	$Y=21\ 517X-174.97$	0.999 9	1.015~50.750	0.019	0.065
杂质L	$Y=14\ 858X-1\ 208.4$	0.999 9	1.003~50.153	0.046	0.152
杂质D	$Y=18\ 566X-2\ 637.6$	0.999 9	0.980~49.003	0.035	0.117
杂质J	$Y=14\ 516X-491.3$	0.999 9	0.983~49.158	0.046	0.154
杂质N	$Y=17\ 701X-1\ 785.7$	0.999 9	0.916~45.803	0.038	0.127
杂质S	$Y=6\ 928.3X-2\ 035.1$	0.999 9	1.124~56.225	0.112	0.375
杂质A	$Y=16\ 812X-729.41$	0.999 9	0.986~49.275	0.042	0.139
杂质B	$Y=15\ 572X-1\ 795.5$	0.999 9	0.923~46.154	0.046	0.154
杂质E	$Y=24\ 465X-2\ 260.7$	0.999 9	0.958~47.881	0.033	0.110
杂质V	$Y=62\ 051X-3\ 568.9$	0.999 9	1.156~57.825	0.013	0.043

表7 样品中各杂质含量 (%，n=3)
Table 7. Content of each impurity in the sample (%，n=3)

样品来源	K	L	D	J	N	S	A	B	E	V
片剂 (厂家1)	-	0.12	-	-	-	0.63	0.45	0.30	-	0.15
片剂 (厂家2)	0.13	0.36	0.28	0.65	-	0.51	0.33	-	0.45	-
片剂 (厂家3)	-	0.20	0.19	-	-	1.28	1.46	0.53	0.25	-
片剂 (厂家4)	0.15	-	0.69	-	-	0.46	0.32	-	0.11	-
片剂 (厂家5)	0.12	0.33	-	0.66	-	0.45	0.22	-	0.78	-
片剂 (厂家6)	-	-	-	-	-	0.57	0.61	0.14	-	-
片剂 (厂家7)	-	0.12	-	-	-	0.51	0.23	-	0.11	0.46
片剂 (厂家8)	-	-	-	-	-	0.49	0.30	-	-	-
片剂 (厂家9)	0.16	0.14	-	-	-	0.58	0.37	-	0.16	0.14
片剂 (厂家10)	-	0.13	-	-	-	0.48	0.34	-	-	-
片剂 (厂家11)	-	-	-	-	-	0.52	0.33	0.26	-	-
胶囊剂 (厂家12)	-	0.21	-	-	-	1.28	1.42	0.54	0.27	-
胶囊剂 (厂家13)	0.13	0.13	0.17	-	-	0.51	0.29	-	0.18	-
胶囊剂 (厂家14)	-	0.13	0.18	0.43	-	0.96	0.79	0.47	0.18	0.16
混悬剂 (厂家15)	-	-	-	-	-	0.50	0.57	0.24	0.21	-
混悬剂 (厂家16)	-	0.10	-	0.13	-	0.45	0.19	-	-	-
混悬剂 (厂家17)	-	-	-	0.22	-	0.48	0.19	-	-	-
混悬剂 (厂家18)	-	-	-	0.13	-	0.33	0.14	-	-	-
混悬剂 (厂家19)	-	0.13	-	-	-	0.57	0.63	-	-	-
混悬剂 (厂家20)	-	-	-	-	-	-	0.47	0.24	-	-

注：“-”表示在相应保留时间处未显现色谱峰，或含量低于0.10%可忽略不计。

0.12%，此结果提示需加强对这两种降解杂质的控制。此外，部分样品的相对保留时间0.152、0.442、0.777及1.294处出现未知杂质峰，采用主成分自身对照法或一测多评法^[18-19]分析，其含量均低于0.01%，影响可忽略。

重度细胞毒性杂质E在50%的批次（10批次）中被检出。总体而言，仅30%的批次（6批次）未检出任何中、重度细胞毒性杂质（D、J、V、E），其余70%的批次均存在至少1种此类杂质，凸显了对这些关键杂质建立检测方法的必要性。

2.5 杂质毒性决策树分析

为系统评估布洛芬杂质的潜在毒理风险，本研究采用Toxtree软件 (<http://toxtree.sf.net>) 对目标杂质进行遗传毒性结构预警分析。在Toxtree首页输入布洛芬杂质E的CAS号38861-78-8，可生成多项决策树分析报告。其中，经Cramer决策树等评估为低风险（class I），但结构分析结果显示，其含有的酮基结构可能具有皮肤刺激性（irritating to skin），且存在至少1项DNA与蛋白质结合相关

的风险警报（Alert for Michael Acceptor）。

3 讨论

3.1 色谱条件的优化

本研究在国内外现有HPLC标准方法的基础上，通过系统筛选，确立了最佳色谱条件。流动相方面，选用0.05%磷酸溶液与乙腈进行梯度洗脱，该组合在保证色谱峰分离度的前提下，有效避免了甲酸体系溶剂倒峰的干扰，以及甲醇体系引起的基线波动与高柱压问题。洗脱程序方面，采用梯度洗脱成功解决了等度洗脱无法兼顾分离度与分析效率的难题，确保布洛芬及各杂质在合理时间内实现有效分离。检测波长方面，经比较214、254、263 nm后，确定214 nm为检测波长，此时主成分与各杂质均呈现最佳信号响应。耐用性考察结果显示，所建立的方法在柱温变化 ± 5 °C、流速变化 ± 0.1 mL/min的条件下均表现出良好的稳定性。

3.2 杂质分析

决策树算法于20世纪60年代首次被引入，

是数据挖掘领域极具实用性的核心分析方法之一,目前已广泛应用于各学科领域的研究工作中^[20]。杂质作为药品质量的核心评价属性,直接关联药品的用药安全性与临床有效性。

本研究采用的Toxtree软件以决策树推理模型为核心,由欧盟联合研究中心(Joint Research Centre, JRC)研发,可实现对物质多项毒理学参数的预测,具体包括毒理学关注阈值(threshold of toxicological concern, TTC)、遗传毒性致癌性结构预警、非遗传毒性致癌性结构预警及物质致突变性等指标。该软件具有操作界面简洁、分析流程高效、预测覆盖范围全面等显著优势^[21]。分析结果显示,虽然杂质E经Cramer分类规则等多套决策树评估均为低风险,但其酮基结构提示可能具有皮肤刺激性,这表明该重度细胞毒性杂质还可能潜藏其他毒理风险。这一发现进一步凸显了对布洛芬杂质,尤其是毒性杂质进行更严格、更全面监控的紧迫性。

3.3 限度参考

传统杂质限度多基于工艺与分析技术的“经验值”,然而对于布洛芬这类临床常用且包含儿童剂型的药物,宽泛的标准已难以满足精准风险控制的需求。参考EP 11.0^[9]、USP-NF 2025^[10]中布洛芬制剂有关检验标准、《中国药典》2025年版9102药品杂质分析指导原则^[8]、ICH Q3B及其他行业标准,设定本方法杂质E的限度为0.1% (外标法);杂质N、D、J、V的限度为0.15% (外标法);其他杂质限度为0.15% (外标法或自身主成分对照法);杂质总量不得过0.5%;阈值设定为0.01%,低于此值的杂质视为可忽略。

本研究建立并验证了一种能够对布洛芬主成分及其10种杂质(A、B、D、E、J、K、L、N、S、V)进行高效同步检测与精准定量的分析方法。应用该方法对实际样品与强制降解产物进行分析,明确了杂质的可能来源谱系:原料药引入的杂质主要为S、A、B、V;而K、L、D、J、N、S、E则为制剂的主要潜在降解杂质。本研究不仅针对杂质E等关键毒性杂质制定了更科学的限度标准,更从根本上解决了现有方法杂质覆盖种类有限、检测时间过长的缺陷。该研究结果为佐证国产布洛芬制剂在杂质谱安全性方面与国际标准的一致性,进而为药品参与国际化竞争提供了直接的技术支撑。

3.3 小结

本研究创新性地建立了一种基于梯度洗脱的UPLC方法,方法实现了对布洛芬主成分及其10种杂质(A、B、D、E、J、K、L、N、S、V)的高效同步检测与精准定量。经验证,该方法专属性强、准确度高。与现有标准方法相比,其核心优势体现在:检测能力增强,将杂质覆盖种类从常规的3~4种大幅提升至10种;分析效率提高,将单次分析时间从传统的1.5~2 h缩短至35 min,有效节约时间与成本;检测更为精准,采用外标法替代面积归一化法,能对特定杂质(尤其是毒性杂质)进行更精确的定量。综上所述,本方法为系统监控布洛芬的工艺相关杂质与降解产物、全面提升其质量标准与稳定性提供了可靠的分析工具。

参考文献

- 1 国家药品监督管理局. 数据查询[DB/OL]. (2025-03-15) [2025-03-17]. <https://www.nmpa.gov.cn/datasearch/search-result.html>.
- 2 汪杨, 何开勇, 沈佳特, 等. 布洛芬原料药及部分杂质的细胞毒性研究[J]. 中国药师, 2017, 20(4): 769-771. [Wang Y, He KY, Shen JT, et al. Cytotoxicity of ibuprofen raw material and its part of impurities[J]. China Pharmacist, 2017, 20(4): 769-771.] DOI: 10.3969/j.issn.1008-049X.2017.04.050.
- 3 Minella M, Bertinetti S, Hanna K, et al. Degradation of ibuprofen and phenol with a Fenton-like process triggered by zero-valent iron (ZVI-Fenton)[J]. Environ Res, 2019, 179(Pt A): 108750. DOI: 10.1016/j.envres.2019.108750.
- 4 孙佳敏, 杨美玲, 杜颖, 等. 药品质量标准中杂质的限度确定方式探讨[J]. 中国新药杂志, 2023, 32(21): 2129-2133. [Sun JM, Yang ML, Du Y, et al. Discussion on the determination of impurity limits in drug specification[J]. Chinese Journal of New Drugs 2023, 32(21): 2129-2133.] DOI: 10.3969/j.issn.1003-3734.2023.21.002.
- 5 张上上, 王艳博, 王英, 等. 布洛芬混悬液有关物质检验方法研究[J]. 食品与药品, 2024, 26(5): 430-433. [Zhang SS, Wang YB, Wang Y, et al. Detection of related substances in ibuprofen oral suspension[J]. Food and Drug, 2024, 26(5): 430-433.] DOI: 10.3969/j.issn.1672-979X.2024.05.010.
- 6 王正雯, 赵海桥, 霍雪琴, 等. 关于布洛芬片有关物质方法学的研究[J]. 山东化工, 2024, 53(20): 166-170, 174. [Wang ZW, Zhao HQ, Huo XQ, et al. Studies on material methodology: Ibuprofen tablets[J]. Shandong Chemical Industry, 2024, 53(20): 166-170, 174.] DOI: 10.3969/j.issn.1008-021X.2024.20.044.
- 7 张郅, 陈嘉科, 徐洋, 等. 高效液相色谱测定布洛芬药物制剂含量方法的优化[J]. 化学分析计量, 2024, 33(3): 23-28. [Zhang Z, Chen JK, Xu Y, et al. Optimization of the determination methods of ibuprofen pharmaceutical[J]. Chemical Analysis And Meterage, 2024, 33(3): 23-28.] DOI: 10.3969/j.issn.1008-6145.2024.03.005.
- 8 中国药典2025年版. 二部[S]. 2025: 223-226.
- 9 EP 11.0 [S]. 2017: 0721.

- 10 USP-NF 2025[S]. 2025. https://doi.org/10.31003/USPNF_M39890_01_01.
- 11 国家药品监督管理局. 布洛芬缓释胶囊国家药品标准[S]. YBH02492020, 2020.
- 12 国家药品监督管理局. 布洛芬颗粒国家药品标准[S]. YBH15372022, 2022.
- 13 国家药品监督管理局. 布洛芬片国家药品标准[S]. YBH06982020, 2020.
- 14 国家药品监督管理局. 布洛芬混悬液国家药品标准[S]. YBH14742024, 2024.
- 15 原国家食品药品监督管理局. 布洛芬分散片国家药品标准[S]. YBH07332010, 2010.
- 16 原国家食品药品监督管理局. 布洛芬咀嚼片国家药品标准[S]. YBH00692014, 2014.
- 17 李正邦. 浅谈有关物质分析方法验证的接受标准[J]. 中国药品标准, 2016, 17(4): 246. [Li ZB. Discussion on acceptance criteria of analytical method validation of related substances[J]. Drug Standards of China, 2016, 17(4): 246.] DOI: [10.19778/j.chp.2016.04.002](https://doi.org/10.19778/j.chp.2016.04.002).
- 18 缪雪艳, 杨园, 陆思思, 等. 氟马西尼有关物质的研究与测定[J]. 药学报, 2024, 59(6): 1765–1772. [Miao XY, Yang Y, Lu SS, et al. Research and determination of related substances in flumazenil[J]. Acta Pharmaceutica Sinica 2024, 59(6): 1765–1772.] DOI: [10.16438/j.0513-4870.2023-1265](https://doi.org/10.16438/j.0513-4870.2023-1265).
- 19 方宝霞, 李湘, 滚代芬, 等. 一测多评法应用于化学药及中药的化学药成分质量控制研究进展[J]. 药物评价研究, 2023, 46(6): 1382–1388. [Fang BX, Li X, Gun DF, et al. Research progress of quantitative analysis of multi-components with single marker in quality control of chemical drug compositions[J]. Drug Evaluation Research, 2023, 46(6): 1382–1388.] <https://d.wanfangdata.com.cn/periodical/zwkjzml-zcy202306027>.
- 20 Hastie T, Tibshirani R, Friedman JH, et al. The elements of statistical learning: data mining, inference and prediction[J]. Math Intell, 2009, 27(2): 83–85. DOI: [10.1007/BF02985802](https://doi.org/10.1007/BF02985802).
- 21 贺泳迪, 宋金瓯, 武斌, 等. 应用毒性评价软件工具和Toxtree软件预测硝基烃及其衍生物的毒性[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2022, 36(7): 509–520. [He YD, Song JO, Wu B, et al. Prediction of toxicity of nitro-organic compounds by Toxicity Estimation Software Tool and Toxtree software[J]. Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology, 2022, 36(7): 509–520.] DOI: [10.3867/j.issn.1000-3002.2022.07.005](https://doi.org/10.3867/j.issn.1000-3002.2022.07.005).

收稿日期: 2025 年 12 月 02 日 修回日期: 2026 年 02 月 04 日
本文编辑: 钟巧妮 洗静怡