

《药物分析》课程学习重点难点

中国药典

(见第 1 章)

① 基本内容:

《中国药典》由一部、二部、三部及其增补本组成,分别包括“凡例、正文、附录和索引”四部分基本内容。

② 凡例:

凡例是为正确使用《中国药典》进行药品质量检定的基本原则,是对《中国药典》正文、附录及与质量检定有关的共性问题的统一规定。

③ 正文:

正文为药品质量标准,内容有:品名、结构式、分子式、含量限度、性状、鉴别、检查、含量测定、类别、规格、贮藏等项目。

④ 附录:

附录主要收载制剂通则、通用检测方法和指导原则。

⑤ 索引:

《中国药典》索引:一部有中文、汉语拼音、拉丁名、拉丁学名四种索引;二部、三部各有中文、英文两种索引。

药品分析方法的验证

(见第 1 章)

方法验证内容有:准确度、精密度、专属性、检测限、定量限、线性、范围和耐用性。

① 准确度:

指用该方法测定的结果与真实值或参比值接近的程度,一般用回收率表示。

② 精密度:

指在规定的测试条件下,同一个均匀供试品,经多次取样测定所得结果之间的接近程度,一般用标准偏差(SD)或相对标准偏差(RSD)表示。有重复性、中间精密度和重现性三

个层次。

③ 专属性：

指在其他成分（如杂质）可能存在下，采用的方法能准确测定出被测物的特性。

④ 检测限：

指在实验条件下，试样中被测物能被检出的最低量，无需准确定量。一般以信噪比 2:1 或 3:1 时的相应浓度或注入仪器的量确定检测限。

⑤ 定量限：

指在实验条件下，试样中被测物能被定量测定的最低量，其测定结果必须具有一定的准确度和精密度。一般以信噪比 10:1 时的相应浓度或注入仪器的量确定定量限。

⑥ 线性：

指在设定的被测物浓度（或量）范围内，测试结果（响应值）与试样中被测物浓度或量呈正比关系的程度。用最小二乘法进行线性回归，以回归方程（ $y=bx+a$ ）、相关系数（ r ）表示。

⑦ 范围：

指能达到一定精密度、准确度和线性，测试方法适用的高低限浓度或量的区间。

⑧ 耐用性：指在测定条件有小的变动时，对同一样品测定结果不受影响的承受程度。

典型药物的鉴别、区别试验

（见第 2 章）

对于药物的鉴别试验，应依据药物的结构特征-理化性质-分析方法这条主线开展学习。典型的鉴别试验有重氮化-偶合反应、三氯化铁反应、丙二酰脲反应等。

① 重氮化-偶合反应

这是具有芳伯氨基或潜在芳伯氨基的药物，如芳胺类、磺胺类、苯并二氮杂卓类药物的常用鉴别试验，主要试剂为亚硝酸钠、盐酸和碱性 β -萘酚，最终产物为橙黄至猩红色沉淀的偶氮染料。

（1）鉴别反应的原理：游离芳伯氨基在盐酸性溶液中与亚硝酸钠作用，生成重氮盐，进而与碱性 β -萘酚作用，生成橙黄至猩红色沉淀。

（2）注意：具有游离芳伯氨基、潜在芳伯氨基（一般为酰胺键，需水解后才有反应）、

无芳伯氨基药物之间的区别。

直接能反应的药物如：苯佐卡因、盐酸普鲁卡因、盐酸普鲁卡因胺、磺胺异噁唑、磺胺嘧啶、磺胺甲噁唑等。

水解后才有反应的药物如：对乙酰氨基酚、醋氨苯砒、氯氮卓、奥沙西洋等。

没有重氮化-偶合反应但结构类似的药物如：盐酸丁卡因，结构中含芳仲胺，在酸性溶液中可与亚硝酸钠反应，生成 N-亚硝基化合物的乳白色沉淀，可与具有芳伯氨基的同类药物区别。

② 三氯化铁反应

具有酚羟基结构的药物，可与三氯化铁试液反应生成有色物质，该类鉴别反应常用于水杨酸类、苯乙胺类、四环素类等药物的鉴别。苯甲酸类药物也可与三氯化铁反应，但产生有色沉淀，可与之区别。

(1) **水杨酸及其酯类**药物的鉴别：在中性或弱酸性条件下，药物与三氯化铁试液反应，生成红色（中性）或紫色（弱酸性）配位化合物。

注意结构区别：具有游离酚羟基结构的药物，如水杨酸、二氟尼柳、对氨基水杨酸钠、双水杨酯等均可与三氯化铁试液直接反应，呈显紫色。而酚羟基被酯化的药物，如阿司匹林、贝诺酯等，则需在适当条件下水解后才能与三氯化铁试液反应，呈显紫色。

(2) **苯乙胺类**药物的鉴别：肾上腺素、盐酸异丙肾上腺素、重酒石酸去甲肾上腺素等苯乙胺类药物的分子结构中含有 1 个或 2 个酚羟基，可与 Fe^{3+} 离子配位显色（紫色或紫红色）。

(3) **四环素类**抗生素的鉴别：本类抗生素分子结构中具酚羟基，遇三氯化铁试液即呈色。

(4) **苯甲酸及其盐类**药物的鉴别：在中性或碱性溶液中，苯甲酸钠与三氯化铁试液生成赭色沉淀；丙磺舒生成米黄色沉淀。

③ 丙二酰脲类反应

此为巴比妥类药物的一般鉴别试验，银盐法和铜盐法。

(1) **银盐法**：在碳酸钠溶液中，巴比妥类药物与过量硝酸银溶液反应，生成白色二银盐沉淀。

(2) **铜盐法**：在吡啶溶液中，巴比妥类药物与铜吡啶试液作用，形成紫色或紫色沉淀，含硫巴比妥（如硫喷妥）呈绿色，可与之区别。

④ 硫色素反应

此为维生素B₁的专属反应。在碱性溶液中，维生素B₁被铁氰化钾氧化生成硫色素，溶于正丁醇（或异丁醇等）中，显蓝色荧光。

⑤ 紫外光谱法鉴别药物

常用的测定方法有：

- ①测定最大吸收波长，或同时测定最小吸收波长；
- ②规定一定浓度的供试液在最大吸收波长处的吸光度；
- ③规定吸收波长和吸收系数；
- ④规定吸收波长和吸光度比值；
- ⑤经化学处理后，测定其反应产物的吸收光谱特性；

以上方法可结合起来使用，以增加方法的专属性。

杂质检查

（见第3章）

① 一般杂质检查

指药物中氯化物、硫酸盐、铁盐、重金属、砷盐、水分、炽灼残渣等项目的检查。重点掌握氯化物、重金属、砷盐、炽灼残渣等杂质检查原理、反应条件、适宜浓度、限量计算等。

中国药典收载的**重金属**检查方法：第一法为硫代乙酰胺显色法(pH3.5)；第二法为三酸处理后硫代乙酰胺显色法(pH3.5)，第三法为硫化钠试液显色法（碱性溶液）。

中国药典收载的**砷盐**检查方法：古蔡氏法和 Ag(DDC)法。掌握检查中所加试剂碘化钾、酸性氯化亚锡、醋酸铅棉花、溴化汞试纸等作用，两种方法的异同点。

炽灼残渣的炽灼温度：一般 700~800℃，残渣留作重金属检查时，温度控制在 500~600℃。

恒重操作：炽灼至恒重的第二次及以后各次称重均应在规定条件下继续炽灼 30min 后进行，恒重是指在规定条件下连续两次炽灼后称重的差异在 0.3mg 以下的重量。

残留溶剂测定方法：中国药典规定 GC 法，定量方法（外标法、内标法、标准加入法）。

② 特殊杂质检查

通常采用色谱法进行检查，如 TLC 法和 HPLC 法，少数采用光谱法检查。

(1) **TLC 法**检查药物中杂质时，有以下几种方法：①杂质对照品法；②供试品溶液自身

稀释对照法；③杂质对照品法与供试品溶液自身稀释对照法并用；④对照药物法；⑤以试验条件下显色剂对杂质的检出限来控制杂质限量。

(2) **HPLC 法**检查药物中杂质时，有以下几种方法：①内标法；②外标法；③加校正因子的主成分自身对照法；④不加校正因子的主成分自身对照法；⑤面积归一化法

(3) **紫外-可见光谱法**：利用药物与杂质的紫外吸收特性差异进行检查。如肾上腺素中肾上腺酮的检查，酮体在 310nm 有最大吸收，而药物在此波长处无吸收，规定一定浓度供试溶液的吸光度不得超过某一值来控制酮体的限量。

(4) **红外光谱法**：主要用于检查药物种低效或无效晶型杂质。如甲苯咪唑中无效 A 晶型的检查。

(5) **原子吸收光谱法**：主要用于药物中金属杂质的检查。如甲芬那酸中铜的检查、维生素 C 中铜的检查。

计算题类型与计算原理

药物分析中的计算题主要有两类：杂质限量计算和药物含量计算。

① 杂质限量计算（见第三章）

$$\text{基本公式如下：杂质限量} = \frac{\text{杂质最大允许量}}{\text{样品供试量}} \times 100\% \quad (1)$$

式中**杂质最大允许量**由以下几种方法得到：

① 在**一般杂质**检查中，采用杂质对照品对照法进行检查时，用杂质对照溶液的浓度（C）与体积（V）的乘积来表示，杂质对照溶液的浓度一般是固定的（按药典规定）。

② 在**特殊杂质**检查中，常用色谱法检查，如薄层层析、高效液相色谱，杂质对照液浓度根据样品不同而不同，杂质的最大允许量由杂质对照液浓度与进样（或点样）体积的乘积来表示，但若杂质对照液和样品供试液的点样（或进样）体积一致，则体积就不用考虑，直接用对照液浓度表示。

③ 在**光谱分析**中，一般需要通过计算获得杂质最大允许量。

百分吸收系数法：由方法规定的样品溶液在某一波长处的吸光度值（A）除以杂质纯品在该波长处的百分吸收系数（E）值，而获得供试溶液中杂质的浓度（ $C=A/E$ ）。

杂质对照品对照法：根据杂质对照溶液浓度（ $C_{\text{对}}$ ）与其吸光度值（ $A_{\text{对}}$ ），以及方法规定的样品溶液在某一波长处的吸光度限量值（ $A_{\text{限}}$ ），采用单点对照法计算供试溶液中杂质的

浓度 ($C_{\text{样}} = A_{\text{样}} / A_{\text{对}} \times C_{\text{对}}$)。

注意：按公式 (1) 计算时，分子分母单位应一致，常需换算 ($1\text{g}=1000\text{mg}=1000000\mu\text{g}$)。

② 药物含量计算

分为原料药含量计算和制剂含量计算 (见第 4 章，根据分析方法的不同，分为容量法 (见第 5 章)、光谱法 (见第 6 章)、色谱法 (见第 7 章) 三种。基本公式如下：

(1) 原料药含量计算：

$$\text{容量法: 药物含量\%} = \frac{\text{滴定液体积 } V \times \text{滴定度 } T \times \text{滴定液浓度校正因子 } F}{\text{样品取样量 } W} \times 100\% \quad (2)$$

光谱法：有两种方法计算样品溶液浓度：

$$\text{①对照液对照法: 样品液浓度 } C = \frac{\text{样品液吸光度 } A_{\text{样}} \times \text{对照液浓度 } C_{\text{对}}}{\text{对照液吸光度 } A_{\text{对}}}$$

此式中，样品液浓度 C 的单位与对照液浓度单位一致。

$$\text{②百分吸收系数 } E \text{ 值法: 样品液浓度 } C (\%) = \frac{\text{样品液吸光度 } A}{E}$$

此式中，样品液浓度 C 为百分浓度，单位为% ($\text{g}/100\text{ml}$)，即每 100ml 中含多少克。

$$\text{药物含量\%} = \frac{\text{样品液浓度 } C \times \text{样品稀释倍数 } F}{\text{样品取样量 } W} \times 100\% \quad (3)$$

注意：上式中，分子、分母单位可能不同，须将两者换算成相同单位。

色谱法：有内标法和外标法计算之分。

$$\text{①外标法: 样品液浓度 } C = \frac{\text{样品液峰面积 } A_{\text{样}} \times \text{对照液浓度 } C_{\text{对}}}{\text{对照液峰面积 } A_{\text{对}}}$$

$$\text{②内标法: 样品液浓度 } C = \frac{\text{样品液峰面积 } A_{\text{样}} \times \text{内标溶液浓度 } C_{\text{内}}}{\text{内标溶液峰面积 } A_{\text{内}}} \times \text{校正因子 } F$$

$$\left(\text{校正因子 } F = \frac{\text{内标溶液峰面积} \times \text{样品对照溶液浓度}}{\text{样品对照溶液峰面积} \times \text{内标溶液浓度}} \right)$$

$$\text{药物含量\%} = \frac{\text{样品液浓度 } C \times \text{样品稀释倍数 } F}{\text{样品取样量 } W} \times 100\% \quad (4)$$

(2) 制剂含量计算：

以上 (2)、(3)、(4) 式中“样品取样量”为原料药取样量，若为制剂，该取样量就是片粉取样量或注射液取用体积 (1ml 相当于 1g)。

制剂通常要求计算相当于标示量的百分含量，由以上 (2)、(3)、(4) 式计算得到的是

所取片粉中药物的百分含量，乘上平均片重（一般片剂取 10 片或 20 片称重后研细，再称取适量片粉，即样品取用量），得每片实际含量，再除以标示量（即片剂的规格），即得相当于标示量的百分含量：

$$\text{相当于标示量}\% = \frac{\text{药物含量} \times \text{平均片重}}{\text{标示量}} \times 100\% \quad (\text{注意分子分母单位的一致性})$$

如果为注射剂，由以上 (2)、(3)、(4) 式计算得到的是每 100ml 注射液中药物的含量，再除以规格（质量/ml），即得相当于标示量的百分含量：

$$\text{相当于标示量}\% = \frac{\text{药物含量 (mg/ml)}}{\text{标示量 (mg/ml)}} \times 100\%$$

计算题是药物分析课程教学的重要内容，几乎所有的药物分析考试中均有计算题，计算题量不多，但试卷中比重较大，失分也较大，希望引起同学注意。最好平时多练习，不懂时也可电话联系，当面交流可能比书面自己看效果更好。

滴定度与当量关系

（见第 5 章）

滴定度是容量分析计算中常遇到的问题，必须搞清楚其定义与计算方法。

① 定义：

滴定度是指每 1ml 规定浓度的滴定液所相当的被测药物的质量（mg）数。

② 滴定度（T）的确定：

T 需根据被测物与滴定液的反应摩尔比来计算，如 1 摩尔被测物与 x 摩尔滴定液相当。则 $T = \text{滴定液摩尔浓度 (mol/L)} \times \text{被测物摩尔量 (分子量 M)} / x$ 。

③ 典型滴定反应中，被测物与滴定剂摩尔比：

溴酸钾法滴定异烟肼（氧化还原）：3 摩尔异烟肼与 2 摩尔溴酸钾相当， $T = 3M/2 \times \text{mol/L}$ 。

溴量法滴定司可巴比妥钠（加成反应）：1 摩尔司可巴比妥钠与 1 摩尔溴（ Br_2 ）相当， $T = M \times \text{mol/L}$ 。

溴量法滴定盐酸去氧肾上腺素（取代反应）：1 摩尔盐酸去氧肾上腺素与 3 摩尔溴（ Br_2 ）相当， $T = M/3 \times \text{mol/L}$ 。

溴量法滴定盐酸肼屈嗪（氧化还原）：1 摩尔盐酸肼屈嗪与 2 摩尔溴（ Br_2 ）相当， $T = M/2 \times \text{mol/L}$ 。

碘酸钾法滴定卡托普利(氧化还原):6摩尔卡托普利与1摩尔碘酸钾相当, $T=6M \times \text{mol/L}$ 。

铈量法滴定硝苯地平(氧化还原):1摩尔硝苯地平与2摩尔硫酸铈相当, $T=M/2 \times \text{mol/L}$ 。

高氯酸滴定硫酸奎宁(非水滴定):1摩尔硫酸奎宁与3摩尔高氯酸相当, $T=M/3 \times \text{mol/L}$ 。

高氯酸滴定维生素B1(非水滴定):1摩尔维生素B1与2摩尔高氯酸相当, $T=M/2 \times \text{mol/L}$ 。

非水滴定中被测物酸根和温度影响

(见第5章)

① 酸根影响

氢卤酸根: 与碱性药物成盐的氢卤酸主要是盐酸、氢溴酸, 其在非水溶液中酸性较强, 影响指示剂终点观察。一般采取: 改用电位法指示终点, 或在滴定前向被测溶液中加入一定量醋酸汞溶液, 使之形成卤化汞沉淀而消除干扰。

硫酸根: 硫酸为二元酸, 其二级电离弱, 不影响高氯酸滴定。而硫酸与有机碱成盐时摩尔比为1:2, 如硫酸阿托品、硫酸奎宁、硫酸沙丁胺醇等。因此, 滴定反应的结果是生成有机碱的高氯酸盐和硫酸氢盐。故无需特殊处理, 可直接滴定。

硝酸根: 硝酸在非水溶剂中酸性较弱, 不影响滴定反应, 但其具有氧化性, 可氧化指示剂使其变色或褪色而影响终点观察, 故采用电位法指示终点。

磷酸: 在冰醋酸介质中, 磷酸酸性弱, 不影响滴定反应, 无需任何处理, 可以直接滴定。

有机酸: 有机酸酸性弱, 不影响滴定反应, 无需任何处理, 可以直接滴定。

② 温度影响

温度对非水介质的影响较大。温度每改变 1°C , 冰醋酸体积就有0.11%的变化。所以当滴定时温度与标定时温度不同时, 滴定液的浓度就需要进行校正。《中国药典》规定: 滴定温度与标定温度相差在 10°C 以上时应重新标定; 滴定温度与标定温度相差在 $\pm 10^{\circ}\text{C}$ 以内时, 可根据下式将滴定液浓度加以校正:

$$N_1 = \frac{N_0}{1 + 0.0011(t_1 - t_0)}$$

式中 N_1 和 t_1 分别为滴定时滴定液浓度和温度, N_0 和 t_0 分别为标定时滴定液浓度和温度, 0.0011为冰醋酸体积膨胀系数。

高效液相色谱法基本知识

(见第7章)

① HPLC 法分类与定义

正相高效液相色谱法 (NP-HPLC) —— 固定相极性大于流动相极性。常用色谱柱有硅胶柱、氰基柱、氨基柱；流动相为烷烃加适量极性溶剂，如正己烷-异丙醇、正己烷-乙醇等。主要用于分离溶于有机溶剂的极性至中等极性的分子型化合物，如维生素A、维生素D、维生素K₁的含量测定。

反相高效液相色谱法 (RP-HPLC) —— 流动相极性大于固定相极性。常用色谱柱为十八烷基硅烷键合硅胶 (ODS) 柱；流动相主要成分为甲醇-水或乙腈-水 (添加适量酸或缓冲盐)，用于大多数非极性、弱极性药物的分离分析。

② 系统适用性试验内容与要求

理论板数 (n) = $16(t_R/W)^2$ 或 $n = 5.54(t_R/W_{h/2})^2$ ，计算 n 时应指明测定物质。当测定结果有异议时，应以峰宽 (W) 计算结果为准。

$$\text{分离度 } (R) = \frac{2(t_{R_2} - t_{R_1})}{W_1 + W_2} \text{ 或 } R = \frac{2(t_{R_2} - t_{R_1})}{1.70(W_{1,h/2} + W_{2,h/2})}$$
，一般要求待测组分与相邻共存物之间的 R 应大于 1.5。当测定结果有异议时，应以峰宽 (W) 计算结果为准。

存物之间的 R 应大于 1.5。当测定结果有异议时，应以峰宽 (W) 计算结果为准。

重复性：用于评价连续进样中，色谱系统响应值的重复性能。取同一溶液连续进样 5 次，其峰面积的相对标准偏差 (RSD) 应不大于 2.0%。

$$\text{拖尾因子 } (T) = \frac{W_{0.05h}}{2d_1}$$
，峰高法定量时 T 应在 0.95~1.05 之间。

③ 测定方法

内标法：按规定，取被测物对照品和内标物质一定量，混合，配制成校正因子测定用的对照溶液，注入高效液相色谱仪，记录色谱峰面积。根据对照溶液色谱图中对照品和内标物质的峰面积或峰高，以及对照品和内标物的浓度，按下式计算校正因子 (f)：

$$f = \frac{A_{\text{内}} / C_{\text{内}}}{A_{\text{对}} / C_{\text{对}}}$$

另取被测物适量，加一定量内标溶液，混合，制成供试品溶液，注入高效液相色谱仪，记录色谱峰面积。根据供试品溶液色谱图中待测成分和内标物质的峰面积或峰高，按下式计算供试品溶液中待测成分的浓度 ($C_{\text{样}}$)：

$$C_{\text{样}} = f \times \frac{A_{\text{样}}}{A_{\text{内}} / C_{\text{内}}}$$

外标法：按规定，精密称取对照品和供试品，分别配制成溶液，注入高效液相色谱仪，记录各自色谱图，测量对照品溶液和供试品溶液中待测成分的峰面积（或峰高），按下式计算供试品溶液中待测成分的浓度（ $C_{\text{样}}$ ）：

$$C_{\text{样}} = C_{\text{对}} \frac{A_{\text{样}}}{A_{\text{对}}}$$