

超临界流体色谱法在药物分析中的应用

杨金美 田 静

(齐鲁制药有限公司 山东 济南 250100)

【摘要】超临界流体色谱法 (Supercritical Fluid Chromatography, SFC) 一种精准的流动相色谱分析模式, 该技术在 20 世纪 80 年代被广泛应用, 该技术具备低能耗、环保的优势, 检测过程将超临界流体作为流动相, 能在多样检测手段支持下评估药物的成分, 方便对药物成分展开定量、定性分析操作, 并在检测器分析下确定药物的基础成分和药性。基于此, 文章就超临界流体色谱法在药物分析应用进行了分析。

【关键词】超临界流体色谱法; 药物分析; 中药; 药性分析

Application of supercritical fluid chromatography in drug analysis

Jinmei Yang Jing Tian

(Qilu Pharmaceutical Co., LTD., Jinan, Shandong, 250100)

[Abstract] Supercritical Fluid Chromatography (SFC) is an accurate mobile Chromatography analysis mode, which was widely used in the 1980s. The technology has the advantages of low energy consumption and environmental protection. Supercritical Fluid is used as the mobile phase in the detection process. It can evaluate drug components with the support of various detection methods, facilitate quantitative and qualitative analysis of drug components, and determine the basic components and medicinal properties of drugs under the detector analysis. Based on this, this paper analyzes the application of supercritical fluid chromatography in drug analysis.

[Key words] Supercritical fluid chromatography; Drug analysis; Traditional Chinese medicine (TCM); Medicinal properties analysis

前言

超临界流体色谱法属于新一代色谱法, 同气相色谱法 (GC) 技术比较来讲, 该技术的挥发性较小, 热稳定性强, 不需再合成相关衍生物后分析。为了提高超临界流体色谱法的应用效果, 需要工作人员分析出流体压力的控制重点, 做好温度控制管理, 可逐渐凸显出流体参数控制的质量^[1]。同时, SFC 技术可进行药性和药物成分的分析, 并且拥有扩散速度快、黏度小的优势, 可弥补传统检测的问题。

1 超临界流体色谱仪基本特点

现阶段超临界流体色谱仪的生产厂家为 WATERS (美)、Thar (美), 技术汇总了超高效液相色谱法 (Ultra Performance Liquid Chromatography, UPLC) 的技术优势, 并在 2 μ m 的填料支持下实现检测与分析。其中, 系统可借助一组简单的命令, 就可在 6 根色谱柱进行切换作业。目前, SFC 检测系统采用了二极管阵列检测器 (DAD), 仪器本身就有较好的灵敏度和辨识度。总之, SFC 色谱法可在确定气相、固定相要求的过程中进行分离与检定。同时, 固定相也能分析出聚糖大分子、大环抗生素的构成情况^[2]。李东艳学者在多糖固定相分离了多种化合物, 这些化合物具备较好的识别效果, 识别时间相对较短 (600s 以内), 但要注意根据手性物质的特点进行区分, 确保改性剂处理较好合适的比例当中 (可识别乙醇、异丙醇物质)。

2 超临界流体色谱法在中药及天然产物的分析

超临界流体色谱法在国外应用相对广泛, 但 SFC 技术在中成药的分析、识别相对较少。其中, 中药大多为天然产物, 活性相对较高, 气相色谱法 (GC) 应用相对受限, 原因是 GC 技术高温状态下会导致中药中的有效成分失效, 不利于天然物质的分析; HPLC 技术会使用有机溶剂, 包括甲醇、

乙腈及其混合物, 这些物质混合时很难彻底去除有机物质, 增加了废水处理的难度。SFC 技术所采用流动相的主要气体为二氧化碳, 二氧化碳并不会污染空气, 容易在特定要求下实现分离和清除, 有利于中药的分离与纯化过程。Mónica R 学者提出 SFC 技术可用于分析具有抗菌效果的中药, 比如麝香草酚, 期间也要分析温湿度、压力变化、改性剂使用对药麝香草酚萃取物的影响, 提升 SFC 技术的分离质量。Vicmr Abrahamsson 学者采用了 SFC 技术, 期间联合使用了碳 18 和 2-乙基吡啶柱材料, 600s 内就分离了栅藻中的多种胡萝卜素。

国内在 SFC 中药分离过程也进行了一定研究, 如袁洪波学者利用填充柱 SFC 技术, 该措施分离了延胡索乙素和原阿片碱, 达到了中药生物碱的分离作用。其中, 用乙基吡啶柱分离了延胡索乙素、二醇柱分离了原阿片、氰基柱分离了原阿片碱生物碱。当使用乙基吡啶柱进行分离处理时, 不同生物碱的峰形相对较好, 但由于固定相中含有碱基, 可被应用于碱性化合物的分离过程, 完成分离处理后, 工作人员需要选择高质量的乙基吡啶进行生物碱的分离过程。杨敏学者在分析厚朴、吴茱萸、木香的有效成分时, 采用了 SFC 分离模式来确定中药的活性成分及有效成分, 比如当使用 Kroma silica 模式时, 流动相含有 5% 的甲醇和二氧化碳, 其波长指标为 294nm; 当使用 Kroma sil silica 模式时, 选择流动相为 13% 的甲醇及二氧化碳, 检测的波长指标为 225nm。所以, 使用 SFC 技术对中药有效成分进行分析, 确定中药的中药成分, 可提高整体分离过程的速度, 并且具备重复性、稳定性好的优势。在吴茱萸、木香中药有效成分评估中, 杨敏学者还发现利用 SFD 技术来分析抗生素的成分, 比如可分析阿司匹林、咖啡因、乙酰氨基酚的含量, 也具有较好的

效果后,其中 5rain 就可实现整个检定过程。

3 手性药物分析的应用

手性药物一般从天然的产物提取,在临床医学的应用也相对广泛,不同手性药物的药效也相对不同。其中,手性药物具备以下几方面的特点。首先,手性药物的药理成分与映体大致相同。其次,不同映异构体药理活性与药物药性强度关系也有一定关系。再者,映体本身的药理活性相对较好,但一种映体只有一种药效。最后,映体药理成分不同,这也是影响消旋体药物不良反应的主要原因。相关统计显示,当手性药物进入人体后,天然物质会在人体体内进行化学反应,并在吸收、药物分布、药物代谢的基础上排出毒素,可凸显出药物本身的立体选择性。目前,SFC 技术已成为分析手性药物结构异构情况的主要方式,对评价药效具有重要的意义。其中,金薇利用了 Chiralcel OD 色谱柱对手性药物的性能展开了分析(规格为 250mm×4.6mm×10μm),流动相超临界二氧化碳——0.1%的甲醇和三氟乙酸混合液(混合比例为 78:22)作为流动相,确保背压指标为 13.8MPa 左右,可作用于控制 244nm 波长的离阿托伐他汀钙药品。调查后发现,阿托伐他汀钙及其映体可在 300s 完全析出,此时分离高度可超过 4.0。

邸士伟借助超临界流体色谱法模式分析奈必洛尔的中间体物质,期间可利用超临界二氧化碳—甲醇润和大赛璐的模式分析物质性能(选用仪器为 Chiralpak IG,规格为 150mm×4.6mm,5μm),发现手性色谱柱可直接分离手性中间体物质。谢依棋在分析超临界流体色谱时,比较了 HPLC 和 SFC 的应用优势,发现运用 Chiralpak AD-H 色谱柱,能够让检测的物质更为精准,期间发现混合物中含有 0.2%的三氟乙酸和 0.1%的乙醇胺,两者的比例应当控制为 90:10,流动相的检测波长都为 280nm。在 Zhenyu Wang 的研究中,使用了填充柱 SFC,发现 12 分钟内可同时分离三种聚合物,且手型固定相分离效果较好。比如肾上皮质激素类药物手性化合物的分析中,评估糠酸莫米松的时间低于 HPLC 技术。

总之,SFC 技术应用相对广泛,L.Toribio 学者分析了 SFC 和 HPLC 两种模式,分析了治疗溃疡药物的异构体情况,其中主要有奥美拉唑、雷贝拉唑等,要使用仪器对异构体实施分离处理,最终可发现 HPLC 技术仅能对奥美拉唑的异构体分离,但 SFC 可对两种药物进行分离。在 Gyllenhaal 的研究中,采用了填充柱 SFC 来研究布洛芬、酮洛芬等药物的 Chiralpak AD 柱洗脱顺序,最终发现控制改性剂的性能可逆转洗脱顺序。考察过程中,工作人员要确定符合要求的改性剂种类,分析影响改性剂的温度参数和压力指标,再根据不同化合物的分离因子和洗脱顺序确定手性化合物的性质。总之,改性剂支链醇类物质比常规物质更容易出现变形问题,如异丙醇的变形概率高于乙醇,这将导致洗脱顺序出现一定变化。

4 药物代谢产物的应用

药物代谢产物应用过程中,工作人员可根据药物的代谢情况选择 HPLC 技术或者是 SFC 技术,但 SFC 技术被广泛推广,这也导致代谢物的成品被逐渐发现。在朱健学者的研究中,发现实验白鼠小肠通过 UPC 的方式,能够吸收异甜菊醇钠

物质,在试验过程中要采用型号为 ACQVITYUPC2TMBEH 的色谱柱,其规格为 100mm×3.0mm,1.7 μm。假如采用流动相 A(A 为 CO₂),流动相 B 采用浓度为 1.5%的甲酸甲醇进行洗脱处理,控制实验时间在 7min 左右,可控制检验周期在限定范围之内,也能提高检测的灵敏度。Mariosimone 学者的分析中,建立了以 SFE-SFC-MS 为主体的在线检测方式,该方式可评估出样本中的类胡萝卜素含量。在此过程中,工作人员要参照相关标准进行离子扫描,最终发现改进的措施对评价与米黄素、β-胡萝卜素具有较好的效果。在 Solfrid 学者的研究中,采用了 UHPSFC-MS 对血清中的映体进行定量分析和分离监控,试验中要使用 UPC Trefoilcel 2 色谱柱来分析流动相,流动相使用二氧化碳和醋酸铵甲醇溶液的混合溶液(溶液比例为 70:30,溶液剂量为 10mm)持续运行 4 分钟后,发现装置的线性范围在 5~500nm 之间,能够将 RSD 控制在 3.4%~4.5%之间,代谢回收率在 82%以上。Wei Ping Wang 学者构建了一个相对简易、高效的模式,可在 SFC 技术的支持下确定尼莫地平的特征。其中,要使丙酮沉淀蛋白质,提取血浆中的分析物,将尼群地平作为内标物。期间,工作人员要使用 Acquity-EP 色谱柱,此时发现仪器可在 1.5ml/min 的流速实现洗脱。在多重反应监测的支持下,发现尼莫地平的指标由 z419.5 变为 301.4,此时转变的效果相对较好。在 YunshengHsieh 学者的研究中,他使用了 APCI 和 SFC 技术模式来确定氯氮平的稳定性,分析过程中要尽可能确保方法的精密度和耐用性,最终发现 60s 以内可完成药物的分析处理。相关试验也发现,运用 SFC-MS/MS 技术模式,可分理处多种雌激素代谢物质。

5 超临界流体色谱法在中药成分的分析应用

SFC 技术是现代色谱技术的一种,所以该技术可推动中药现代化的建设。在此过程中,工作人员已经初步对中药的成分进行了分析,并在有效提纯下测定了中药的含量。期间,SFC 技术可利用通用的 FID 检测器来分离、鉴别中成药的实际情况。野甘菊中小白菊内酯是中药的主要成分,故可利用 SFC 技术确定短暂的分析模式。要注意的是,大多数中药会含有部分糖类物质,在中药的分析过程中,工作人员需要及时处理药物中黏性物质,可避免中药处理对大气的污染现象。所以,SFC 技术可分析出中药的基础成分,并在药材的清洁处理下提高成分分析的质量,也能确定出不同药物的含量基础。

结束语

综上所述,超临界流体色谱法测定技术是药物分析过程重要的分析措施,能够被广泛应用至药物分析、检定过程中,目前在多个领域都得到了广泛的应用。由此可见,合理使用 SFC 技术,选择高性能的仪器设备,细化 SFC 药物的研究工作。要注意的是,即使超临界流体色谱法不可全面替代传统药物检测模式,但该技术可作为药物分析的补充手段,可改善 HPLC 技术的不足之处,提高药物分析质量。

参考文献:

- [1] 赵敬丹,刘浩.超临界流体色谱法测定利福昔明及其制剂的杂质谱[J].药物分析杂志,2021,41(10):1806-1811.
- [2] 田茂英,万宏剑,唐丽莉,郭天,杨新磊.超临界流体色谱分析苯茵灵准确含量的可行性探索[J].现代农药,2021,20(05):19-22.