

高效液相色谱法在药品检验中的应用效果观察及有效性分析

张玉纯¹ 张冠宇¹ 王根平²

(1 滕州市综合检验检测中心 山东省滕州市 277599; 2 枣庄市山亭区市场监督管理局 山东省枣庄市山亭区 277200)

摘要: 本文主要对高效液相色谱法在药品检验中的应用效果观察及有效性进行了研究,介绍了高效液相色谱法,分析了高效液相色谱法在药品检验中的具体应用方向,并以试验分析的方式研究了高效液相色谱法在药品检验中的应用效果及有效性,提出了高效液相色谱法的发展前景。

关键词: 高效液相色谱法; 药品检验; 应用效果; 有效性

一、前言

在国民经济不断发展以及国家医疗服务水平持续提高背景下,社会大众越来越关注药品的安全、可靠性、质量及有效性,为尽量降低医药安全事故发生几率,需要加大药品质量把控力度,做好药品检验工作。在药品研发流通及使用等全生命周期都贯穿着药品检验工作,所以药品检验技术优劣会直接影响着药品质量把控效果和医药行业的发展。近年来药品检验技术不断完善与优化,在此期间,高效液相色谱法应用范围持续扩大。在药品检验中,高效液相色谱法属于一种常用方法,是基于经典液相色谱法逐渐衍生出的新型色谱法,具有周期短、分离效率高、灵敏度高等特点,有助于提升药物质量控制效果。所以,下文着重对高效液相色谱法在药品检验中的应用效果进行观察,并分析有效性。

二、高效液相色谱法的概述

高效液相色谱法源自 20 世纪 60 年代末 70 年代初,属于一种快速、高效的新型药品分离分析技术,既可用于常规药物检测,也能用在高分子、对热不稳定以及难挥发药物等检测中,可有效弥补气相色谱法应用中的缺陷,使色谱法更广泛、深层次的应用在药品检验领域。

高效液相色谱法涵盖了离子交换色谱法、分子排阻色谱法、吸附色谱法、分配色谱法等,目前在药品检验方法中应用最普遍的高效液相色谱法主要是分配色谱法^[1]。高效液相色谱法集中了液相色谱法、气相色谱法相关分析分离原理,体现出适用性好、分析速度快、灵敏度高、分离效能高等优点。《实用药品检验技术》提出高效液相色谱法这种药品检验方法具有快速分析、灵敏度高、选择性高等特征,并可对物质实现可靠的检测,还能准确确定含量,所以在医药研究领域,高效液相色谱法属于一种有效的检验工具,在临床药物检测、手性药物分析、抗菌药作用分析、天然药物检验等方面具有重要作用。而且高效液相色谱法不仅能够相对准确、高效的测定药品含量,还有助于提升药品回收率,使药品应用更加环保、安全。

高效液相色谱法应用中,需要用到细内径柱子和细粒径填料,同时固定相颗粒度大小直接决定着色谱柱性能,色谱柱的分离效率及速度会随着颗粒度的增大而逐渐减小。在高效液相色谱法应用中,为尽量提升灵敏度以及分离效能,要具备以下条件:①填料主要选择新型色谱填料,在杂化颗粒技术应用下,使颗粒粒径保持在约 17 μm;②若色谱柱的长度比较长,为确保流速达标,需选择高效液相色谱输液泵;③为使检测器能够大量捕捉色谱分类数据,需配合使用高效液相色谱高速检测器,保证所得峰面积更多;④高效液相色谱法应用中需要用到自动进样器,以保证进样速度加快,缩短进样周期,避免在高效液相色谱法应用中使检测结果受到极端高压波动干扰^[2]。

三、高效液相色谱法在药品检验中的应用

1、用于测定药品含量

通过高效液相色谱法可测定原料内不同成分以及不同杂质的含量,尤其是对于酰胺类化合物等遇水化学性质不稳的物质,可相对可靠、准确、快速的获得检测结果。在不同药品中应用此技术,

有着不同的操作流程,像在测定四环素类抗生素期间,要在高效液相色谱法的应用下,对四环素类抗生素实现组分分离;而在吡罗昔康检测中,为使溶液进一步增强溶解性和稳定性,保证检测准确,要先配置盐酸甲醇溶液(0.01mol/L);而针对盐酸萘甲唑啉鼻用剂型凝胶进行盐酸萘甲唑啉含量测定过程中,需先从凝胶当中分离出高分子物质,在此过程中要通过乙腈析出,防止液相柱受到高分子物质的影响,保证检测结果可靠^[3]。

2、用于检查有关物质

在对药物生产制造、运输及使用期间所产物质进行检查期间,也可应用高效液相色谱法。一般在此期间所产物质含量比较少,为防止相关物质影响药品使用安全性,要做好有关物质检查工作。因为高效液相色谱法灵敏度极高,即便相关物质含量非常小,也能保证所得检测结果是准确的。像盐酸特拉唑嗪片制备及使用期间,可通过高效液相色谱法实现检测,并能达到 0.05U μg/mL 的检测精度,而在常规检测法应用中,检测精度只能达到 0.025mg/mL。

3、用于检验中药成分

近年来中药产业快速发展,在此背景下要高度重视控制中药质量。中药药物成分比较复杂,其可能包含多种微量元素还有有机成分,以往在检测中药成分期间,主要会选择薄层色谱法,不过此方法应用中具有一定实验难度,同时外界环境因素也容易影响实验,导致检测结果不准。而在中药成分检测中用高效液相色谱法替代薄层色谱法,可使所检测结果更加可靠准确,并且技术应用更加便捷,操作也更加简单。

4、用于检验抗生素类药物当中的聚合物和降解产物

在抗生素类药物检验过程中,也能利用高效液相色谱法。目前在临床中广泛应用抗生素类药物,但此类药物应用中会伴随一些不良反应,而出现此类问题,主要原因就是抗生素类药物的生产原料当中包含杂质。为尽量消除或者是减少抗生素类药物应用中出现不良反应,要严格控制原料杂质。根据有关研究,通过应用高效液相色谱法,可在较短时间之内将原料内的聚合物和降解产物等杂质分离出来,针对性的采取限量控制措施,使抗生素类药物充分发挥其药效,尽量降低不良反应发生几率^[4]。

四、高效液相色谱法在药品检验中的应用效果观察及有效性分析

接下来,本文以试验分析的方式探究药品检验中高效液相色谱法的应用效果和有效性。

1、材料和方法

(1) 材料、仪器与试剂

检验所用药物主要选自某医院的银杏黄酮类药物,以高效液相色谱法为检验方法的为 A 组,以薄层色谱法为检验方法的为 B 组。所用试剂有甲醇、重蒸水、磷酸、银杏叶提取物、黄酮醇苷元鞣皮素对照物。检验仪器有积分仪、常规脱气机、高效液相色谱仪、紫外检测器、10 μl 的定量管还有色谱柱(尺寸为 10 × 250mm; 粒径为 5 μm, 孔径为 120Å)。

(2) 样品制备

在 40mL 的甲醇溶液中加入 0.2g 的银杏提取物,摇匀混合并充

分溶解,之后加入 45mL 的 1.5mol/L 盐酸溶液,继续摇匀混合,在水浴锅(37℃)内加热约 110min,将标本取出,冷却之后放入容量瓶(50mL),甲醛定容以备后用。

(3) 方法

在通过薄层色谱法进行检验期间,首先取出 0.2g 的样品进行薄层板的制备,具体是在研钵当中放入一份固相和三份水,研磨并混合均匀,将表层气泡去除之后,倒到涂布器内,平稳的涂布于玻板上,涂布厚度约 0.25mm,之后将玻板取下,放于水平台,在室温环境下晾干,后放入放有干燥剂的干燥箱以备后用。之后进行自动点样,在半自动点样仪的利用下,于室内完成点样的薄层板中放入适量的展开剂,盖上室盖并密封,之后晾干薄层板,使其展开至约 13cm,检测中按照展开因素,在试剂显色法的利用下显色薄层板,期间充分利用显色剂硫酸溶液,对所得比值和对照物比值进行对比,用以鉴别药品。

在通过高效液相色谱法进行药品检验期间,先准备好流动相,取 0.2g 的样品,将甲醛混入到 0.4%磷酸溶液内,保持 45:55 的溶液比,设流速为 1.0ml/min,柱温约 26℃,进样体积是 10 μ l,波长是 360nm,随后按规定步骤进行药品检验。

(4) 观察指标

对比 A 组和 B 组对异鼠李素、山奈素、槲皮素的分离率及纯度,并比较山奈素回收率。

2、应用结果

(1) 对比异鼠李素、山奈素、槲皮素的分离率及纯度

A 组和 B 组对异鼠李素、山奈素、槲皮素的分离率及纯度可见表 1。结合表中数据,可发现用高效液相色谱法进行检验的 A 组其对异鼠李素、山奈素、槲皮素的分离率及纯度都明显超过用薄层色谱法进行检验的 B 组。

表 1 A 组和 B 组对异鼠李素、山奈素、槲皮素的分离率及纯度/%

药品	指标	A 组	B 组
异鼠李素	分离率	98.79	89.78
	纯度	99.99	90.01
山奈素	分离率	98.68	92.23
	纯度	99.97	90.19
槲皮素	分离率	98.69	89.62
	纯度	99.85	90.08

(2) 对比山奈素回收率

用高效液相色谱法的 A 组对山奈素有约 98.61%的回收率,而用薄层色谱法的 B 组对山奈素仅有约 88.92%的回收率, A 组明显高于 B 组。具体如表 2。

表 2 A 组和 B 组的山奈素回收率对比

组别	添加量/mg	检测量/mg	回收率/%
A 组	2.0	1.96	98.61
B 组	2.0	1.77	89.10

3、效果分析

高效液相色谱法也被称作是高压液相色谱法或者是高分离度液相色谱法,主要原理是通过高压输液系统将单一溶剂或者是混合溶剂装入固定相色谱柱当中实现分离,然后放置于检测器当中进行检测,并展开样品分析。高效液相色谱法其应用原理和经典液相色谱法基本一致,不过高效液相色谱法充分利用了灵敏度较高的检测仪器和高压输液泵,因此相比于经典液相色谱法,其在使用中更具准确性。通过高效液相色谱法进行药品检验,表现出的特征有:①高压。运用此方法,主要将液体当作流动相,流动相在流经色谱柱

过程中会面临较大阻力,为顺利通过色谱柱,要适当调高载液压力;②高速。运用此方法进行检验期间,分析速度以及载液流速都比较快,一个样品的检验分析时间少则 15min,多则 30min;③高效。在此方法应用中,分离效能比较高,通过充分应用固定相以及流动相,可得到较好的分离效果;④高灵敏度。在此方法应用中,进样量能够达到 μ l 数量级,而且紫外检测器能精准到 0.1ng。

上文研究中,分别通过高效液相色谱法和薄层色谱法对异鼠李素、槲皮素以及山奈素进行分离度以及纯度检测,发现通过高效液相色谱法进行药品检测,所获得的检验结果更加准确,有助于提升分离效果以及回收率。所以,通过高效液相色谱法进行药品检验,能使检测速度更快,检测结果更准,可使提取物纯度更高,并有助于产品回收,因此在药品检验中应用高效液相色谱法具有良好的效果。和薄层色谱法相比,可切实提升对异鼠李素、山奈素以及槲皮素的纯度、分离度,而且山奈素回收率也更高,值得广泛推广应用。

五、高效液相色谱法的发展前景

在药物检验过程中,高效液相色谱法属于一种主要技术,经过不断研究与发展,已获取很大进步。近年来,高效液相色谱技术不断创新,研发出多种新技术,包括:①快速高效液相色谱技术,此技术是基于高效液相色谱技术优化了色谱参数,并升级和改造了柱子,使柱子具有更强的耐高压性能,并提升柱效,使技术应用更加高效、迅速,减少检测时间;②高效液相色谱-质谱联用技术,此技术主要是在液相色谱技术当中联合运用质谱仪,从而对复杂的有机混合物实现高效分离,在质谱仪的利用下进一步提升组分鉴定能力;③高效液相色谱法-蒸发光检测技术,此技术可对以往含发色团相关化合物检测范围受限问题加以解决,使技术应用范围更广^[5]。在高效液相色谱技术日渐成熟以及广泛应用背景下,药物检测技术也将有更大的发展空间,并推进现代分子药理学以及分子生物学双向发展,使其在多方面都加速融合。色谱法技术的发展也能为其他相关技术发展带来积极影响,在理论不断融合及相互交错过程中,会衍生出新的思想与方式,在不断创新中增强药品检测行业的发展动力。

六、结束语

在制药产业迅速发展背景下,要不断加强药品质量检验,而为提升药品检验质量及效率,需要积极应用高效液相色谱法,利用该方法的优势和特点,有效控制检验误差,保证检验结果更准确、有效,防止不合格药品流入市场。在未来药品检验领域发展过程中,还要高度关注检验技术研发与创新,在技术支持下推进健康产业

参考文献:

- [1]赵开军,刁和芳,王海丽.葛根超高效液相色谱指纹图谱研究[J].国际中医中药杂志,2021,43(12):1219-1225.
- [2]杨献玲,王海洋,姜泽.高效液相色谱法测定心可舒胶囊中丹酚酸 B 的含量[J].中国药品标准,2020,21(06):567-570.
- [3]聂忠莉,曾胜莉,王晓玲等.高效液相色谱法测定他达拉非中 11 个杂质[J].成都大学学报(自然科学版),2021,40(04):351-354.
- [4]于晓燕,解春文,吴晓东等.丙酮溶液衍生化-高效液相色谱法测定地拉罗司中 4- 胍基苯甲酸含量[J].药物分析杂志,2021,41(12):2102-2106.
- [5]徐硕,金鹏飞,徐文峰等.高效液相色谱检测中成药及保健品中非法添加 14 个降血脂类化学药物的研究[J].药物分析杂志,2020,40(12):2209-2220.

作者简介:张玉纯,1998.4-,女,汉,籍贯山东省滕州市,学本科,药师,单位滕州市综合检验检测中心。