

利用高效液相層析法分析Ketoprofen 製劑及其分析法之驗證

許淑纓 邵清益 張柏林

行政院衛生署藥物食品檢驗局

摘 要

本報告敘述一種快速、靈敏，可供作安定性指標之Ketoprofen及其製劑中主成分、不純物及其變質產物之高效液相層析法。其分析系統之適宜性、專一性、線性、精密測定性、臨界濃度、線性範圍經適宜之統計解析均加以確認。利用Zorbax ODS C₁₈ 4.6×150 mm Column為固定相，0.05M KH₂PO₄/CH₃CN (55:45,v/v)為移動相，流速為1.2 ml/min，檢測為UV 265 nm，並以Flurbiprofen為內部標準品，可分離Ketoprofen及其主要之酸、鹼水解物及光分解物，定量之直線濃度範圍為1.25 mcg/ml~20 mcg/ml, 5 mcg/ml濃度(常用定量濃度)之同日内變動RSD及異日間變動RSD均小於10⁻²%，本分析方法確為可應用於Ketoprofen原料藥之定性、定量、純度實驗及含該成分製劑之安定性定量分析。

前 言

Ketoprofen屬非類固醇消炎藥(Non-Steroid Anti-Inflammatory Drugs)，其藥效與Indomethacin、Aspirin、Phenylbutazone相當，不良作用則較低^(1,2)。至目前為止，法定藥典中僅BP 1988載有Ketoprofen原料藥之檢驗法，除定量法採滴定法外，純度試驗係採薄層層析法⁽³⁾，一般廠商在查驗登記該藥品時所附之檢驗資料也多採滴定法及UV/VIS法。眾所周知，滴定法及UV/VIS法皆非反映安定性的專一性定量分析法，HPLC法之優點甚多，有關之分析法也有數篇^(4,5,6)，惟多以主成分為研究對象，有關分解物之分析則較不重視，為配合本局業務之所需，有必要發展一快速、靈敏之Ketoprofen HPLC法以供原料藥之定性、定量、純度試驗及市售品之定性、定量及其安定性試驗之檢驗。本研究著重於上述目的之研究開發，並對該分析法進行適妥之驗證。

材料與方法

一、材料及試藥

(一) 檢體來源：市售Ketoprofen膠囊(50 mg/Cap.)二種、市售Ketoprofen注射劑(50 mg/ml)二種。

(二) 對照標準品：Ketoprofen採USP級對照標準品，Flurbiprofen採working Standard。

(三) 試藥：磷酸二氫鉀、氫氧化鈉均採和光試藥特級、冰醋酸、鹽酸均採E. Merck試藥特級，甲醇(MeOH)、乙腈(CH₃CN)均採E. Merck LC級。

二、儀器裝置

(一) 高效液相層析儀

1. 溶媒輸送系統：Shimadzu Model CR-6A dual pumps。

2. 溶媒控制系統：SCL-6A System Controller。

3.自動注射裝置：SIL-A Auto Injector。

4. UV檢測器：SPD-6A UV Spectrometric Detector。

5.積分儀：CR-4A Computing Integrator。

三、實驗方法

(一)系統之適宜性(System Suitability Test)

1.對照標準品溶液之配製

(1)對照標準品儲備溶液之配製

精確稱取Ketoprofen對照標準品適當量，溶於甲醇中，使其濃度為1.25 mg/ml。

(2)內部標準品溶液之配製

精確稱取Flurbiprofen內部標準品適當量，溶於甲醇中，使其濃度為2 mg/ml。精確量取對照標準品儲備溶液4 ml，加內部標準品溶液4ml，以甲醇稀釋至100 ml，精確量取此液1 ml，以移動相稀釋至10 ml，供作對照標準品溶液。

2. HPLC分析條件

(1)儀器：Shimadzu model CR-6A dual-pumps system。

(2)層析管柱：Zorbax ODS 4.6×150 mm。

(3)偵測器：UV 265 nm。

(4)靈敏度：0.02 aufs。

(5)流速：1.2 ml/min。

(6)繪圖速度：10 mm/min。

(7)注射量：20 μ l。

(8)移動相

移動相A係取0.05M磷酸二氫鉀，以冰醋酸調節pH至2.5，使用0.45 μ M濾膜過濾及去除氣泡後所得。移動相B為乙腈依上述同法處理之。取移動相A及移動相B依(55：45, v/v)之比例混合。

(9)內部標準品：Flurbiprofen。

3.操作步驟

依上述分析條件在室溫下操作，並就所得層析圖譜計算Capacity factor (k), Selectivity (α), Tailing factor (T), Measured plate number (N), Asymmetric factor (As), Resolution (Rs), Relative standard deviation (RSD)等系統參數(7)。

(二)專一性(Specificity)

1.分解物之製備

(1)經酸虐待之Ketoprofen溶液

A.精確稱取Ketoprofen對照標準品適

當量，溶於CH₃CN/0.1N HCl (1：9)溶液中，使其濃度為1mg/ml，於60°C加熱48小時。

B.精確稱取Ketoprofen對照標準品適當量，溶於MeOH/0.1N HCl (1：9)溶液中，使其濃度為1mg/ml，於60°C加熱48小時。

(2)經鹼虐待之Ketoprofen溶液

A.精確稱取Ketoprofen對照標準品適當量，溶於CH₃CN/0.1N NaOH (1：9)溶液中，使其濃度為1mg/ml，於60°C加熱48小時。

B.精確稱取Ketoprofen對照標準品適當量，溶於MeOH/0.1N NaOH (1：9)溶液中，使其濃度為1mg/ml，於60°C加熱48小時。

(3)經光虐待之Ketoprofen溶液

A.精確稱取Ketoprofen對照標準品適當量，溶於CH₃CN/H₂O (1：9)溶液中，使其濃度為1 mg/ml，於陽光下照射累積16小時。

B.精確稱取Ketoprofen對照標準品適當量，溶於MeOH/H₂O (1：9)溶液中，使其濃度為1 mg/ml，於陽光下照射累積16小時。

2.對照標準品溶液之配製

精確稱取Ketoprofen對照標準品適當量，溶於乙腈中，使其濃度為10 mg/ml。精確量取此液1 ml，以組成與HPLC移動相相同之溶媒稀釋至100 ml，使其濃度0.1 mg/ml。

3. HPLC分析條件

除(3)偵測器：UV265 nm及UV 280 nm；(6)繪圖速度：3 mm/min；(7)注射量：5 μ l、10 μ l及20 μ l外，均與三(一)2所述相同。

4.操作步驟

(1)精確量取經酸虐待、鹼虐待、光虐待之Ketoprofen溶液各1 ml，分別經0.09N NaOH、0.09N HCl中和後，以移動相稀釋至10 ml，使Ketoprofen之理論濃度為0.1 mg/ml。

(2)依上述分析條件分別注射5 μ l、10 μ l、20 μ l，並於UV 265 nm及UV 280 nm下分別偵測主成分及分解物波峰之反應值。

(三)線性(Linearity)

1.內部標準品溶液之配製

精確稱取Flurbiprofen內部標準品適當量，溶於甲醇中，使其濃度為0.2 mg/ml。精確量取此液1 ml，以甲醇稀釋至50 ml，使其濃度為40 mcg/ml。

2.標準品溶液之配製

(1) Solution A：精確稱取Ketoprofen對照標準品適當量，溶於乙腈中，使其濃度為300 mcg/ml。

(2) Solution B：精確量取Solution A 10 ml，加乙腈至20 ml，使其濃度為150 mcg/ml。

(3) Solution C：精確量取Solution A 5 ml，加乙腈至15 ml，使其濃度為100 mcg/ml。

(4) Solution D：精確量取Solution B 5 ml，加乙腈至10 ml，使其濃度為75 mcg/ml。

(5) Solution E：精確量取Solution C 5 ml，加乙腈至10 ml，使其濃度為50 mcg/ml。

(6) Solution F：精確量取Solution E 5 ml，加乙腈至10 ml，使其濃度為25 mcg/ml。

(7) Solution G：精確量取Solution F 5 ml，加乙腈至10 ml，使其濃度為12.5 mcg/ml。

(8) Solution H：精確量取Solution G 5 ml，加乙腈至10 ml，使其濃度為6.25 mcg/ml。

(9)各精確量取Solution C、D、E、F、G、H 2 ml分置10 ml容量瓶中，加內部標準品溶液2 ml，續加組成與HPLC移動相相同之溶媒至刻度，混合均勻，使其濃度分別為20 mcg/ml、15 mcg/ml、10 mcg/ml、5 mcg/ml、2.5 mcg/ml、1.25 mcg/ml。

3. HPLC分析條件

除(6)繪圖速度：1 mm/min外，均與三(一)2所述相同。

4. 操作步驟

(1)依上述分析條件分別注射不同濃度之標準品溶液20 μ l各3次，於UV 265 nm下偵測各波峰之反應值。

(四)精密度(Precision)

1. HPLC分析條件

與(三)3所述相同。

2. 操作步驟

依上述分析條件，取濃度為5 mcg/ml之標準品溶液分三天重覆注射5次，於UV 265 nm下偵測各波峰之反應值。

(五)準確度(Accuracy)

1. 內部標準品溶液之配製

精確稱取Flurbiprofen內部標準品適當量，溶於甲醇中，使其濃度為2 mg/ml。

2. 模擬檢體溶液之配製

(1) 膠囊賦形劑之配製

各精確稱取Lactose 55g, Starch 1.7g及Magnesium Stearate 0.3g，置研鉢中混合均勻即得。

(2) 標準品貯備溶液之配製

精確稱取Ketoprofen對照標準品適當量，溶於乙腈中，使其濃度為1.25 mg/ml。

(3)各精確稱取膠囊賦形劑15 mg共5份，分置於100 ml容量瓶中，分別加入2 ml、3 ml、4 ml、5 ml、6 ml標準品貯備溶液及4 ml內部標準品溶液，以乙腈稀釋至100 ml，置超音波浴中振盪十五分鐘，經0.45 μ m濾膜過濾，各精確量取濾液1 ml，加移動相至10 ml，使其所含Ketoprofen濃度分別為2.5 mcg/ml、3.75 mcg/ml、5.0 mcg/ml、6.25 mcg/ml及7.5 mcg/ml，所含Flurbiprofen濃度為8 mcg/ml。

3. HPLC分析條件

與(三)3所述相同。

4. 操作步驟

依上述分析條件分別注射不同濃度之模擬檢體溶液20 μ l各3次，於UV 265 nm下偵測各波峰之反應值。

(六)靈敏度(Sensitivity)

1. 空白賦形劑(Blank Placebo)溶液之配製

精確稱取(五)2(1)配製所得不含Ketoprofen之膠囊賦形劑15 mg，移入100 ml容量瓶中，加甲醇適當量，於超音波浴中振盪十五分鐘，冷卻至室溫，加甲醇至刻度，經0.45 μ m濾膜過濾，精確量取濾液1 ml，加移動相至10 ml。

2. HPLC分析條件

除(4)靈敏度：除Attenuation；(6)繪圖速度視情況適度調整外，與(三)3所述相同。

3. 操作步驟

依上述分析條件注射空白賦形劑溶液20 μ l，依測得之圖譜來推算LOD(臨界定性濃度)及LOQ(臨界定量濃度)。

(七)市售檢品之檢驗

1. 檢品溶液之配製

(1)膠囊劑：任取檢體20粒，測得平均內容量後，精確稱取相當於Ketoprofen 50 mg之膠囊內容物於100 ml容量瓶中，加甲醇適當量，置超音波浴中振盪十五分鐘，冷卻至室溫，加甲醇至100 ml，經濾紙過濾棄去初濾液，精確量取續濾液1 ml，加內部標準品溶液4 ml (0.2 mg/ml)，以移動相稀釋至100 ml(使Ketoprofen濃度為5 mcg/ml、Flurbiprofen濃度為8 mcg/ml)。

(2)注射劑型：精確量取相當於Ketoprofen 50 mg之檢體1 ml於100 ml容量瓶中，加甲醇至刻度，混合均勻，精確量取此液1 ml，加內部

標準品溶液4 ml (0.2 mg/ml)，以移動相稀釋至100 ml(使 Ketoprofen濃度為5 mcg/ml、Flurbiprofen濃度為8 mcg/ml)。

3. HPLC分析條件

除(6)繪圖速度：1 mm/min外，均與三(一)2所述相同。

4.操作步驟

依上述分析條件分別注射檢品溶液及標準品溶液各10μl各3次，由層析峰之滯留時間鑑別其成分，依層析峰之滯溜面積計算其含量。

結果與討論

一、系統適宜性(System Suitability Test)

Ketoprofen經酸、鹼、光虐待所得典型之層析圖譜如Figure 1所示。系統性適宜性參數包括容積因子(Capacity Factor, K)、選擇度(Selectivity, α)、拖尾因子(Tailing Factor, T)、不對稱因子(Asymmetry, As)、測定之理論板數(Measured Plate Number, N)、解析力(Resolution, Rs)和系統精密性(System Precision, RSD)⁽⁸⁾。系統精密性係以標準品溶液，重覆注射五次依每一層析峰反應值計算其相對標準偏差(RSD)。依上述(三)實驗方法操作，並依USP XXII公式計算，結果如Table 1所示，顯示在適當的HPLC系統條件下各系統參數均在理想的

範圍內。用於System Suitability Test計算之HPLC圖譜則如Figure 2所示。

二、專一性(Specificity)

分別將Ketoprofen溶於MeOH/S = 1：9 (S：0.1N HCl、0.1N NaOH或水)，使其濃度為1mg/ml，酸虐待及鹼虐待均置60℃加熱48小時，光虐待置陽光下照射累積16小時，(見Table 2)，所得分解物之滯留時間如Table 3所示。而Ketoprofen主層析峰在不同濃度不同波長下所得層析峰面積、層析峰高度反應值如Table 4所示，經統計分析結果顯示無明顯差異。故，可推定Ketoprofen主層析峰中並無其他成分之混存。

分別將Ketoprofen溶於CH₃CN/S = 1：9 (S：0.1N HCl、0.1N NaOH或水)，使其濃度為1 mg/ml，酸虐待、鹼虐待置60℃加熱48小時，光虐待置陽光下照射累積16小時(見Table 2)，所得分解物之滯留時間如Table 3所示。而Ketoprofen主層析峰在不同濃度不同波長下所得層析峰面積、層析峰高度反應值如Table 4所示，經統計分析結果顯示無明顯差異。

經驗證，此系統有分離其分解產物不純物之能力。同時，經由虐待試驗可知Ketoprofen在鹼性溶液中很安定，在酸性溶液中也只有少量的分解，但Ketoprofen對光極不安定(見Table 3)。

三、線性(Linearity)

Table 1. The parameters of system suitability

參數	主成份	內部標準品	理想值
k	3.56	8.52	2-8
α		2.39	1.05-3
T	0.95	1.04	0.9-2
*N	34119	53111	>20000
As	0.97	0.94	0.9-2
Rs		11.1	>1.5
RSD	**PAR (n=5) 0.3%	**PHR (n=5) 0.4%	<2.0%

*N：以15cm column

**PAR: peak area ratio; PHR: peak height ratio

$$(1) \alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{8.52}{3.56} = 2.39$$

$$(2) R_s = \frac{2(t_2 - t_1)}{(w_2 + w_1)} = 11.1$$

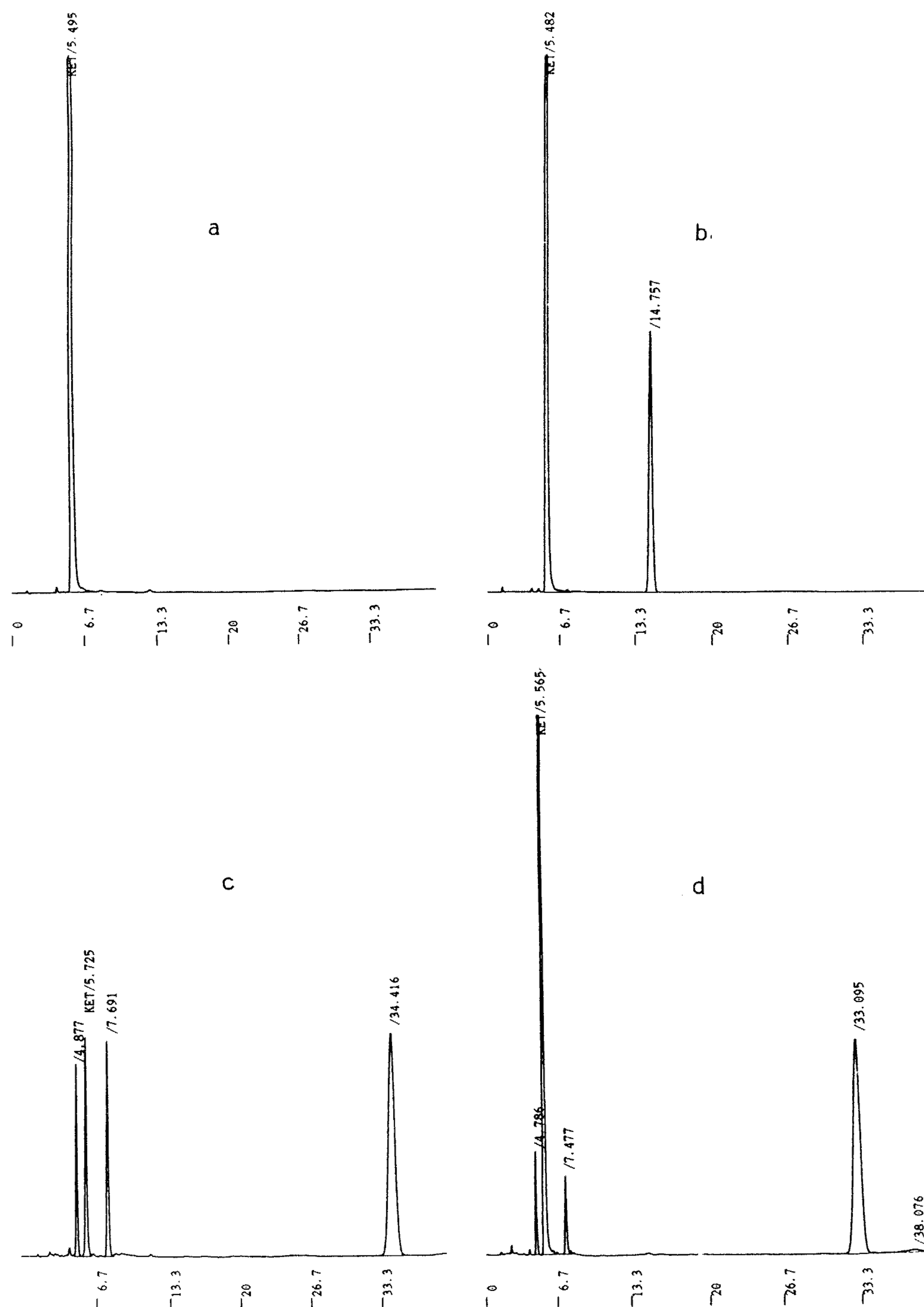


Figure 1. Different chromatograms of Ketoprofen in the acid, base and photodegraded samples.
a: Ketoprofen standard solution in MeOH/H₂O (1 : 9, v/v).
b: Ketoprofen solution (1mg/ml in MeOH/0.1N HCl), incubated at 60°C for 48 hours.
c: Ketoprofen solution (1mg/ml in CH₃CN/H₂O), exposed on sunlight for 16 hours.
d: Ketoprofen solution (1mg/ml in MeOH/H₂O), exposed on sunlight for 16 hours.

Table 2. Preparation of Ketoprofen degradation products

虐待條件	溫度及時間	溶劑	配製濃度	注射濃度
酸虐待	60℃，48小時	MeOH/0.1N HCl	100 mcg/ml	10 μl
鹼虐待	60℃，48小時	MeOH/0.1N NaOH	100 mcg/ml	10 μl
照光虐待	陽光下，累積16小時	MeOH/H ₂ O	100 mcg/ml	10 μl

*陽光下：臺灣臺南9月份，室外放置，照射太陽時間累積16小時。

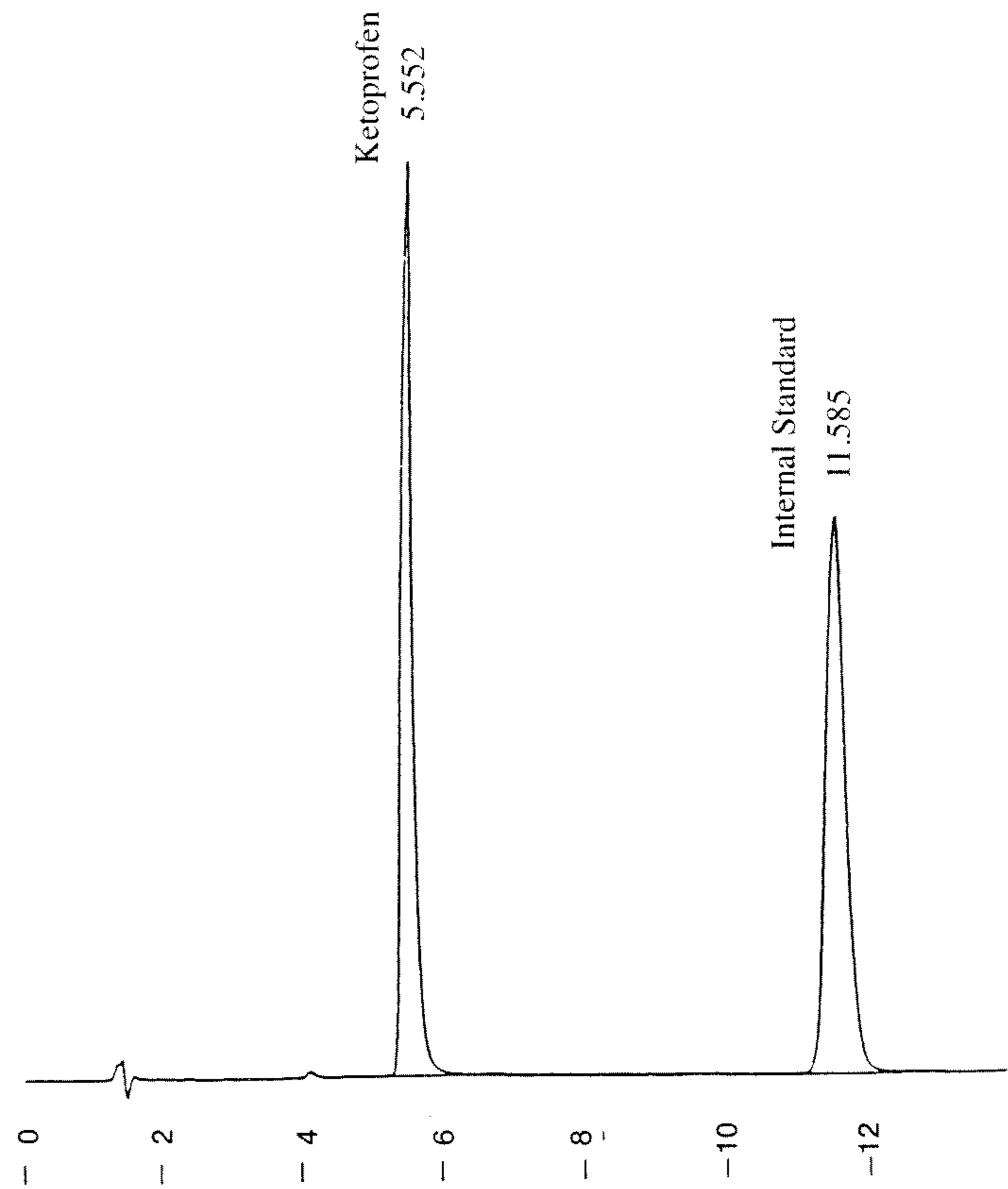


Figure 2. Chromatographic separation of Ketoprofen and internal standard.

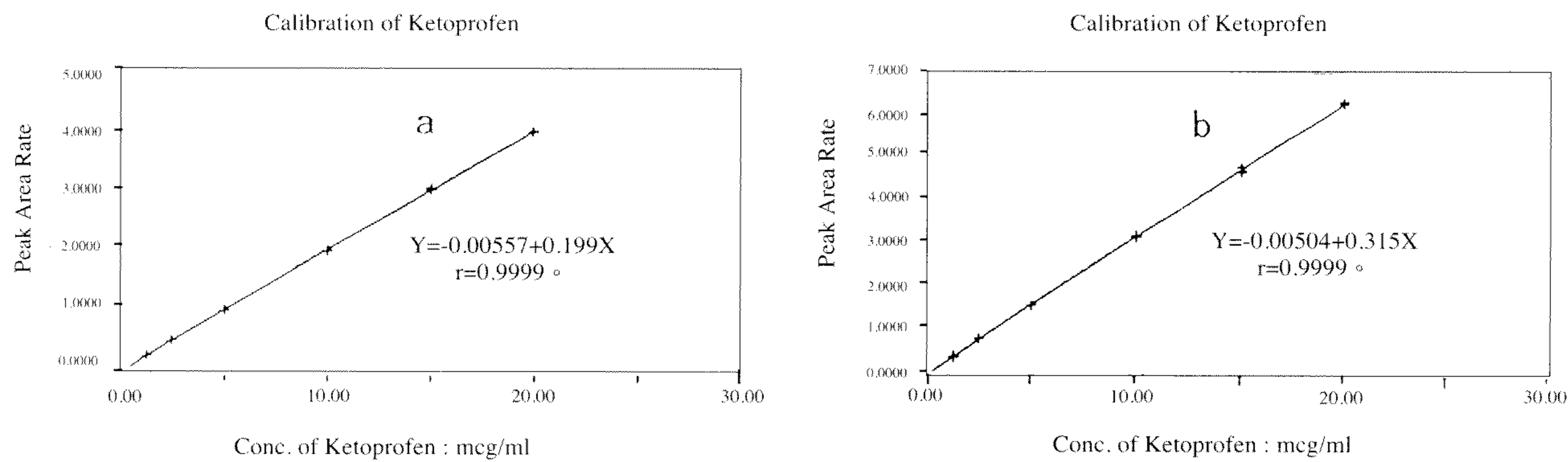


Figure 3. Calibration curve of Ketoprofen

a. Peak Area is adopted for use in Standard curve

b. Peak Height is adopted for use in Standard curve

$$Y = -0.00557 + 0.199X \quad r = 0.9999$$

$$Y = -0.00504 + 0.315X \quad r = 0.9999$$

Table 3. The retention time of Ketoprofen degradation products

虐待條件 滯留時間 層析峰	酸虐待 60℃，48小時 (1mg/ml)		鹼虐待 60℃，48小時 (1mg/ml)		光虐待 陽光下，累積16小時 (1mg/ml)	
	MeOH/0.1N HCl (1：9)	CH ₃ CN/0.1N HCl (1：9)	MeOH/0.1N NaOH (1：9)	CH ₃ CN/0.1N NaOH (1：9)	MeOH/H ₂ O (1：9)	CH ₃ CN/H ₂ O (1：9)
主成分	5.482	5.479	5.487	5.478	5.565	5.725
內部標準品	11.537		11.537		11.537	
主成分分解%	52.2%	5.3%	0.0%	0.0%	80.8%	95.1%
分解物(1)	14.757	1.317		4.075	4.786	4.877
分解物(2)		7.333		4.725	7.477	7.691
	12.633		12.675	33.095 38.076	34.416	

*滯留時間：min.
*陽光下：臺灣臺南9月份，室外放置，照射太陽時間累積16小時。

Table 4. The peak response of Ketoprflen degradation products

	注射量	層析峰面積 吸收比值	層析峰高度 吸收比值	層析峰面積 吸收比值	層析峰高度 吸收比值
		(in MeOH/S = 1:9)	(in MeOH/S = 1:9)	(in CH ₃ CN/S = 1:9)	(in CH ₃ CN/S = 1:9)
		265nm 280nm	265nm 280nm	265nm 280nm	265nm 280nm
虐待前	5μl	2.3084	2.2534	2.2748	2.2682
	10μl	2.2687	2.2567	2.2701	2.2650
	20μl	2.2651	2.2625	2.2640	2.2614
酸虐待	5μl	2.2757	2.2690	2.2751	2.2642
	10μl	2.2813	2.2582	2.2698	2.2653
	20μl	2.2661	2.2659	2.2640	2.2608
鹼虐待	5μl	2.2676	2.2682	2.2676	2.2682
	10μl	2.2635	2.2652	2.2635	2.2652
	20μl	2.2650	2.2573	2.2650	2.2573
光虐待	5μl	2.2744	2.2759	2.2951	2.2792
	10μl	2.2719	2.2709	2.2540	2.2881
	20μl	2.2651	2.2728	2.2769	2.2664

*S：酸虐待 = 0.1N HCl 鹼虐待 = 0.1 N NaOH 光虐待 = H₂O

Table 5. Reproducibility of the determination of Ketoprofen

重覆注射次數	波峰面積			波峰高度		
	第一天	第二天	第三天	第一天	第二天	第三天
1	0.9779	0.9787	0.9759	1.5565	1.5533	1.5452
2	0.9785	0.9764	0.9764	1.5568	1.5469	1.5549
3	0.9761	0.9793	0.9791	1.5552	1.5534	1.5404
4	0.9824	0.9779	0.9795	1.5517	1.5383	1.5494
5	0.9815	0.9790	0.9794	1.5665	1.5439	1.5522

本HPLC法定量之直線濃度範圍為1.25 mcg/ml~20 mcg/ml，檢液內各含8 mcg/ml Flurbiprofen內部標準品。經依三、實驗方法(三)線性(Linearity)所述操作所得不同濃度之層析峰面積、層析峰高度反應值，以層析峰面積為反應值，對濃度作線性分析所得線性方程式為 $Y = -0.00557 + 0.199X$, $r = 0.9999$ 其截距經t檢定，與零無顯著差異，故迴歸方程式為 $Y = 0.199X$ ；以層析峰高度為反應值，對濃度作線性分析所得線性方程式為 $Y = -0.00504 +$

$0.315X$, $r = 0.9999$ (見Figure 3)其截距經t檢定，與零無顯著差異；故迴歸方程式為 $Y = 0.315X$ ，結果皆確認以層析峰面積或層析峰高度為反應值對濃度具線性關係且無系統性偏誤(7)%。

四、精密性(Precision)

本實驗以濃度5 mcg/ml之標準品溶液分三天重覆注射五次，所得的層析峰面積反應值(見Table 5)以統計(ONE WAY-ANOVA)分析其日內變動性(Intraday Variability)和日間變動性

Table 6. Recovery of Ketoprofen in synthetic sample (capsule)

Theoretical Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Peak ratio (Sa/Is)	Estimated Conc. (μg)	Added (%)	Found (%)
2.50	0.4954	2.5043	100.0	100.2
	0.4914	2.4841	100.0	99.4
	0.4975	2.5149	100.0	100.6
3.75	0.7510	3.7964	100.0	101.2
	0.7403	3.7423	100.0	99.8
	0.7313	3.6968	100.0	98.6
5.00	0.9848	4.9783	100.0	99.6
	0.9924	5.0167	100.0	100.3
	0.9856	4.9823	100.0	99.6
6.25	1.2344	6.2400	100.0	99.8
	1.2464	6.3007	100.0	100.8
	1.2290	6.2127	100.0	99.4
7.50	1.4881	7.5225	100.0	100.3
	1.4805	7.4841	100.0	99.8
	1.4715	7.4386	100.0	99.2

(Interday Variability)，結果顯示Intraday及Interday CV, %均小於10⁻²%。

五、正確性(Accuracy)

含量測定的正確性取決於測定平均值與真值的接近度，本實驗於同種同量之膠囊賦形劑中加入一定量之Ketoprofen，製成含量範圍為理論含量之50%~150%的模擬檢體溶液，依三、實驗方法(五)操作，以所得層析峰面積反應值計算其回收率(見Table 6)，經統計分析結果，Mean Recovery ± SD = 99.91 ± 0.68%，Estimated Mean的95%之信賴區間為(99.5~100.3%)，表示Recovery與100%之間無顯著差異(P>0.05)，因此Recovery可視為100%，證明此分析方法具相當的正確性。

六、靈敏度(Sensitivity)

本實驗經以空白賦形劑(Blank Placebo)為樣品測得之圖譜，依下列公式推算此分析方法之臨界定性濃度(LOD)為0.023 mcg/ml；臨界定

量濃度(LOQ)為0.076 mcg/ml。

* S = Np/2, LOD = 3S/b, LOQ = 10S/b
Np：在圖譜分析時間內Baseline Noise中的最大正層析峰或最大負層析峰的波峰高度。b：以主成分濃度為X軸，層析峰高度為Y軸之標準檢量線之斜率。

七、市售檢品之檢驗

應用本分析法於三種市售膠囊及三種注射劑之檢驗時，可得如Table 7之回收率，又根據藥典有關Ketoprofen分析方法之收載情形(見Table 8)，對可能有分解物混存之市售品，採用UV或滴定測定法並不合適，故本報告並未進行測定比較。

經上述各項試驗之驗證，證實本方法為一快速、靈敏、準確、可靠可應用於Ketoprofen原料藥之定性、定量、純度試驗及含該成分製劑之安定性定量分析。

Table 7. Result of Ketoprofen assay from various commercial composites

Sample	Labeled Amount	Peak resp. (Sa/Is)	Found (%)	Mean ± SD (%)
Cap. A 1	50 mg/Cap.	1.0155	103.1	102.3 ± 1.14
2	50 mg/Cap.	0.9949	101.0	
3	50 mg/Cap.	1.0122	102.8	
Cap. B 1	50 mg/Cap.	0.9744	98.9	99.5 ± 1.59
2	50 mg/Cap.	0.9676	98.3	
3	50 mg/Cap.	0.9979	101.3	
Cap. C 1	50 mg/Cap.	0.9979	101.3	101.6 ± 1.77
2	50 mg/Cap.	0.9847	100.0	
3	50 mg/Cap.	1.0187	103.5	
Inj. A 1	50 mg/ml	0.9564	97.1	99.8 ± 2.31
2	50 mg/ml	0.9959	101.1	
3	50 mg/ml	0.9957	101.1	
Inj. B 1	50 mg/ml	0.9868	100.2	100.7 ± 0.95
2	50 mg/ml	0.9855	100.1	
3	50 mg/ml	1.0022	101.8	
Inj. C 1	50 mg/ml	0.9877	100.3	100.2 ± 1.21
2	50 mg/ml	0.9971	101.3	
3	50 mg/ml	0.9737	98.9	

Table 8. Analysis methods of Ketoprofen in Pharmacopeia

藥典	原料 (定量方法)	成品 (定量方法)
USP XXII 1990	×	×
BP 1990	滴定法 (p. 372)	UV方法， $\lambda = 258\text{nm}$ (p.977 Capsule)
日本藥局方外醫藥品成分規格1989	滴定法 (p. 477)	×
第十二版日本藥局方解說	滴定法 (p. C 980)	×

X：代表未收載此方法

誌 謝

本研究承蒙本局科技顧問許興智教授悉心指導，衷心感激；部份實驗在瑞士製藥廠進行，獲得羅昌霞小姐、王寵富先生鼎力協助，謹誌謝忱。

參考文獻

1. Battista, H. J., Wehinger, G. and Henn, R. 1985. Separation and Identification of Non-steroidal Antirheumatic Drugs Containing a Free Carboxyl Function Using High-Performance Liquid Chromatography., J. Chromatogr., 345: 77-89.

2. 財團法人日本醫藥情報中心.1991.醫療藥日本醫藥品集.pp. 397-400.藥業時報社，東京.

3. The Recommendation of the Medicines Commission. 1988. British Pharmacopoeia Volume I. pp. 325.

4. Lampert, B. M. and Stewart, J. T. 1990. Determination of Non-steroidal Anti-inflammatory Analgesics in Solid Dosage Forms by High-performance Liquid Chromatography on

Underivatized Silica with Aqueous Mobile Phase. J. Chromatogr., 504: 381-389.

5. Wong, C. Y., Yeh, M. K. and Wang, D. P. 1992. High-performance Liquid Chromatographic Determination of Ketoprofen in Pharmanceutical Dosage Forms and Plasma. J. Liq. Chromatogr., 15 (8): 1215-1225.

6. Kamata, K., Hagiwara, T., Takahashi, M., Uehara, S., Nakayama, K., and Akiyama., K., 1985. Determination of Ibuprofen in Solid Dosage Forms by High-performance Liquid Chromatography. Ann. Rep. Tokyo Metr. Res. Lab. P. H., 36: 77-81.

7. United States Pharmacopeial Convention, Inc. 1990. The United States Pharmacopeia XXII, The National Formulary XVIII. PP. 80-88. United States Pharmacopeial Convention, Inc. Rockville, Md., U. S. A.

8. 許興智.1992. Analytical Methods Validation, Computer Software.檢驗技術系列講習之二 - 高速液相層析(HPLC)研討會講義，臺灣區製藥工業同業公會.

A Stability-indicating Assay HPLC Method of Ketoprofen

SHU-YING HSU, CHING-YIH SHAW AND
BER-LIN CHANG

National Laboratories of Foods and Drugs, Department of Health, Executive Yuan

ABSTRACT

The present official method for the assay and analysis of the ketoprofen related substances as described in the British Pharmacopeia is redox titration and thin layer chromatography. The assay method of ketoprofen preparation in the United States Pharmacopeia is an UV/VIS method. The National Laboratories of Foods and Drugs, ROC, require a rapid, sensitive and precise method for the analysis of large numbers of samples including those for ketoprofen. Since the existing official methods for ketoprofen are not all specific for ketoprofen, a specific HPLC method is then desirable. This report presents such an approach. The HPLC system consisted of a Zorbax ODS C₁₈ (4.6

× 150mm) and a mobile phase of aqueous KH₂PO₄ with glacial acetic acid in CH₃CN (55/45, v/v) at pH 2.5. A flow rate of 1.2 ml/min, UV detection at 265nm and attenuation of 0.02 auvs were performed. The system suitability was established, and the statistical validation of the performance was carried out for linearity, accuracy and precision. Different chromatograms were observed for the acid, base and photo-degraded samples. The results suggest that different degradation reaction followed different mechanism. The major different degradation products resulting from acid, base and photo-degradation of ketoprofen were separated by this HPLC method.

Key words: Ketoprofen, HPLC, validation.

