



隨身課堂

《药物分析》

药物的含量测定与分析方法的验证

药学系 药学教研室 刘燕老师



学习目标

- 1.掌握**含量测定方法**的特点与适用范围；**色谱系统适用性试验**的内容与相关计算；定量分析方法**的相关计算**；定量分析样品的制备方法
- 2.熟悉分析方法验证的**主要内容**及其**应用与要求**；样品前处理方法的特点与适用范围
- 3.了解分析仪器的校正和检定



主要内容

1. **容量分析法**的特点及其计算方法。
2. **光谱分析法**：紫外-可见分光光度法的特点、朗伯-比尔定律、仪器校正和检定、测定及计算方法。
3. **色谱分析法**：高效液相色谱及气相色谱法的原理、对仪器的一般要求、系统的适应性试验及测定方法。
4. 药物分析方法的**验证**：准确度、精密度、专属性、检测限、定量限、线性、范围、耐用性。
5. 分析样品的制备：分析目的与样品制备，样品基质与样品制备，样品制备的常用方法。



1 药物含量

2 测定方法

3 药物形式

4 方法效力

评价质量的重要指标

滴定/光谱/色谱分析

原料——准确重现

制剂——专属灵敏

鉴别/检查/含量测定

准确/重现/专属/耐用



分析化学知识回顾

■ 滴定/容量分析法

- 酸碱滴定法
- 氧化还原滴定法
- 配位滴定法
- 沉淀滴定法/重量法

■ 光谱分析法

- 紫外-可见分光光度法
- 原子吸收分光光度法
- 核磁共振波谱法
- 红外吸收光谱法
- 荧光分析法
- 质谱法

■ 色谱分析法

- 经典液相色谱法
- 高效液相色谱法
- 气相色谱法
- 毛细管电泳法



第一节 定量分析方法的分类



定量分析方法

- 一、容量分析法
- 二、光谱分析法
- 三、色谱分析法



一、容量分析法（滴定分析法）

将已知浓度**滴定液**滴加至**被测药物**溶液中，至滴定终点，根据滴定液的**浓度**、**体积**和**滴定度**，计算含量。

（一）特点与适用范围

（1）方法简便易行

（2）方法耐用性高

（3）测定**结果准确**

（4）方法专属性差

- 适用于**原料药**含量测定



(二) 容量分析的有關計算

1. 計算依據：

對於任一滴定反應

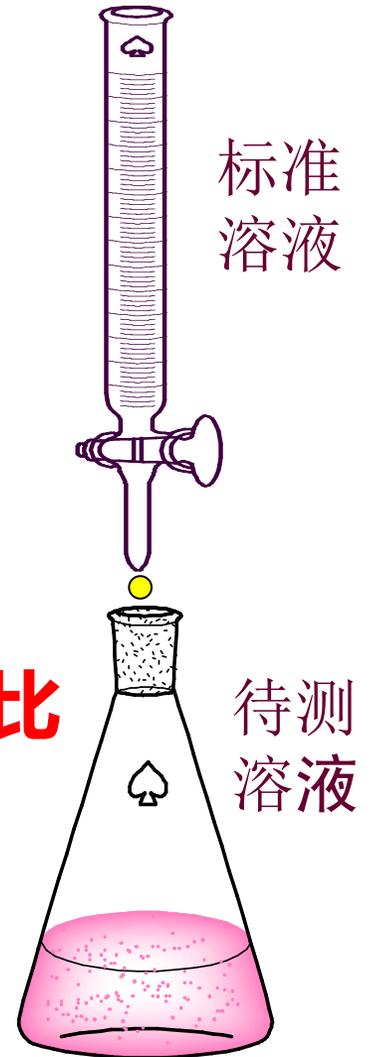


(滴定液) (待測物) (生成物)

滴定液和待測物之間有什麼關係呢？

計算的依據：**反應物前面的係數比等於其物質的質量之比**

$$\frac{n_T}{n_A} = \frac{t}{a} \quad \text{或} \quad n_A = \frac{a}{t} \times n_T$$



(二) 容量分析的有关计算

n 指物质的量, 其计算方法有2种:

$$(1) \quad n = \frac{m}{M}$$

$\xrightarrow{\text{物质的质量}}$
 $\xrightarrow{\text{物质的摩尔质量(数值上等于其分子量)}}$

$$(2) \quad n = C_T \times V_T \quad \blacktriangleright \quad \text{滴定液的浓度 (物质的量浓度) 和体积,}$$

滴定计算时:

$$n_A = \frac{a}{t} \times n_T = \frac{a}{t} \times C_T \times V_T$$

$$\frac{m_A}{M_A} = \frac{a}{t} \times C_T \times V_T$$



(二) 容量分析的有關計算

2. 待測物質的含量計算: $A\% = \frac{m_A}{W} \times 100\%$

m_A 的計算

(1) 當滴定液濃度已知時，

据: $n_A = \frac{a}{t} \times n_T$

得: $\frac{m_A}{M_A} = \frac{a}{t} \times C_T V_T \times 10^{-3}$?

$$m_A = \frac{a}{t} \times C_T V_T M_A \times 10^{-3}$$

← (1)



(二) 容量分析的有关计算

2. 待测物质的含量计算:

(2) 当滴定液的滴定度已知时:

滴定度 ($T_{T/A}$): 指每1ml滴定液 (T) 相当于被测物质 (A) 的克数 (或mg) $\therefore \underline{m_A} = T_{T/A} \times V_T$

滴定度的计算方法

当 $V_T = 1\text{ml}$ 时, $m_A = T_{T/A}$,

$$m_A = \frac{a}{t} \times C_T V_T M_A \times 10^{-3}$$

$$m_A = \boxed{T_{T/A}} = \frac{a}{t} \times C_T M_A \times 10^{-3}$$

$$T_{T/A} = \frac{a}{t} \times C_T M_A \times 10^{-3}$$



(二) 容量分析的有關計算

待測物A的含量計算公式：

$$A\% = \frac{m_A}{W} \times 100\%$$

$$A\% = \frac{\frac{a}{t} \times C_T \times V_T \times M_A \times 10^{-3}}{W} \times 100\%$$

— — — **a** ✓

$$A\% = \frac{T_{T/A} \times V_T}{W} \times 100\%$$

— — — **b**

$$A\% = \frac{T_{T/A} \times V_T \times \boxed{F}}{W} \times 100\%$$

— — — **c** ✓



(二) 容量分析的有關計算

$$A\% = \frac{T \times V \times F}{W} \times 100\%$$

F称为校正因子

$$F = \frac{\text{实际浓度}}{\text{规定浓度}}$$

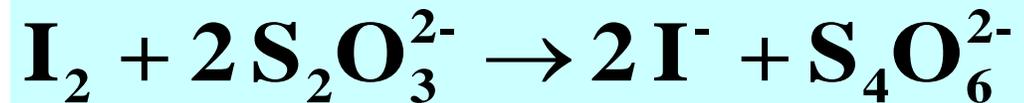
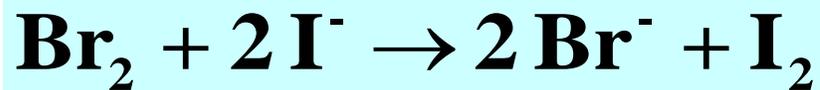
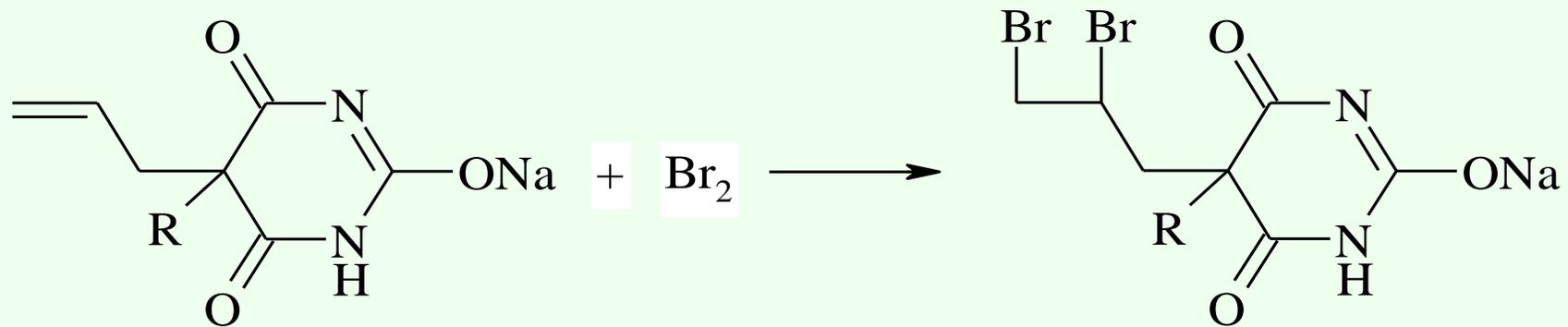
注意：对于直接滴定是用以上公式，

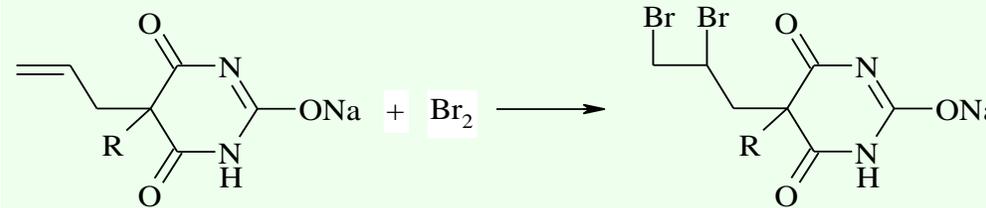
但对于**剩余滴定**则： $V = V_{\text{空}} - V_{\text{供}}$



示例：司可巴比妥钠 ($M=260.27$) 含量测定

本品0.1g，加水10ml溶解，精密加溴滴定液
 (0.05mol/L) 25ml，再加盐酸5ml，放置15分钟，
 加碘化钾试液10ml，用硫代硫酸钠滴定液 (0.1mol/L)
 滴定，滴定结果用空白试验校正





- $W=0.1022g$

- 硫代硫酸钠滴定液 $F=1.038$



- 供试品消耗硫代硫酸钠滴定液15.73ml

- 空白23.21ml

药典是给出：每1ml 溴滴定液(0.05 mol/L) 相当于 ? **13.01mg** 的

$C_{12}H_{17}N_2NaO_3$ (司可巴比妥钠)

也可以这样理解：

每1ml硫代硫酸钠滴定液 (0.1mol/L) 也是相当于 **13.01mg** 的

$C_{12}H_{17}N_2NaO_3$ (司可巴比妥钠)

$$T_{T/A} = \frac{a}{t} \times C_T M_A \times 10^{-3} = \frac{1}{2} \times 0.1 \times 260.27 = 13.01$$

药典规定：按干燥品计算，含 $C_{12}H_{17}N_2NaO_3$ 不得少于 **98.5%**。



有效数字要相关运算规则（自行复习）

注意：

- 1. “四舍六入五留双”的修约原则**
- 2. 计算过程中要保留多一位**
- 3. 最后保留的位数以标准规定为依据**



二、光谱分析法

定义

利用物质的光谱进行定性、定量和结构分析的方法——
光谱分析法

分类

- UV-Vis
- IR
- AA
- Fluor
- FP
(flame photometry)



(一) 紫外-可见分光光度法 (UV-Vis)

基于对紫外光区和可见光区单色光辐射的吸收特性建立的光谱分析方法

紫外：190-360 (400nm) ; 可见：400-800nm

1. 计算依据：朗伯-比尔定律

$$A = E_{1cm}^{1\%} CL \quad \rightarrow \quad C = \frac{A}{EL}$$



(一) 紫外-可见分光光度法 (UV-Vis)

2. 特点与适用范围

- (1) 方法简便易行
- (2) 方法灵敏度高
- (3) 结果准确度较高
- (4) 方法专属性较差
- 制剂含量测定与定量检查



(一) 紫外-可见分光光度法 (UV-Vis)

2. 仪器校正和检定 (P159-160)

(1) 波长: 高氯酸钨溶液校正双光束仪器

仪器的允许误差: 紫外区 $\pm 1nm$ 500nm $\pm 2nm$

(2) 吸光度的准确度: 可用重铬酸钾的硫酸溶液检定 表4-1

(3) 杂散光的检查: 表4-2

3. 对溶剂的要求 (略)

4. 含量测定法: (1) 吸收系数法 (2) 对照品比较法
(3) 计算光谱法 (4) 比色法 (可见光)



(一) 紫外-可见分光光度法 (UV-Vis)

1. 吸收系数法：

$$A = E_{1cm}^{1\%} CL$$

$$C = \frac{A}{EL}$$

$$C = \frac{A}{EL} \times \frac{1}{100}$$

$$\text{百分含量}\% = \frac{m}{W} \times 100\%$$

注：D为稀释倍数

$$\text{百分含量}\% = \frac{C \times D \times V}{W} \times 100\% = \frac{\frac{A}{E \times L} \times \frac{1}{100} \times D \times V}{W} \times 100\%$$

2. 对照品比较法：

$$C_X = C_R \times \frac{A_X}{A_R} \quad (\because \text{对照品和样品是同一物质} \therefore E_{1cm(X)}^{1\%} = E_{1cm(R)}^{1\%}) \rightarrow$$

$$E_{1cm(X)}^{1\%} = E_{1cm(R)}^{1\%}$$

$$\frac{A_X}{C_X L} = \frac{A_R}{C_R L}$$

$$C_X = C_R \times \frac{A_X}{A_R}$$

$$\text{含量}\% = \frac{C_X \times D \times V}{W} \times 100\% = \frac{C_R \times \frac{A_X}{A_R} \times D \times V}{W} \times 100\%$$



公式解釋：

$$\text{含量}(\%) = \frac{\frac{A}{E_{1cm}^{1\%}L} \times \frac{1}{100} \times D \times V}{W} \times 100\%$$

$$\frac{A}{EL} \times \frac{1}{100}$$

每ml**测定液**中含被测成分的g数

$$\frac{A}{EL} \times \frac{1}{100} \times D$$

每ml**供试液**中含被测成分的g数

$$\frac{A}{EL} \times \frac{1}{100} \times D \times V$$

W克样品中含被测成分的g数
(**V** : 溶解W克样品的初始体积)

$$\frac{\frac{A}{EL} \times \frac{1}{100} \times D \times V}{W}$$

每g样品中含被测成分的g数



片剂

$$\text{标示量}\% = \frac{\text{每片实际含量}}{\text{标示量}} \times 100\%$$

$$\text{标示量}\% = \frac{\frac{A}{EL} \times \frac{1}{100} \times D \times V \times \text{平均片重}}{W \times \text{标示量}} \times 100\%$$

$$\frac{\frac{A}{EL} \times \frac{1}{100} \times D \times V}{W}$$

每g样品中含被测成分的g数



注射剂

$$\text{标示量}\% = \frac{\text{每支实际含量}}{\text{标示量}} \times 100\%$$

$$\text{标示量}\% = \frac{\frac{A}{EL} \times \frac{1}{100} \times D \times V \times \text{每支容量}}{V_S \times \text{标示量}} \times 100\% \quad \boxed{V = V_S}$$

$$\frac{\frac{A}{EL} \times \frac{1}{100} \times D \times V}{V_S}$$

每ml注射液中含被测成分的g数



例：对乙酰氨基酚含量测定

取本品约40mg，精密称定（**0.0414g**），置250ml量瓶中，加0.4%氢氧化钠溶液50ml溶解后，加水至刻度，摇匀，精密量取5ml，置100ml量瓶中，加0.4%氢氧化钠溶液10ml，加水至刻度，摇匀，在257nm的波长处测定吸收度（**0.590**），按C₈H₉NO₂的吸收系数为**715**计算，即得。

解：依据：

$$\text{含量(\%)} = \frac{m}{W} \times 100\% = \frac{\frac{A}{E_{1cm}^{1\%}} \times \frac{1}{100} \times D \times V}{W} \times 100\%$$

答……

$$= \frac{\frac{0.590}{715} \times \frac{1}{100} \times \frac{100}{5} \times 250}{0.0414} \times 100\%$$

$$= 99.66\%$$

$$= 99.7\%$$



示例：盐酸氯丙嗪注射液含量测定

• 规格：1ml：25mg

- 精密量取适量（ V ml，相当于盐酸氯丙嗪50mg），置200ml量瓶中，用盐酸溶液（9→1000）稀释至刻度，摇匀；精密量取2ml，置100ml量瓶中，用盐酸溶液稀释至刻度，摇匀，在254nm的波长处测定吸光度，按吸收系数（ $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ ）为915计算标示量%。

解：依据

$$\text{标示量}\% = \frac{\frac{A}{EL} \times \frac{1}{100} \times D \times V \times \text{每支容量}}{V_S \times \text{标示量}} \times 100\%$$

$D=200/2*100/2=5000$, $V=V_S=2\text{ml}$, 每支容量=1ml, 标示量=25mg*10⁻³



示例：氟康唑片溶出度检查

- 规格：100mg
 - 盐酸溶液（9→1000）1000ml为溶出介质，45分钟取样，滤过；取续滤液，在261nm波长处测定吸光度；氟康唑对照品，用溶出介质制成每1ml中含0.1mg的溶液，同法测定，计算每片的溶出量(标示量%)【注：溶出度是每杯放一片的】
 - 解：依据

$$\text{含量}\% = \frac{C_R \times \frac{A_X}{A_R} \times D \times V \times \text{平均片重}}{W \times \text{标示量}} \times 100\% = \frac{C_R \times \frac{A_X}{A_R} \times D \times V}{\text{标示量}} \times 100\%$$

每片样品中含被测成分的g数



(3) 计算光谱法

- 对照品和供试品的测试条件应尽可能一致
- 计算分光光度法一般**不宜用作含量测定**

(4) 比色法

- 比色法——为避免干扰或提高灵敏度，向体系中加入适当的**显色剂**，使产物最大吸收波长移至可见光区后测定的方法
- 适用范围：紫外光区无强吸收或有干扰药物的测定



(二) 荧光分光光度法(略)



Fluor

- 物质受UV或Vis照射后能发射出比激发光波长更长的荧光；激发光停止照射，荧光随之消失；激发和发射光谱用于定性，荧光强度用于定量



1. 特点

- (1) 方法灵敏度高
- (2) 荧光自熄灭
- (3) 易受干扰
- (4) 线性范围窄

$$(R_X - R_{Xb}) / (R_r - R_{rb}) = 0.5 \sim 2$$



2. 消除干扰

- (1) 溶剂：空白对照
- (2) 溶液：稀、净、充氮、pH
- (3) 玻璃器皿：无机清洁液
- (4) 温度

3. 测定法——对照品比较法

$$c_x = \frac{R_x - R_{xb}}{R_r - R_{rb}} \times c_R$$



三、色谱分析法

特点与应用

特点

(1) 高灵敏度：ng ~ μg/ml

(2) 高专属性：选择性检测

(3) 高效能与高速度

复方制剂含量测定的首选方法

分类

依据分离原理

- 吸附；分配；离子交换；
- 分子排阻；临界点色谱

依据分离方式

液相色谱；气相色谱；**高效液相色谱法**；超临界流体色谱法；
(毛细管)电泳法



(一) 高效液相色谱法



- **不得更改:** 固定相种类、流动相组分、检测器类型
- **可以改变:** 色谱柱尺寸、载体粒度；流动相各组分比例、流速；柱温；进样量；检测器的灵敏度



(二) 气相色谱法



GC

- **色谱柱**：常用毛细管柱——熔融石英或玻璃
- **内径**：0.25mm、0.32mm、0.53mm；**柱长**5~60m，**内壁或载体涂渍或交联固定液**，**厚**0.1~5.0 μ m
- **固定液**：甲基聚硅氧烷、苯基甲基聚硅氧烷、聚乙二醇
- **载气**：氦、氮、氢，除另有规定，常用**氮气**



(二) 气相色谱法

检测器：火焰离子化检测器 (FID)

进样方式：

(1) 溶液直接进样/自动进样：

- 不超过数微升
- 毛细管柱分流

(2) 顶空进样

- 供试液于密闭小瓶中，加热至待测组分达到液-气平衡，
吸取**顶空气** (1ml) 进样



(二) 气相色谱法

系统适用性试验

- 同HPLC法

测定法

$$\frac{A_{is}}{A_x} = \frac{c_x + \Delta c_x}{c_x}$$

$$c_x = \frac{\Delta c_x}{(A_{is} / A_x) - 1}$$

(1) / (2) 同HPLC (内标法、外标法)

(3) 标准溶液加入法

- 对照品溶液适量，精密加入到供试品溶液中，测定含量，扣除加入的对照品溶液含量，即得



第二节 分析方法的验证



第三节 分析样品的制备



一、分析目的与样品制备

分析目的

- 鉴别试验
- 杂质检查
- 元素检查
- 含量测定
- 稳定性试验

分析方法

- 化学法
- 光谱法
- 色谱法
- 其他

样品制备

- 直接溶解
- 提取分离
- 化学降解
- 化学衍生化
- 有机破坏



二、样品基质与样品制备（略）



（一）化学原料药

（二）药物制剂

1. 化学药物制剂

2. 中药制剂

3. 生物制剂

（三）生物样品



三、样品制备的常用方法



- (一) 直接溶解法
- (二) 提取分离法
- (三) 萃取浓集法
- (四) 化学分解法
- (五) 化学衍生化法
- (六) 有机破坏法



三、样品制备的常用方法



(一) 直接溶解法

特点

- 适用于具有特征基团的化学原料药或其简单制剂的鉴别、检查与含量测定



三、样品制备的常用方法



(二) 提取分离法

特点

- 适用于复杂基质中药物的鉴别与含量测定时的样品制备



三、样品制备的常用方法



(三) 萃取浓集法

特点

- 适用于复杂基质中微量或痕量物质含量测定时的样品制备



三、样品制备的常用方法



(四) 化学分解法

特点

- 适用于结合不牢固（可分解）的含金属或含卤素有机药物



三、样品制备的常用方法



(五) 化学衍生化法

特点

- 适用于无（游离/潜在）可检测基团或特征元素的药物分析时的样品制备



三、样品制备的常用方法



(六) 有机破坏法

特点

- 适用于结合牢固的含金属、卤素、氮、硫、磷等元素有机药物分析时样品制备



(六) 有机破坏法



1. 酸破坏法（湿法）

- 硫酸为分解剂；氧化剂（硝酸/高氯酸）辅助分解
- 适用于含**氮**药物

2. 碱破坏法（干法/高温）

- 无水碳酸钠、氢氧化钙等辅助灰化
- 用于含**卤素**药物鉴别

3. 氧瓶燃烧法

- 在充满氧气的燃烧瓶中燃烧
- 用于含**卤素**或含**硫**药物的鉴别与定量测定



1. 酸破坏法——凯氏定氮法

仪器装置

- 分解剂（消解剂）与辅助剂：硫酸-硫酸钾-硫酸铜

操作法

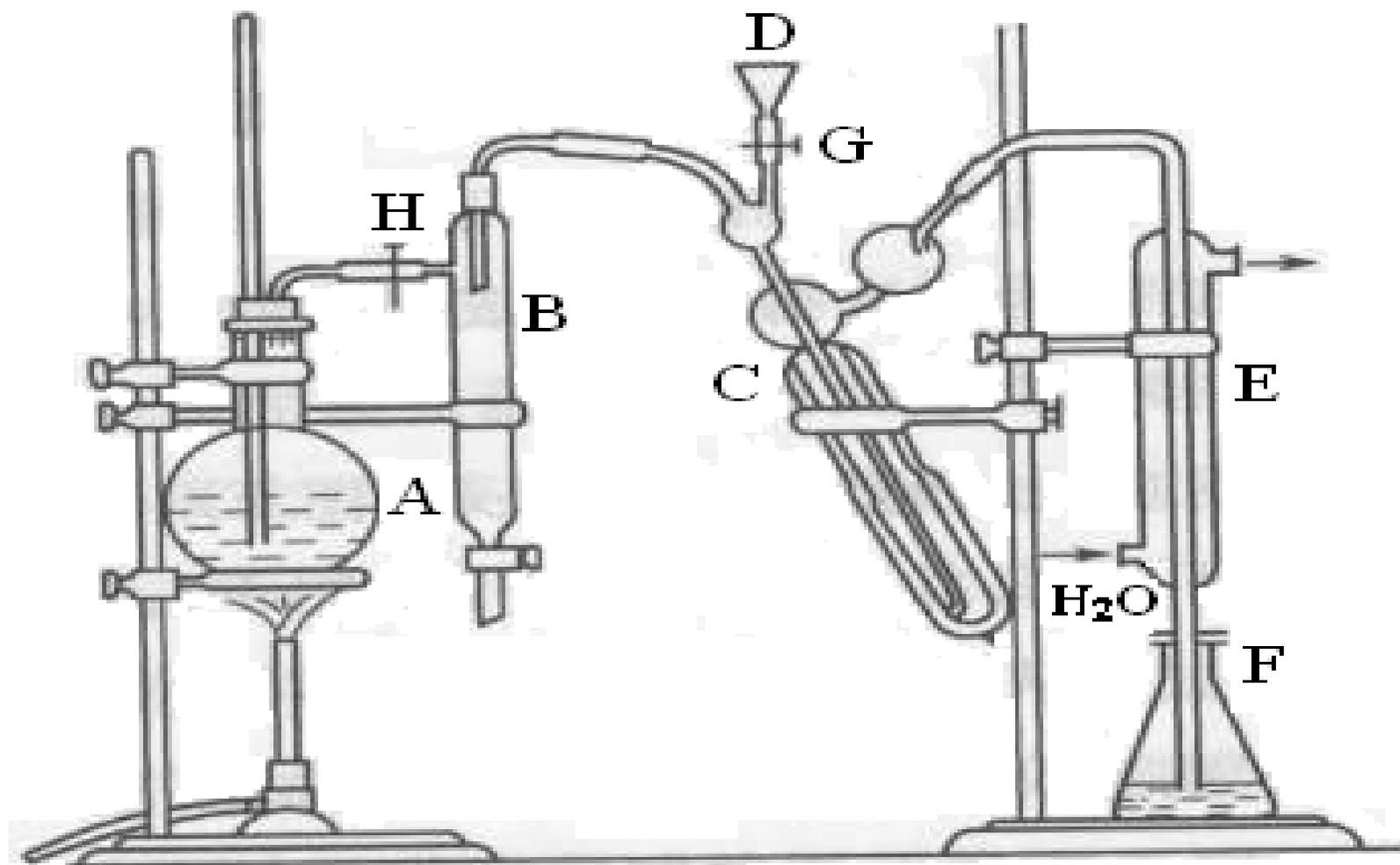
- 供试品：常量法含氮25~30mg；半微量法：
1.0~2.0mg
- 消解：溶液成澄明的绿色，继续加热30分钟
- 蒸馏：40%氢氧化钠碱化，水蒸气蒸馏
- 吸收与滴定：2%硼酸溶液吸收，硫酸滴定液
(0.05mol/L) 滴定，甲基红-溴甲酚绿指示剂（灰紫色）



应用范围

- 含有**氨基或酰氨（胺）**结构





示例：扑米酮的含量测定

- 本品约0.2g，精密称定，照氮测定法测定；每1ml硫酸滴定液（0.05mol/L）相当于10.91mg的扑米酮（ $C_{12}H_{14}N_2O_2$ ）
- 讨论：
 - 关键步骤：消解
 - 试剂作用：
 - ✓ 硫酸-消解剂；
 - ✓ 硫酸钾-提高沸点；
 - ✓ 硫酸铜-催化剂；
 - ✓ 硼酸-固氮（ $NH_3 \cdot H_3BO_3$ ）



2. 碱破坏法



原理与操作法

- 含待测元素的有机药物与分解剂混合后经高温炽灼灰化，待测元素转化为可溶性无机盐

适用范围

- 主要用于含**卤素**或含**硫**药物的鉴别
- 亦用于含**磷**药物含量测定



示例——ChP2015乙胺嘧啶氯元素的鉴别

- 本品0.1g，加无水碳酸钠0.5g，混合，炽灼，残渣用水浸渍，滤过，滤液中滴加硝酸至遇石蕊试纸显红色，显氯化物鉴别（1）的反应



3. 氧瓶燃烧法



原理

- 含待测元素的有机药物在充满氧气的燃烧瓶中燃烧
 - 有机结构: 彻底分解为 CO_2 和 H_2O
 - 待测元素: 转化为不同价态的 氧化物 或 无氧酸
 - 在适当的吸收液中多以 酸根离子 形式存在

适用范围

- 含 **卤素** 或含 **硫** 药物的鉴别与定量测定

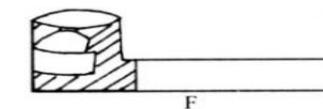
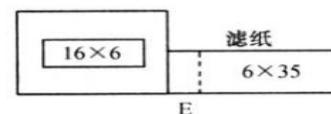
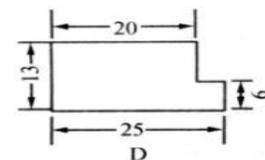
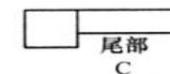
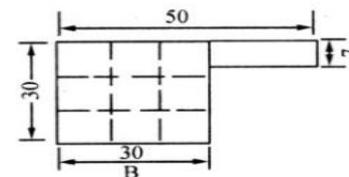


3. 氧瓶燃烧法

装置

- 铂丝： $\varphi 1\text{mm}$ ； $2/3$ 瓶高
- 氧瓶：硬质玻璃（石英玻璃）
- 10~20mg 500ml
- 200mg 1000~2000ml

样品制备



单位 mm



3. 氧瓶燃烧法



燃烧产物与吸收液

- 氟—— HF : 水
- 氯—— HCl : 水-氢氧化钠
- 溴—— $\text{Br}_2 + \text{HBr}$: 水-氢氧化钠-二氧化硫
- 碘—— I_2 (+ HIO) : 水-氢氧化钠 (二氧化硫)
- 硫—— SO_3 (+ SO_2) : 水-过氧化氢
- 磷—— $\text{P}_2\text{O}_5 \rightarrow \text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$, (HPO_3)_n : 水-硝酸 (煮沸)



3. 氧瓶燃烧法



示例——碘苯酯的含量测定

- 样品：20mg
- 吸收液：氢氧化钠试液2ml与水10ml
- 操作
 - 吸收液中加溴-醋酸10ml，加甲酸1ml，通空气3分钟
 - 加碘化钾2g，用硫代硫酸钠滴定液（0.02mol/L）滴定
- 摩尔比为1：6， $T=416.34 \times (1/6) \times 0.02=1.388$ （mg）

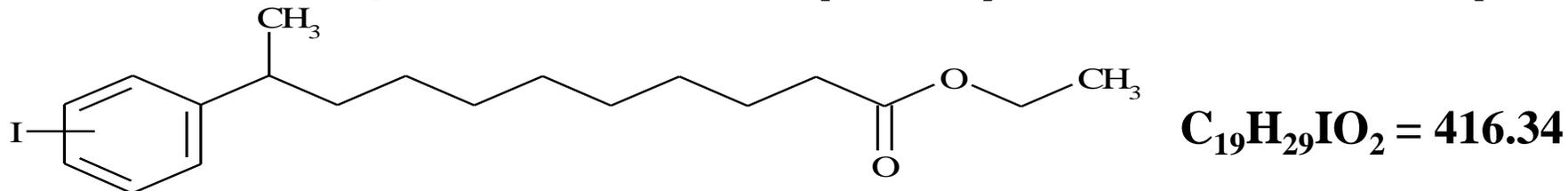


3. 氧瓶燃烧法



示例——碘苯酯的含量测定

- 摩尔比为1 : 6 , $T=416.34 \times (1/6) \times 0.02=1.388$ (mg)



- 燃烧与吸收 : $I_2 + 2 NaOH \rightarrow NaIO + NaI + H_2O$
 $3 NaIO \xrightarrow{OH^-} NaIO_3 + 2 NaI$
- 加溴-醋酸 : $3 Br_2 + I^- + 3 H_2O \rightarrow IO_3^- + 6 HBr$
- 加碘化钾 : $IO_3^- + 5 I^- + 6 H^+ \rightarrow 3 I_2 + 3 H_2O$
- 碘滴定液滴定 : $I_2 + 2 Na_2S_2O_3 \rightarrow 2 NaI + Na_2S_4O_6$



小结---含量测定



- **滴定法**
 - **特点与应用**
 - **滴定度及其计算**
 - **含量计算**
- **光谱法**
 - **特点与应用**
- **色谱法**
 - **特点与应用**
 - **系统适用性试验**



- **分析项目与验证方案**
- **验证内容**
 - **准确度与 精密度**
 - **专属性**
 - **检测限与定量限**
 - **线性与范围**
 - **耐用性**



样品制备方法

- 直接溶解
- 分离与浓集
- 化学分解
- 化学衍生化
- 有机破坏
 - ✓ 凯氏定氮法
 - ✓ 氧瓶燃烧法





隨身課堂

《药物分析》

药物的含量测定与分析

敬请关注下一节内容

芳酸类非甾体抗炎药物的分析

