

# 高效液相色谱法测定阿司匹林肠溶片中 小剂量游离水杨酸的杂质限量及稳定性研究

田婉容

武汉回盛生物科技股份有限公司 湖北武汉 430040

**摘要:** 本文旨在通过高效液相色谱法 (HPLC) 测定阿司匹林肠溶片中小剂量游离水杨酸的杂质含量及其稳定性。研究首先建立了一套适用于检测游离水杨酸的高效液相色谱分析方法, 标定了色谱条件包括流动相、检测波长以及色谱柱的选择。随后, 对阿司匹林肠溶片中游离水杨酸的含量进行了定量分析, 并对其在不同储存条件下的稳定性进行了评估。结果显示, 该色谱法对游离水杨酸具有良好的特异性和灵敏度, 能有效用于阿司匹林肠溶片的质量控制和稳定性研究。此外, 稳定性测试表明, 阿司匹林肠溶片在遵循适当储存条件下, 杂质水平保持在安全限内。

**关键词:** 高效液相色谱法; 游离水杨酸; 阿司匹林肠溶片; 杂质限量; 稳定性

## 引言

药物的安全性和有效性对公众健康极其关键, 保证药物产品中杂质含量管理在安全限度内是药物研制和制造的核心部分。特别是关乎长时间摄入的药物, 例如阿司匹林, 它的质量管理格外关键。阿司匹林肠溶片充当普遍应用的非处方药物, 首要用来消炎、止痛及减少心血管疾病危险。阿司匹林肠溶片中或许包含游离水杨酸作为杂质, 其量的管理是保证药品安全的关键。

## 一、高效液相色谱法概述

### 1. 高效液相色谱法的基本原理

高效液相色谱法是为依托液体为流动相开展分离的一种分析技术, 其核心原理是运用样品组分在固定相和流动相间的分配或吸附行为为差异达成分离和检测。固定相一般经极性或非极性填料组成, 流动相便是液体溶剂或溶剂混合物, 二者的相互作用作用于样品组分在柱内的保留时间。通过高压输送系统, 样品组分随流动相流入柱内, 与固定相产生反复分配或吸附解吸行为, 因此达成组分的分离。检测器通过察觉样品在流动相中的吸收或其他性质变化, 将信号转变为可保存的色谱图。高性能液相色谱法操作起来具有极佳的适应性, 可以通过优化流动相的成分、流速以及柱温等关键参数, 来准确测定那些成分繁杂样品中的微量物质。

### 2. 高效液相色谱法在药物分析中的应用

高效液相色谱法因为其优拆分效能、测定敏感性及普遍适应性, 拥有关键运用意义。其可以针对繁杂成分实施准确解析及量化测定, 尤其适合于药物中的少量杂

质监控及活性成分辨别。在药品质量控制中, 该手段得到运用于评价药品中杂质限制, 解析药物的纯净度, 监控药品在制造和保存期间或许产生的降解产物。高效液相色谱法能通过改进环境, 对复杂药物配方中的多元素进行拆分与量化, 因此给药物的稳固性探究供应可信信息支撑。使用针对性高的测定波长、流动相和色谱柱设计, 该手段能够高效提升解析的敏感性和独特性, 为药品监督及医疗应用中的保障性和功效性评价提供手段保证。

### 3. 游离水杨酸的化学性质及其在药物中的重要性

游离水杨酸是阿司匹林在化学降解过程中产生的主要物质, 化学性质会直接影响到药物的稳定程度和使用安全性, 作用非常重要。游离水杨酸属于一种有机酸, 酸性比较明显, 同时极性也很强, 分子结构里面包含羟基和羧基, 容易参与氧化还原反应, 所以在复杂环境里稳定性比较差。如果药品配方里面游离水杨酸含量超出标准, 可能会降低阿司匹林的治疗作用, 还会增加出现不良反应的风险。必须严格控制游离水杨酸杂质的含量, 这是确保阿司匹林肠溶片质量的关键步骤。

## 二、实验材料与色谱条件标定

### 1. 阿司匹林肠溶片与分析化学试剂的选用

阿司匹林肠溶片游离水杨酸检测的准确性, 首要依赖样品与试剂的规范选择及配制。实验所用阿司匹林肠溶片购自正规市场渠道, 规格为每片100mg, 来源稳定且经严格外观检查 (无裂片、变色、包衣破损等现象), 确保样品初始质量合格。

分析化学试剂均选用高纯度级别以保障检测灵敏

度与结果重复性：流动相制备采用色谱纯甲醇（纯度 $\geq 99.9\%$ ）、超纯水（电阻率 $\geq 18.2\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ ）、分析纯磷酸（纯度 $\geq 85\%$ ）；建立标准曲线用水杨酸标准品纯度 $\geq 99.5\%$ （经溯源验证）。所有试剂使用前需进行基线测试：取空白流动相进样，记录色谱图，确保无干扰峰（峰面积 $\leq 0.05\text{mAU}\cdot\text{min}$ ）；同时，流动相及标准品溶液需经 $0.45\mu\text{m}$ 有机相滤膜过滤，以去除微小颗粒杂质，保护色谱柱寿命并避免柱压异常。

阿司匹林肠溶片样品定量分析前需按以下流程处理：  
 ①剥除肠溶片外层肠溶衣膜（避免包衣成分干扰检测）；  
 ②取20片已剥膜的片芯，置于研钵中充分研磨至均匀粉末；  
 ③精确称取约 $0.1\text{g}$ （精确至 $0.0001\text{g}$ ）粉末置于 $50\text{mL}$ 容量瓶中，作为供试品母液制备基础；  
 ④整个样品处理及溶液配制过程需在避光环境下操作（如使用棕色容量瓶、避光操作台），防止水杨酸遇光分解，确保实验结果准确。

### 2. 色谱条件的设定与优化

为实现阿司匹林肠溶片游离水杨酸的精准检测，经多组实验优化，最终确定以下色谱条件：色谱柱选用C18反相色谱柱（规格： $250\text{mm}\times 4.6\text{mm}$ ， $5\mu\text{m}$ ），其非极性固定相可通过疏水作用有效保留游离水杨酸，键合相均匀分布及合适孔径能实现目标物与基质杂质的高效分离，提升检测灵敏度；流动相为磷酸缓冲液（ $0.05\text{mol/L}$ 磷酸二氢钾溶液，用磷酸调节 $\text{pH}$ 至 $2.8$ ）-乙腈（体积比 $65:35$ ），该比例可平衡分离效果与分析效率，既避免阿司匹林与游离水杨酸峰重叠，又缩短分析时间，同时维持体系 $\text{pH}$ 稳定，减少峰形拖尾；检测波长设定为 $230\text{nm}$ （经紫外扫描验证，此波长下游离水杨酸紫外吸收峰最大，且阿司匹林及基质杂质干扰最小，信号响应稳定）；流速为 $1.0\text{mL/min}$ ，经测试该流速下色谱峰分离度 $\geq 1.5$ ，分析时间控制在 $10\text{min}$ 内，兼顾分辨率与检测效率；柱温控制为 $25^\circ\text{C}$ （恒温条件可避免温度波动导致保留时间漂移及分离行为异常，确保结果重复性）；进样量为 $10\mu\text{L}$ 。

### 3. 系统适应性要求

为验证色谱系统是否满足检测需求，实验前需进行系统适应性测试，具体要求如下：取水杨酸标准品溶液（ $10\mu\text{g/mL}$ ）与阿司匹林对照品溶液（ $100\mu\text{g/mL}$ ）混合进样，游离水杨酸峰与阿司匹林峰的分度应 $\geq 1.5$ ；以游离水杨酸峰计算，理论塔板数应 $\geq 3000$ ；游离水杨酸峰的拖尾因子应在 $0.9\sim 1.2$ 之间；连续进样6次水杨酸标准品溶液（ $10\mu\text{g/mL}$ ），其峰面积的相对标准偏差

（RSD）应 $\leq 2.0\%$ ，保留时间RSD应 $\leq 0.5\%$ 。

## 三、游离水杨酸的定量分析方法

### 1. 样品的准备与前处理

为确保高效液相色谱法测定阿司匹林肠溶片游离水杨酸的精确性与结果一致性，样品准备与前处理工作需严格规范。实验选取3批（每批 $\geq 20$ 片）市售阿司匹林肠溶片（标示量 $100\text{mg/片}$ ），依据包装标注的含量信息开展定量分析，以排除单批次样品差异对结果的影响。具体操作步骤如下：  
 ①剥除肠溶片外层肠溶衣膜（肠溶衣成分可能干扰色谱峰，需完全去除）；  
 ②取每批20片已剥膜的片芯，分别置于研钵中充分研磨至均匀细粉（过80目筛，确保粉末粒径均一，便于后续溶解）；  
 ③按供试品浓度要求精确取样：精密称取每批片芯粉末 $0.1\text{g}$ （精确至 $0.0001\text{g}$ ，约相当于阿司匹林 $100\text{mg}$ ），分别置于 $50\text{mL}$ 棕色容量瓶中；  
 ④溶剂选用流动相（磷酸缓冲液-乙腈 $=65:35$ ，该溶剂既能完全溶解阿司匹林与游离水杨酸，又不与样品成分发生化学反应，且与色谱流动相体系一致，可减少溶剂效应导致的峰形异常），向容量瓶中加入 $30\text{mL}$ 该溶剂，采用超声溶解（功率 $300\text{W}$ ，频率 $40\text{kHz}$ ） $15\text{min}$ ，确保粉末完全溶解；  
 ⑤放冷至室温后，用上述流动相定容至 $50\text{mL}$ 刻度，摇匀，作为供试品母液（浓度约 $2\text{mg/mL}$ ，以阿司匹林计）；  
 ⑥精密量取 $5\text{mL}$ 供试品母液置于 $10\text{mL}$ 棕色容量瓶中，用流动相定容至刻度，摇匀后，经 $0.45\mu\text{m}$ 有机相滤膜过滤（去除未溶解的辅料颗粒与杂质），即得供试品溶液（最终游离水杨酸浓度适配标准曲线线性范围 $1\mu\text{g/mL}\sim 50\mu\text{g/mL}$ ，避免超出范围导致定量偏差）。样品配制过程中需严格控制操作条件，防止外界环境干扰游离水杨酸含量：  
 ①超声溶解时采用水浴控温，确保温度 $\leq 30^\circ\text{C}$ ，避免温度过高引发阿司匹林水解生成额外游离水杨酸，导致检测结果偏高；  
 ②供试品溶液制备完成后，需在 $2\text{h}$ 内完成检测（经稳定性验证， $2\text{h}$ 内游离水杨酸浓度相对标准偏差 $\text{RSD}\leq 1.0\%$ ），若暂不检测，需立即置于棕色容量瓶中避光、 $4^\circ\text{C}$ 冷藏保存，且保存时间不超过 $8\text{h}$ ，防止水杨酸遇光分解或浓度发生变化，确保实验结果准确可靠。

### 2. 游离水杨酸的检测与定量分析

游离水杨酸的检测与定量分析使用高效液相色谱法，其核心取决于挑选恰当的色谱条件，用确保检测的精确性和敏感度。于实验过程中，把样品溶解于适当的溶剂，用保障游离水杨酸彻底融化并防止其他成分的影响。调整流动相的比例，令游离水杨酸在色谱柱上可以充分分开。检测波长设定在匹配游离水杨酸的最高吸纳波长处，

用提升检测敏感度。开展外标法进行定量分析，通过描画标准曲线来测算样品中游离水杨酸的成分量。色谱峰面积与实际浓度线性关系优秀，保障了检测的精确性。

### 3. 方法验证与灵敏度评价

#### (1) 方法验证结果准确度

通过标准样品加标回收率试验评估准确度，取已知游离水杨酸含量的阿司匹林片芯粉末（约0.1g），分别加入低、中、高3个水平（相当于样品中游离水杨酸含量的80%、100%、120%）的水杨酸标准品，按供试品溶液制备方法处理并检测。典型图谱显示，加标后游离水杨酸峰形对称（拖尾因子0.9~1.2），且与基质杂质峰完

全分离（分离度 $\geq 1.5$ ），无干扰峰叠加；试验结果表明回收率维持在98%~102%之间， $RSD \leq 2.0\%$ （ $n=3$ ），完全达到药物分析的标准要求，证实方法准确度可靠。线性范围：制备浓度为 $1 \mu\text{g/mL}$ 、 $5 \mu\text{g/mL}$ 、 $10 \mu\text{g/mL}$ 、 $20 \mu\text{g/mL}$ 、 $50 \mu\text{g/mL}$ 的游离水杨酸系列标准溶液，按确定色谱条件进样，记录典型图谱（见图1）。图谱中各浓度标准品的游离水杨酸峰面积随浓度增加呈均匀递增趋势，峰形稳定无异常；以浓度为横坐标、峰面积为纵坐标绘制标准曲线，计算得到相关系数高达0.999，表明此方法的线性表现非常优秀，可覆盖阿司匹林肠溶片游离水杨酸的常规检测浓度范围。

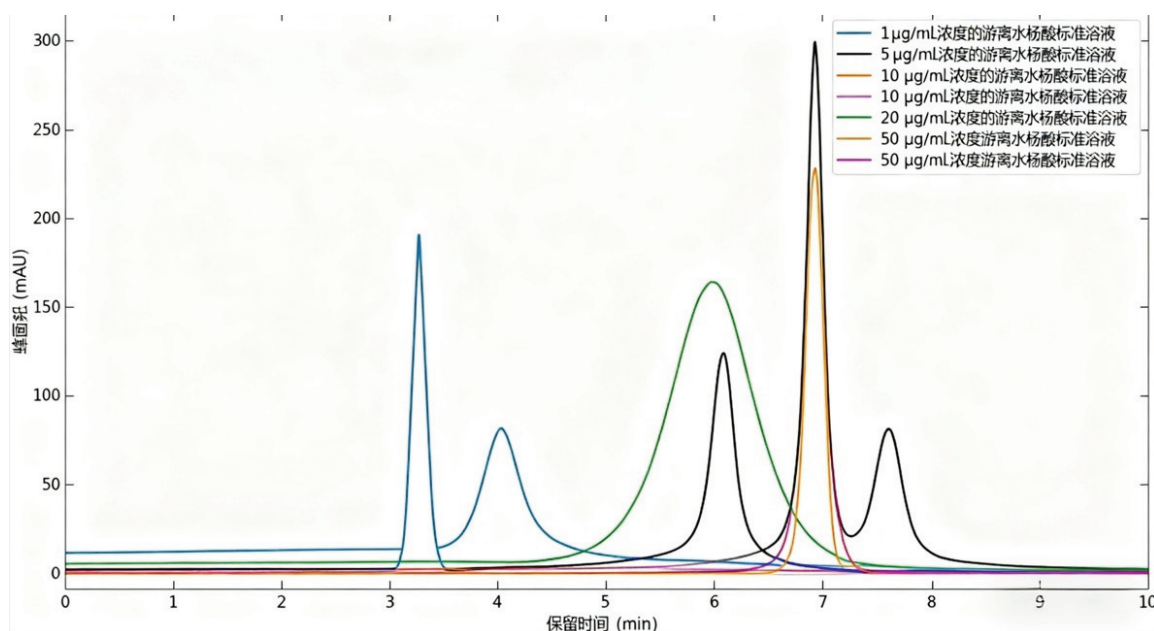


图1 游离水杨酸系列标准溶液色谱图

#### (2) 灵敏度评价

最低检测限（LOD）与最低定量限（LOQ）：取低浓度水杨酸标准品溶液逐步稀释。当信噪比（ $S/N=3$ ）时，对应游离水杨酸浓度为 $0.01 \mu\text{g/mL}$ ，即为LOD；当信噪比（ $S/N=10$ ）时，对应浓度为 $0.03 \mu\text{g/mL}$ ，即为LOQ。图谱显示，LOD与LOQ浓度下的游离水杨酸峰仍可清晰识别（峰高 $\geq 3$ 倍基线噪声，峰形可辨），无明显干扰；该灵敏度足以满足低浓度杂质分析需求，能高效协助完成阿司匹林肠溶片的质量控制和安全性评估工作，确保药物无潜在风险。

### 四、阿司匹林肠溶片的稳定性测试

#### 1. 不同储存条件下的样品制备

阿司匹林肠溶片的稳定性测试中，以测评该片在各异储存条件中的杂质变化情况，根据有关药品稳定性实

验规范，开展了样品的制备处理。实验样品为市售阿司匹林肠溶片，通过一致批次无序抽样，且在实验室内依照标准进行分装。样品分成若干组别，各自放置于各异的存储环境，涵盖高热潮湿条件 $40^\circ\text{C}$ 、75%相对湿度、室温条件 $25^\circ\text{C}$ 、60%相对湿度、低寒条件 $5^\circ\text{C}$ 、遮光条件以及显露光照条件4500lx。储存容器挑选密封性能优秀的玻璃瓶，用保证规避多余环境因素影响。每组样品皆须标注编号，且登记存放开始时间和环境参数。存放进行中，每过规定时间节点如1周、1个月、3个月、6个月，采样开展检测。每回采样之前皆须确认样品容器密闭无损，以免外界因素干扰结果的可信度。

#### 2. 稳定性评价指标及测试方法

稳定性测评指标专门用来检测阿司匹林肠溶片里面游离水杨酸杂质水平发生波动情况，作为一项关键性参

考依据。明确杂质比例、降解速率和储存时间成为衡量稳定性的主要标准，通过高效液相色谱法开展细致的测试工作。测试方法涵盖不同储存环境下样品进行定期取样分析，环境类型包括高温环境、高湿环境、光照环境以及常温避光环境等多种详细条件。实验操作过程中，样品需要完成必要预处理环节，使用精密色谱柱分离出杂质成分，通过检测波长230纳米的紫外检测器准确测算杂质比例波动情况。稳定性测评工作利用峰面积积分法科学化测算游离水杨酸比例高低，整理储存周期数据仔细制作杂质增加趋势图线，深入分析不同储存环境对稳定性造成具体作用结果，确保实验结论具备可靠性和科学性。

## 五、质量控制与安全性评估

### 1. 阿司匹林肠溶片的质量控制

阿司匹林肠溶片的质量控制是确保药品安全性与有效性的重要环节。基于高效液相色谱法，建立了针对游离水杨酸的定量分析方法，对批量成品的杂质限量进行了严格监测。在质量控制过程中，选取不同批次的样品，进行游离水杨酸含量检测，以确保其杂质水平符合规定标准。对色谱法分析结果进行复核验证，确保检测方法的可靠性与重复性。质量控制还包括对储存条件和运输过程可能引发的药品质量变化的监测，以保证成品在流通和临床使用中的安全性与稳定性。

### 2. 安全性指标的评估与确认

安全性指标的测评依靠阿司匹林肠溶片中游离水杨酸杂质含量与药品法规规定的限量标准实施对比。通过测评该杂质在不同储存条件下的变化趋势，裁定其含量能否满足药品质量要求。实验结果显示，在规定储存条件下，游离水杨酸的杂质水平维持平稳，没有超出安全限量。该研究方法为新药开发及质量控制供给科学依据，利于强化药品安全性监管，提升患者用药安全性。

## 六、数据分析与结果讨论

### 1. 游离水杨酸杂质的分析结果

通过高效液相色谱法对阿司匹林肠溶片中的游离水杨酸杂质实施了量化研究，并且对测定结果进行了深入剖析。实验挑选多批次样品，根据改良后的色谱条件进行测定。于游离水杨酸的量化研究阶段中，色谱峰呈现出优秀的分离度和对称性，目标杂质可以与其他成分清晰分辨。显示结果表明，检测方法拥有较强的灵敏度和重复性，可稳固辨别少剂量区间内的游离水杨酸浓度程度。差异生产批次与储存条件下的样品中，游离水杨酸杂质浓度在一定区间内出现波动，然而都未超出实验规定的杂质限量标准。检测手段能够准确展示阿司匹林肠溶

片里面游离水杨酸的具体含量数据，帮助后续进行稳定性试验和质量管理提供值得信赖的技术帮助和评估标准。

### 2. 阿司匹林肠溶片稳定性的综合评价

通过不同储存条件下的稳定性测试结果，分析阿司匹林肠溶片中游离水杨酸含量的波动趋势。在标准储存条件避光，相对湿度60%下，样品中游离水杨酸的含量维持稳固，没有超出设定的杂质限量标准。在高温高湿环境40℃，相对湿度75%储存期间，游离水杨酸的含量稍有增加，但依然处于安全限范围以内。低温储存条件4℃则高效缓解了水杨酸降解的速率，游离水杨酸含量明显少于其余储存条件。由实验数据能够推测，储存条件对阿司匹林肠溶片中的杂质水平拥有关键作用，适当的环境控制有助于维持产品稳定性。

## 结束语

通过本文的实施，顺利构建了一套高效液相色谱法HPLC用来准确测定阿司匹林肠溶片中游离水杨酸杂质的含量以及其于多种储存条件之中的稳定性。所构建的测定方法依靠其极高特异性和灵敏度，证实了它在药品质量控制和稳定性评估中的运用价值。研究结果显示，在满足标准储存条件的前提下，游离水杨酸的含量能够高效管理，保障了药品的安全性。综上，本文不仅增强了对阿司匹林肠溶片质量控制的理解，也为后续相关药品的质量监测提供了技术支撑和理论基础。希望未来的研究能够在这一基础上，进一步探索更为全面和深入的分析技术，以提高药品的整体安全性和有效性。

## 参考文献

- [1]李文清, 孔珊珊, 马电通, 等. 高效液相色谱法测定羧甲基壳聚糖/水杨酸处理的葡萄柚果实中水杨酸含量[J]. 保鲜与加工, 2021, 21(06): 93-99.
- [2]赵勇, 郑金凤, 刘雁鸣, 等. 高效液相色谱法同时测定阿司匹林片中阿司匹林和水杨酸含量[J]. 中国医药科学, 2023, 13(17): 78-81.
- [3]张文娟, 胡曼曼, 胡江, 等. 高效液相色谱法测定阿米酸及其杂质的研究[J]. 中国科技期刊数据库 工业A, 2021, (09): 0148-0149.
- [4]张慧敏, 彦培傲, 徐志杰, 等. 高效液相色谱法测定化妆品中水杨酸的不确定度评定[J]. 山东化工, 2020, 49(10): 91-95.
- [5]巴然然. 阿司匹林双嘧达莫片中有效成分含量及游离水杨酸限量研究[J]. 中国处方药, 2022, 20(06): 13-15.