

第7章 色谱法测定药物的含量

1 教学要求

1. 掌握色谱法的系统适用性试验、含量测定方法和含量计算。掌握高效液相法的常用固定相、流动相、检测器，以及《中国药典》对仪器的要求。掌握常用气相色谱柱、检测器与适用范围，以及《中国药典》对色谱条件和仪器的要求。
2. 熟悉毛细管电泳法、分子排阻法和离子色谱法的原理与应用。
3. 了解手性高效液相法、超高效液相色谱法和常用色-质联用技术的原理与应用。

2 关键词

系统适用性试验；高效液相法；气相色谱法；毛细管电泳法；分子排阻法；离子色谱法；色-质联用

3 学习重点

一、高效液相色谱法

1. **分类**——正相色谱（NP-HPLC）、反相色谱（RP-HPLC）、反相离子抑制色谱（RP-ISC）、反相离子对色谱（RP-IPC）。

2. **系统适用性试验与要求**

理论板数（ n ）： $n=16(t_R/W)^2$ 或 $n=5.54(\frac{t_R}{W_{h/2}})^2$ （应符合规定）

分离度（ R ）： $R=\frac{2(t_{R_2}-t_{R_1})}{W_1+W_2}$ 或 $R=\frac{2(t_{R_2}-t_{R_1})}{1.70(W_{1,h/2}+W_{2,h/2})}$ （ $R\geq 1.5$ ）

拖尾因子（ T ）： $T=\frac{W_{0.05h}}{2d_1}$ （峰高定量， $T=0.95\sim 1.05$ ）

重复性：连续进样5针，峰面积的RSD应 $\leq 2.0\%$

为符合系统适用性试验要求，可适当改变柱长度、内径、牌号、粒度、流动相流速、流动相各组成的比例、柱温、进样量、检测器灵敏度等。但**不得改变固定相种类、流动相组成、检测器类型**。

3. **定量方法**——内标法、外标法。

4. **应用示例**——炔诺孕酮（内标法）；青霉素钠、阿司匹林泡腾片（外标法）；注射用

普鲁卡因青霉素、重酒石酸去甲肾上腺素注射液（离子对色谱，外标法）；庆大霉素 C 组分测定（蒸发光散射检测器检测）。

二、气相色谱法

1. **气相色谱仪**——由载气（如氮气）、色谱柱（填充柱、毛细管柱）、检测器（如 FID）、温控系统（进样口、柱温箱、检测器）等组成。

2. **测定方法与应用**——内标法（**维生素 E 测定**）、外标法、标准溶液加入法。

三、毛细管电泳法

1. **原理**——带电粒子在一定介质中，因电场作用而发生定向运动，根据带电粒子所带电荷数、形状、解离度不同，使迁移速度不同而分离，并在电渗流驱动下，以不同速度向同一方向（检测器方向）移动而被检出。

2. **分离模式**——毛细管区带电泳、毛细管凝胶电泳、毛细管等速电泳、毛细管等电聚焦电泳、胶束电动毛细管色谱、毛细管电色谱。

四、其它色谱

1. **分子排阻色谱法**——为分子筛机制，被测物按分子尺寸由大至小先后被洗脱。用于蛋白质多肽的分子量测定、生物大分子聚合物分子量与分子量分布的测定、高分子杂质测定（采用自身对照外标法计算供试品中高分子杂质的相对百分含量）。

2. **离子色谱法**——离子交换原理，固定相为阴、阳离子交换树脂，使用 pH 范围为 1~14，流动相为酸碱溶液，以电导检测器检测，用于亲水性阴、阳离子的测定。

3. **手性高效液相色谱法**——手性试剂衍生法（CDR）、手性流动相添加剂法（CMPA，如**酮康唑**拆分）、手性固定相法（CSP）。

4. **色-质联用技术与应用**——质谱仪由真空系统、进样系统（直接进样、接口技术）、离子源（EI、CI、FAB、API、MALDI、ICP等）、质量分析器（四极杆、离子阱、飞行时间、傅里叶变换等）、检测器（光电倍增器或电子倍增器）组成。常用联用技术：**GC-MS、LC-MS**。