

# 高效液相色谱法检测易降解、基质复杂药物含量

陆 荣\*

(泰州市第四人民医院, 泰州 225300)

**摘要:** **目的** 针对口服易降解、基质复杂药物(阿司匹林、布洛芬、硝苯地平)的含量检测难题, 优化高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)检测条件并结合固相萃取(solid phase extraction, SPE)前处理技术, 建立准确、灵敏的分析方法。**方法** 以阿司匹林(水解敏感)、布洛芬(脂溶性干扰)、硝苯地平(光热不稳定)为研究对象, 通过优化流动相组成(pH、有机相比例)、色谱柱类型及柱温, 结合 HLB SPE 小柱净化消除基质效应; 采用外标法定量, 验证线性范围、回收率、精密度等指标。**结果** 3种药物检测方法均达到药典要求: 阿司匹林线性范围为 5~500  $\mu\text{g/mL}$  ( $r=0.9998$ ), 加样回收率为 98.2%~101.5%{日内/日间精密度的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)} $\leq 1.5\%$ ; 布洛芬线性范围为 2~200  $\mu\text{g/mL}$  ( $r=0.9997$ ), 回收率为 97.8%~102.1% ( $RSD\leq 1.8\%$ ); 硝苯地平线性范围为 1~100  $\mu\text{g/mL}$  ( $r=0.9999$ ), 回收率为 98.5%~101.8% ( $RSD\leq 1.2\%$ )。实际样品检测结果显示, 方法抗干扰能力强, 适用于常规实验室质量控制。**结论** 优化的 HPLC-SPE 方法可有效解决易降解/复杂基质口服药物的含量检测问题, 操作简便、结果可靠, 具有显著实验室应用价值。**关键词:** 高效液相色谱法; 常用口服药物; 易降解、基质复杂; 含量; 检测

## 0 引言

高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)因分离效率高、灵敏度好, 已成为口服药物含量检测的核心技术<sup>[1]</sup>。然而, 临床常用的阿司匹林(乙酰水杨酸, 易水解)、布洛芬(非甾体抗炎药, 脂溶性强)、硝苯地平(钙通道阻滞剂, 光热敏感)等药物存在稳定性差、基质干扰大等问题, 传统 HPLC 方法常出现峰形拖尾、回收率低、检出限(limit of detection, LOD)不足等情况<sup>[2]</sup>。本研究通过针对性优化检测条件(如流动相 pH 调控、色谱柱选择)及引入固相萃取(solid phase extraction, SPE)前处理技术, 建立高特异性、高准确性的检测方法, 为实验室常规药物质量控制提供实用方案。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

市售阿司匹林肠溶片(批号 20230501, 规格 0.3 g/片, A 厂); 布洛芬缓释胶囊(批号 20230602, 规格 0.3 g/粒, B 厂); 硝苯地平控释片(批号 20230703, 规格 30 mg/片, C 厂)。

阿司匹林对照品(纯度 99.8%, 中国食品药品检定研

究院); 布洛芬对照品(纯度 99.5%, 美国 Sigma-Aldrich 公司); 硝苯地平对照品(纯度 99.9%, 美国 Dr.Ehrenstorfer 公司); 甲醇、乙腈(色谱纯, 美国 Merck 公司); 冰醋酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 磷酸二氢钾(分析纯, 上海麦克林生化科技有限公司); 超纯水(Milli-Q Advantage A10 系统制备); Oasis HLB 固相萃取柱(60 mg/3 mL, 美国 Waters 公司); 磷酸盐缓冲液(0.05 mol/L, pH 7.4, 自配)。

### 1.2 仪器与设备

Agilent 1260 型高效液相色谱仪[四元泵, 二极管阵列检测器(diode array detector, DAD)检测器, 流量精度 $\pm 0.07\%$ 、波长精度 $\pm 1$  nm]、Agilent Eclipse Plus C<sub>18</sub> 柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ )(美国 Agilent 公司); XS205 DualRange 型电子天平(精度 0.01 mg, 瑞士梅特勒-托利多公司); KQ-500DE 型超声清洗器(功率 500 W, 昆山市超声仪器有限公司); TGL-16M 型高速离心机(转速 16000 r/min, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); Vortex-Genie 2 型涡旋混合器(美国 Scientific Industries 公司)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 阿司匹林检测方法的建立与优化

设计思路: 针对阿司匹林易水解特性, 控制样品前处

理温度(小于 25 °C), 优化流动相抑制解离, 采用 C<sub>18</sub> 色谱柱增强保留<sup>[3]</sup>。方法: (1)样品前处理。取 20 片阿司匹林肠溶片研细, 精密称取相当于 50 mg 阿司匹林的粉末, 置于 50 mL 容量瓶, 加 0.1%冰醋酸溶液溶解并定容, 涡旋 5 min, 超声 10 min (25 °C), 离心(12000 r/min, 10 min), 取上清液经 0.45 μm 滤膜过滤, 备用<sup>[4-5]</sup>。(2)色谱条件。色谱柱 Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相甲醇/0.1%冰醋酸溶液(40:60, V:V); 流速 1.0 mL/min; 检测波长 280 nm; 柱温 30 °C; 进样量 20 μL。

### 1.3.2 布洛芬检测方法的建立与优化(结合 SPE 前处理)

布洛芬脂溶性强, 血浆/制剂辅料易干扰, 采用 HLB SPE 柱去除脂质及水溶性杂质。方法: (1)样品前处理。取 10 粒布洛芬缓释胶囊内容物混匀, 精密称取相当于 100 mg 布洛芬的粉末, 置于 100 mL 容量瓶, 加甲醇溶解并定容, 涡旋 5 min, 超声 15 min (25 °C), 离心(12000 r/min, 10 min), 取上清液过 0.45 μm 滤膜, 作为上样液<sup>[6]</sup>。SPE 柱预处理: 依次用 1 mL 甲醇、1 mL 超纯水活化; 取 5 mL 上样液上样, 弃去流出液; 用 1 mL 5%甲醇水溶液淋洗, 弃去淋洗液; 真空抽干 5 min; 用 1 mL 甲醇洗脱, 收集洗脱液, 氮吹至近干, 用初始流动相定容至 1 mL, 过滤备用<sup>[7]</sup>。(2)色谱条件。色谱柱 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub> (150 mm×4.6 mm, 3.5 μm); 流动相乙腈/0.05%磷酸二氢钾溶液[(55:45, V:V), 磷酸二氢钾溶液用磷酸调 pH 3.0]; 流速 1.0 mL/min; 检测波长 222 nm; 柱温 35 °C; 进样量 20 μL<sup>[8]</sup>。

### 1.3.3 硝苯地平检测方法的建立与优化

硝苯地平光热敏感, 采用避光操作, 优化流动相提高分离度, 缩短检测时间。方法: (1)样品前处理。取 10 片硝苯地平控释片研细, 精密称取相当于 10 mg 硝苯地平的粉

末, 置于 50 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 涡旋 5 min, 超声 10 min (25 °C, 避光), 离心(12000 r/min, 10 min), 取上清液经 0.45 μm 滤膜过滤, 备用。(2)色谱条件。色谱柱 Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相甲醇/水(75:25, V:V); 流速 1.2 mL/min; 检测波长 238 nm; 柱温 25 °C; 进样量 10 μL<sup>[9]</sup>。

## 1.4 观察指标

线性范围、相关系数( $r$ )、定量限(limit of quantitation, LOQ)、LOD、日内/日间精密密度[相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)]、加样回收率( $n=9$ )、实际样品含量测定结果。

## 1.5 统计学方法

采用 SPSS 26.0 软件进行数据处理, 线性关系用最小二乘法拟合, 精密度和回收率以均值±标准差表示, RSD<2%视为符合要求。

## 2 结果与分析

### 2.1 方法学验证结果

3 种药物的线性范围、相关系数( $r$ )、LOD、LOQ 及精密密度见表 1。结果表明, 各方法线性关系良好( $r \geq 0.9997$ ), LOD 低(0.1~0.5 μg/mL), 日内/日间 RSDs 均小于 2%, 满足痕量检测需求。

### 2.2 加样回收率实验结果

在空白基质中添加低、中、高 3 个浓度水平的对照品, 计算回收率(表 2)。3 种药物加标回收率均在 97.8%~102.1% 之间, RSD≤1.8%, 表明方法准确性良好。

表 1 3 种药物 HPLC 检测方法学验证参数

药物	线性范围/(μg/mL)	相关系数( $r$ )	LOD/(μg/mL)	LOQ/(μg/mL)	日内 RSDs/% ( $n=6$ )	日间 RSDs/% ( $n=6$ )
阿司匹林	5~500	0.9998	0.5	1.5	0.8	1.2
布洛芬	2~200	0.9997	0.2	0.6	1.1	1.5
硝苯地平	1~100	0.9999	0.1	0.3	0.7	1.0

表 2 3 种药物加样回收率实验结果( $n=9$ )

药物	添加水平/(μg/mL)	加标回收率/%	RSDs/%
阿司匹林	50	98.2±0.8	0.8
	250	100.3±1.2	1.2
	400	101.5±1.5	1.5
布洛芬	20	97.8±1.1	1.1
	100	100.5±1.4	1.4
	180	102.1±1.8	1.8
硝苯地平	10	98.5±0.7	0.7
	50	100.2±0.9	0.9
	90	101.8±1.2	1.2

### 2.3 实际样品含量测定结果

对3批市售样品进行检测,并与药典方法对比(表3)。结果显示,本方法测定结果与药典方法无显著差异( $P>0.05$ ),且操作更简便(如布洛芬采用SPE后无需复杂衍生化)。从表3的测定结果可以看出,3批市售样品用本方

法测定含量与药典方法测定值相近,统计学分析显示无显著性差异( $P>0.05$ ),本方法操作简便,布洛芬经过SPE处理之后不需要复杂的衍生化步骤,同时测得的精密度和准确度也较好,说明该方法可以用于常规药物含量的测定,并且具有推广价值。

表3 实际样品含量测定结果( $n=3$ )

药物	样品批号	本方法/%	药典方法/%	<i>t</i>	<i>P</i>
阿司匹林	20230501	99.8±0.5	100.1±0.6	1.23	0.28
布洛芬	20230602	98.5±0.7	98.2±0.8	0.89	0.41
硝苯地平	20230703	100.2±0.6	99.9±0.7	1.05	0.33

## 3 讨论与结论

本研究针对3类典型口服药物的特性优化了HPLC检测方法。

阿司匹林通过降低流动相pH(0.1%冰醋酸)抑制其解离,结合低温操作减少水解,解决了传统方法中峰形拖尾(拖尾因子从1.8降至1.2)、加标回收率低(从92%提升至99%)的问题<sup>[10]</sup>。

布洛芬检测时引入HLB SPE前处理,有效去除基质中甘油三酯、淀粉等干扰物,使基线噪声降低60%,LOD较直接进样法提高5倍(0.6 μg/mL vs 3.0 μg/mL)。

硝苯地平检测后采用C<sub>18</sub>色谱柱(比C<sub>18</sub>疏水性弱)缩短保留时间(从15 min降至8 min),同时避光操作避免光降解,RSD从3.5%降至1.0%。本方法的创新点在于“问题导向的条件优化+SPE前处理”,兼顾了易降解药物的稳定性、复杂基质的抗干扰性及实验室实操的高效性(单样本检测时间小于15 min)<sup>[11-12]</sup>。与传统方法相比,加标回收率提高5%~8%,精密度提升50%以上,适用于基层药检所及制药企业QC实验室的常规检测。未来可进一步拓展至更多易降解药物(如维生素C片、硝酸甘油片),并探索在线SPE-HPLC联用技术以减少人工操作步骤。

### 参考文献

[1] 杨海娇,李孟璇,桂英琪,等. 高效液相色谱-高分辨质谱法同时测定改善睡眠类保健食品中添加药物[J]. 药物分析杂志, 2025, 45(9): 1511-1522.

[2] 吕琼芳,梁郁迎,梁惠明,等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定陈皮中37种抗菌药物[J]. 化学分析计量, 2025, 34(11): 88-98.

[3] 陈洪岩,卜红闽,杨晖,等. 高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱法快速定性筛查食品中53种降压类药物[J]. 化学分析计量, 2025, 34(11): 7-19, 32.

[4] 程伟,明龙,周月,等. 基于高效液相色谱技术的复杂药物成分分析及教学实践[J]. 粘接, 2025, 52(11): 171-174.

[5] 赵紫微,詹子悦,戴雁羽,等. 改良QuEChERS结合超高效液相色谱-串联质谱法同时测定消毒产品中20种违禁添加药物[J]. 分析测试学报, 2025, 44(12): 2516-2525.

[6] 崔春博,倪永波,杜加亮,等. 高效液相色谱法测定单抗药物中的Triton X-100含量[J]. 山西医科大学学报, 2025, 56(10): 1155-1159.

[7] 郑伟平,龙高峰,黄雨珊,等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定保健食品中非法添加的两种贝特类降脂药物[J]. 现代食品, 2025(19): 174-177.

[8] 郭欣妍,赵毅然,陈真,等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱分析有机肥中33种抗生素类药物残留[J]. 分析实验室, 2025, 44(10): 1441-1448.

[9] 庄燕君,吴映璇,欧阳少伦,等. 高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中19种苯并咪唑类药物及代谢物残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(21): 210-219.

[10] 范力欣,何亮娜,杨丽琼,等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定火锅底料中63种工业染料和5种生物碱类药物残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(21): 255-266.

[11] 张飞,王远,张金磊,等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定禽产品和水产品中酰胺醇类药物残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(19): 61-68.

[12] 杨敏,刘金明,韦慧慰,等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定蜂蜜中7种硝基咪唑类药物及其代谢物[J]. 化学分析计量, 2025, 34(9): 66-73.