

新冠药物分析检测解决方案

1、前言

在新冠肺炎疫情全球大流行的环境下，“疫苗+特效药”被认为是最佳的防治组合。目前新冠疫苗已经取得巨大成功，而“特效药”有望成为终结新冠疫情的最后一张拼图。随着“乙类乙管”政策的进一步落实，抗病毒药物获批速度逐渐加快，从 2022 年末以来，市场上已有多款新冠创新药获批，新冠药物赛道已经开启“狂飙”式角逐。新冠药物种类繁多，成分复杂，依利特公司使用最新推出的 EClassical 3200 高效液相色谱仪，为新冠药物的检测提供全套解决方案，供相关人员参考使用。



2、印度仿制新冠药物 Primovir 和 Paxista 中奈玛特韦和利托那韦的分析检测

2.1 仪器配置

表 1 系统配置清单

序号	仪器名称	数量
----	------	----

1	P3200 高压恒流泵	1 台
2	S3200 自动进样器	1 个
3	O3200 色谱柱柱温箱	1 台
4	D3200 紫外-可见检测器	1 台
5	T3200 溶剂瓶托盘	1 台
6	SinoPak BEH T-C18 5 μ m, 4.6 $\times$ 150mm	1 支
7	Kromstation 色谱数据工作站	1 套

2.2 实验方法

2.2.1 标准溶液的制备

1.0 mg/mL 储备液：称取奈玛特韦和利托那韦标准品各 10 mg，分别用甲醇溶解并定容至 10 mL 混匀，即得。

100 μ g/mL 的混合液：分别移取 200 μ L 上述 1.0 mg/mL 的奈玛特韦和利托那韦储备液，加 1600 μ L 的流动相稀释混匀，即得。

2.2.2 样品溶液的制备

在市场上购买绿盒仿制药 2 盒，蓝盒仿制药 1 盒，样品制备方法如下：

绿盒药品 1 中奈玛特韦(Nirmatrelvir Tablets)的药片 A(150 mg)一粒，称重，用壁纸刀将其平均分为 4 份，取一份并碾碎，称量，甲醇溶解，过滤。定容 100mL 容量瓶，再用流动相稀释 10 倍 HPLC 进样分析。

绿盒药品 1 中利托那韦（Ritonavir Tablets）的药片 B(100 mg)一粒，称重，用壁纸刀将其平均分为 4 份，取一份并碾碎，称量，甲醇溶解，过滤。定容 100mL 容量瓶，再用流动相稀释 10 倍 HPLC 进样分析。

绿盒药品 2 和蓝盒药品 3 处理同上。



2.2.3 液相色谱条件

色谱柱: SinoPak BEH T-C18 5 μ m, 4.6 $\times$ 150mm

流动相: 乙腈: 水=50: 50 (v/v)

检测波长: 210 nm

进样量: 10 μ L。

流速: 1 mL/min

2.3 实验结果

2.3.1 实验谱图

绿盒药品 1 分析谱图:

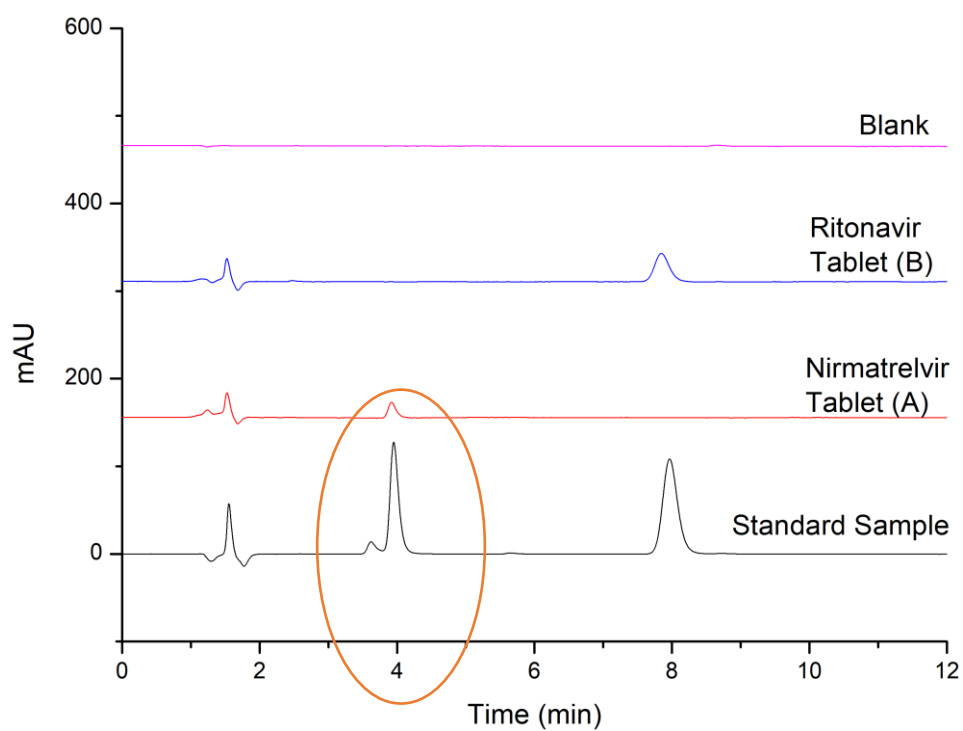


图 1 绿盒药品 1 分析色谱图

绿盒药品 2 分析谱图:

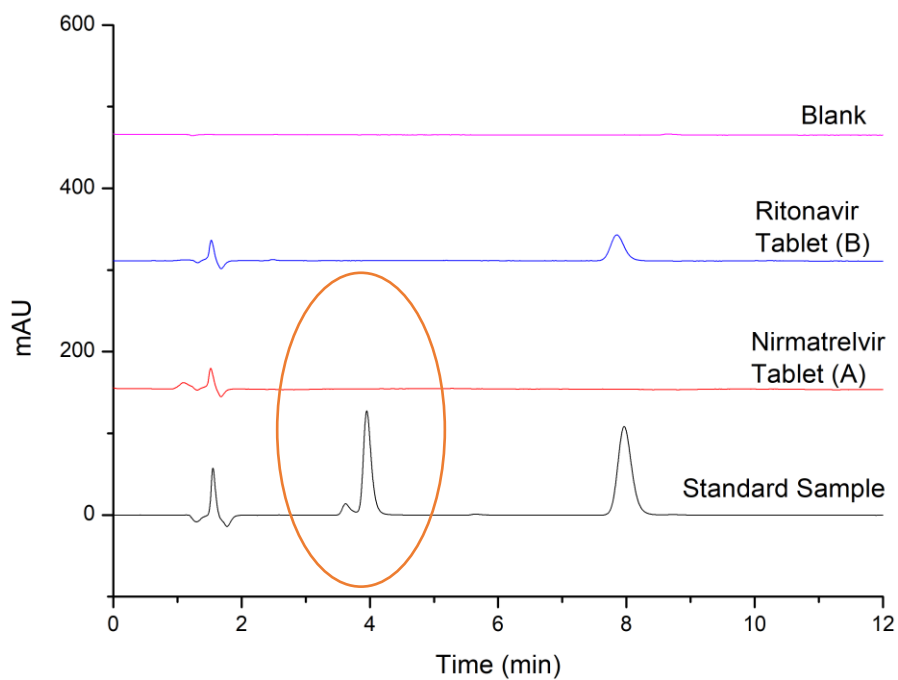


图 2 绿盒药品 2 分析色谱图

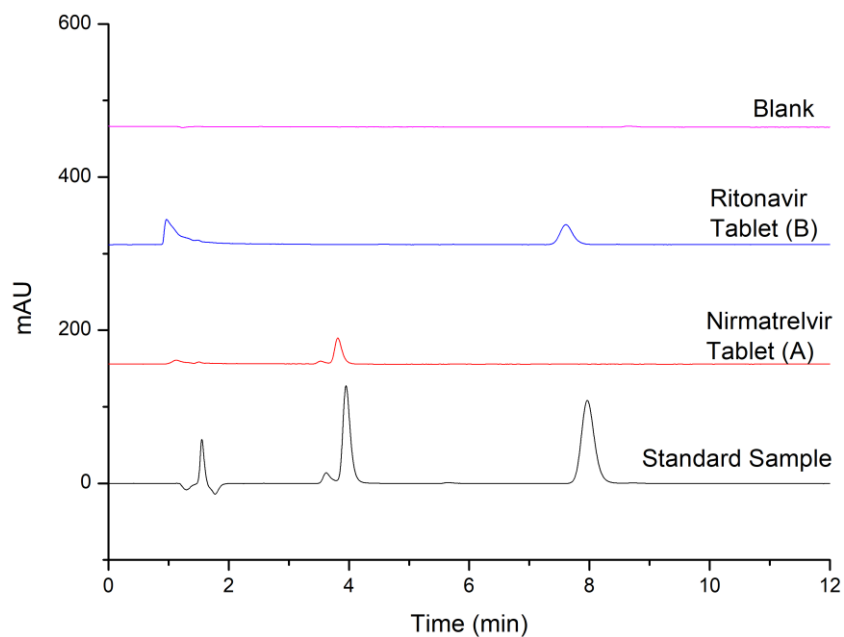


图 3 蓝盒药品 3 分析色谱图

表 2 奈玛特韦和利托那韦标准品分析结果表

峰号	名称	保留时间[min]	柱效[N]	拖尾因子	分离度
1	杂质	3.610	3500	1.25	/
2	奈玛特韦	3.942	4800	1.29	1.54
3	利托那韦	7.970	6500	1.17	12.9

2.3.2 标准品重复性色谱图

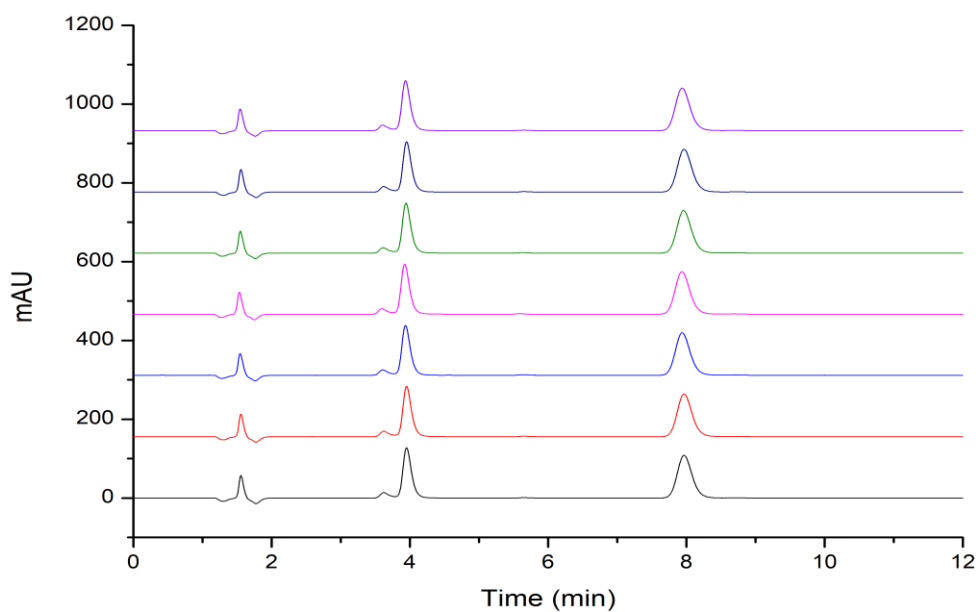


图 4 Paxlovid 中奈玛特韦和利托那韦重复性色谱图 (n=7)

2.3.3 线性标准曲线

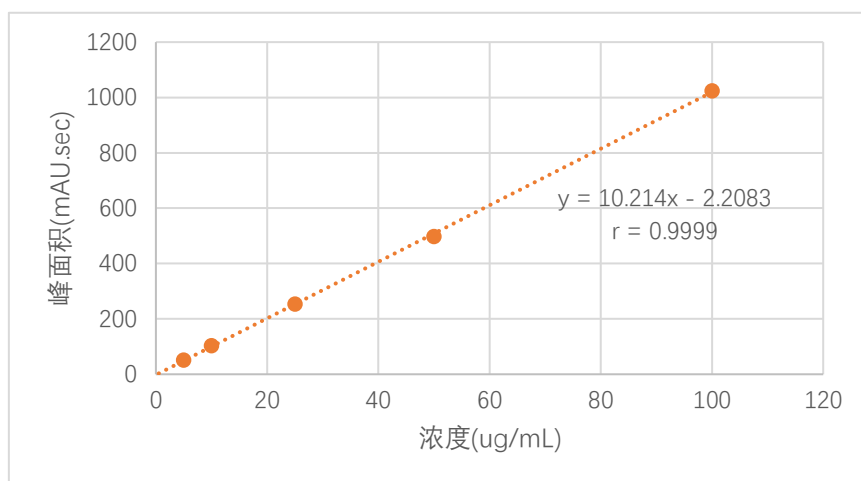


图 5 奈玛特韦标准曲线

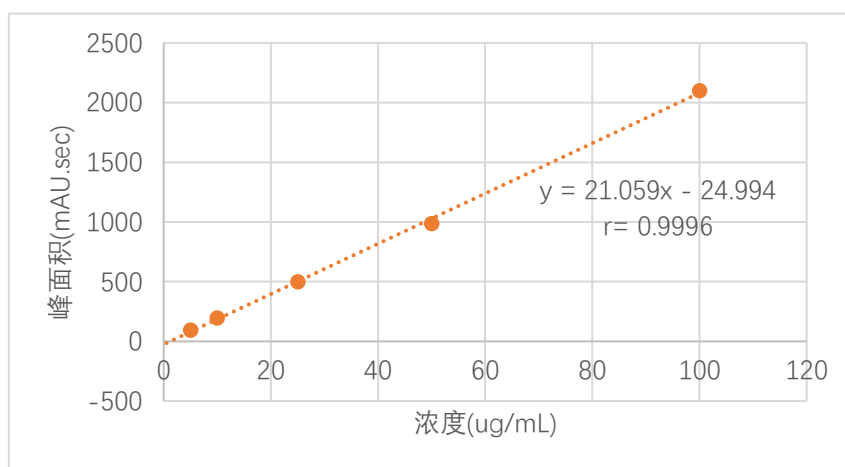


图 6 利托那韦标准曲线

2.3.4 定量计算结果

主成分标识量 仿制药		奈玛特韦 <i>Nirmatrelvir</i> 150mg/片	利托那韦 <i>Ritonavir</i> 100mg/片
绿盒	药品 1	59 mg/片	82 mg/片
	药品 2	未检出	94 mg/片
蓝盒	药品 3	149 mg/片	105 mg/片

2.4 结论

依利特使用最新款的 EClassical 3200 液相色谱仪搭配 SinoPak BEH T-C18 色谱柱对印度仿制新冠药物 Primovir 和 Paxista 进行含量测定,结果可以看出,绿盒包装的新冠治疗药物质量有待提高,购买的两盒药物,一盒是一种主成分未检出,一盒是两种主成分含量都明显低于标识量。而购买的蓝盒仿制药主成分含量和标示量一致。

3、阿兹夫定片中有效成分检测

3.1 仪器配置

表 3 系统配置清单

序号	仪器名称	数量
1	P3200 高压恒流泵	1 台
2	S3200 自动进样器	1 个
3	O3200 色谱柱柱温箱	1 台
4	D3200 紫外-可见检测器	1 台
5	T3200 溶剂瓶托盘	1 台
6	Supersil ODS2 5 μ m, 4.6 $\times$ 250mm	1 支
7	Kromstation 色谱数据工作站	1 套

3.2 实验方法

3.2.1 样品溶液的制备

样品溶液配制:取供试品 1 药品 1 粒,称量质量为 0.1477g,取部分后,研磨,称取质量为 0.0287g,用 2mL 甲醇溶解,离心,取上层清液,滤过。量取 0.5mL 上述溶液,量取乙腈/水=10/90 0.5mL 将其稀释,得含供试品 1 浓度为 7.175mg/mL 的供试品溶液 1。按每粒药品含阿兹夫定 1mg 计算,供试品溶液 1 中的阿兹夫定

含量为 0.049mg/mL。

3.2.2 液相色谱条件

色谱柱：Supersil ODS2 5μm，4.6×250mm

流动相：乙腈：醋酸铵缓冲溶液(加氨水调 pH 至 8.5)=10： 90（v/v）

检测波长：270 nm

进样量：20 μL。

流速：1 mL/min

柱温：35℃

3.3 实验结果

3.3.1 样品色谱图

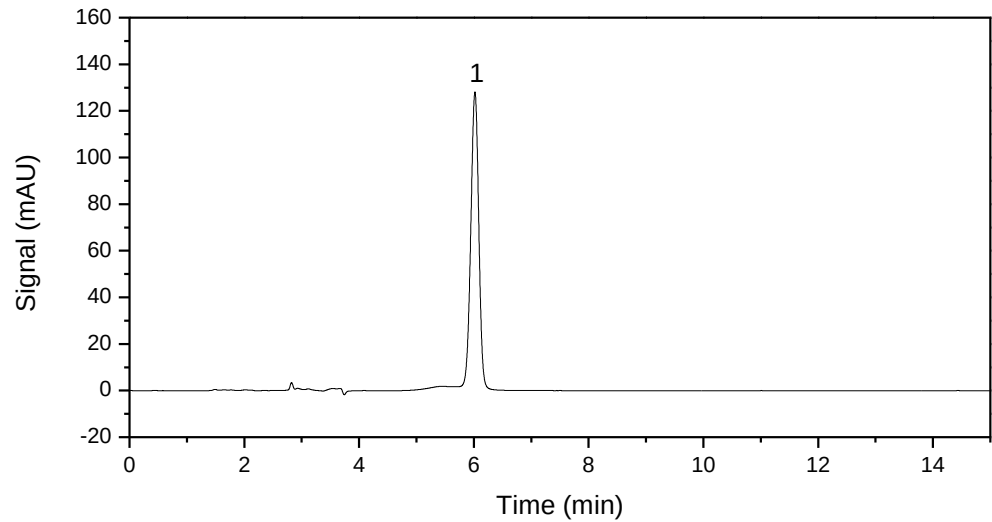


图 7 阿兹夫定分析色谱图

表 4 阿兹夫定分析结果表

峰号	名称	保留时间[min]	柱效[N]	拖尾因子
1	阿兹夫定	6.037	9200	0.989

3.3.2 重复性色谱图

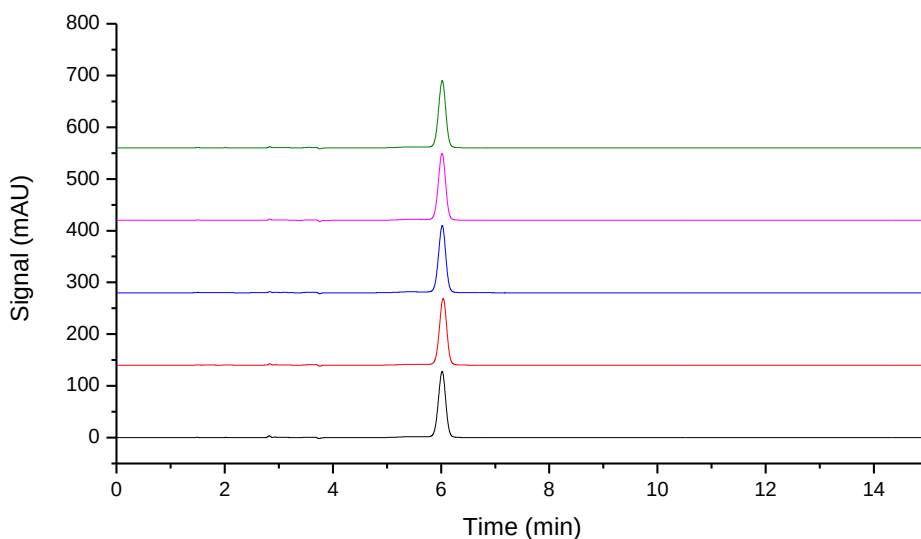


图 8 阿兹夫定片重复性色谱图 (n=5)

3.4 结论

依利特使用最新款的 EClassical 3200 液相色谱仪搭配 Supersil ODS2 色谱柱，对新冠药物阿兹夫定片进行了分析检测，结果显示目标物峰形良好，可以达到基线分离，满足定性定量分析的需求。

4、清开灵胶囊中有效成分检测

4.1 仪器配置

表 5 系统配置清单

序号	仪器名称	数量
1	P3200 高压恒流泵	1 台
2	S3200 自动进样器	1 个
3	O3200 色谱柱柱温箱	1 台
4	D3200 紫外-可见检测器	1 台
5	D3270 蒸发光散射检测器	1 台
6	T3200 溶剂瓶托盘	1 台
7	SinoChrom ODS-BP 5 μ m 4.6 $\times$ 150mm	1 支
8	Supersil ODS2 5 μ m 4.6 $\times$ 250mm	1 支
9	Kromstation 色谱数据工作站	1 套

4.2 实验方法

4.2.1 液相色谱条件

清开灵胶囊中胆酸检测:

色谱柱: SinoChrom ODS-BP 5 μ m 4.6 $\times$ 150mm

流动相: 甲醇-1%冰醋酸溶液(75:25)

流速: 1.0mL/min

检测: ELSD 检测器温度 45 $^{\circ}$ C

进样量: 10 μ L

柱温: 室温

载气: 压缩空气

清开灵胶囊中栀子苷检测

色谱柱: Supersil ODS2 5 μ m 4.6 $\times$ 250mm

流动相: 乙腈-水(8:92)

流速: 1.0mL/min

检测: 238nm

进样量: 5 μ L

清开灵胶囊中黄芩苷检测

色谱柱: Supersil ODS2 5 μ m 4.6 $\times$ 150mm

流动相: 甲醇-0.2%磷酸溶液(43:57)

流速: 1.0mL/min

检测: 274nm

进样量: 10 μ L

柱温: 室温

4.3 实验结果

4.3.1 样品色谱图

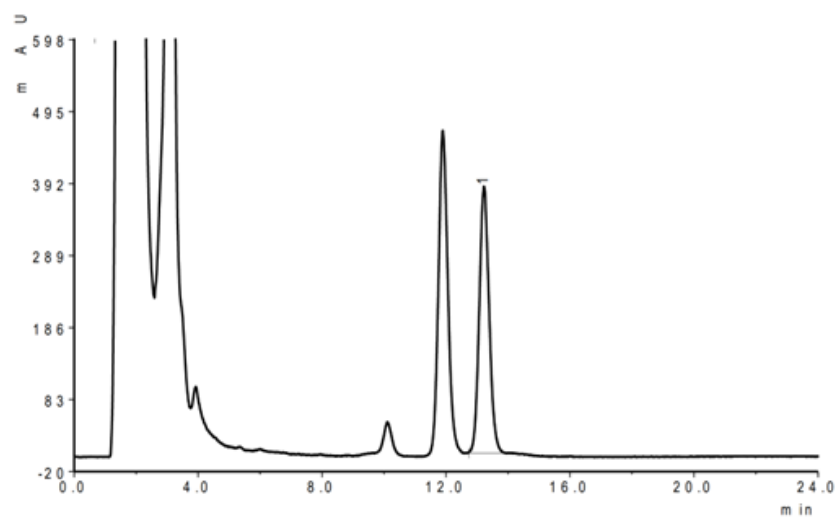


图9 清开灵胶囊中胆酸含量分析色谱图

表6 清开灵胶囊中胆酸含量分析结果表

峰号	名称	保留时间[min]	柱效[N]	拖尾因子	分离度
1	胆酸	13.222	8300	1.12	2.38

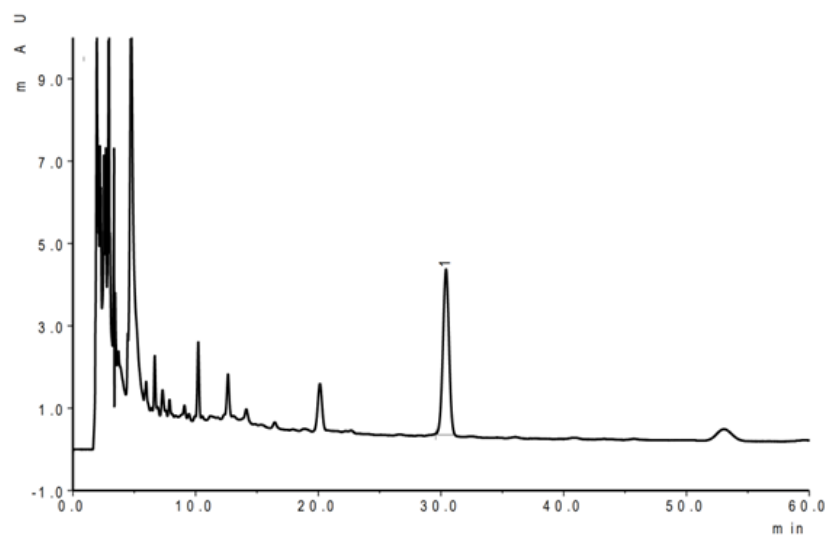


图10 清开灵胶囊中甾子苷含量分析色谱图

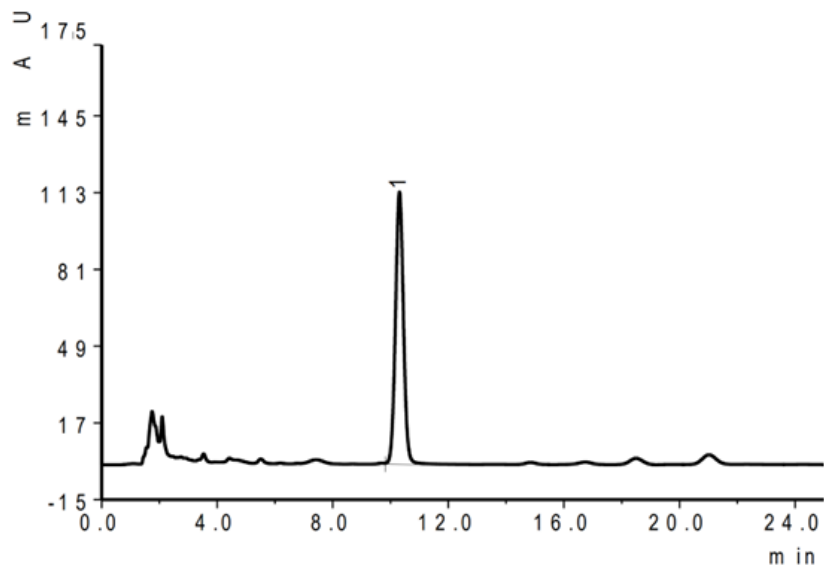


图 11 清开灵胶囊中黄芩苷含量分析色谱图

4.4 结论

依利特使用最新款的 EClassical 3200 液相色谱仪搭配 Supersil ODS2 和 SinoChrom ODS-BP 色谱柱，对清开灵胶囊中胆酸、栀子苷、黄芩苷含量进行了分析检测，结果显示目标物柱效高、峰形好，满足定性定量分析的需求。

5、安宫牛黄丸中有效成分检测

5.1 仪器配置

表 7 系统配置清单

序号	仪器名称	数量
1	P3200 高压恒流泵	1 台
2	S3200 自动进样器	1 个
3	O3200 色谱柱柱温箱	1 台
4	D3200 紫外-可见检测器	1 台
5	T3200 溶剂瓶托盘	1 台
6	SinoChrom ODS-BP 5 μ m 4.6 $\times$ 150mm	1 支
7	Kromstation 色谱数据工作站	1 套

5.2 实验方法

5.2.1 液相色谱条件

色谱柱：SinoChrom ODS-BP 5 μ m 4.6 $\times$ 150mm

流动相：A-乙腈，B-0.05mol/L 磷酸二氢钾溶液，梯度洗脱

流速：1.0mL/min

检测：278nm

进样量：10μL

柱温：室温

时间(分钟)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0~10	21	79
10~15	21→31	79→69
15~30	31	69

5.3 实验结果

5.3.1 样品色谱图

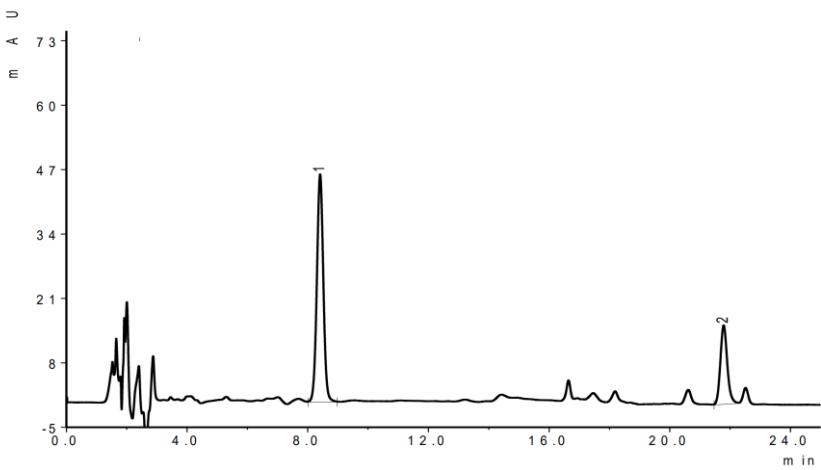


图 12 清开灵胶囊中胆酸含量分析色谱图

表 8 清开灵胶囊中胆酸含量分析结果表

序号	组分名	保留时间(min)	峰面积(mAU.sec)	塔板数(N)	拖尾因子	分离度(R)
1	黄芩苷	8.411	678.93	7600	1.03	2.34
2	盐酸小檗碱	21.785	248.82	46000	1.15	2.04

5.4 结论

依利特使用最新款的 EClassical 3200 液相色谱仪搭配 SinoChrom ODS-BP 色谱柱，对安宫牛黄丸中黄芩苷和盐酸小檗碱进行了分析检测，结果显示目标物峰形良好，柱效高，可以达到基线分离，满足定性定量分析的需求。

6、新雪颗粒中有效成分检测

6.1 仪器配置

表 9 系统配置清单

序号	仪器名称	数量
1	P3200 高压恒流泵	1 台

2	S3200 自动进样器	1 个
3	O3200 色谱柱柱温箱	1 台
4	D3200 紫外-可见检测器	1 台
5	T3200 溶剂瓶托盘	1 台
6	Hypersil ODS2 5 μ m 4.6 $\times$ 150mm	1 支
7	Kromstation 色谱数据工作站	1 套

6.2 实验方法

6.2.1 液相色谱条件

色谱柱: Hypersil ODS2 5 μ m 4.6 $\times$ 150mm

流动相: 甲醇-0.2%磷酸溶液(55:45)

流速: 1.0mL/min

检测: 0-7min 225nm, 7-20 254nm

进样量: 20 μ L

柱温: 室温

6.3 实验结果

6.3.1 标准品色谱图

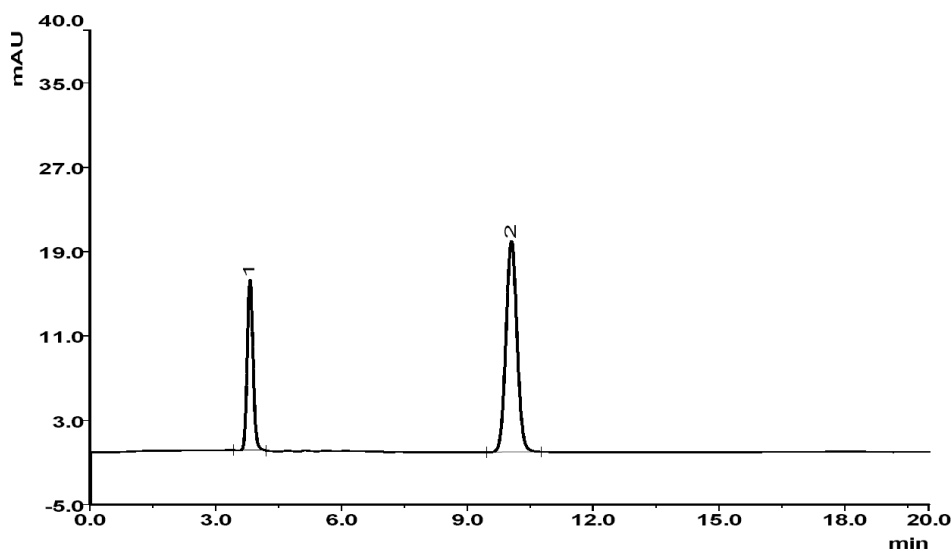


图 13 穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯标准品色谱图

6.3.2 样品色谱图

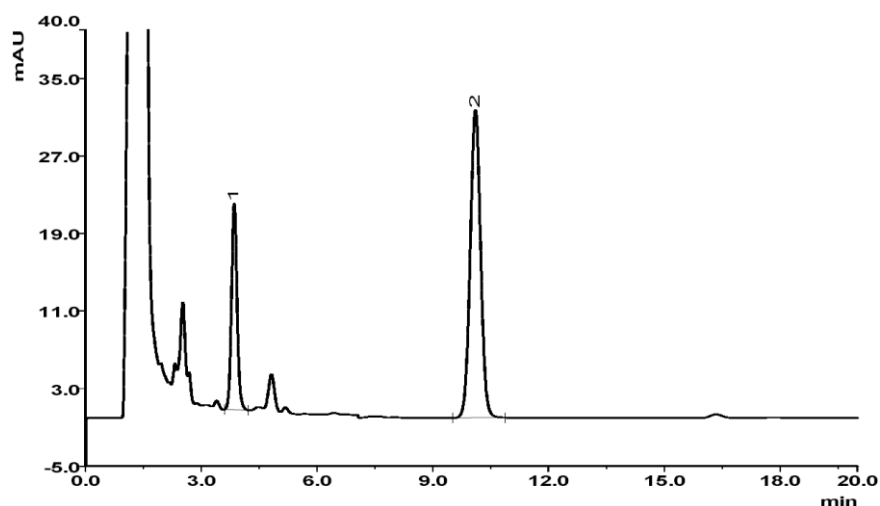


图 14 新雪颗粒样品色谱图

表 10 新雪颗粒样品结果表

序号	组分名	保留时间 (min)	峰面积 (mAU.sec)	塔板数 (N)	拖尾 因子	分离度(R)
1	穿心莲内酯	3.863	211.98	3600	1.09	1.99
2	脱水穿心莲内酯	10.106	594.90	6800	1.03	13.88

6.4 结论

依利特使用最新款的 EClassical 3200 液相色谱仪搭配 Hypersil ODS2 色谱柱，对新雪颗粒中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯进行了分析检测，结果显示目标物峰形良好，柱效高，可以达到基线分离，满足定性定量分析的需求。