

高效液相色谱在药品含量检测中的应用

方玉林^{1*}, 朗杰卓嘎², 洛追卓玛², 德庆卓嘎²

(1. 吉林省药品检验研究院, 长春 130000; 2. 日喀则市市场监督管理局质量计量特种设备监督检验测试所, 日喀则 857000)

摘要: 高效液相色谱 (HPLC) 是一种广泛应用于药品含量检测的分析技术, 具有高分辨率、高灵敏度和高精度的特点。本文综述了 HPLC 在药品分析中的应用领域, 包括原料药、成品药、临床药物及复合制剂的含量检测。重点讨论了样品前处理、色谱条件优化和检测方法的选择与分析, 提出在具体操作过程中, 流动相、色谱柱、进样量和流速的优化, 以及选择适当的检测器和定量分析方法, 都是确保检测准确性和可靠性的关键。

关键词: 高效液相色谱; 药品含量检测; 应用

0 引言

随着现代制药技术的发展, 药品质量控制的要求愈加严格, 确保药物安全性和有效性已成为制药行业的重要任务。在药品质量控制当中, 药品含量检测是关键一环。高效液相色谱 (High performance liquid chromatography, HPLC) 作为一种成熟的分析技术, 因其高分辨率、高灵敏度和高精度, 在药品含量检测中得到了广泛应用。无论是原料药、成品药的质量检测, 还是临床药物的浓度监控, HPLC 都发挥着至关重要的作用。文章将探讨 HPLC 在药品含量检测中的实际应用及操作流程, 旨在帮助相关人员理解这一技术在药品分析中的独特优势。

1 高效液相色谱的概述

高效液相色谱 (HPLC) 是当代药品分析中常用的一种分离与检测技术, 广泛应用于药品含量的检测中。工作原理基于物质在固定相和流动相之间的分配差异。当样品被注入系统后, 随着流动相进入色谱柱, 物质会根据其理化特性在固定相中以不同的速率被分离, 最终由检测器检测并记录。这一分离过程依赖于固定相与流动相的选择和调配, 以达到最佳的分离效果^[1]。HPLC 系统的核心组成部分包括色谱柱、流动相和检测器。色谱柱是装填有固定相的关键部件, 通过选择合适的填料类型, 可以实现对不同分子大小、极性和电荷的物质有效分离。流动相是溶解并携带样品通过系统的液体介质, 其选择直接影响检测效果, 通常为溶剂或缓冲溶液的组合, 从而调控样品分离速率和分辨率^[2]。检测器负责捕获通过色谱柱后样品的特征信号, 并将其转换为可量化的电信号, 用于进一步的定量分析。不同类型的检测器适用于不同种类的化合物, 常见的有

紫外检测器、荧光检测器和电化学检测器, 其中紫外检测器广泛应用于具有紫外吸收的物质检测^[3]。

2 HPLC 在药品含量检测中的应用领域

在药品含量检测中, HPLC 得到了广泛应用。具体包括以下几点: (1) 原料药检测。原料药检测是药品生产的起点, HPLC 技术的高精度, 使其在原料药的含量测定和杂质分析中发挥了重要作用, 为符合药品的质量标准提供了有力支持^[4]。杂质分析有助于识别和控制微量杂质, 避免因杂质带来潜在的安全风险^[5]。例如, 某药厂在进行原料药“阿莫西林”含量检测时, 使用 HPLC 法进行分析, 采用 C₁₈ 反相色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm 粒径) 进行分离。分析过程中, 阿莫西林与其他杂质的分离良好, 峰形对称, 未出现干扰。通过比较样品峰面积与标准品的峰面积比例, 得出阿莫西林的含量。(2) 成品药检测。质量控制需要保证成品药的各项质量指标达到标准, 确保药效和患者的安全。HPLC 能够实现对成分的精确分离和含量测定, 确保成品药的质量一致性^[6]。某药企在进行成品药“氯雷他定”片剂的含量检测时, 使用 HPLC 法进行分析。使用 C₁₈ 反相色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm 粒径), 通过测定样品中氯雷他定的峰面积, 计算其含量。分析结果表明, 样品中的氯雷他定含量符合药典标准, 检测方法的精密度和准确性均达标。(3) 临床药物检测。治疗性药物监测通过对血浆或其他生物样本中药物浓度的测定, 为个体化治疗提供科学依据^[7]。HPLC 技术可以动态监测药物浓度, 帮助医生根据患者的具体状况调整剂量, 避免因剂量过高而导致毒副作用, 或因剂量不足而影响疗效, 它在临床药物监测中的应用, 有助于个体化用药的实现, 促进患者治疗效果的提升。(4) 复合制剂中的含量分析。在药品含量检测中, 复合制剂中的含量分析是较为复杂的部分, 因其包含多种有效成分, 分析难度较高。HPLC 以其多样化的

* 通信作者: 方玉林, 硕士, 副主任药师, 研究方向为食品药品检验。E-mail: madan654@163.com

分离和检测手段,使得多成分含量分析成为可能,确保各成分均符合药品质量要求。它还可用于研究复合制剂中各成分的相互作用效应,如拮抗作用或协同作用,以便优化药物配方,提高药效^[8]。

3 HPLC 在药品含量检测中的操作流程优化

在药品含量检测中,HPLC 操作流程中容易出现一些问题,这些问题如果处理不当,会影响分析结果的准确性和可靠性。首先,样品准备过程中的问题会影响检测结果。例如,药物的溶解度不同,若选择的溶剂不合适,会导致药物未完全溶解,从而影响样品浓度的准确性。样品过滤或离心处理不彻底,会导致颗粒杂质进入色谱系统,影响分离效果和柱效。其次,色谱条件的设定对实验结果至关重要。如果选择的色谱柱不适合目标药物,或者流动相的比例和 pH 值不合适,会导致药物分离不完全或保留时间不稳定。流速、柱温等参数设定不当,也会增强分析结果的不稳定性。样品注入量过多或过少,都会导致峰形不清晰或者分离效果不佳。最后,在数据分析过程中,标准曲线的拟合和计算方法的准确性也是需要解决的问题。如果标准溶液的制备不准确,或者数据处理时出现偏差,会导致结果的误差。因此,HPLC 操作中的每个环节都需要严格控制,确保实验的准确性和可靠性。

3.1 样品前处理

在药品含量检测的具体操作中,HPLC 分析依赖于精密的流程控制,尤其是样品的前处理过程。样品前处理是 HPLC 检测的首要步骤,是决定检测精确度和可靠性的重要环节,主要包括样品溶解与提取、稀释与过滤等步骤,确保样品达到适合检测的状态,提升分析结果的准确性和重现性^[9]。但是,不同药品及基质的复杂性,使得前处理方法选择难度增加。具体优化包括以下几点:(1)样品溶解与提取。样品溶解与提取是前处理中的关键操作,旨在将样品中的有效成分充分溶解,以便后续进行 HPLC 分析。对于不同的药物成分,需要选择合适的溶剂进行溶解,确保有效成分的完整溶出。溶剂的选择,往往基于样品的理化性质,如极性、溶解度和稳定性等,确保最大限度地提取目标成分^[10]。例如,极性较高的样品,通常选用水或甲醇等极性溶剂;而疏水性样品,则需要乙腈或氯仿等非极性溶剂。在特定情况下,样品提取还涉及复杂的提取技术,比如液液提取、固相萃取等,用于从混杂的基质中分离出目标成分,降低基质干扰,提升检测的灵敏度和准确性^[11]。对于某些复杂样品,比如生物体液或复合制剂,提取过程尤其重要,既要保留目标成分,又要尽量减少非目标成分的影响,从而保证检测结果的可靠性。(2)稀释与过滤。样品溶解后,通常需要进行适当的稀释,确保样品浓度在检测器的线性范围内,从而获得准确的定量结果。稀释比例的确定应基于样品的初始浓度和 HPLC 系统的检测限,以免因浓度过高而造成检测器的过载,或因浓度过低而降低信号强度。稀释通常使用与流动相相似的溶剂,确保稀释后的样品与 HPLC 系统兼容,避免产生额外的溶剂峰干扰分离效果。过滤是样品前处理中必不可少的一

步,旨在去除样品中的微小颗粒物,避免其进入色谱柱造成堵塞或损坏,影响系统的正常运行和分离效果。通常使用孔径为 0.22 μm 或 0.45 μm 的滤膜进行过滤,去除大部分固体杂质。在此过程中,采用合适的过滤器材,比如一次性针头滤器,既可以提高操作效率,又能确保过滤效果,避免交叉污染^[12]。在实践检测中,若样品浓度过高,建议用流动相适当稀释。干燥后的样品需用流动相或其他指定溶剂复溶。

3.2 色谱条件优化

色谱条件的优化,是确保检测准确性和分离效率的核心步骤。流动相的极性、pH 值和溶剂比例不合适,会导致目标化合物与其他成分的分离度差,影响检测的准确性。柱温过高或过低,会导致分离不完全或峰宽增加,影响分辨率。流速过快会导致分离时间缩短,影响分辨率,而流速过慢则会增加分析时间。通过合理优化,HPLC 系统能够在多种药物成分检测中实现高效、稳定的分离效果,显著提升检测的分辨率、灵敏度和精确度,从而获得更为可靠的检测结果^[13]。具体优化包括以下几点:(1)流动相选择与优化。流动相的组成直接影响目标成分的分离度和保留时间。常用的流动相包括水、甲醇、乙腈、缓冲溶液等。一般而言,流动相的极性、pH 值和离子强度等参数,都需根据样品的性质加以调整,以确保目标成分在固定相和流动相之间实现最佳分配。极性较强的流动相适合溶解极性样品,非极性溶剂则更适合溶解疏水性样品。此外,pH 值对某些弱酸或弱碱成分的分配行为影响显著,通常通过添加缓冲溶液,调节流动相的 pH 值,以减少成分解离,确保分离效果稳定^[14]。在实际应用中,流动相的梯度洗脱也是一种常用的优化策略,通过逐步改变流动相的极性,可以有效缩短分析时间,提升复杂样品的分离效率。例如,开始时使用低极性流动相,将疏水性成分快速分离后,再逐步提高极性,分离极性较高的成分。梯度洗脱尤其适用于多成分或复杂样品的分析,不仅能提高分离度,还能避免长时间单一洗脱造成的拖尾或峰展宽现象。(2)色谱柱选择。色谱柱的选择,直接影响分离效果和分析效率。色谱柱主要依据填料的性质进行分类,常见的有反相色谱柱和正相色谱柱。反相色谱柱以疏水性填料为固定相,广泛用于分离极性较低的成分,如疏水性药物和有机物质;正相色谱柱则以极性填料为固定相,更适用于分离极性较高的成分,如极性化合物和某些天然产物。在选择色谱柱时,需根据样品的极性、分子大小、化学性质等因素决定,确保获得最佳的分离效果^[15]。此外,色谱柱的尺寸(如内径和柱长)和填料颗粒的大小,也会显著影响分析结果。一般情况下,较短的色谱柱有助于缩短分析时间,但分辨率不高;较小的填料颗粒则可提高分离度,但会增加系统压力。因此,色谱柱的选择,应综合考虑分离需求、检测精度和系统承载能力等因素,从而在分离效果和效率之间取得平衡。(3)进样量与流速的调整。进样量和流速,是影响检测灵敏度和峰形的重要因素。进样量过大会导致峰形变宽,影响分离效果,而过小的进样量则会降低信号强度,使灵敏度不足。通常,进样量需基于系统灵敏度和分辨

率进行优化,确保目标成分的峰形清晰、分离度良好^[16]。流速的调整直接影响分离的效率和分析时间。较高的流速有助于缩短分析时间,但会降低分离度,尤其在复杂样品分析中,过高的流速会导致峰重叠。而较低的流速则能提高分辨率,使各成分有充分时间分离,但会延长分析时间。流速的选择,需根据色谱柱的特性、流动相的性质及样品的复杂程度进行综合考虑,通常在稳定的流速范围内进行小幅度调整,以达到最佳分离效果。建议监测峰的对称性,避免拖尾或前沿现象。保持目标峰分离度大于1.5,确保精确定量。注意溶剂和缓冲液的毒性和腐蚀性,要正确操作和存储。

3.3 检测方法与分析

在HPLC分析中,通过选择合适的检测器和定量分析方法,可以确保药品含量检测的精确性和可靠性。不同药物的理化性质差异较大,使用单一方法无法满足所有药物的检测需求。具体需要关注以下几点:(1)检测器的选择。HPLC系统常用的检测器,包括紫外检测器、荧光检测器和电化学检测器,每种检测器在不同的应用场景中展现出独特优势。紫外检测器是最常用的检测器之一,适合检测具有紫外吸收的物质,比如大多数有机化合物。其优势在于灵敏度高、操作简单,适用范围广。紫外检测器的双波长或多波长检测功能,更能满足复杂样品的分离与检测需求^[17]。荧光检测器具有更高的灵敏度,适用于检测具有荧光活性的成分。与紫外检测相比,它能在更低浓度下检测目标物质,尤其适合检测含量低、易被其他成分干扰的分析物,比如某些维生素、氨基酸等。荧光检测器的选择性强,干扰少,但前提是目标成分必须具有荧光,或可以通过衍生化反应生成荧光信号^[18]。电化学检测器则主要用于检测具有电化学活性的化合物,比如多酚类、维生素C等^[19]。它具有极高的灵敏度和选择性,适合微量成分分析,且常用于稳定性较差或易氧化的化合物,其缺点在于操作条件较严格,对仪器维护要求较高。(2)定量分析方法。在HPLC定量分析中,常用的定量方法为外标法和内标法。外标法是最常见的定量方法,通过使用已知浓度的标准品绘制标准曲线,将样品的响应值与标准曲线进行对比以确定含量。外标法操作简便、适用范围广,但对进样精度要求较高,适用于环境相对稳定的分析系统。其缺点是受系统变化的影响较大,例如进样量的波动会导致定量误差。内标法则是在样品中加入已知浓度的内标物,以样品与内标物的比值进行定量^[20]。该方法可以有效补偿由进样量变化等系统波动带来的误差,尤其适用于复杂样品或环境不稳定的检测场景。内标物的选择,需满足与样品性质相似但不干扰目标成分的要求。内标法虽然步骤稍繁琐,但因其具有更高的精度和稳定性,所以在药品分析中被广泛应用。

4 结束语

高效液相色谱技术凭借其精准的分离能力和广泛的适用性,在药品含量检测中扮演着不可或缺的角色。通过优化色谱条件、选择合适的检测器及定量分析方法,能够确保药品的

质量和安全性。随着技术的不断进步,HPLC将在药品质量控制、临床药物监测及复合制剂分析等领域发挥越来越重要的作用。未来,结合新型检测器和智能化分析方法,HPLC将进一步提升其在药品分析中的效率和准确性。

参考文献

- [1] 张生丽.高效液相色谱技术在药品检验中的应用研究[J].医药,2023,(07):48-51.
- [2] 李莎,韩海燕,吴红洋,等.高效液相色谱法测定药品胶塞中硫磺和7种抗氧化剂含量及迁移[J].中国药业,2022,31(22):71-74.
- [3] 吴春燕,张立军,张新玥,等.HPLC法检测膏药中硫酸阿托品含量方法的建立[J].中国民族民间医药,2021,30(22):29-33.
- [4] 刘美娇.液相色谱法检测药品中成分含量的不确定度评定方法[J].医药,2021,(12):349-350.
- [5] 李彬,倪东宇,张梦奇,等.指纹图谱结合多成分含量测定的猪苓配方颗粒质量评价[J].中国现代应用药学,2023,40(18):2556-2561.
- [6] 骆海春,陈高健,朱飞如,等.高效液相色谱技术在药品检验中的应用研究[J].中国药物经济学,2022,17(02):125-128.
- [7] 黄玉颖.高效液相色谱技术在药品检验中的应用[J].医药,2021,(06):180-181.
- [8] 董媛,李海亮,王楠,等.一测多评法测定三七总皂苷中5个皂苷的含量[J].药物分析杂志,2022,42(03):518-524.
- [9] 陈亚.HPLC在生物药品检测中的应用[J].医药,2020,(12):229.
- [10] 孙晶晶,杨旭,宁科权,等.反相-高效液相色谱法测定软膏剂中葡萄糖酸氯己定含量[J].中国当代医药,2023,30(10):26-29.
- [11] 吴婷,龙焰君,张慧文,等.HPLC法测定注射用头孢他啶含量的不确定度评定[J].广东药科大学学报,2023,39(04):20-24.
- [12] 宋悦怡.高效液相色谱技术在食品药品检验中的应用分析[J].石油石化物资采购,2022,(21):88-90.
- [13] 孟龙.高效液相色谱法在药品检测中的应用研究[J].医药,2020,(01):250-251.
- [14] 丁晓丽,陈莹,胡馨月,等.甘精胰岛素注射液有关物质分析方法研究[J].药物分析杂志,2022,42(01):23-32.
- [15] 谢思敏,陈家仪,汤迎湛,等.复方小儿退热栓的质量标准提高研究[J].中国药房,2020,31(17):2106-2111.
- [16] 刘洪超,栾永福,焦阳,等.HPLC-DAD法测定硬胶囊壳中9种人工合成色素[J].国际药学研究杂志,2020,47(01):67-71.
- [17] 王晓伟,王艳伟,王海波,等.香砂和中丸的质量标准改进研究[J].中国药房,2020,31(02):153-159.
- [18] 吴芳,王梦琪,罗定强,等.基于色谱法筛查及验证杞菊地黄口服液液中抑菌剂[J].中国药业,2023,32(21):94-97.
- [19] 董宠,陈斌,许龙,等.小儿解感颗粒HPLC指纹图谱及3种成分含量测定研究[J].安徽医学,2023,22(04):86-88,138.
- [20] 漆欣筑,祝晶,何劼毅,等.HPLC法测定复方二甲双胍格列吡嗪胶囊的含量均匀度[J].广东化工,2022,49(17):180-181,179.