

药物分析中的生物样品前处理概况

郑秀丽¹ 孙姗姗²

(齐鲁制药有限公司)

摘要：药物分析中的生物样品前处理是确保产品质量和安全性的关键环节。药物分析人员需要在样品收集、保存、提取和净化过程中遵守严格的操作规程，确保样品的可追溯性和准确性。在样品提取和净化过程中，需要选择适当的方法，并确保提取效率和选择性。同时，药物分析人员也需要遵循实验室操作规范和相关法律法规要求。通过合理地进行生物样品前处理，药物分析人员可以确保药物分析结果的准确性和可靠性，从而保证产品质量和安全性。

关键词：药物分析；生物样品；前处理

药物分析中的生物样品前处理对于确保药物产品质量和安全性至关重要。药物分析人员需要遵守严格的操作规程和法规，以确保生物样品前处理的准确性、可靠性和可重复性。通过合理的样品收集、保存、提取和净化过程，药厂可以减少干扰物质的影响，提高目标分析物的测定效率和选择性。这不仅有助于药物的安全性评估和药效学研究，也对药物代谢动力学等方面具有重要影响。因此，药物分析人员在生物样品前处理中的严谨和质量控制是确保药物分析结果准确性和产品质量的关键因素。

一、药物分析中的重要性和目的

首先，药物分析的重要性在于确保药物产品的质量和安全性。通过对药物样品进行分析，可以确定活性成分的含量、纯度和稳定性，以确保药物的治疗效果和安全性符合预期。药物分析还可以检测和识别可能存在的杂质、有害物质和不良反应产物，以及评估其对患者健康的影响。

其次，药物分析的目的之一是支持药物研发和优化制剂工艺。通过分析药物样品，可以了解药物的理化性质、药代动力学特征和体内转化情况，为制定合理的药物配方和制剂工艺提供依据。药物分析还可以评估药物的稳定性和贮存条件，以确保其在制剂期间和使用过程中的质量和效力不受损害^[1]。

此外，药物分析也用于药物监管和合规性审查。药物监管机构通常要求药物研发机构提供详细的药物分析数据，以证明药物的质量和符合法规要求。药物分析可以提供准确的质量控制数据，确保药物的一致性和符合批准标准，同时也可以帮助发现潜在的质量问题和改进生产工艺。

二、生物样品前处理在药物分析中的作用

生物样品前处理在药物分析中起着至关重要的作用，其主要目的是为了提取和净化目标分析物，并消除样品中的干扰物质，以确保准确、可靠地测定药物成分。以下是生物样品前处理在药物分析中的几个关键作用：

(一) 分离和富集目标分析物

生物样品通常包含多种复杂的化合物，例如血浆、尿液和组织等。通过前处理步骤，可以有效地将目标分析物从样品基质中分离出来，并进行富集，以提高其检测灵敏度。

(二) 消除干扰物质

生物样品中可能存在许多干扰物质，如代谢产物、蛋白质、盐类等。这些干扰物质可能会干扰目标分析物的检测，降低方法的选择性和准确性。通过适当的前处理步骤，可以去除或减少这些干扰物质的影响，从而提高目标分析物的测定精确度和准确度。

(三) 样品预处理和稳定性保护

某些生物样品在采集、存储和运输过程中可能发生降解、变化或失活。合适的前处理方法可以在采样后立即进行样品预处理，以

保护目标分析物的稳定性，并避免潜在误差的引入。

(四) 增强分析灵敏度

生物样品通常中目标分析物的浓度很低，难以直接检测。通过前处理步骤如萃取、浓缩等，可以将目标分析物的浓度提高到合适的量级，以便于后续的分析操作，从而提高分析的灵敏度。

(五) 减少基质效应

生物样品基质可能对分析仪器产生影响，如引起色谱柱堵塞、干扰峰的产生等。适当的前处理步骤可以减少这种基质效应，提高仪器的稳定性和分析结果的准确性^[2]。

三、药物分析中的生物样品前处理概况

(一) 采集样品

根据分析目的和要求，确定需要采集的样品类型，如血液、尿液、唾液、组织等。确保选择的样品类型适合所需的分析方法。选择适当的采集容器，确保容器干净、无污染，并符合分析要求和标准。常见的采集容器有试管、离心管、尿杯等。在采集样品之前，应遵循特定的前处理步骤。例如，对于血液样品，可能需要在采集前清洁采集部位，使用无菌消毒剂进行皮肤消毒等。根据样品类型和分析要求，选择合适的采集方法和技巧。例如，静脉血采集可以采用针刺法，尿液采集可以采用中段尿或 24 小时尿的收集方法。

同时，在采集过程注意事项：

注意个人卫生，佩戴手套和口罩，以防止交叉污染。避免样品污染，确保采集容器的密封和无污染。按照采集方法和要求进行采集，避免误操作或错误采集。及时将采集的样品放置在适当的保存条件下，如冷藏、冷冻或添加保存液等。如果需要运输样品，请选择合适的运输方式和包装，以确保样品的完整性和稳定性。

(二) 预处理步骤优化

确定最佳离心速度和时间，以使得离心过程中的样品分层更完整。根据样品中的悬浮物或沉淀物的特性，选择合适的离心管和转数器，以便有效地分离目标物。

根据需要选择适当的蛋白质沉淀剂，如酸性有机溶剂、盐类等，并确定最佳添加量。调整沉淀条件，例如 pH 值、温度和反应时间，以提高蛋白质沉淀的效果^[3]。

对于固相萃取，选择适当的固相萃取柱和吸附剂，并优化样品的洗脱条件，以提高目标物的回收率和纯度。对于液液萃取，调整相间系数、萃取剂的选择和比例，以及摇床的运行参数，以提高目标物的分配系数和提取效率。

调整样品的 pH 值，以便在后续处理步骤中改善化合物的稳定性或溶解性。控制样品的温度，避免样品中的热敏化合物的降解，或者利用适当的温度条件促使反应的进行。添加适当的稳定剂，以保护目标物不受外界因素的影响，如光、氧化等。

根据分析要求，平衡目标物的回收率和样品的净化程度。有时，

为了提高回收率,可能需要牺牲一部分纯度;而在一些情况下,为了提高纯度,可能需要降低回收率。

对于每一个预处理步骤,设计实验来系统地评估和优化不同参数的影响。进行数据统计和分析,确定最佳操作条件和参数范围。重要的是要根据具体的样品类型和分析要求进行优化,同时参考相关文献、方法指南和专家建议,进行适当的验证和验证实验,以确保优化后的预处理步骤能够在药物分析中提供可靠和准确的结果。

(三) 提取和清洗方法选择

注意提取方法的选择,液液萃取适用于水溶性化合物和脂溶性化合物的提取。根据目标化合物的极性选择合适的有机溶剂,如乙醚、甲醇、氯仿或丙酮。还可以添加盐来调节溶剂的极性。固相萃取(SPE)适用于复杂基质中目标化合物的富集和净化。根据目标化合物的特性选择适当的SPE柱和吸附剂,如C18、C8、弱阳离子交换柱或疏水性吸附剂。此外,考虑样品基质的pH值和溶剂体系的优化以提高回收率和选择性。固相微萃取(SPME)是通过固定在纤维上的吸附剂来富集挥发性和半挥发性化合物。选择合适的SPME纤维类型,如DVB/CAR/PDMS、PDMS/DVB、CAR/PDMS等,并优化提取时间和温度以增强化合物的富集效果。

注意清洗方法的选择,液液清洗是使用适当的溶剂进行反复洗脱,去除非目标化合物和干扰物。根据样品基质的特性,选择合适的洗脱溶剂如水、酸、碱或有机溶剂,并考虑调整洗脱液的pH值和浓度。固相吸附剂清洗是使用固定在柱上的吸附剂进行反复洗脱,去除干扰物。选择适当的吸附剂如活性炭、硅胶、沉淀钙等,并确定最佳的洗脱溶剂来提高净化效果。

调整样品的pH值可以改变化合物的电离状态和极性,从而会影响其相互作用和提取效率。根据目标化合物的酸碱性质和分析要求,适当调整样品的pH值。例如,对于一些酸性化合物,可能需要添加酸来降低pH值以增加它们的溶解度。

如果样品中存在大量的干扰物或基质干扰较强,可能需要进行多步清洗以去除干扰物,并进一步浓缩目标化合物。可以使用不同的溶剂体系和技术,如液液萃取、SPE或固相微萃取等,并调整洗脱和浓缩的条件。

在选择提取和清洗方法时,应参考相关的文献、方法指南和标准操作规程。进行验证实验并比较不同方法的效果,以确保所选方法能够提供准确且可重复的结果^[4]。此外,还可以借鉴其他相关研究和专家意见,以优化提取和清洗的步骤和参数。请注意,在实际操作中,根据具体的样品类型、目标化合物的特性和分析要求,以及公司或实验室的操作规程,选择合适的提取和清洗方法,并进行相关验证和优化,以确保药物分析过程的准确性和可靠性。

(四) 质量控制与验证

使用适当的标准物质作为对照品,进行制备样品的检测,同时确保分析方法的准确度和精密度,以达到质量控制的目的。根据分析要求和目标化合物的特性选择合适的标准物质,并使用已知浓度的标准品来验证样品制备过程的准确性。

通过制备多个复制样品并进行重复测试,评估样品制备过程的可重复性。计算得出相对标准偏差(RSD)等参数,以确定样品制备的精密密度。

利用一系列已知浓度的标准溶液构建标准曲线,以确定未知样品中目标化合物的浓度。选择合适的浓度范围和间距,使得标准曲线能够覆盖目标测量范围。验证标准曲线的线性范围、灵敏度和准

确性,并评估回归方程的可靠性和稳定性。通过计算线性相关系数(R)、斜率和截距等参数,判断标准曲线的拟合度和可靠性。

验证使用的分析方法的准确性、精密密度、选择性、灵敏度和线性等重要参数。根据国际准则(如ICH指南)或行业标准,进行相应的验证实验。进行方法比较和交叉验证,与其他可接受的方法进行比较,以确定方法的准确性和一致性。常见的方法包括平行测试、样品互换和统计分析等。

准备不同浓度的质量控制样品,用于监控分析的准确性和精密密度。根据实验室内标准操作程序(SOP)或相关法规,确定合适的QC水平和范围。在每个批次样品的分析中包含QC样品,并计算回收率、稳定性和精密密度等参数。通过比较QC结果与预定的标准值或接受标准,评估分析过程的可控性和分析方法的有效性。

评估仪器系统的适用性,包括仪器的灵敏度、分辨率和重现性等因素。对新引入的仪器或已有仪器进行验证和确认,并确保其满足分析要求和标准规定的要求。检查样品在不同条件下(如温度、光照、湿度)的稳定性,以确定样品在实际储存和运输过程中的可靠性。进行加速稳定性试验和真实样品的长期稳定性评估^[5]。

实施实验室内质量控制程序,例如参加外部质量评估计划(EQAS)或内部质量评估(IQA),以评估实验室分析结果的准确性和精密密度。定期进行仪器校准和维护,并确保仪器的正常运行。制定标准溶液的制备和管理程序,确保标准物质的纯度和浓度。

对数据进行统计分析,包括均值、标准偏差、变异系数等,以评估结果的可靠性和一致性。使用合适的统计方法来分析数据,如t检验、方差分析和回归分析等。审查和验证实验数据,确保结果符合分析要求和方法规定的准确性和精密密度要求。识别异常结果和离群值,并进行原因分析。确保记录完整、准确和可追溯。

以上是质量控制和验证的一些常见内容。在药物分析中,正确执行质量控制和验证步骤是确保分析结果可靠和准确的关键因素。根据具体实验室和分析要求,可以根据需要进行额外的质量控制措施和验证步骤。

结语:

生物样品前处理在药物分析中的关键作用是从复杂的生物样品中提取和净化目标分析物,消除干扰物质,保护样品稳定性,并提高分析灵敏度和准确性。作为药物分析人员,我们需要掌握前处理技术和方法,了解样品特点和处理要求,严格按照规范操作,以确保药物分析结果的可靠性和合规性。通过优化前处理步骤,我们能够获得可信的药物成分分析数据,为药物研发、生产和监管提供必要的支持。

参考文献:

- [1] 英世明,杨兴东,乔俊琴等.环境生物样品中精神活性物质检测样品前处理最新进展[J/OL]. 贵州师范大学学报(自然科学版):1-7[2023-09-17].
- [2] 李建敏. 限进介质—分子印迹材料的制备及其在生物样品前处理中的应用研究[D]. 北方民族大学,2021.
- [3] 孙维维,罗爱芹,戴荣继等.小型化生物样品前处理装置的开发及性能研究[J]. 生命科学仪器,2019,17(03):41-46+34.
- [4] 傅寅旭,费鑫杨,张俊等.磁性有机骨架材料在生物样品前处理中的应用进展[J]. 山东化工,2019,48(11):30-33+35.
- [5] 傅寅旭,许雨熙,诸葛黔等.金属有机骨架材料在生物样品前处理中的应用进展[J]. 材料导报,2019,33(S1):408-411.