# 加校正因子的主成分自身对照法测定布洛芬中杂质 4-异丁基苯甲酸的含量

曾婧娉[1]，阎卉[2]，王成港[2]，王春龙[2]，王平保[2*](1.天津医科大学，天津 300070；2.天津药物研究院，天津 300193)

**摘要：目的** 建立一种加校正因子的自身对照法测定布洛芬中已知杂质(4-异丁基苯甲酸)的方法。**方法** 测定布洛芬和4-异丁基苯甲酸的线性方程，以斜率计算杂质 4-异丁基苯甲酸相对于主成分布洛芬的校正因子；通过方法学考察，表明所采用的高效液相色谱法测定布洛芬中 4-异丁基苯甲酸的含量可行；再采用外标法和加校正因子的主成分自身对照法分别测定三批布洛芬中 4-异丁基苯甲酸的含量，并用统计学软件 SPSS 13.0 分析两组数据的差异。**结果** 测得 4-异丁基苯甲酸的校正因子为 0.129，经方法学考察表明此方法准确可靠，且应用统计学软件分析本方法与外标法测得数据，结果表明两方法所测得数据无统计学差异。**结论** 用加校正因子的主成分自身对照法测定布洛芬中 4-异丁基苯甲酸的含量，方法准确可行。

**关键词：**布洛芬；4-异丁基苯甲酸；校正因子

**中图分类号：**R927.12 **文献标志码：**B **文章编号：**1007-7693(2012)03-0254-04

## Dertermine the Content of Impurity 4-isobutylbenzoic Acid in Ibuprofen with the Correction Factor

ZENG Jingping[1], YAN Hui[2], WANG Chenggang[2], WANG Chunlong[2], WANG Pingbao[2*] (*1.Tianjin Medical University, Tianjin 300070; 2.Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193*)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** The self contrast and correction factor method was established to measure the content of 4-isobutylbenzoic acid in ibuprofen. **METHODS** Prepare series of solutions containing 4-isobutylbenzoic acid and ibuprofen for determining the correction factor. Inject the solutions into two different equipments and record the chromatogram. Measure the peak area of 4-isobutylbenzoic acid and ibuprofen and calculate the correction factor. Use the slopes of linear equations to determine the correction factor between 4-isobutylbenzoic acid and ibuprofen. Then, validate the analytical method to ensure that HPLC method for the determination of impurity 4-isobutylbenzoic acid in ibuprofen meets the requirement for the intended analytical applications. At last, compare the results determined by the external standard method and the self contrast and correction factor method with statistical software SPSS13.0. **RESULTS** The correction factor between 4-isobutylbenzoic acid and ibuprofen is 0.129, and there is no statistical difference between the contents of impurity 4-isobutylbenzoic acid in ibuprofen determined by the two methods. **CONCLUSION** The self contrast and correction factor was found to be accurate, linear, sensitive and stable.

**KEY WORDS:** ibuprofen; 4-isobutylbenzoic acid; correction factor

布洛芬，化学名 2-(4-异丁基苯基)丙酸，为非甾体消炎镇痛药物。自 Boots 公司于 1961 年 12 月首次成功合成布洛芬以来，布洛芬的合成方法不断改善，发展到现在已有 20 多种，且各种合成方法对应产生的杂质各不相同，其中，醇羰基化法(BHC 法)不但合成简单，原料利用率高，且无需使用大量溶剂，避免产生大量废物，对环境造成的污染小，被誉为“绿色布洛芬合成法”，为国外生产厂家所常用，此种合成方法产生的杂质为 4-异丁基苯乙酮[1]。然而，国内生产厂家常用的布洛芬合成方法为转位重排法，此法具有产率高，安全性好等优点，其对应合成路线的副产物为 4- 异丁基苯甲酸[2-3]。

在对布洛芬有关物质的测定方面，尤其是各国药典中对布洛芬原料中单个已知杂质的含量测定方法各具优缺点。其中，中国药典 2010 版二部中采用薄层色谱法控制布洛芬原料中有关物质总量，却没有单个已知杂质含量的测定方法，且薄层色谱法不能定量；国外药典，诸如美国药典(32 版)、欧洲药典(7.0 版)等，则采用高效液相色谱法对布洛芬原料的总杂质和单个已知杂质进行控制，且用外标法测定单个杂质量[4-7]，能准确定量单个已知杂质的含量，但是其液相条件采用梯度洗脱程序，存在基线漂移、采集时间较长等缺点。

**作者简介：**曾婧娉，女，硕士生 Tel: 13920394652 E-mail: da-er-de@163.com *__通信作者：__王平保，男，博士，研究员，博导 Tel: (022)23006864 E-mail: wangpb@tjipr.com

因此，笔者采用中国药典 2010 版中在布洛芬制剂含量测定所用的高效液相色谱条件，此系统稳定、快捷。

另外，中国药典 2010 版二部附录ⅩⅨF 药品杂质分析指导原则中指出：已知杂质对主成分的相对响应因子在 0.9~1.1 范围内时，可以用主成分的自身对照法计算含量，超出 0.9~1.1 范围时，宜用外标法计算含量，也可用经验证的校正因子进行校正后计算[4]。因 4-异丁基苯甲酸对布洛芬的响应因子已超出 0.9~1.1 范围，笔者采用加校正因子的自身对照法测定布洛芬中 4-异丁基苯甲酸的含量。

综上，本文采用中国药典 2010 版中布洛芬制剂含量测定所用的高效液相色谱条件，用加校正因子的主成分自身对照法测定布洛芬原料中 4-异丁基苯甲酸的含量，并对此方法进行方法学考察，验证此方法可行，然后用外标法和加校正因子的自身对照法同时测定 3 批布洛芬，表明此方法准确。

## 1 材料

### 1.1 试剂

4-异丁基苯甲酸对照品(中国药品生物制品检定所，批号：100721-200701，纯度：100.0%)、布洛芬对照品(中国药品生物制品检定所，批号：100179-200804，含量：100.0%)、布洛芬(湖北百科格莱制药有限公司，批号：C100-0905113M、C100-0905114M、C100-0910070M，含量：99.9%)；醋酸钠(分析纯)、乙腈(色谱纯)、冰醋酸(分析纯)。

### 1.2 仪器

由 LabAlliance Series1500 液相色谱仪、Model 500 紫外检测器与 Inertsil $C_{18}$ 色谱柱(250 mm×4.6 mm，5 μm )组成仪器系统 1；由 LabAlliance Series III 液相色谱仪、Model 201 紫外检测器与 XTerra $C_{18}$ 色谱柱(250 mm×4.6 mm，5 μm )组成仪器系统 2。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

$C_{18}$ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm )；流动相：醋酸钠缓冲液(取醋酸钠 6.13 g，加水 750 mL 使溶解，用冰醋酸调节 pH 值至 2.5)-乙腈(40∶60)；流速：1 mL·min$^{-1}$；柱温：35℃；进样量：20 μL；检测波长：263 nm。

### 2.2 溶液的制备

**2.2.1** 布洛芬供试溶液　精密称取布洛芬原料适量，加流动相溶解并定容，制备布洛芬浓度约为 5.0 mg·mL$^{-1}$ 的溶液。

**2.2.2** 布洛芬自身对照溶液　精密量取布洛芬供试溶液适量，用流动相稀释 100 倍，即得。

**2.2.3** 4-异丁基苯甲酸储备液　精密称取 4-异丁基苯甲酸对照品适量，加乙腈溶解并定容，制备成 4-异丁基苯甲酸浓度约为 0.5 mg·mL$^{-1}$ 的溶液。

**2.2.4** 4-异丁基苯甲酸对照品溶液　精密量取 4-异丁基苯甲酸储备液适量，加流动相稀释 100 倍，即得。

**2.2.5** 线性储备液　精密称取布洛芬对照品适量，加入 4-异丁基苯甲酸储备液适量，加乙腈溶解并定容，制备布洛芬和 4-异丁基苯甲酸浓度分别约为 500 μg·mL$^{-1}$ 和 50 μg·mL$^{-1}$ 的溶液。

### 2.3 系统适应性

精密量取线性储备液 20 μL 进样，记录图谱，布洛芬与 4-异丁基苯甲酸的分离度应＞1.5，且两者的理论塔板数不低于 10 000。测定结果显示此条件下的系统适应性合格，结果见表 1。

**表 1** 系统适应性

**Tab 1** The system suitability

| 液相系统 | 分离度 | 理论塔板数 | |
|---|---|---|---|
| | | 布洛芬 | 4-异丁基苯甲酸 |
| 1 | 4.92 | 16 618 | 16 989 |
| 2 | 4.91 | 16 762 | 16 747 |

### 2.4 相对保留时间、线性及校正因子的测定

精密量取线性储备液适量，用流动相稀释并定容，使溶液中含布洛芬和 4-异丁基苯甲酸分别约为 10 μg·mL$^{-1}$ 和 1 μg·mL$^{-1}$，20 μg·mL$^{-1}$ 和 2 μg·mL$^{-1}$，30 μg·mL$^{-1}$ 和 3 μg·mL$^{-1}$，40 μg·mL$^{-1}$ 和 4 μg·mL$^{-1}$，50 μg·mL$^{-1}$ 和 5 μg·mL$^{-1}$ 的一系列溶液，精密量取上述溶液 20 μL，分别注入液相色谱仪系统 1 和系统 2 中，记录保留时间和峰面积。以各浓度点色谱峰平均保留时间($t_R$)计算 4-异丁基苯甲酸相对于布洛芬的相对保留时间，$RRT=t_{R\text{4-异丁基苯甲酸}}/t_{R\text{布洛芬}}$。以浓度($C$)为横坐标，峰面积($A$)为纵坐标，分别测定布洛芬和 4-异丁基苯甲酸的线性方程及其回归系数 $r$，以布洛芬和 4-异丁基苯甲酸线性方程的斜率计算 4-异丁基苯甲酸相对于布洛芬的校正因子 $f$，$f=k_{\text{布洛芬}}/k_{\text{4-异丁基苯甲酸}}$[9]，其中 $k_{\text{布洛芬}}$ 为浓度范围内布洛芬线性的斜率，$k_{\text{4-异丁基苯甲酸}}$ 为浓度范围内 4-异丁基苯甲酸的斜率，结果见表 2。

**表 2**　相对保留时间及校正因子

**Tab 2**　The relative retention time and the correction factor of 4-isobutylbenzoic acid

| 系统 | 化合物 | $t_R$/min | *RRT* | 线性方程 | *r* | *f* | *f* 平均值 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 布洛芬 | 8.045 | | $y = 1458.8x + 4178$ | 0.9996 | | 0.129 |
| | 4-异丁基苯甲酸 | 6.889 | 0.856 | $y = 11230x + 5483.5$ | 0.9999 | 0.130 | |
| 2 | 布洛芬 | 8.043 | | $Y = 1447.8x + 5763.3$ | 0.9998 | | |
| | 4-异丁基苯甲酸 | 6.890 | 0.857 | $Y = 11300\ x + 4599.8$ | 1 | 0.128 | |

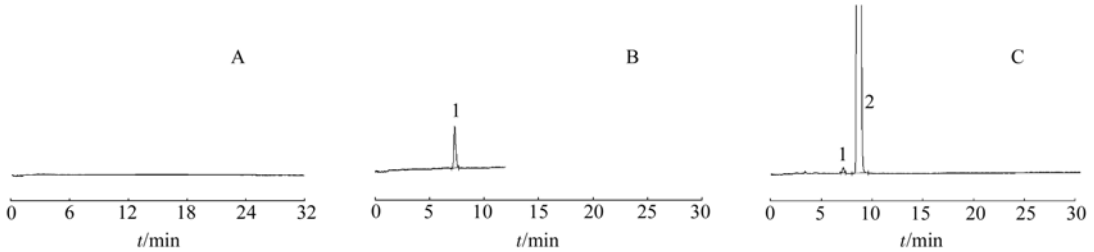


**图 1**　高效液相色谱图

A–流动相；B–4–异丁基苯甲酸对照品溶液；C–布洛芬供试溶液；1–4–异丁基苯甲酸；2–布洛芬

**Fig 1**　HPLC chromatograms

A–the mobile phase; B–the reference solution of 4-isobutylbenzoic-acid; C–the test solution of ibuprofen; 1–4-isobutylbenzoic-acid; 2–ibuprofen

**2.5**　校正因子的方法学试验

**2.5.1**　专属性试验　取流动相，4-异丁基苯甲酸对照品溶液和布洛芬供试溶液各 20 μL 注入仪器系统 1，色图谱见图 1。结果表明，流动相对布洛芬中 4-异丁基苯甲酸的测定没有干扰。

**2.5.2**　破坏试验　精密称量布洛芬原料 50 mg(5 份)，至 10 mL 量瓶中，加适量流动相使其溶解，再经以下条件处理：①加 5.0 mol·L$^{-1}$ 盐酸 2.25 mL，100 ℃水浴加热 20 min；②加 5.0 mol·L$^{-1}$ 氢氧化钠 2 mL，100 ℃水浴放置 20 min；③加 30%双氧水 2 mL，100 ℃水浴加热 30 min；④于 100 ℃水浴中加热 3 h；⑤在光照强度约为 4 000 lx 条件下，放置 7 d。然后对上述样品进行中和，再加流动相定容，过滤，取 20 μL 注入仪器系统 1，记录图谱，见图 2。结果表明，布洛芬经酸破坏、碱破坏、氧化破坏、高温破坏以及光破坏后产生的各杂质峰与主峰均达到良好分离，且 4-异丁基苯甲酸峰与其他杂质峰分离良好，即专属性考察中其他杂质峰未对布洛芬中 4-异丁基苯甲酸峰的测定产生干扰。

**2.5.3**　精密度试验　精密量取 1.0 mL 的线性储备液，置 10 mL 量瓶中，加流动相稀释定容。精密量取 20 μL，在仪器系统 1 中连续进样 6 次，测得 4-异丁基苯甲酸峰面积 RSD 为 0.53%。

**2.5.4**　重复性　取同一批布洛芬原料，按“2.2.1”和“2.2.2”项下方法分别平行制备布洛芬供试溶液和布洛芬自身对照溶液各 6 份，精密量取 20 μL，注入仪器系统 1 中，记录图谱，采用“2.6”项下方法用加校正因子的主成分自身对照法测得 6 份样品中 4-异丁基苯甲酸的含量平均值为 0.015%，且其 RSD 为 0.91%。

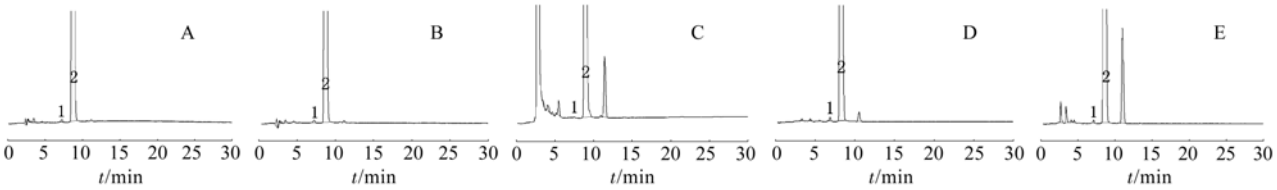


**图 2**　布洛芬强力破坏试验色谱图

A–酸破坏；B–碱破坏；C–氧破坏；D–光照破坏；E–高温破坏

**Fig 2**　HPLC chromatograms of stress test of ibuprofen

A–acid treatment; B–alkali treatment; C–oxygen treatment; D–light radiation treatment; E–high temperature treatment

**2.5.5**　稳定性　按“2.5.3”项下方法制备溶液，分别于 0，2，4，6，8 h 在仪器系统 1 中进样 1 次，记录图谱，测得 4-异丁基苯甲酸峰面积 RSD 为 1.07%。

**2.5.6**　定量限和最小检测限试验　取线性储备液适量，不断用流动相稀释，精密量取 20 μL，注入仪器系统 1 中，记录 4-异丁基苯甲酸的峰面积。当信噪比为 10 和 3 时，4-异丁基苯甲酸的浓度分别为 200 ng·mL$^{-1}$ 和 8 ng·mL$^{-1}$，因此确定 4-异丁基苯甲酸的定量限和最小检测限分别为 4.0 ng 和 0.16 ng。

**2.5.7** 加样回收率 分别精密量取 4-异丁基苯甲酸储备液和布洛芬原料适量，加流动相分别制备成含 4-异丁基苯甲酸浓度约为 2.5，5.0，7.5 μg·mL$^{-1}$ 的溶液，且溶液中布洛芬的浓度始终均为 5.0 mg·mL$^{-1}$，以此溶液作为样品溶液。再按“2.2.1”和“2.2.2”项下方法分别制备布洛芬供试溶液和布洛芬自身对照溶液，各取 20 μL 注入仪器系统 1，记录图谱，采用“2.6”项下用加校正因子的主成分自身对照法测得 4-异丁基苯甲酸的平均加样回收率为 100.7%，RSD 值为 1.60% ($n$=9)。

**2.6** 样品测定

精密称取 3 个不同批次的布洛芬原料，每批原料按“2.2.1”和“2.2.2”项下分别制备布洛芬供试溶液和布洛芬自身对照溶液，精密量取 20 μL 注入仪器系统 1，用加校正因子主成分自身对照法计算布洛芬中 4-异丁基苯甲酸含量；另取 4-异丁基苯甲酸对照品溶液 20 μL 注入仪器系统 1，用外标法计算三批布洛芬中 4-异丁基苯甲酸的含量；再通过统计学软件 SPSS 13.0，采用 $t$ 检验的方法计算三个批次两组数据的 $P$ 值，结果见表 3。结果显示 3 个批次 2 组数据中的 $P$ 值均>0.05，表明两种方法所测得的结果在统计学上无差异，进而得出以外标法为参照，加校正因子主成分自身对照法能准确测定布洛芬中的 4-异丁基苯甲酸的含量。

**表 3** 样品中 4-异丁基苯甲酸的含量($n$=3)

**Tab 3** The content of 4-isobutylbenzoic acid in samples($n$=3)

| 布洛芬批号 | 4-异丁基苯甲酸含量/% | | $P$ |
|---|---|---|---|
| | 外标法 | 加校正因子主成分自身对照法 | |
| C100-0905113M | 0.0149±0.0021 | 0.0147±0.0016 | 0.180 |
| C100-0905114M | 0.0141±0.0004 | 0.0142±0.0004 | 0.242 |
| C100-0910070M | 0.0147±0.0024 | 0.0148±0.0016 | 0.864 |

## 3 讨论

笔者在两个不同的高效液相色谱测定系统中测定 4-异丁基苯甲酸对布洛芬的相对保留时间、线性及校正因子，且实验结果说明两个系统中所测定的校正因子并无统计学差异，说明本文中所用方法的耐用性好，且所测得的校正因子在两个不同色谱条件下均适用。笔者对系统 1 和系统 2 均进行了方法学验证试验及样品测定，因两系统结果类似，均符合要求，且为了增加文章简洁性，文中只列出了系统 1 的测定结果。

一般情况下，测定某已知杂质的校正因子时，主药和已知杂质的浓度处于同一水平，是因为某原料或制剂的已知杂质的限度大多为 1%，而自身对照的浓度百分比亦为 1%，即主药自身对照和已知杂质限度的浓度相同。然而本文中，布洛芬的自身对照为布洛芬有关物质测定浓度的 1%，即进样浓度为 50 μg·mL$^{-1}$；而 4-异丁基苯甲酸的限度规定为 1‰，即浓度为 5 μg·mL$^{-1}$，两者相差 10 倍。校正因子(f)的计算公式为 $f = k_{布洛芬} / k_{4\text{-异丁基苯甲酸}}$，其中 $k_{布洛芬}$ 为浓度范围内布洛芬线性方程的斜率，$k_{4\text{-异丁基苯甲酸}}$为浓度范围内 4-异丁基苯甲酸线性方程的斜率，可见两者的线性范围应根据实际测定中所需要的浓度范围来确定。所以笔者认为布洛芬和 4-异丁基苯甲酸的浓度差为 10 倍时所测得的校正因子能更科学地用于实际测定。

本文所用方法，可在同一色谱条件下(同一检测波长)同时测定布洛芬的已知杂质和未知杂质的含量，其中测定已知杂质含量的方法为加校正因子的主成分自身对照法，而测定未知杂质含量的方法为不加校正因子的主成分自身对照法，两者的对照为同一个，不仅提高了实验效率，还减少了系统误差。

## 4 结论

经方法学验证及与外标法比较，结果表明加校正因子的主成分自身对照法能够准确测定布洛芬中 4-异丁基苯甲酸的含量，且该方法在试验成本和效率上具备优势，在试验过程中可用加校正因子的自身对照法代替外标法。

## REFERENCES


[1] YU F L, ZHAO Y L, JIN Z L. Progress on synthesis of ibuprofen with green methodology [J]. Chin J Org Chem(有机化学), 2003, 11(11): 1198-1204.

[2] SHANDONG Xinhua Pharmaceutical Factory. Process to prepare brufen by rearranging molecular under catalysis: China 1082022.A [P]. 1994-02-16.

[3] CHANGSHA University of Science & Technology. Method for preparing ibuprofen: China 101456808.A [P]. 2009-06-17.

[4] Ch.P(2010)Vol Ⅱ(中国药典 2010 版. 二部) [S]. 2010: 120, Appendix ⅩⅨF.

[5] EP 7.0 [S]. 2008: 721.

[6] USP 32 [S]. 2009: 2607.

[7] BP 2009 [S]. 2009: 3128.


收稿日期：2011-07-18