

高效毛细管电泳在药物分析中的应用

刘志松

(沈阳药科大学 沈阳 110015)

方肇伦

(东北大学化学系 沈阳 110006)

摘要 对高效毛细管电泳 (HPCE) 在药物制剂及原料药分析中的应用 (测定药物中主成分及杂质含量; 手性药物拆分; 微量制备及成分鉴别等) 作一综述, 并用表 1, 2 列出了部分应用实例。

关键词 高效毛细管电泳, 药物分析

1 前言

高效毛细管电泳 (HPCE) 是样品中各组分以高压电场为驱动力, 在毛细管中按其淌度和分配系数不同进行高效、快速分离分析的一种新技术。80 年代问世以来^[1], 由于它具有高效 (理论塔板数大于 10^5)、快速 (分析时间不超过 40min)、进样体积小 (一般为 nL 级) 和溶剂消耗少等优点, 得到了迅速的发展, 在化学、生命科学和药学领域都有广泛的应用。Altria^[2] 对药物制剂分析、孙增培^[3] 和 Thormann^[4] 对毛细管胶束电动色谱 (MECC) 在药物分析中的应用、Thormann 等人^[5] 对 MECC 在体液分析中的应用、Smith 和 Evans^[6] 对毛细管区带电泳 (CZE) 在药物分析中的应用均作过综述。本文对 HPCE 在药物制剂及原料药分析中的应用作一综述。

2 HPCE 在药物定量分析方法中的研究

高效液相色谱法 (HPLC) 具有高效、快速等特点, 在药物分析中具有重要地位。Steuer 等^[45]、Tsai 等^[58] 对 HPCE 和 HPLC 在药物分析中的应用作了比较, 得出的结论是: HPCE 具有更高的分离效率, 更短的分析时间, 更少的流动相消耗, 但检出灵敏度和精密度不及 HPLC。随着 HPCE 在定量方法及仪器方面的不断改进, 必将在药物分析中得到更为广泛的应用, 成为 HPLC 分析法的重要补充。

HPCE 定量分析过程与 HPLC 类似, 即根据药物的标准溶液测得的响应信号 (峰面积或峰高) 与样品溶液响应信号之间的关系来计算含量。在用 UV 检测器时, 响应信号的线性范围一般可超过 3 个数量级。但是, 在样品浓度高时会出现峰形畸变, 从而影响峰高的线性关系, 降低线性范围, 故一般采用峰面积定量^[70]。HPLC 的精密度比 HPCE 好, *RSD* 一般为 0.5%~1%, 而 HPCE 的 *RSD* 一般为 1%~

2%, 这主要是由于 HPCE 的进样重现性较差所致^[2]。在 HPCE 中最好采用内标法定量, 以提高测定的精密度^[71]。此外, 适当增加进样量也可获得较好的峰面积精度^[72]。

HPCE 所用分析时间一般为 10~40min。使用短毛细管柱可大大缩短分析时间。Altria^[40] 先后用标准长度和短毛细管柱分析提纯前的 Fluparoxan 原料, 结果 *RSD* 分别为 0.7% 和 1.1%, 后者分析时间缩短至前者的 1/4。

3 药物中杂质含量的测定

用 HPCE 测定药物中杂质含量时, 可由杂质的标准溶液与样品溶液中杂质的响应信号间的关系^[39] 或用峰面积之比来计算^[10]。后一种方法因不需要所有杂质的标准品, 因此应用更为广泛。在用峰面积之比表示杂质含量之前, 首先要对峰面积进行校正^[73], 否则会出现所测得的主成分前迁移的杂质含量偏低, 而后流出的杂质含量偏高的现象。

测量杂质含量时, 一般将检测限定为杂质与主成分峰面积之比的 0.1%。Swartz^[10] 报道了用 MECC 测定水杨酰胺中的杂质, 结果的相对标准差 *RSD* 约为 5%。Nishi 等^[46] 用 MECC 测定了地尔硫草片剂中的杂质。Pluym 等^[74] 采用 CZE、薄层色谱 (TLC) 和 HPLC 同时测定了 Domperidone 原料中的杂质, 所得结果基本一致, 并且用 CZE 还分离出一种用其它两种方法未分离出的杂质。

为检出峰面积之比小于 0.1% 的杂质, 首先将药物主成分峰调整至与仪器检测器相适应的范围, 然后增加进样量或提高样品浓度。尽管主成分峰超限, 但可检出含量更低的杂质。Dose 等^[71] 用此方法测定了雷尼替丁中峰面积之比为 0.02% 的杂质。

Altria^[39]采用外标法测定了硫酸沙丁胺醇原料中两种 0.02%(W/W)的杂质,线性相关系数为 0.999, RSD<5%,与 HPLC 和 TLC 测得的结果一致。

表 1 HPCE 在药物制剂分析中的应用

Table 1 Applications of HPCE in the analysis of pharmaceuticals and drugs

药物种类 Class	分析方式 Mode	样品 Sample	文献 Ref.
茶碱 Theophylline	MECC	人工合成样或制剂	test mixtures or formulation 7
儿茶酚类 Catechols	MECC	人工合成样	test mixtures 8,9
解热镇痛药 Analgesics	MECC	制剂或人工合成样	test mixtures or formulation 10~12
维生素 Vitamins	CZE 或 MECC	原料或人工合成样	drug substance or test mixtures 13~19
强啡肽 Dynorphin	CZE	原料	drug substance 20
抗疟药 Antimalarials	CZE	人工合成样	test mixtures 21
抗组织胺药 Antihistamines	CZE 或 MECC	制剂或人工合成样	formulation or test mixtures 21,22
5-羟色胺 Serotonin	MECC	人工合成样	test mixtures 23
非甾体抗炎药 NSAID	MECC	制剂或人工合成样	formulation or test mixtures 24,25
抗生素 Antibiotics	CZE 或 MECC	制剂或人工合成样	formulation or test mixtures 10,26~34
磺胺类 Sulfonamides	CZE 或 MECC	人工合成样	test mixtures 35,36
喹诺酮类 Quinolone	CZE	制剂	formulation 37
支气管药 Bronchodilators	CZE 或 MECC	原料或制剂	drug substance or formulation 10,38~42
违禁药 Illicit drugs	MECC	原料	drug substance 43
抗抑郁药 Antidepressants	CZE	人工合成样	test mixtures 44
特比奈芬 Terbinafine	CZE	原料	drug substance 45
苯噻氮草类 Benzodiazepines	CZE 或 MECC	制剂	formulation 46
肾上腺皮质激素 Corticosteroids	MECC	人工合成样	test mixtures 47
巴比妥类 Barbiturates	CZE	人工合成样	test mixtures 47,48
睾丸酮酯 Testosterone esters	MECC	人工合成样	test mixtures 49
抗溃疡药 Anti-ulcers	CZE	制剂	formulation 27,40,50,51
可待因 Codeine	MECC	制剂	formulation 52
Fluparoxan	CZE	原料	drug substance 40,53
胰岛素 Insulin	CZE	制剂	formulation 54
氨苯砞 Dapsone	MECC	片剂	tablets 55
氟尿嘧啶 Fluorouracil	CZE	人工合成样	test mixtures 56
双胍胺 Bis(amidinohydrazones)	CZE	人工合成样	test mixtures 57
Alendonate	CZE	片剂	tablets 58
依那普利 Enalapril	MECC	片剂	tablets 59
妥卡胺类 Tocainide	CZE	人工合成样	test mixtures 60
Dothiepin	CZE	片剂	tablets 61
氯化小檗碱 Berberine chloride	CZE	制剂	formulation 62
甾体类 Steroids	CZE 或 MECC	人工合成样	test mixtures 63
β -受体阻滞药 β -blockers	CZE	人工合成样	test mixtures 64
Sumatriptan	CZE	制剂或原料	formulation or drug substance 65
Ticlopidine	CZE	原料	drug substance 66
Quinobene	CZE	原料	drug substance 67
利尿剂 Diuretics	MECC	原料	drug substance 68
Fosinopril	CZE	制剂	formulation 69

4 制剂或原料药中主成分的测定

用 HPCE 测定制剂中药物的含量,如用 CZE 测定青霉素 G^[26]、西咪替丁^[50],用 MECC 测定感冒药中 12 种成分^[13]、维生素 B₆^[14]、苯海拉明和异丙

嗪^[22]、萘普生、布洛芬和舒林酸^[24]、新霉素^[28]等的含量,其结果均与标示量一致。

许多人用 HPCE 和 HPLC 同时测定药物如胰岛素^[54]、沙丁胺醇、叔丁喘宁和非诺特罗^[38]、Alendronate^[38]、去痛片和感冒灵中活性成分^[12]、Suma-

triptan^[65]、Fluparoxan^[53]、扑热息痛^[12]、Fosinopril^[69]、Domperidone^[74]等的含量,并取得一致的结果,但一般 HPCE 的精度不及 HPLC。

用 HPCE 分析成分复杂的样品时,如测定血样中头孢匹胺^[75]、尿样和糖浆剂中雷尼替丁^[27]等,无需前处理,可直接进样测定。

HPCE 不仅用于实验室的研究工作,近年来在工业生产中也开始应用。例如,用内标法监测注射剂中 Sumatriptan 的质量,结果的 $RSD < 1\%$;同时也用于注射剂的稳定性研究,其结果与 HPLC 一致^[65]。Altria 等人测定了 7 家公司生产的克仑特罗^[41]和扑热息痛^[12],对产品质量进行了评定。Flurer 等人^[31]测定了不同厂家的各种抗生素,并同时用微

生物法测定效价,发现含量与效价有很好的相关性。

5 手性药物分析

自 1985 年 Zare 及其合作者^[76]首次用 HPCE 拆分对映体以来,无论在理论研究还是在实际应用方面都有了很大的进步^[77]。用 HPCE 已成功地拆分了许多药物,详见表 2。除用环糊精(CDs)拆分绝大多数药物外,也可使用其它手性选择剂,如用胆酸盐拆分地尔硫卓和喘速宁^[82]、纳布啡^[107],牛血清白蛋白拆分 5-甲酰四氢叶酸^[96]、布洛芬^[88],纤维素酶拆分 β -受体阻滞药^[92],手性固定相拆分巴比妥类药物^[99],瑞斯托菌素 A 拆分非甾体类抗炎药^[105]等。

表 2 HPCE 在手性药物分析中的应用

Table 2 Applications of HPCE in the analysis of chiral drugs

药物种类 Class	分析方式 Mode	样品 Sample	文献 Ref.
麻黄碱等 Ephedrine	CZE	人工合成样 test mixtures	78~80
L-肾上腺素 L-Epinephrine	CZE	制剂 formulation	81
支气管药 Bronchodilators	CZE	人工合成样和原料 test mixtures & drug substance	46, 81~87
布洛芬等 Brufen	CZE	制剂和人工合成样 formulation & test mixtures	88, 89
β -受体阻滞药 β -Blockers	CZE	人工合成样和原料 test mixtures & drug substance	90~95
5-甲酰四氢叶酸 Leucovorin	CZE	原料 drug substance	96
后马托品 Homatropine	CZE	人工合成样和原料 test mixtures & drug substance	97
Picumeterol	CZE	原料 drug substance	97
布比卡因等 Bupivacaine	CZE	原料 drug substance	98
巴比妥类 Barbiturates	CZE	人工合成样 test mixtures	99, 100
噻康唑 Tioconazole	CZE	人工合成样 test mixtures	101
Fluparoxan	CZE	制剂 formulation	102
吡啶苄胺 Dimethindene	CZE	原料 drug substance	103
氯苯那敏 Chlorpheniramine	CZE	人工合成样 test mixtures	104
非甾体抗炎药 NSAIDS	CZE	人工合成样 test mixtures	105
他莫昔芬 Tamoxifen	CZE	原料和胶囊 drug substance & capsules	106
纳布啡 Nalbuphine	CZE	胶囊 capsules	107
BMS-180431-09	CZE 或 MECC	原料 drug substance	108

HPCE 还可用来测定消旋体中两种对映体的比例及各自含量,如测定制剂中 D/L 型肾上腺素的比例和 L-肾上腺素的含量^[79],原料中克仑特罗的含量^[86],同时测定叔丁宁中 R 和 S 型的含量^[85]。

HPCE 也可用来检测手性药物中微量的对映体杂质,如检测 S 型喘速宁中 1% 的 R 型杂质^[46],R 型布比卡因中 0.1% 的 S 型杂质^[98],BMS-180431-09 中 0.1% 的对映体杂质^[108]等。

6 微量制备及鉴别

HPCE 的微量制备曾用于蛋白质的分离^[109]。

Altria 和 Dave^[53]将其用于 Fluparoxan 未提纯原料中杂质的微量制备,并将 HPCE 分离的成分用 HPLC 再进行分离,结果为一单峰。

HPCE 用来鉴别高那瑞林的 6 种衍生物^[110]、多粘菌素^[29]、四环素中的杂质^[30]、头孢菌素^[32]等。

综上所述,HPCE 已应用到药物制剂及原料分析的各个方面,且分离效率高、速度快、费用低。随着商品化仪器的不断改进,必将在药物分析领域得到更为广泛的应用。

参 考 文 献

- 1 Jorgenson J W, Lukacs K D. Anal Chem, 1981; 53:

- 1298
- 2 Altria K D. *J Chromatogr*, 1993;**646**:245
- 3 孙曾培. *药物分析杂志*, 1993;**13**(1):48
- 4 Thormann W. *Chromatogr Sci Ser*, 1993;**64**:693
- 5 Thormann W, Lienhard S, Wernly P. *J Chromatogr*, 1993;**636**:137
- 6 Smith N W, Evans M B. *J Pharm Biomed Anal*, 1994;**12**:579
- 7 Dang Q, Yan L, Sun Z *et al.* *J Chromatogr*, 1993;**630**:363
- 8 Wallingford R A, Ewing A G. *Anal Chem*, 1987;**59**:1762
- 9 Chen I, Wang C. *J Chromatogr*, 1993;**644**:208
- 10 Swartz M E. *J Liq Chromatogr*, 1991;**14**:923
- 11 傅小云, 吕建德, 夏红雷. *分析测试通报*, 1992;**11**:38
- 12 Altria K D, Clayton N G, Hart M *et al.* *Chromatographia*, 1994;**39**:180
- 13 Chadwick P R, Hsich J C. *Anal Chem*. 1991;**63**:2377
- 14 Yik Y F, Lee H K, Li S F Y. *J Chromatogr*, 1991;**585**:139
- 15 党训, 孙曾培, 凌大奎. *药物分析杂志*, 1992;**12**:273
- 16 Huopalahti R, Sunell J. *J Chromatogr*, 1993;**636**:133
- 17 Jegle U. *J Chromatogr A*, 1993;**652**:495
- 18 Bempong D K, Honigberg I L, Miltzer N M. *J Pharm Biomed Anal*, 1993;**11**:829
- 19 Boonkerd S, Detaevernier M R, Michotte Y. *J Chromatogr A*, 1994;**670**:209
- 20 Altria K D, Simpson C F. *J Pharm Biomed Anal*, 1988;**6**:801
- 21 Staleup A M, Agyei N M. *Anal Chem*, 1994;**66**:3054
- 22 Ong C P, Ng C L, Lee H K *et al.* *Chromatogr*, 1991;**588**:335
- 23 Wallingford R A, Ewing A G. *Anal Chem*, 1989;**61**:98
- 24 Wernberger R, Albin A. *J Liq Chromatogr*, 1991;**14**:953
- 25 Donato M G, Baeyens W, W van den Bossche *et al.* *J Pharm Biomed Anal*, 1994;**12**:21
- 26 Hoyt A M, Sepaniak M J. *Anal Lett*, 1989;**22**:861
- 27 Altria K D, Rogan M M. *J Pharm Biomed Anal*, 1990;**8**:1005
- 28 Ackermans M T, Everaerts F M, Beckers J L. *J Chromatogr*, 1992;**606**:229
- 29 Kristensen H K, Hansen S H. *J Chromatogr*, 1993;**628**:309
- 30 Croubels S, Baeyens W, Dewaele C *et al.* *J Chromatogr A*, 1994;**673**:267
- 31 Flurer C L, Wolnik K A. *J Chromatogr A*, 1994;**674**:153
- 32 Sciacchitano C J, Mopper B, Specchio J J. *J Chromatogr B*, 1994;**657**:395
- 33 Tavares M F M, McGuffin V L. *J Chromatogr A*, 1994;**686**:129
- 34 Quaglia M G, Arina A, Kilar *et al.* *J Liq Chromatogr*, 1994;**17**:3911
- 35 Johansson I M, Pavelka R, Henion J D. *J Chromatogr*, 1991;**559**:515
- 36 Ng C L, Lee H K, Li S F Y. *J Chromatogr*, 1993;**623**:165
- 37 Altria K D, Chanter Y L. *J Chromatogr A*, 1993;**652**:459
- 38 Ackermans M T, Beckers J L, Everaerts F M *et al.* *J Chromatogr*, 1992;**590**:341
- 39 Altria K D. *J Chromatogr*, 1993;**634**:232
- 40 Altria K D. *J Chromatogr*, 1993;**636**:125
- 41 Altria K D, Harden R C, Hart M *et al.* *J Chromatogr*, 1993;**641**:147
- 42 Altria K D, Luscombe D M C. *J Pharm Biomed Anal*, 1993;**11**:415
- 43 Krogh M, Brekke S, Tønnesen F *et al.* *J Chromatogr A*, 1994;**674**:235
- 44 Salomon K, Burgi D S, Helmer J C. *J Chromatogr*, 1991;**549**:375
- 45 Steuer W, Grant I, Erni F. *J Chromatogr*, 1990;**507**:125
- 46 Nishi H, Fukuyama T, Matsuo M *et al.* *J Chromatogr*, 1990;**513**:279
- 47 Nishi H, Fukuyama T, Terabe S. *J Chromatogr*, 1991;**553**:503
- 48 Tanaka M, Asano S, Yoshinago M *et al.* *Fresenius J Anal Chem*, 1991;**339**:63
- 49 Vindevogel J, Sandra P. *Anal Chem*, 1991;**63**:1530
- 50 Arrowood S, Hoyt A M. *J Chromatogr*, 1991;**586**:177
- 51 Soini H, Riekkola M L, Novotny M V. *J Chromatogr A*, 1994;**680**:623
- 52 Koman M, Vindevogel J, Sandra P. *J Chromatogr*, 1993;**645**:366
- 53 Altria K D, Dave Y K. *J Chromatogr*, 1993;**633**:221
- 54 Lookataugh M, Biswas M, Krull I S. *J Chromatogr*, 1991;**549**:357
- 55 Ackermans M T, Everaerts F M, Beckers J L. *J Chromatogr*, 1991;**585**:123
- 56 De B E A, Pattya G, David F *et al.* *J HRC*, 1991;**14**:627
- 57 Lukkari P, Jumppanen J, Holma T *et al.* *J Chromatogr*, 1992;**608**:317
- 58 Tsai E W, Singh M M, Lu H H *et al.* *J Chromatogr*, 1992;**626**:245
- 59 Qin X, Ip D D, Tsai E W. *J Chromatogr*, 1992;**626**:251
- 60 Belder D, Chomburg C S. *J HRC*, 1992;**15**:686
- 61 Clark B J, Barker P, Large T. *J Pharm Biomed Anal*, 1992;**10**:723
- 62 赤田良信, 石井信之, 中根徳人. *分析化学(日)*, 1992;**41**:349
- 63 Chan K C, Muschik G M, Issaq H J *et al.* *J Chromatogr A*, 1995;**690**:149
- 64 Lukkari P, Vuorela H, Riekkola M L. *J Chromatogr A*, 1993;**655**:317
- 65 Altria K D, Filbey S D. *J Liq Chromatogr*, 1993;**16**:2281
- 66 Quaglia M G, Farina A, Bossu E *et al.* *J Pharm Biomed Anal*, 1993;**11**:1157
- 67 Cheung A D, Nguyenle T, Hettiarachchi K. *J Pharm Biomed Anal*, 1993;**11**:1261
- 68 Thomas B R, Fang X, Che X *et al.* *J Chromatogr B*, 1994;**657**:383

- 69 Lozano R, Warren F V, Jr *et al.* J Pharm Biomed Anal, 1995;**13**:139
- 70 Goodall D M, Williams S J, Lloyd D K. Tr Anal Chem, 1991;**10**:272
- 71 Dose E V, Guiochon G A. Anal Chem, 1991;**63**:1154
- 72 Altria K D. Chromatographia, 1993;**35**:493
- 73 Altria K D. Chromatographia, 1993;**35**:177
- 74 Pluym A, W van Ael, M de Smet. Tr Anal Chem, 1992;**11**:156
- 75 Nakagawa T, Oda Y, Shibukana A *et al.* Chem Pharm Bull, 1989;**37**:707
- 76 Gassman E, Kuo J E, Zare R N. Science, 1985;**230**:813
- 77 Novotny M, Soini H, Stefansson M. Anal Chem, 1994;**66**:648A
- 78 Fanali S. J Chromatogr, 1989;**474**:441
- 79 Nielen M W F. Anal Chem, 1993;**65**:885
- 80 Tait R J, Thompson D O, Stella V J *et al.* Anal Chem, 1994;**66**:4013
- 81 Quang C, Khaleidi M G. Anal Chem, 1993;**65**:3354
- 82 Nishi H, Fukuyama T, Matsuo M *et al.* J Chromatogr, 1990;**515**:233
- 83 Nishi H, Kokusanya Y, Miyamoto T *et al.* J Chromatogr, A, 1994;**659**:449
- 84 Palmarsdottir S, Edholm L E. J Chromatogr A, 1994;**666**:337
- 85 Palmarsdottir S, Edholm L E. J Chromatogr A, 1995;**693**:131
- 86 Altria K D, Goodall D M, Rogan M M. Chromatographia, 1993;**34**:19
- 87 Rogan M M, Altria K D, Goodall D M. Chromatographia, 1994;**38**:723
- 88 Sun P, Wa N, Barker G *et al.* J Chromatogr, 1993;**648**:475
- 89 Ranjee Y Y, Vigh G. Anal Chem, 1994;**66**:619
- 90 Peterson T E. J Chromatogr, 1993;**630**:353
- 91 Wren S A C, Rowe R C. J Chromatogr, 1993;**635**:113
- 92 Valtcheva L, Molammad J, Petterson G *et al.* J Chromatogr, 1993;**638**:263
- 93 Penn S G, Liu G, Bergstrom E T *et al.* J Chromatogr A, 1994;**680**:147
- 94 Guttman A, Cooke N. J Chromatogr A, 1994;**680**:157
- 95 Aumatell A, Wells R J, Wong D K Y. J Chromatogr A, 1994;**686**:293
- 96 Barker G E, Russo P, Hartwick R A. Anal Chem, 1992;**64**:3024
- 97 Rawjee Y Y, Williams R L, Vigh G. J Chromatogr A, 1994;**680**:599
- 98 Soini H, Snopek J, Novotny M *et al.* Beekman Technical Bulletin, CE, 1992;DS-836
- 99 Li S, Lloyd D K. Anal Chem, 1993;**65**:3684
- 100 Smith J T, Nashabeh W, Rassi Z E. Anal Chem, 1994;**66**:1119
- 101 Penn S G, Goodall D M, Loran J S. J Chromatogr, 1993;**636**:149
- 102 Altria K D, Walsh A R, Smith N W. J Chromatogr, 1993;**645**:193
- 103 Heuermann M, Blaschke G. J Chromatogr, 1993;**648**:267
- 104 St Pierre L A, Sentell K B. J Chromatogr B, 1994;**657**:291
- 105 Armstrong D W, Gasper M P, Rundlett K L. J Chromatogr A, 1995;**689**:285
- 106 Ng C L, Ong C P, Lee H K *et al.* J Chromatogr A, 1994;**680**:579
- 107 Williams R C, Edwards J F, Ainsworth C R. Chromatographia, 1994;**38**:441
- 108 Noroski J E, Mayo D J, Moran M. J Pharm Biomed Anal, 1995;**13**:45
- 109 Guttman A, Cohen A S, Heiger D N *et al.* Anal Chem, 1990;**62**:137
- 110 Corran P H, Sutcliffe N. J Chromatogr, 1993;**636**:87

Application of High Performance Capillary Electrophoresis to the Analysis of Pharmaceuticals

Liu Zhisong

(Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang, 110015)

Fang Zhaolun

(Chemistry Department, Northeastern University Shenyang, 110006)

Abstract An overview on applications of high performance capillary electrophoresis in pharmaceutical analysis is presented in this overview, including the quantitation of main drugs and related impurities, chiral separations, micro-preparative technique, identity confirmation, etc. Some application examples are also given. Hundred-and-ten references are cited.

Key words high performance capillary electrophoresis, pharmaceutical analysis