

药物分析

第二章 药物的鉴别试验



人民卫生出版社

PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE



药品检验工作的主要内容

- 鉴别：判定真伪
- 检查：安全性、有效性、均一性
- 含量测定：有效成分的定量



药物的鉴别试验

第一节	鉴别试验的内涵
第二节	鉴别试验的项目
第三节	鉴别试验的方法
第四节	鉴别试验的条件



第一节

鉴别试验的内涵



人民卫生出版社

PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

- 目的：根据药物的分子结构特征，采用物理、化学、或生物学方法，判断（鉴别）药物真伪。
- 适用性：仅用于证实贮藏在有标签容器中的药物是否为其所标示的药物，并非对未知物化学结构的确证鉴定。
- 要求：方法专属，每个品种一般2~3项不同类型的鉴别试验。



第二节

鉴别试验的项目



性状和物理常数

原料药鉴别

制剂鉴别

鉴别项下规定的试验

一般鉴别：区分药物的**类别**

专属鉴别：区分**个别**的药物单体
(同类或相同母核)



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

一、性状和物理常数

- 性状（呈现状态）：反映了药物特有的物理性质。



外观

- 指药物的聚集状态、晶型、色泽以及臭、味等。
- 如ChP对维生素B₁的描述为“本品为白色结晶或结晶性粉末；有微弱的特臭，味苦；干燥品在空气中迅即吸收约4%的水分”。
- 对于链霉素片的描述为“本品为糖衣片或薄膜衣片，除去包衣后，显白色至微带黄绿色”。



溶解度

- 不同溶剂中的溶解特性；
- 一定程度上反映了药品的纯度。

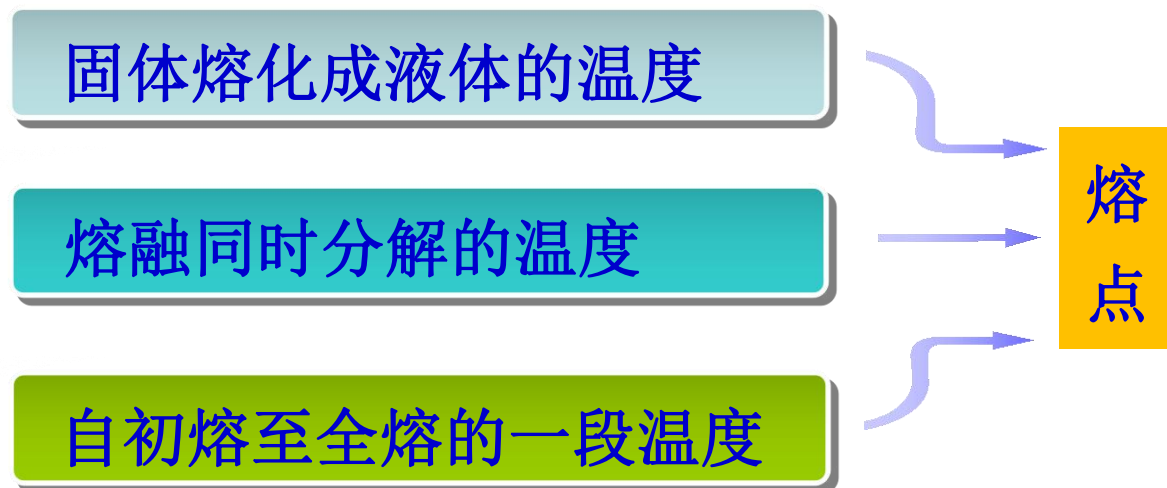
物理常数

- 内在物理特征；
- 既可鉴别，也可反映纯净的程度。



物理常数 (Physical Constants)

- 熔点及其测定法



- 玻璃毛细管测定法:

- “初熔”：开始局部液化，出现明显液滴时的温度。
- “全熔”：全部液化时的温度。



- **第一法：**测定易粉碎的固体药品（**一端熔封**）
 - 毛细管放入：传温液加热至较规定熔点低限约低 10°C 时
 - 升温速率： $1.0\sim 1.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ；熔融分解 $2.5\sim 3.0^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ；
重复测定3次，取平均。
- **第二法：**测定不易粉碎的固体药品（如脂肪、脂肪酸、石蜡、羊毛脂等）（**两端开口，吸入熔融样品，冷冻凝固测定**）
 - 升温速率： $\leq 0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ，供试品在毛细管中开始上升时的温度。
- **第三法：**测定凡士林或其他类似物质



- **比旋度**：在一定波长与温度下，偏振光透过长1dm且每1ml中含有旋光性物质1g的溶液时测得的旋光度。用 $[\alpha]_D^{20}$ 表示。
- **吸收系数**：在给定的波长、溶剂和温度等条件下，吸光物质在单位浓度、单位液层厚度时的吸收度称为吸收系数。
 - 摩尔 (ϵ) 与百分吸收系数 ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$) 。
 - 《中国药典》用： $E_{1\text{cm}}^{1\%}$



- 应用：鉴别药物 检查纯度 含量测定（制剂）

e.g. VitC 熔点 $190\sim 192^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_D^{20} +20.5^{\circ}\sim 21.5^{\circ}$, 葡萄糖注射液的含量测定



二、一般鉴别试验

- 依据**同类**药物的结构、性质进行的真伪**鉴别**。
 - 无机药物：其阴、阳离子的特殊反应；
 - 有机药物：共有母核、官能团特征反应。
- 特点：确定（区分）类别，不能够确定个别品种。
- **常用一般鉴别试验**：丙二酰脲类、托烷生物碱类、芳香第一胺类、有机氟化物类、有机酸盐、无机金属盐类、无机酸盐等。



ChP2015第四部 通则

0301 一般鉴别试验

《中国药典》2015年版 第四部+w.pdf - Adobe Acrobat Professional

File Edit View Document Comments Forms Tools Advanced Window Help

Create PDF Combine Files Export Start Meeting Secure Sign Forms Review & Comment Sticky Note Text Edits Show

34 (66 of 695) 129% Find

Bookmarks

- 目录
- 凡例
- 通则目录
- 导引图
- 通则
 - 0100 制剂通则
 - 0200 其他通则
 - 0300
 - 0301 一般鉴别试验**
 - 0400 光谱法
 - 0500 色谱法
 - 0600 物理常数测定法
 - 0700 其他测定法
 - 0800 限量检查法
 - 0900 特性检查法
 - 1100 生物检查法
 - 1200 生物活性测定法
 - 2000 中药其他方法
 - 2400 注射剂有关物质检查法
 - 3000 生物制品相关检查方法
 - 3100 含量测定法
 - 3200 化学残留物测定法
 - 3300 微生物检查法
 - 3400 生物测定法
 - 3500 生物活性/效价测定法

0301 一般鉴别试验

水杨酸盐

(1) 取供试品的中性或弱酸性稀溶液，加三氯化铁试液1滴，即显紫色。

(2) 取供试品溶液，加稀盐酸，即析出白色水杨酸沉淀；分离，沉淀在醋酸铵试液中溶解。

丙二酰肼类

(1) 取供试品约0.1g，加碳酸钠试液1ml与水10ml，振

摇2分钟，滤过，滤液中逐滴加入硝酸银试液，即生成白色沉淀，振摇，沉淀即溶解；继续滴加过量的硝酸银试液，沉淀不再溶解。

(2) 取供试品约50mg，加吡啶溶液(1→10)5ml，溶解后，加铜吡啶试液1ml，即显紫色或生成紫色沉淀。

有机氟化物

取供试品约7mg，照氧瓶燃烧法(通则0703)进行有机破坏，用水20ml与0.01mol/L氢氧化钠溶液6.5ml为吸收液，俟燃烧完毕后，充分振摇；取吸收液2ml，加茜素氟蓝试液0.5ml，再加12%醋酸钠的稀醋酸溶液0.2ml，用水稀

• 34 •

中国药典 2015 年版

0301 一般鉴别试验

释至4ml，加硝酸亚铋试液0.5ml，即显蓝紫色；同时做空白对照试验。

亚硫酸盐或亚硫酸氢盐

(1) 取供试品，加盐酸，即发生二氧化硫的气体，有刺激性特臭，并能使硝酸亚汞试液湿润的滤纸显黑色。

滴加入溴试液，均生成白色沉淀。

(2) 取供试品约5mg，加吡啶-醋酐(3:1)约5ml，振摇，即生成黄色到红色或紫红色的溶液。

钙盐

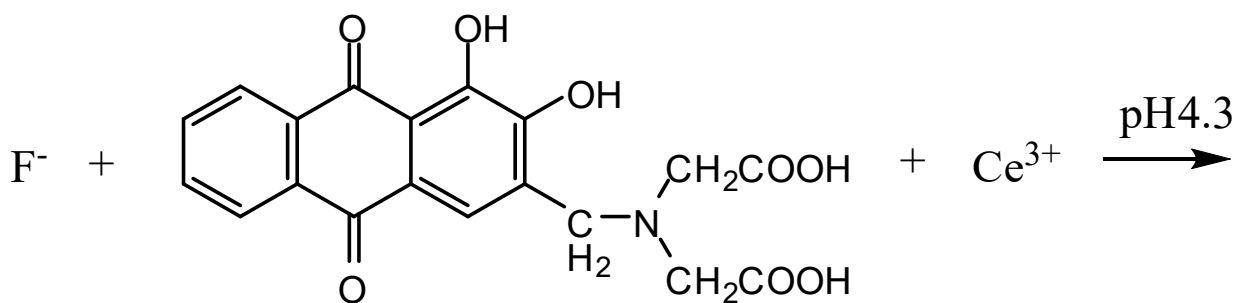
(1) 取铂丝，用盐酸湿润后，蘸取供试品，在无色火焰



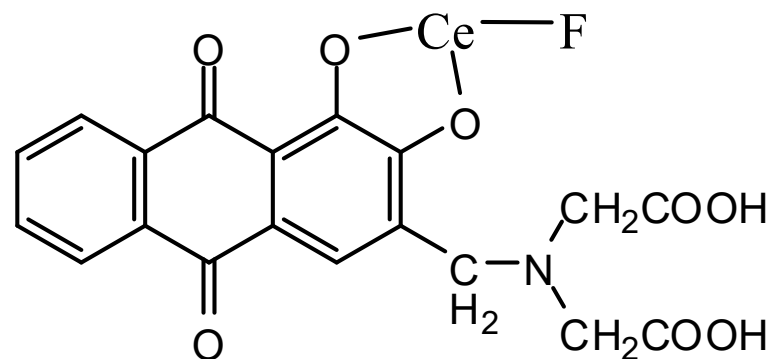
有机氟化物

- **鉴别方法：**取供试品约7mg，照**氧瓶燃烧法**进行有机破坏，用水20ml与0.01mol/L氢氧化钠溶液6.5ml为吸收液，俟燃烧完全后，充分振摇，取吸收液2ml，加茜素氟蓝试液0.5ml，再加12%醋酸钠的稀醋酸溶液0.2ml，用水稀释至4ml，加硝酸亚铈试液0.5ml，即显**蓝紫色**，同时做空白对照试验。





茜素氟蓝

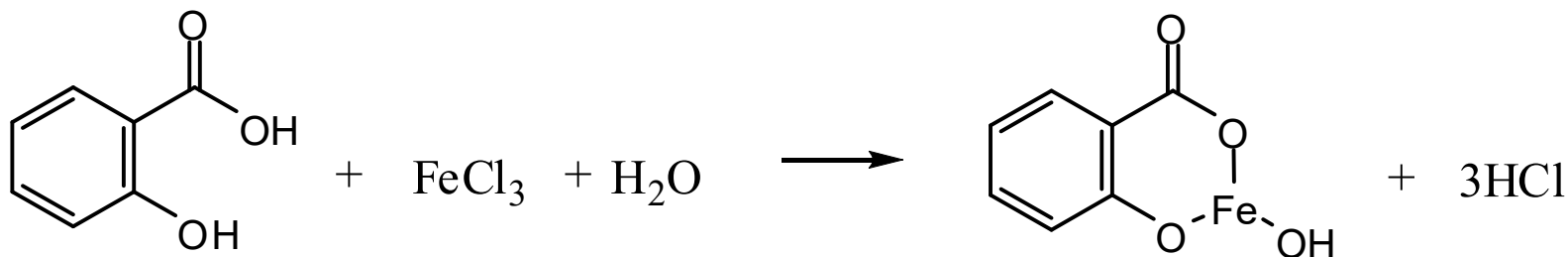


蓝紫色配合物



水杨酸盐

- **鉴别方法一：**取供试品的稀溶液，加三氯化铁试液1滴，即显**紫色**。
- **反应原理：**本品在中性或弱酸性条件下，与三氯化铁试液生成配位化合物，在中性时呈红色，弱酸性时呈**紫色**。



- **鉴别方法二：**取供试品溶液，加稀盐酸，即析出白色水杨酸沉淀；分离，沉淀在醋酸铵试液中溶解。

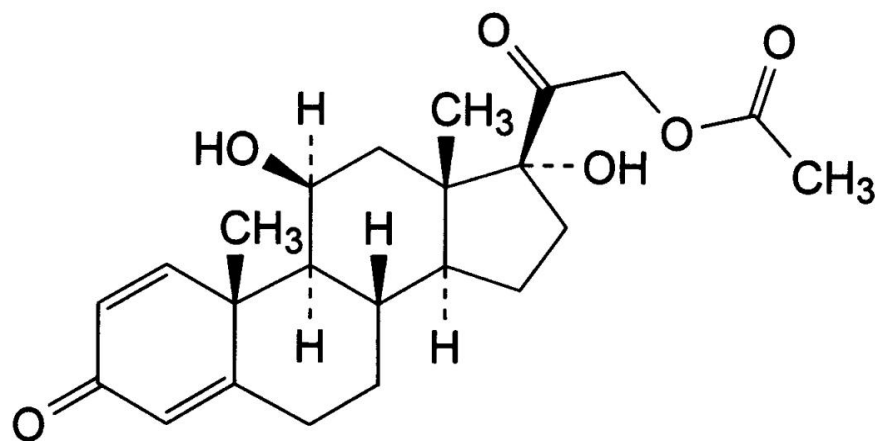


三、专属鉴别试验

- 依据：特定药物分子中的特殊性质、特征基团或官能团的专属反应或测定进行的真伪鉴别。



e.g. 醋酸泼尼松 Prednisolone Acetate



- C17位上有 α -醇酮基，与四氮唑反应

- 取本品约1mg，加乙醇2ml使溶解，加10%氢氧化钠溶液2滴与氯化三苯四氮唑试液1ml，即显红色

第三节

鉴别试验方法





方法分类

化学鉴别法

- 呈色反应鉴别法
- 沉淀生成反应鉴别法
- 荧光反应鉴别法
- 气体生成反应鉴别法
- 测定生成物的熔点

光谱鉴别法

- 紫外光谱鉴别法
- 红外光谱鉴别法

色谱鉴别法

- 薄层色谱鉴别法
- HPLC、GC鉴别法
- 纸色谱鉴别法

生物学法



药物的鉴别方法要求

- 专属性强，耐用性好，灵敏度高，操作简便、快速。
- 常用方法：化学法、光谱法、色谱法和生物学法。
- 中药材鉴别方法：还有显微鉴别法和特征图谱或指纹图谱鉴别法。
- 制剂的鉴别：尽可能与原料药相同；必须：排除辅料干扰；多组分或微量成分，须用更灵敏、专属的方法。
- 特殊性质：采用特定方法。如手性、晶型等。



一、化学鉴别法

1.呈色反应鉴别法

- 指供试品溶液中加入适当的试剂溶液，在一定条件下进行反应，生成易于观测的有色产物。

(1) 三氯化铁呈色反应

- 用于酚羟基或水解后产生酚羟基

(2) 异羟肟酸铁反应

- 多用于芳酸及其酯类、酰胺类

(3) 茚三酮呈色反应

- 用于AA和结构中含有氨基糖单元的药物



(4) 重氮化-偶合显色反应

- 用于芳伯氨基或潜在芳伯氨基

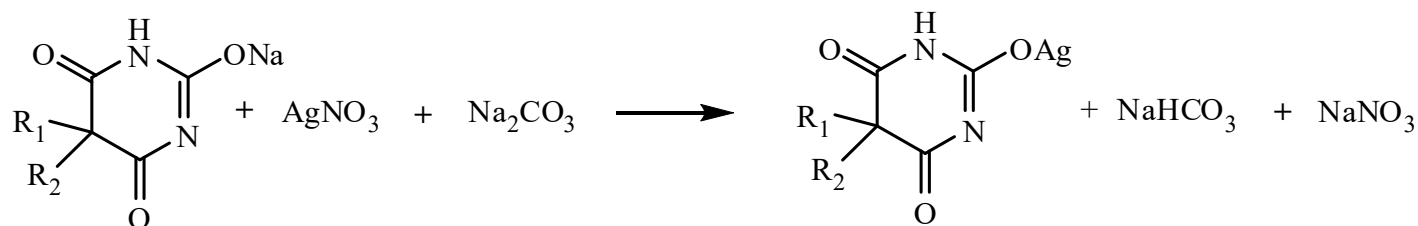
(5) 氧化还原显色反应及其他颜色反应

- 多巴胺等酚性药物与三氯化铁试液呈色加碱溶液后的变色反应

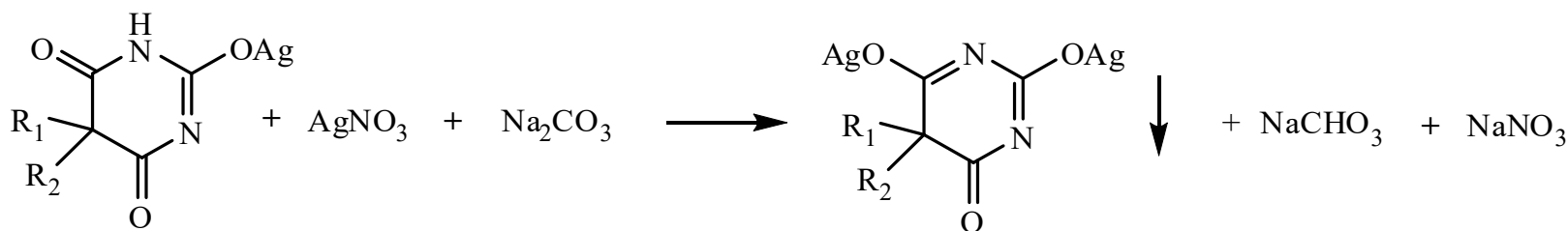


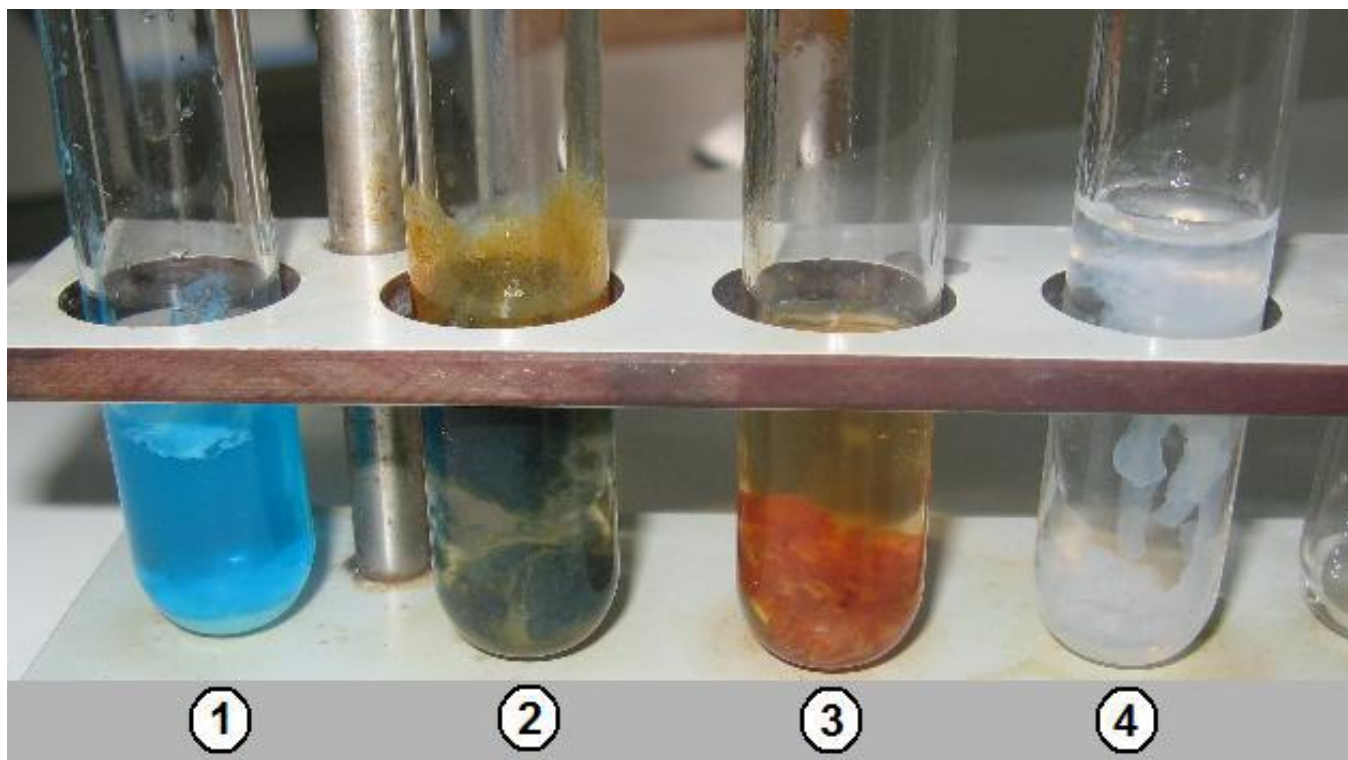
2.沉淀生成反应鉴别法

(1) 与重金属离子的沉淀反应

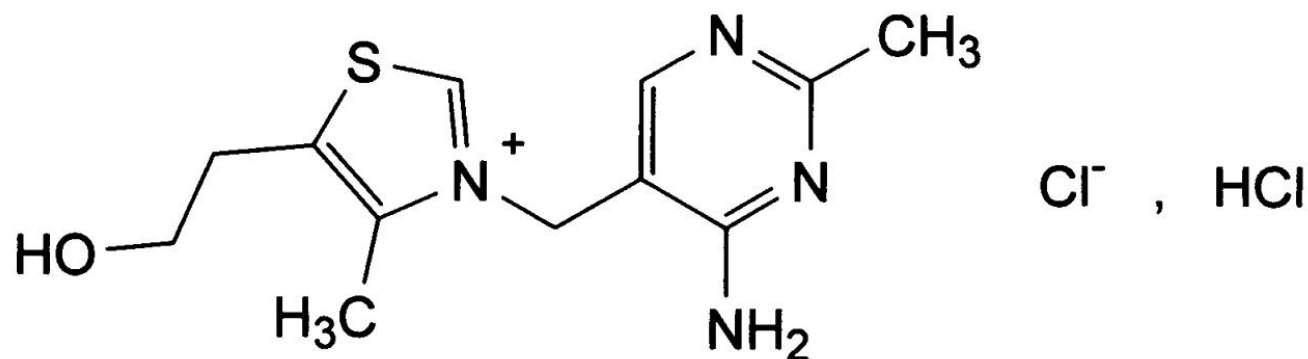


丙二酰脲类药物与硝酸银反应





(2) 与生物碱沉淀剂的反应



- 维生素B₁与碘化汞钾生成淡黄色沉淀 [B]·H₂HgI₄。



大麻酚类 cannabinoids

四氢大麻酚 (THC)



3.荧光反应鉴别法

常用的荧光发射形式：

- (1) 药物本身可在可见光下发射荧光；
- (2) 药物溶液加硫酸后，在可见光下发射荧光；
- (3) 药物和溴反应后，于可见光下发射出荧光；
- (4) 药物和间苯二酚反应后，发射出荧光及药物经其他反应后，发射荧光。



4.气体生成反应鉴别法

- (1) 大多数的胺（铵）类药物、酰脲类药物以及某些酰胺类药物，可经强碱处理后，加热，产生氨（胺）气。
- (2) 化学结构中含硫的药物，可经强酸处理后，加热，发生硫化氢气体。
- (3) 含碘有机药物，经直火加热，可生成紫色碘蒸气；含醋酸酯和乙酰胺类药物，经硫酸水解后，加乙醇可产生醋酸乙酯的香味。



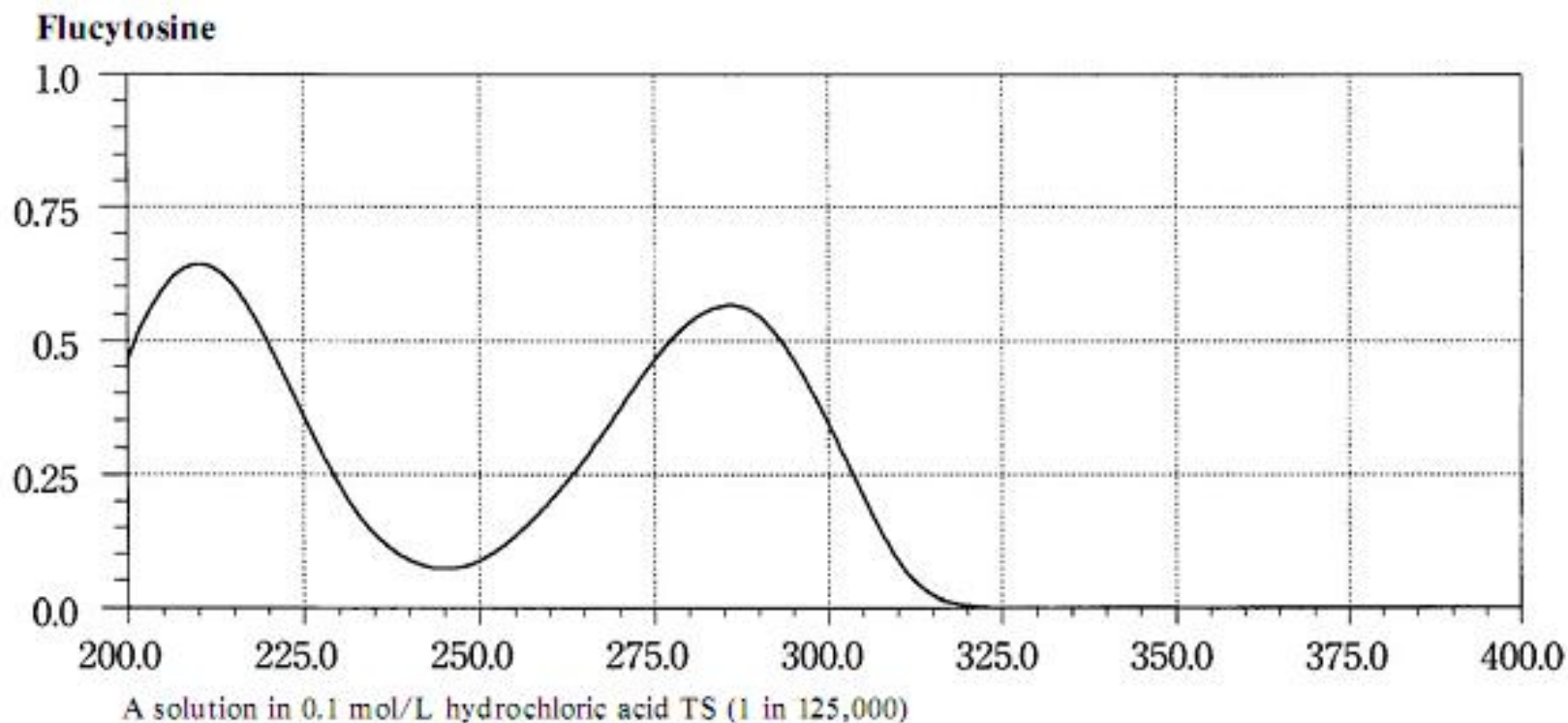
二、光谱鉴别法

1. 紫外光谱鉴别法

- (1) 规定：最大/最小吸收波长；
- (2) 规定：一定浓度供试液，最大吸收波长和吸收度；
- (3) 规定：吸收波长和吸收系数法；
- (4) 规定：几个吸收波长，和吸收度比值；
- (5) 规定：经化学处理后产物的光谱特性。



氟胞嘧啶紫外光谱鉴别



- 本品 $8\mu\text{g}/\text{ml}$ 的盐酸溶液（ $9\rightarrow 100\approx 0.1\text{mol/L}$ ），最大吸收波长 286nm ，吸光度约为 0.57 ，最小吸收波长 244nm 。



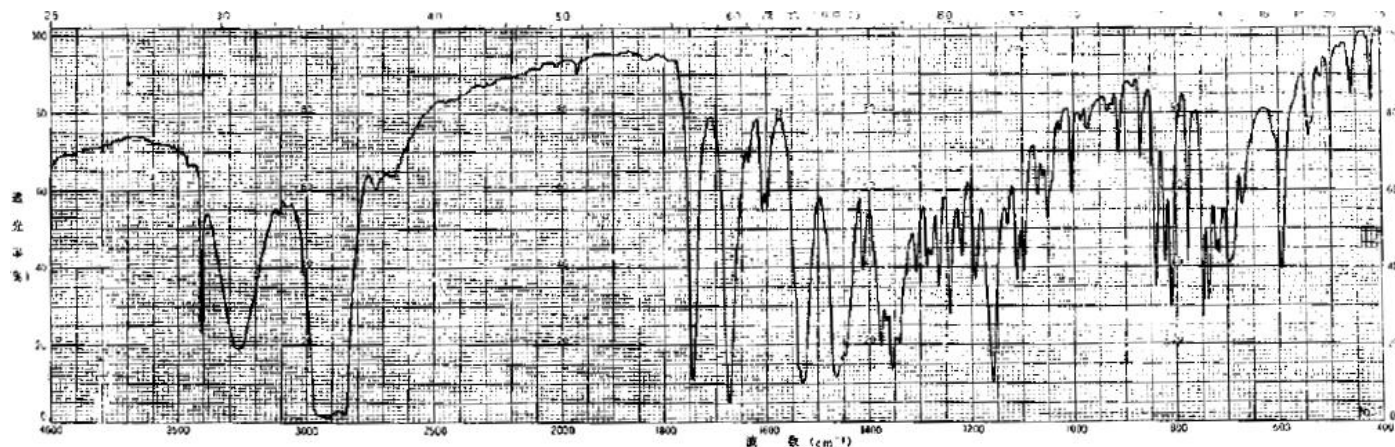
2. 红外光谱鉴别法

供试品

- 与对照品（或红外标准图谱）的一致性，指纹特性。

e.g. 棕榈氯霉素的石蜡糊片IR谱

a:A晶型；

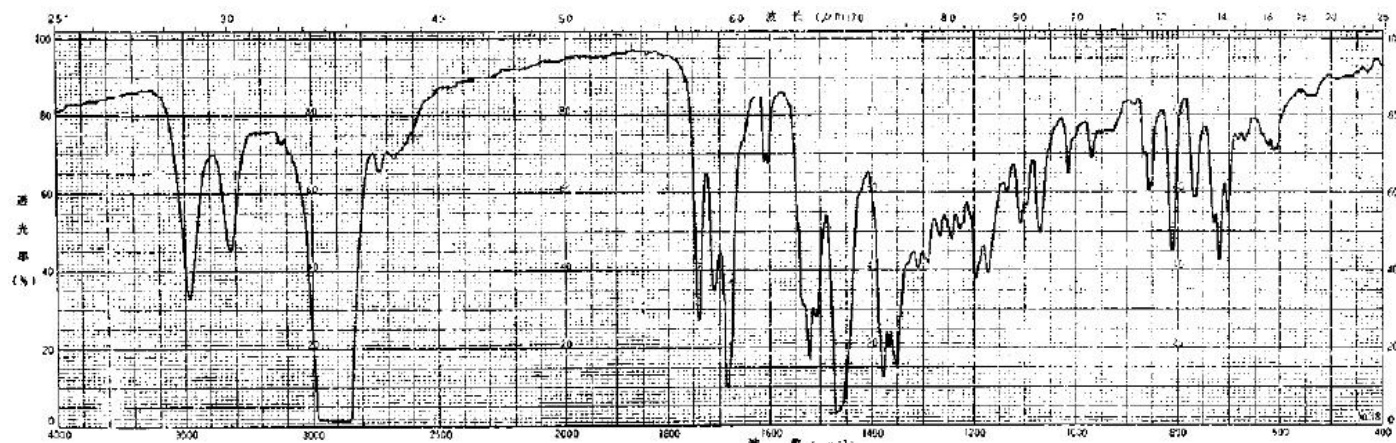


a

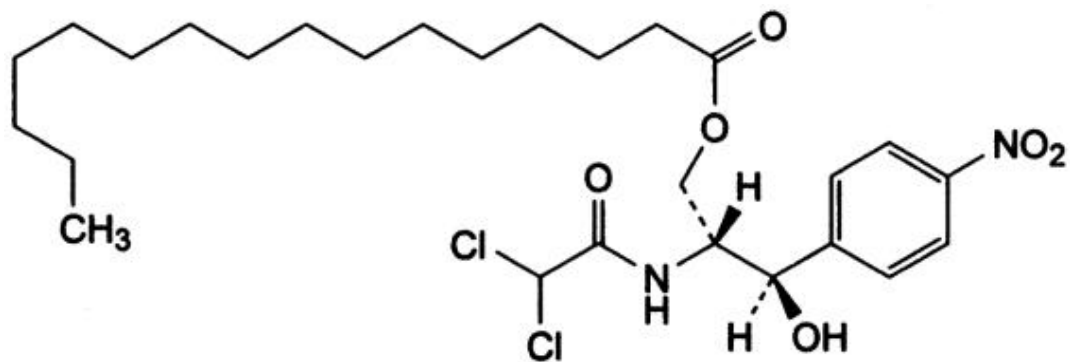


人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

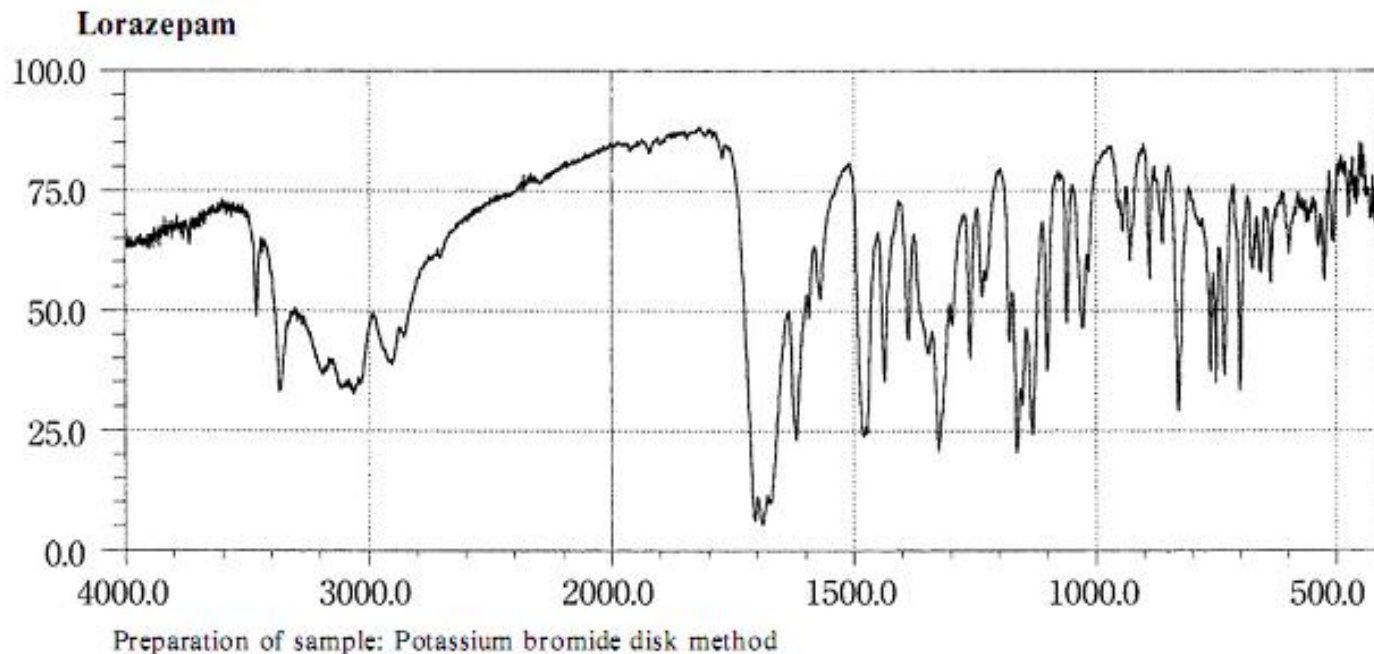
b:B晶型（有效晶型）



b



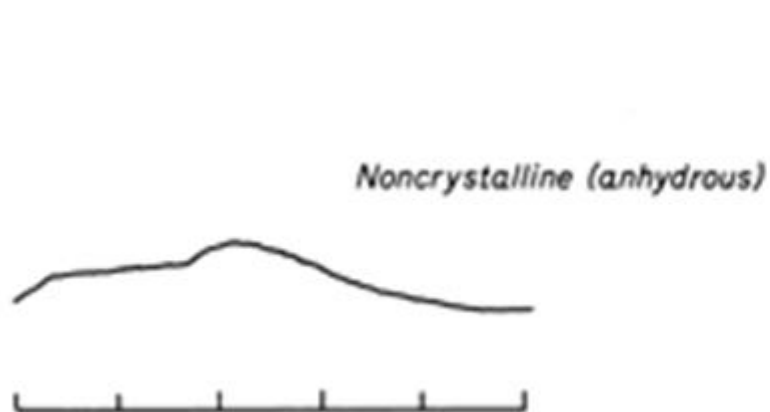
劳拉西泮红外光谱鉴别



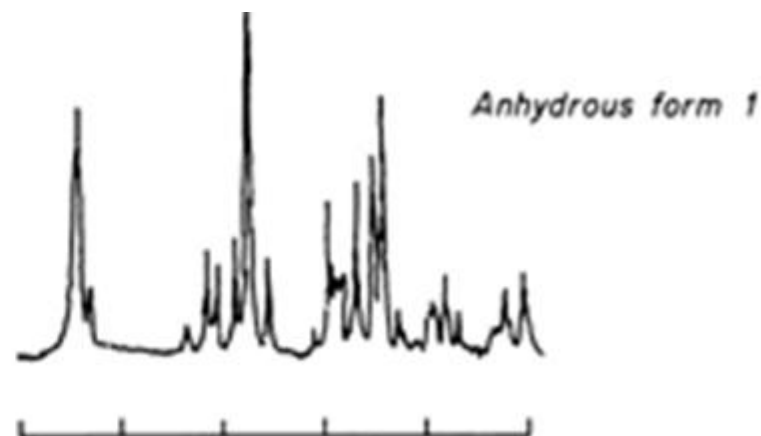
- 劳拉西泮的测定：“取本品，经干燥后用溴化钾压片法测定其红外光吸收图谱中 3440 cm^{-1} 、 3220 cm^{-1} 、 1695 cm^{-1} 、 1614 cm^{-1} 、 1324 cm^{-1} 、 1132 cm^{-1} 以及 828 cm^{-1} 波数附近有吸收”。

3.其他光谱法: NIR NMR MS AAS x-ray etc

氨苄西林四种结晶态 粉末X-射线衍射鉴别

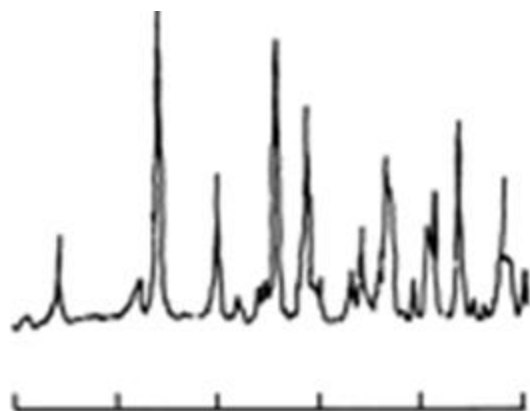


无定型（无水）



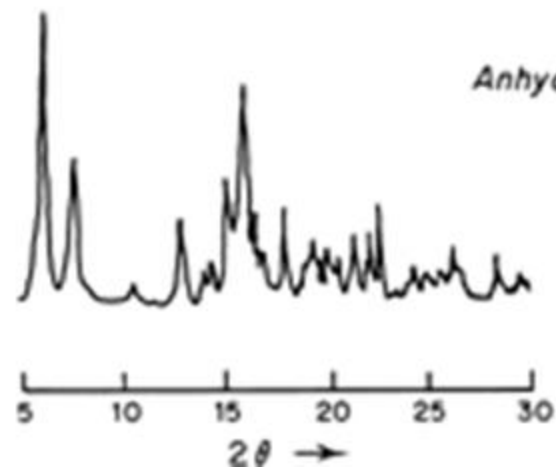
无水型1





Trihydrate

三水合物



Anhydrous form 2

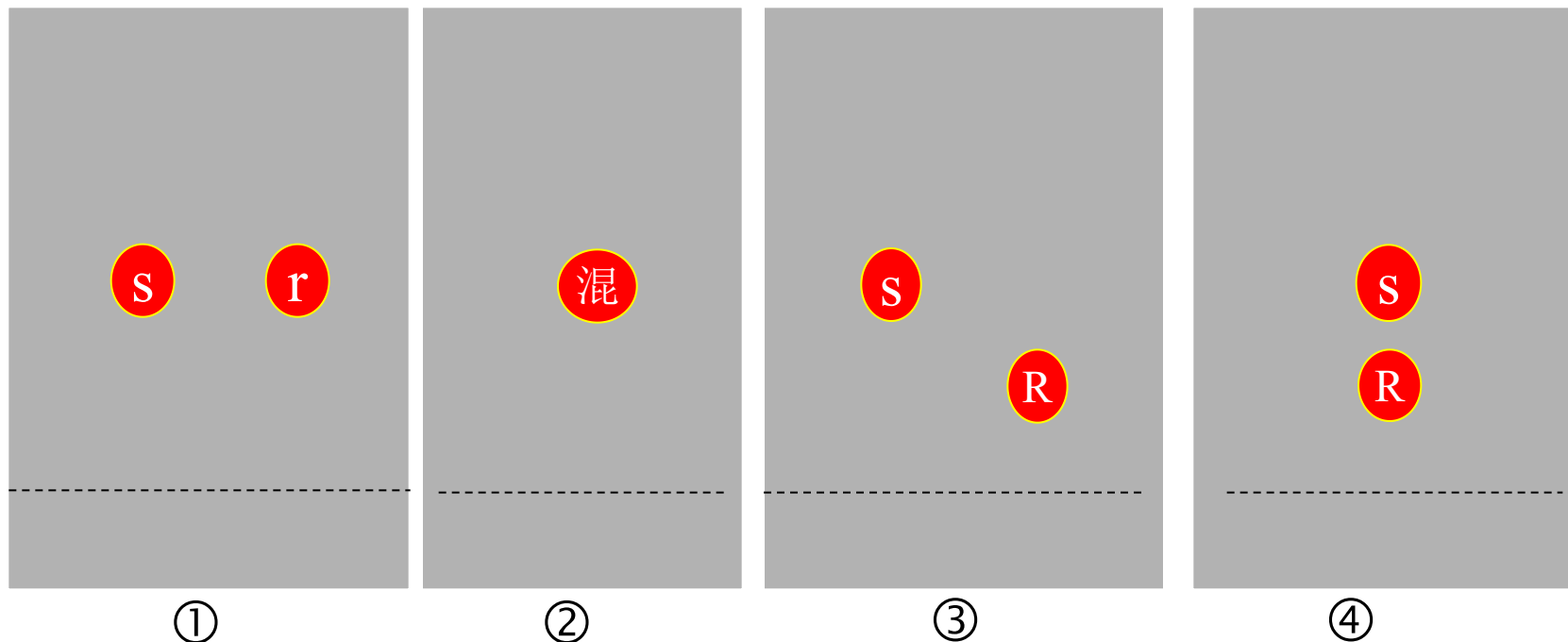
无水型2

衍射角 (2θ)、相对强度

三、色谱鉴别法

TLC、GC、HPLC、联用鉴别等

TLC



- ① 相同浓度的供试品与对照品比较，主斑点：应一致；
- ② 供试品溶液与对照品溶液等体积混合，供试品与混合液主斑点：应一致
- ③ 结构相似的其他药物与供试品溶液的主斑点比较：应区分
- ④ ③项下两种溶液等体积混合，应显示两个清晰分离的斑点：应区分



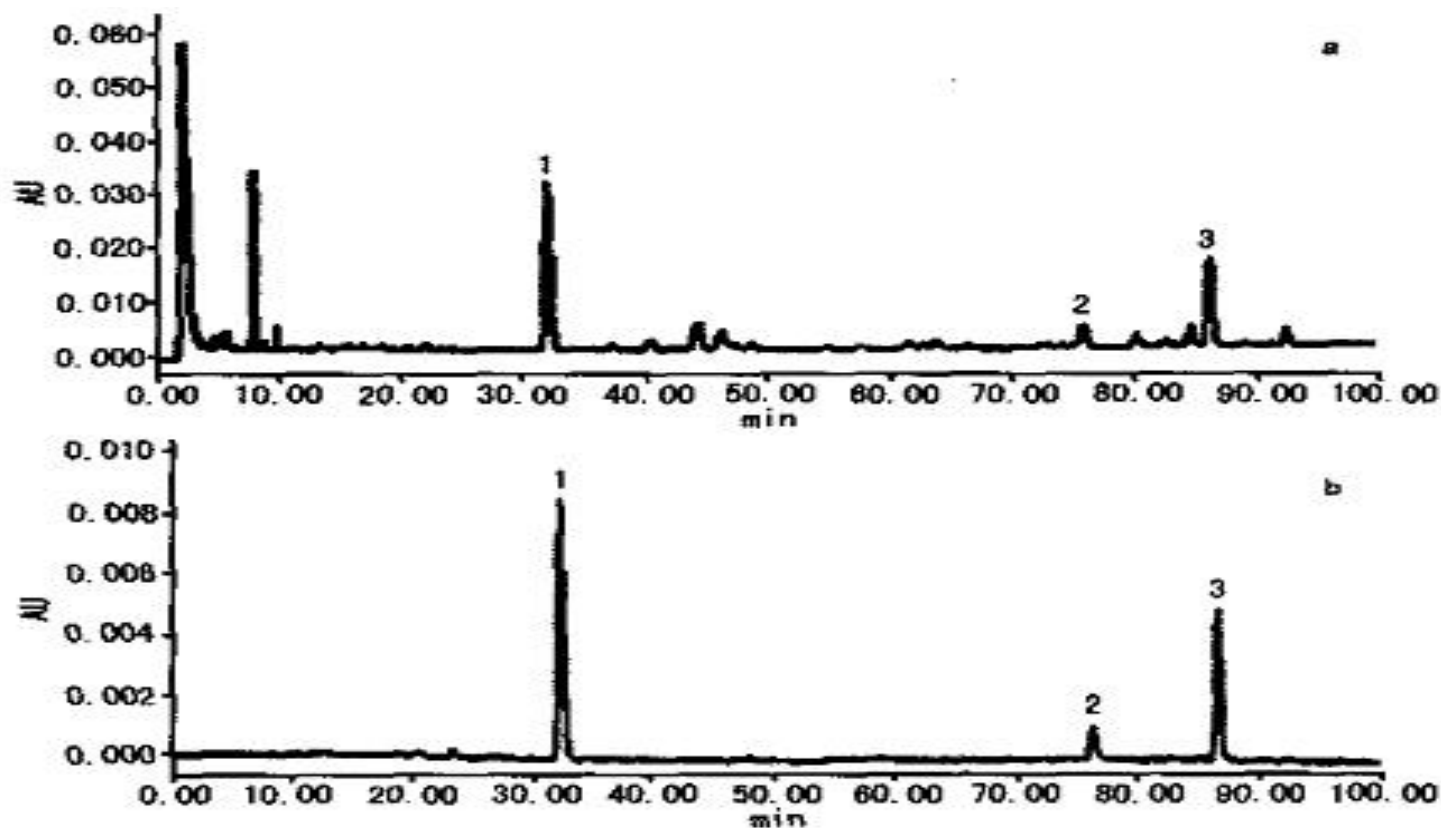


中药材

- 七叶莲中常春藤皂苷元与齐墩果酸的定性鉴别



HPLC法鉴别



a 五味子水煎液 b 对照品
(1 五味子醇甲, 2 五味子甲素, 3 五味子乙素)



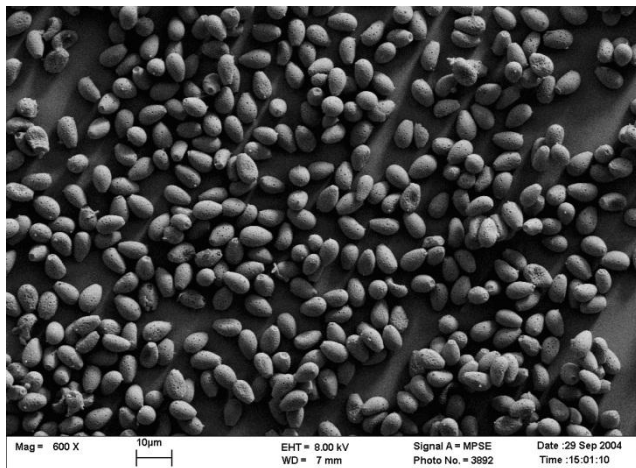
四、显微鉴别法



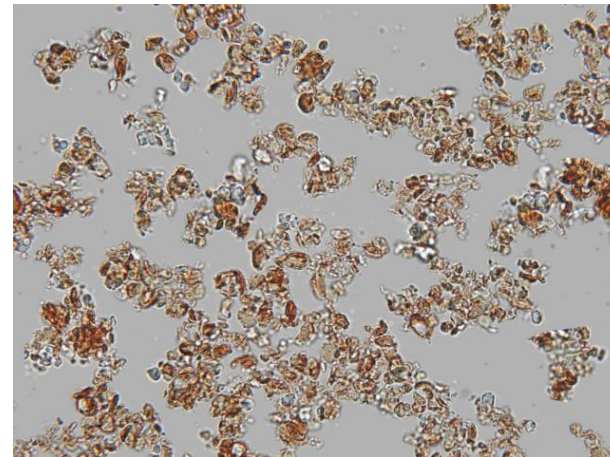
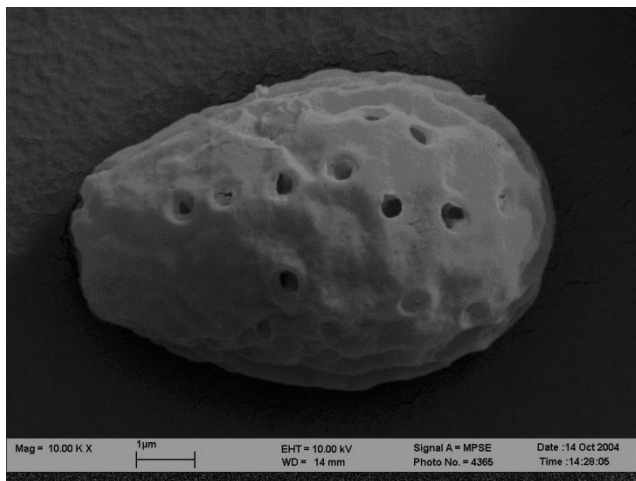
扫描电镜



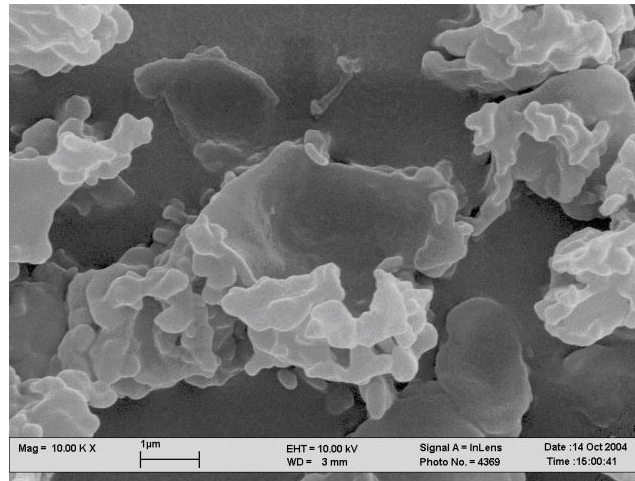
人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE



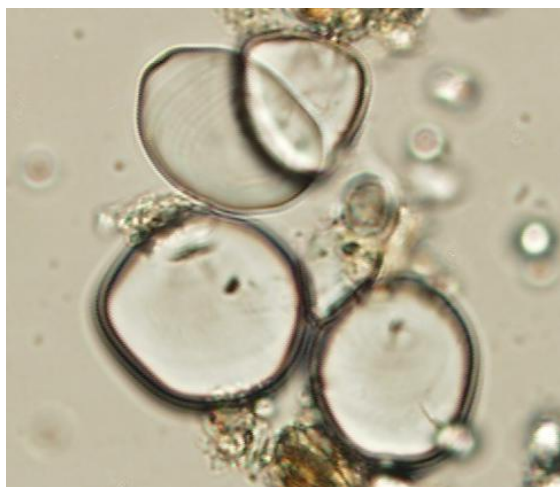
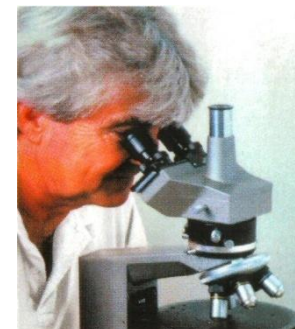
灵芝孢子的电镜扫描照片



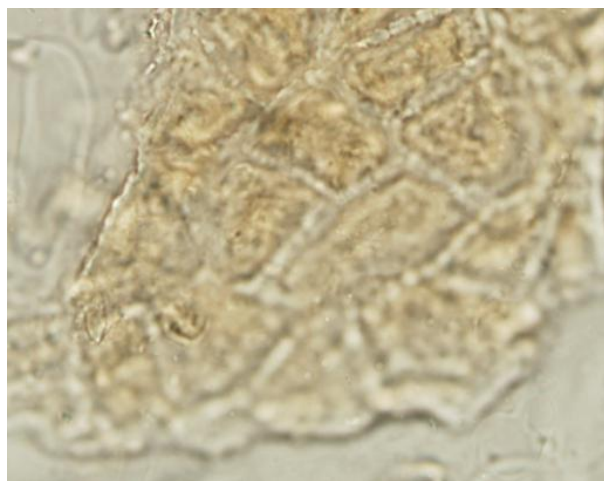
灵芝破壁孢子的电镜扫描照片



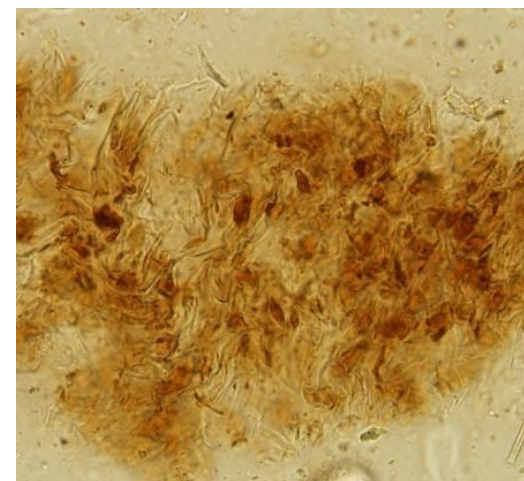
六味地黄丸中药材的显微特征图



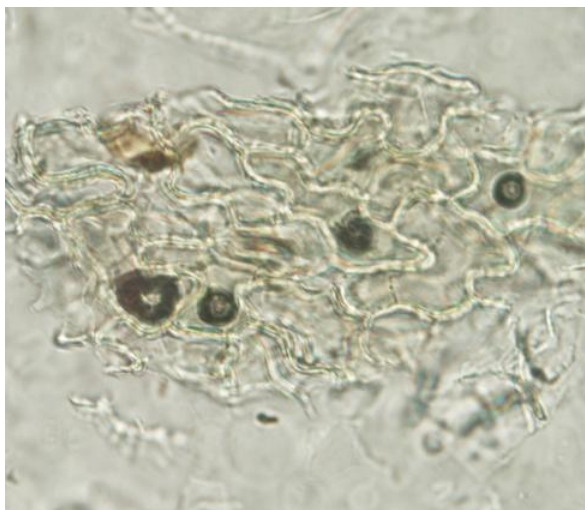
山药淀粉粒



山茱萸果皮表皮细胞



地黄薄壁组织



泽泻内皮层细胞



牡丹皮草酸钙簇晶



茯苓菌丝

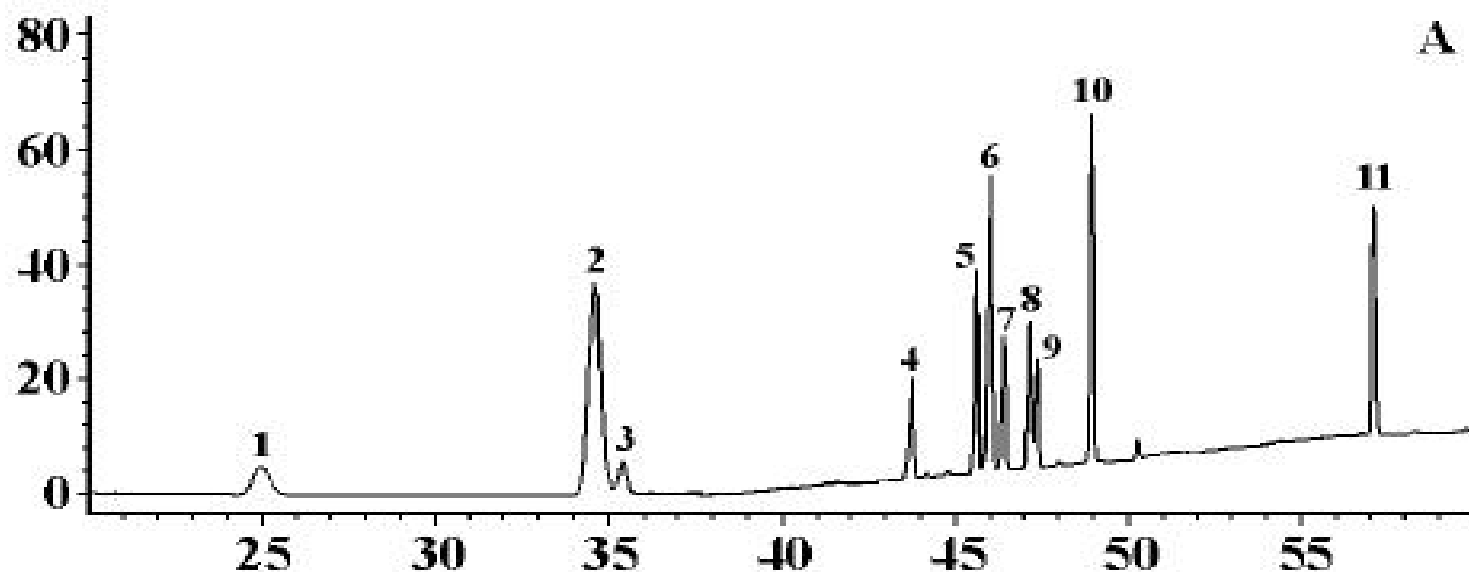
五、生物方法

- 利用药效学和分子生物学的技术，进行药物的鉴定



六、中药的指纹图谱/特征图谱鉴别法

- 特定条件下的全部相关成分图谱 / 特定条件下主要已知成分的图谱



1: 三七皂苷 R1;

2~11: 人参皂苷 Rg1, Re, Rf, Rb1, Rg2, Rc, Rb2, Rb3, Rd and Rg3



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

第四节

鉴别试验的条件



方法要求（验证）：专属、灵敏、耐用

一、溶液的浓度

二、溶液的温度

三、溶液的酸碱度

四、试验时间



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

鉴别试验的灵敏度（sensitivity）

1.反应灵敏度和空白试验

- 最低检出量（minimum detectable quantity）
- 最低检出浓度（minimum detectable concentration）
- 空白试验（blank test）：在与供试品鉴别试验完全相同的条件下，除不加供试品外，其他试剂均同样加入而进行的试验。



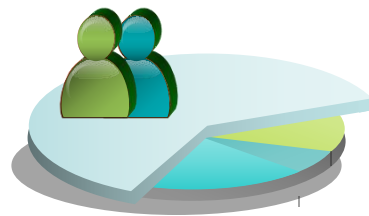
提高反应灵敏度的方法

1.加入与水互不相溶的有机溶剂提取浓集

- 在鉴别试验中，如生成物具有颜色并颜色很浅时，可利用加入少量与水互不相溶的有机溶剂，浓集有色生成物，使其在有机溶剂中颜色变深，易于观测。

2.改进观测方法

- 如将目视观测溶液的颜色，改为可见分光光度法；将观测生成沉淀改为比浊度法等。



Thank you very much!



人民卫生出版社

PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE