

# 气相色谱在医药检测中应用的研究进展

黄凤丽 (上海美恩生物技术有限公司, 上海 201203)

**摘要** 气相色谱法作为一种重要的分离分析方法, 在石油化工、医药卫生、环境监测、生物化学等领域都得到了广泛的应用。该研究介绍了气相色谱技术的概念、原理以及相关参数, 同时介绍了气相色谱-质谱联用技术、顶空气相色谱技术、全二维气相色谱技术、气相色谱-红外光谱联用技术等医药方面的应用进展。

**关键词** 气相色谱技术; 原理; 概念; 应用

中图分类号 S121 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2012)33-16035-03

气相色谱法(Gas chromatography, 简称 GC) 是色谱法的一种。色谱法有 2 个相, 一个相是流动相, 另一个相是固定相。气相色谱法按固定相不同可以分为 2 种。用固体吸附剂作为固定相的叫作气固色谱, 用液体作为固定相的叫作气液色谱。气液色谱在实际工作中占多数。气相色谱法所用的仪器为气相色谱仪。气相色谱仪由气路系统、进样系统、温控系统、分离系统和检测记录系统 5 个系统组成。

## 1 气相色谱法的原理

被检测试样的各组分在色谱柱中的固定液相和气相中

的分配系数是不同的。当试样经汽化后在色谱中运行时, 各组分就在液相和固相之间反复进行分配(其过程是吸附-溶解或脱附-放出)。由于色谱柱中固定相对不同组分的溶解或吸附能力不同(即保留作用不同), 其在色谱柱中的运行速度也不同, 各组分经过色谱柱互相分离后, 相继离开色谱柱, 各组分进入检测器之后, 其产生的离子流经讯号放大后会记录仪上显示各组分的曲线图。该曲线图就被称为色谱峰。一般根据色谱峰的峰高或峰面积, 测定样品中各个组分的含量。图 1 为气相色谱仪工作流程。

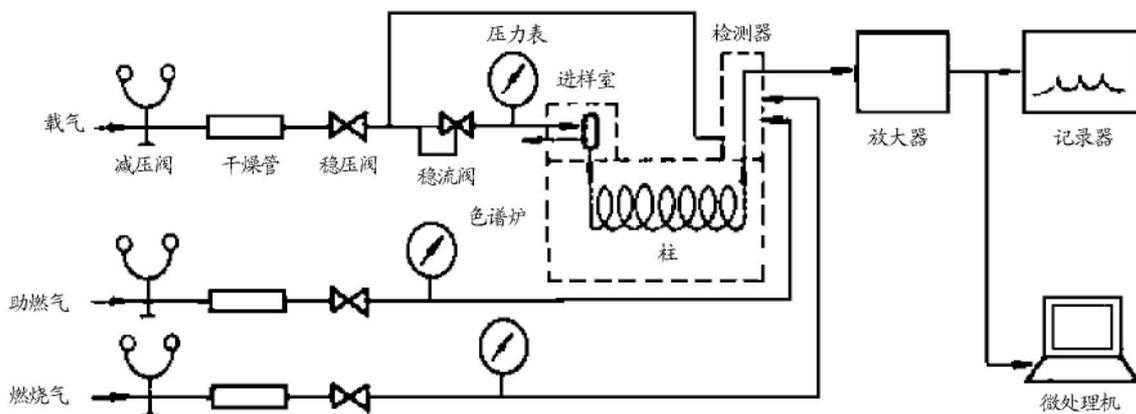


图 1 气相色谱仪工作流程

## 2 气相色谱法基本参数

色谱图(图 2)为若干物质的流出曲线, 即在不同时间上的浓度或者响应大小。保留时间( $t_R$ )为样品注入到色谱顶峰出现的时间; 保留体积( $V_R$ )为从注射样品到色谱峰值出现时, 通过色谱系统的流动相的体积, 一般可以将保留时间乘以流动相线速度得到; 死时间( $t_M$ )为不被保留的样品通过色谱柱的时间; 调整保留时间( $t_{R'}$ )为保留时间减去死时间; 色谱峰底宽( $W$ )为由色谱峰的两边拐点做切线, 与基线交点的距离; 半峰高宽度( $W_{1/2}$ )为色谱峰高一半处的峰宽, 也称为色谱峰半高宽度。

## 3 气相色谱技术在医药方面的应用进展

气相色谱法的主要应用领域有石油工业、环境保护、临床化学、药理学、食品工业等。气相色谱法选择性好、灵敏度高

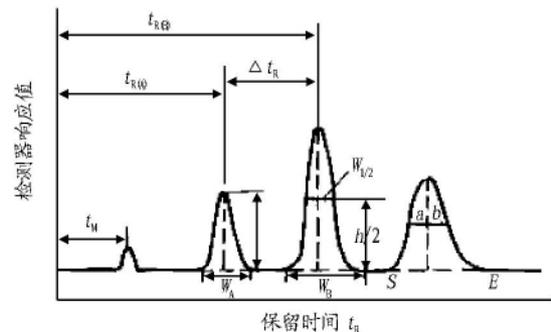


图 2 气相色谱图

高、进样量小、分析速度快, 但气相色谱法难以分析沸点太高的物质或热稳定性差的物质。

**3.1 气相色谱-质谱联用技术** 气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术集气相色谱法的快速、分离效率高、灵敏度高和质谱的选择性好等特点于一体, 对多组分混合物进行定性分析和分子结构判断。由于定量准确、灵敏度高, 气相色谱-质

**作者简介** 黄凤丽(1969-), 女, 安徽安庆人, 工程师, 从事药品质量保证方面的研究, E-mail: hfl12321@yahoo.com.cn。

收稿日期 2012-08-31

谱联用技术已成为分析微量或痕量物质的一种重要的手段<sup>[1-3]</sup>。Salgado 等采用固相微萃取(SPME)气相色谱-质谱(GC-MS)方法建立了一种快速分析选择性抑制血清素再吸收的抗抑郁药(SSRI)<sup>[4]</sup>。吴国萍等运用气质联用法分析了亚甲二氧基甲基苯丙胺的主要成分以及其中含有的杂质,对样品相对分子质量为 40~450 的成分进行全扫描,并解析了纯度较高的“摇头丸”,发现 8 种与合成途径相关的杂质<sup>[5]</sup>。通过理论解释,明确了该纯度较高的“摇头丸”中亚甲二氧基甲基苯丙胺是以胡椒醛为原料采用还原胺性法合成的。张军东等运用气质联用色谱法发现一种皂苷类化合物 T12 是通过影响白色念珠菌(*Monilia albican*)细胞膜中麦角甾醇的生物合成,从而发挥其较强的抗真菌活性,为抗真菌新药的研究和开发奠定了基础<sup>[6]</sup>。Lee 等应用气相色谱法研究了经 3 种合成途径制备的脱氧麻黄碱中的有关物质,并用气相色

谱-质谱联用法对有关物质进行了定性分析<sup>[7]</sup>。近年来,固相微萃取技术与气质联用在药物、药物代谢研究中的应用越来越多。同时,二维气相色谱质谱(GC-GC-MS)及多维气相色谱质谱技术具有高分辨率、高峰容量、抗杂质干扰的特点,对药物代谢物的进一步研究具有重要的意义。

**3.2 顶空气相色谱技术** 气相色谱按色谱柱形式分为填充气相色谱和毛细管气相色谱。从表 1 可以看出,毛细管柱的分离效能、灵敏度均优于填充柱。当药品中残留溶剂种类很多时,毛细管柱可以满足同时分离不同种类残留溶剂的要求。李丹等采用毛细管气相色谱法测定了 $\beta$ -石竹烯醇的有关物质,分析了不同色谱柱和升温程序对有关物质的分离效果的影响,并用气相色谱-质谱法确定了 $\beta$ -石竹烯醇的有关物质主要为 $\beta$ -石竹烯醇共存物 $\alpha$ -榄香醇、长叶烯醇和丁香烯醇<sup>[8]</sup>。

表 1 填充柱与毛细管柱的比较

形式	内径/mm	常见长度/m	每米柱效(N)	柱材料	柱容量	程序升温应用	固定相
填充柱	2~5	0.5~3.0	≈1 000	玻璃、不锈钢	mg 级	基线漂移	载体+固定相
毛细管柱	0.10~0.53	10~60	≈3 000	熔融石英	≤100 ng	基线稳定	固定液

按特殊分析技术,气相色谱还可分为顶空气相色谱(HS-GC)和裂解色谱。中国药典 2000 版已将顶空气相色谱法作为检查药品残留溶剂的法定方法。BP2002 版与 EP2000 版采用 ICH 对残留溶剂的指导原则,用顶空气相色谱法对第 1 类和第 2 类残留溶剂进行鉴别和定量测定。

顶空气相色谱法常用于水溶性药物中残留溶剂的测定。目前,通常用 N,N-二甲基乙酰胺(DMA)、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)或二甲亚砜(DMSO)作为顶空气相色谱测定水不溶性药物的溶剂。Camarasu 考察了 N,N-二甲基乙酰胺、N,N-二甲基甲酰胺或二甲亚砜 3 种溶剂单独使用及与水以 1:1 混合使用时乙酸乙酯、乙醇、甲醇、N,N-二甲基甲酰胺的差异,结果表明除了乙酸乙酯外,乙醇、甲醇、N,N-二甲基甲酰胺在不同溶剂体系内的检出量有明显的差异<sup>[9]</sup>。这说明不同的溶剂体系对测定残留溶剂有较大的影响。Camarasu 还用 Rtx624 柱和 DB-624 柱静态顶空气相色谱法测定了分属于人用药物注册技术要求国际协调会 ICH 规定的第 1、2、3 类 13 种有机溶剂在 2 种不同极性且不溶于水的药物中的残留量,考察了样品体积及高沸点有机溶剂中的水分含量对该方法灵敏度的影响。结果表明,样品在溶剂中的溶解度允许时,样品体积越小(0.1~0.3 ml)则方法灵敏度越高;当高沸点有机溶剂中的水分含量高于 7% 时,方法灵敏度明显提高,可使某些残留溶剂的回收率高达 115%。

耿文飞等用 OV-101 毛细柱静态顶空气相色谱法测定了盐酸曲马多中二氧六环的残留量,所建立的色谱条件可以同时分离乙腈、二氯甲烷、氯仿、苯、二氧六环、吡啶<sup>[10]</sup>。使用无溶剂的原料做标准曲线,以消除标准溶液与样品溶液之间可能存在的基质效应的影响。Clayton 用静态顶空气相色谱法测定了抗癫痫药氯己烯酸的残留溶剂<sup>[11]</sup>。由于残留溶剂种类较多且在气液两相间的分配系数相差较大,所以选用 2 种

有机溶剂为内标。正丙醇作为测定丙酮、正丁醇、乙醇、异丙醇及甲醇的内标,1,2-二氯乙烷作为测定二氯甲烷和甲苯的内标,所建立的色谱条件可以同时将 7 种残留溶剂和 2 种内标溶剂很好地分离。龚爱琴等用顶空毛细管气相色谱法测定了硫酸氢氯吡格雷中残留溶剂<sup>[12]</sup>。结合药品生产工艺,确定甲醇、丙酮、二氯甲烷、甲苯为残留检测对象。以氮气为载气,用氢火焰离子化检测器(FID)检测,色谱柱为 DB-624 毛细管柱,柱温为程序升温。结果表明,在实验条件下,甲醇、丙酮、二氯甲烷、甲苯回收率分别为 95.9%、99.9%、103.2%、101.9%,精密度分别为 1.1%、1.3%、1.5%、1.1%。氢火焰离子化检测器是准通用型的质量型检测器,具有灵敏度高、线性范围宽等特点,可以满足检测百万分之几到千分之几的有机溶剂残留量的需要。因此,顶空-毛细管柱气相色谱-氢火焰离子化检测器(HS-CGC-FID)是测定药品中残留溶剂的最佳组合,也是实际应用中使用的最多的组合。

**3.3 全二维气相色谱技术** 1991 年 Liu 等提出全二维气相色谱方法,实现真正地正交分离,具有峰容量大、分辨率高、灵敏度高、族分离和瓦片效应、分析时间短等优势<sup>[13]</sup>。该方法是迄今为止能够提供最高分辨率的分离技术,所以特别适合于兴奋剂检测以及临床、法医毒理学中的药物毒物筛选。Marriott 等最早将全二维气相色谱技术应用于兴奋剂检测领域,使用 GC×GC-FID 对 27 种经过嘧啶-醋酸酐乙酰化的胺类药物进行筛查<sup>[14]</sup>。在口服药物 0~24 h 的狗尿液中成功地分离出兴奋剂普罗林坦及其代谢产物,并且对其进行了相对定量分析。研究结果表明,全二维气相色谱法的线性和检测限均好于传统的一维色谱方法。另外, Sinha 等采用化学计量学方法对信号进行重叠峰解析<sup>[15]</sup>。尿液中的有机酸代谢产物经三甲基硅烷衍生化后,用 GC×GC 进行分析,所选的 12 种有机酸衍生物均得到较好地分离,运用“DotMap”

运算法则可很好地解决几种干扰物质造成的严重峰重叠问题。全二维气相色谱在**中药和天然药物分析中也具有良好的应用**。阮春海等对 GC×GC 应用于**中药挥发油进行了方法学研究,提出用于中药质量控制的 3 种方法**<sup>[16-18]</sup>。以广藿香作为分析对象,通过分析获得其二维谱图,并进行指纹研究。对 4 种主要药效成分实现了完全分离,用药效成分的方法评价了 2 种广藿香药材的道地性,进而建立了用药效群代替药效组分的中药评价方法。Dimandja 等用 GC-GC-FID 对薄荷油和荷兰薄荷油进行分析,并与 GC-MS 方法进行比较,发现薄荷醇、薄荷酮为薄荷油的主要成分,而**香芹酮、薄荷醇和柠檬烯则为荷兰薄荷油的主要成分**,并且证实了用于挥发油分析的优越性<sup>[19]</sup>。

**3.4 气相色谱-红外光谱联用技术** 气相色谱是混合物分离分析的主要手段。然而,它难以对复杂未知混合物作定性判断,而红外光谱(IR)虽有很强的结构鉴定能力,却不具备分离能力,因而不能直接用于复杂混合物的鉴定。把两者有机结合起来,即 GC-FTIR 联用技术,结合了两者的长处,成为复杂混合物分析的有效手段,在中药分析中发挥重要作用。GC-FTIR 的原理是从色谱柱分离出的馏分经过惰性的加热传输线,到达光管接口。光管内壁镀金,管的两端以溴以钾窗片封口。来自光谱仪的红外光束通过光管,被光管内的馏分吸收后,透射过来的光用 MCT 检测器进行检测,计算机进行实时监测,并将在此色谱峰出现的时间内存储的数据,以红外频谱-气相色谱-功能团吸收强度三维谱图显示在荧光屏上。**魏莉对木贼的镇痛成分进行了定性研究,发现木贼含阿魏酸、间甲氧基肉桂酸、对甲氧基肉桂酸**<sup>[20]</sup>。叶飞云等对丁香罗勒油的挥发性成分进行鉴别、含量测定,其主要杂质经 GC-FTIR 鉴别为 7-甲基-3-亚甲基-辛三烯 1,6 和苯甲醇<sup>[21]</sup>。蒋伯成等采用 GC-FTIR-MS 技术分离鉴定出艾叶燃烧产生的气体中有 20 种成分<sup>[22]</sup>。另外,GC-FTIR 还可用于中药炮制研究方面,主要有炮制机理及炮制对有效成分的影响等。

#### 4 结语

**加快新药开发与研究,且与国际接轨,在于药物质量控制方法和质量标准的提高**。这些必须依赖先进的检测技术。另外,临床药学的发展以及药物作用机理的研究也要求先进的检测技术手段。气相色谱法是目前在药品的检测中应用最为广泛的方法,但由于要求样品气化,其应用受到样品挥发性的限制。随着检测手段的进一步完善,人们对药物分析研究将会更加深入,药品质量也将得到进一步的提升。

#### 参考文献

- [1] GONCALVES C, ALPENDURADA M F. Solid-phase micro-extraction-gas chromatography(tandem)-mass spectrometry as a tool for pesticide residue analysis in water samples at high sensitivity and selectivity with confirmation capabilities[J]. Chromatogr A 2004, 1026: 239-250.
- [2] CARRICK W A, COOPER D B, MUIR B et al. Retrospective identification of chemical warfare agents by high-temperature automatic thermal desorption gas chromatography mass spectrometry[J]. Chromatogr A 2001, 925

- (1/2): 241-249.
- [3] MIKI A, KATAGI M, TSUCHIHASHI H et al. Determination of alkylmethylphosphonic acids, the main metabolites of organophosphorus nerve agents, in biofluids by gas chromatography-mass spectrometry and Liquid-liquid-solid phase-transfer-catalyzed pentafluorobenzoylation[J]. Anal Toxicol, 1999, 23(2): 86-93.
- [4] SALGADO P C, LANMS J P, GARCIA J C et al. Rapid screening of selective serotonin re-uptake inhibitors in urine samples using solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry[J]. Anal Bioanal Chem 2005, 382: 1351-1359.
- [5] 吴国萍, 蔡锡兰, 翊秉仁. GC-MS 法解析亚甲二氧基甲基苯内胺的成分体系[J]. 中国药科大学学报, 2004, 35(5): 449-452.
- [6] 张军东, 陈海生, 曹永兵, 等. 天然产物 T12 抗真菌作用及其机制研究[J]. 中国新药杂志, 2004, 13(12): 1110-1114.
- [7] LEE J S, HAN E Y, LEE S Y et al. Analysis of the impurities in themethamphetamine synthesized by three different methods from ephedrine and pseudoephedrine[J]. Forensic Sci Int 2006, 161(2/3): 209-215.
- [8] 李丹, 杭太俊, 王丽. β2 受体含量和有关物质的毛细管气相色谱测定[J]. 中国新药杂志, 2007, 16(14): 1114-1118.
- [9] CAMARASU C C. Residual solvents determination in drug products by static headspace-(3as Chromatography)[J]. Chromatographia, 2002, 56: 137-143.
- [10] 耿文飞, 牛长群. 顶空气相色谱法对盐酸曲马多中二氧六环残留量的限量检测[J]. 药物分析杂志, 2000, 20(5): 346-348.
- [11] CLAYTON B H. Static headspace gas chromatographic method for the determination of residual solvents in nigabatin drug substance[J]. Chromatography 1998, 438: 103-107.
- [12] 龚爱琴, 扈田进, 张春梅. 硫酸氢氯吡格雷中有机溶剂残留量的顶空气相色谱法测定[J]. 广东化工, 2011, 38(3): 146-147.
- [13] LIU Z Y, PHILLIPS J B. Comprehensive 2-dimensional gas-chromatography using an on-column thermal modulator interface[J]. Chromatogr Sci, 1991, 29: 227-231.
- [14] KUEH A J, MARRIOTT P J, WYNE P M et al. Application of comprehensive two-dimensional gas chromatography to drugs analysis in doping control[J]. Chromatogr A 2003, 1000: 109-124.
- [15] SINHA A E, HOPE J L, PRAZEN B J et al. Algorithm for locating analytes of interest based on mass spectral similarity in GC×GC-TOF-MS data: analysis of metabolites in human infant urine[J]. Chromatogr A 2004, 1058: 209-215.
- [16] RUAN C, XU G, LU X et al. Quality evaluation of volatile oils of traditional Chinese medicines by using comprehensive two-dimensional gas chromatography(GC-GC)[J]. Chromatographia 2000, 57: 265-270.
- [17] WU J F, LU X, TANG W Y et al. Application of comprehensive two-dimensional gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry(GC-GC/TOFMS) in the analysis of volatile oil of traditional Chinese medicines[J]. Chromatogr A 2004, 1034(1/2): 199-205.
- [18] 武建芳, 路鑫, 唐婉莹, 等. 全二维气相色谱/飞行时间质谱用于莪术挥发油分离特性的研究[J]. 分析化学, 2004, 32(5): 582-586.
- [19] DIMANDJA J M D, STANFILL S B, GRAINGER J et al. Application of comprehensive two-dimensional gas chromatography(GC-GC) to the qualitative analysis of essential oils[J]. High Resolut Chromatogr, 2000, 23(3): 208-214.
- [20] 魏莉. 木贼挥发油中有机酸的分析[J]. 国土与自然资源研究, 1991(3): 78-80.
- [21] 叶飞云, 李玲玲, 凌大奎, 等. 丁香罗勒油气相色谱及气相红外联用分析[J]. 药物分析杂志, 1993, 13(5): 346-348.
- [22] 蒋伯成, 魏莉, 马春华, 等. 艾叶挥发成分分析[J]. 国土与自然资源开发, 1990(2): 75-77.
- [23] 王凯, 杨晋. 气相色谱-质谱法分析老瓜头中挥发油的化学成分[J]. 宁夏农林科技, 2010, 51(4): 26-27.
- [24] SHAO D L. Determination of dichlofluanid residue in soybean by capillary columns gas chromatography[J]. Agricultural Science & Technology, 2010, 11(3): 7-8, 64.
- [25] 贾鹏禹, 孙蕊, 张丽萍, 等. 顶空固相微萃取-气相色谱法测定木糖发酵液中乙醇[J]. 畜牧与饲料科学, 2012, 33(4): 4-5.