

药物分析

第十四章

维生素类药物的分析



人民卫生出版社

PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

概述

维生素

- 是维持人体正常代谢机能所必需的微量营养物质。
- 人体不能自行合成维生素。



- 如果人体缺少某种维生素，就会引起维生素缺乏症，而影响人体的正常生理机能。
- 例如：VitA 缺乏—夜盲症
VitB₁ 缺乏—脚气病



脂溶性

- **VitA、D₂、D₃、E、K₁** 等

水溶性

- **VitB族 (B₁、B₂、B₆、B₁₂)**
- **VitC、叶酸、烟酸、烟酰胺**



VitM

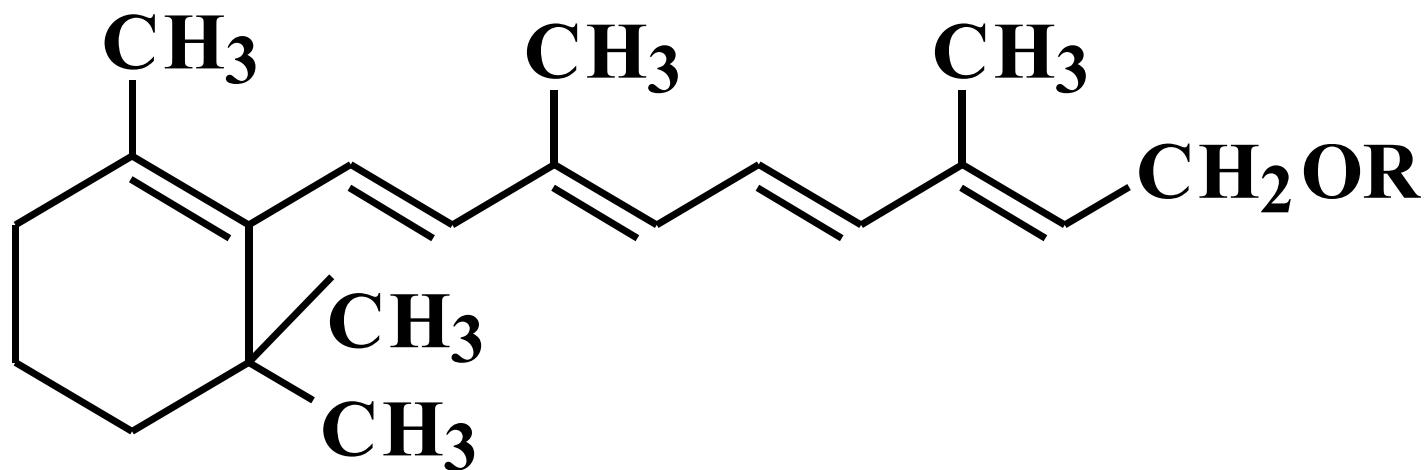


VitPP



第一节 维生素A





- R :**
- H** 维生素A醇
 - COCH₃** 维生素A醋酸酯
 - COC₁₅H₃₁** 维生素A棕榈酸酯



一、结构与性质

(一) 具有一个共轭多烯侧链的环己烯

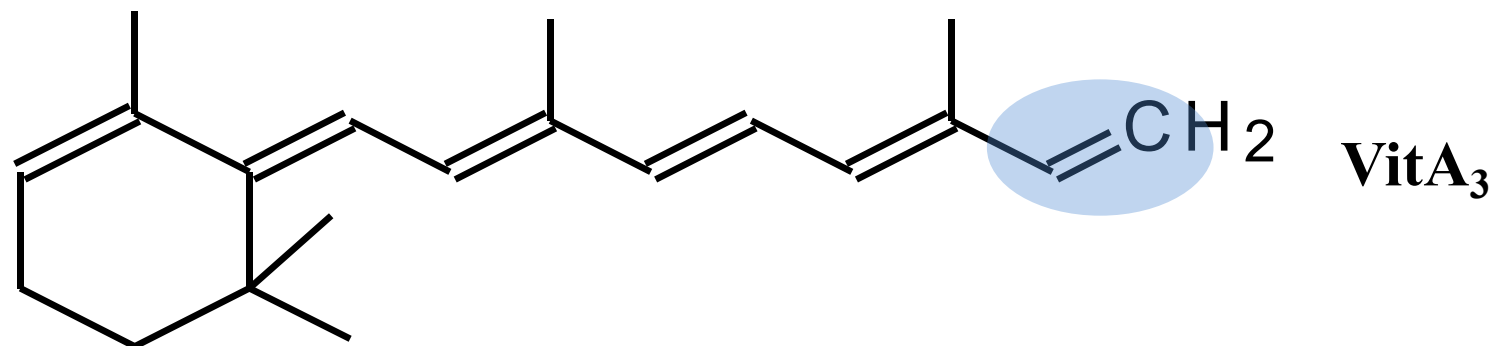
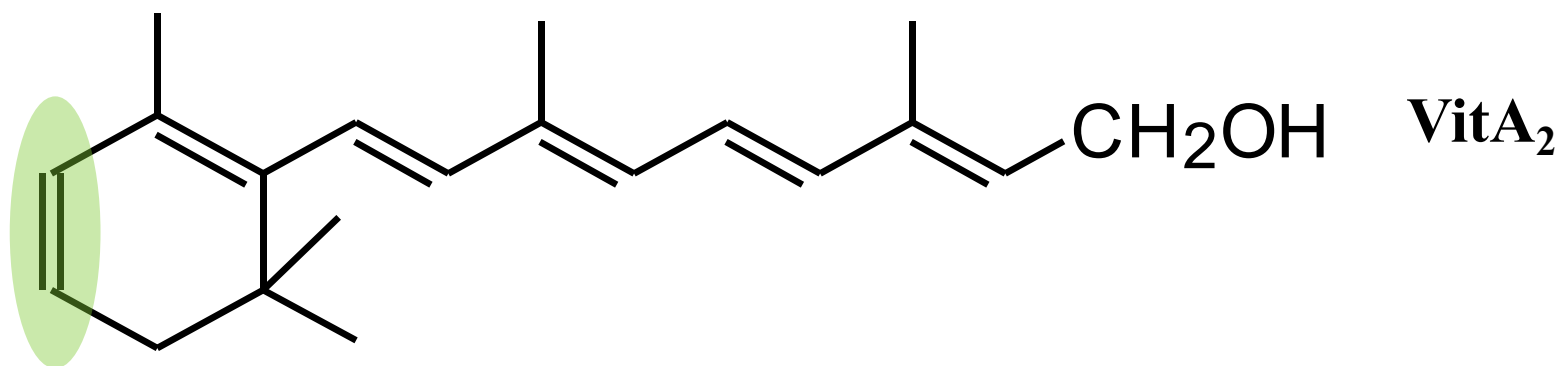
- 具有UV吸收
- 存在多种立体异构化合物

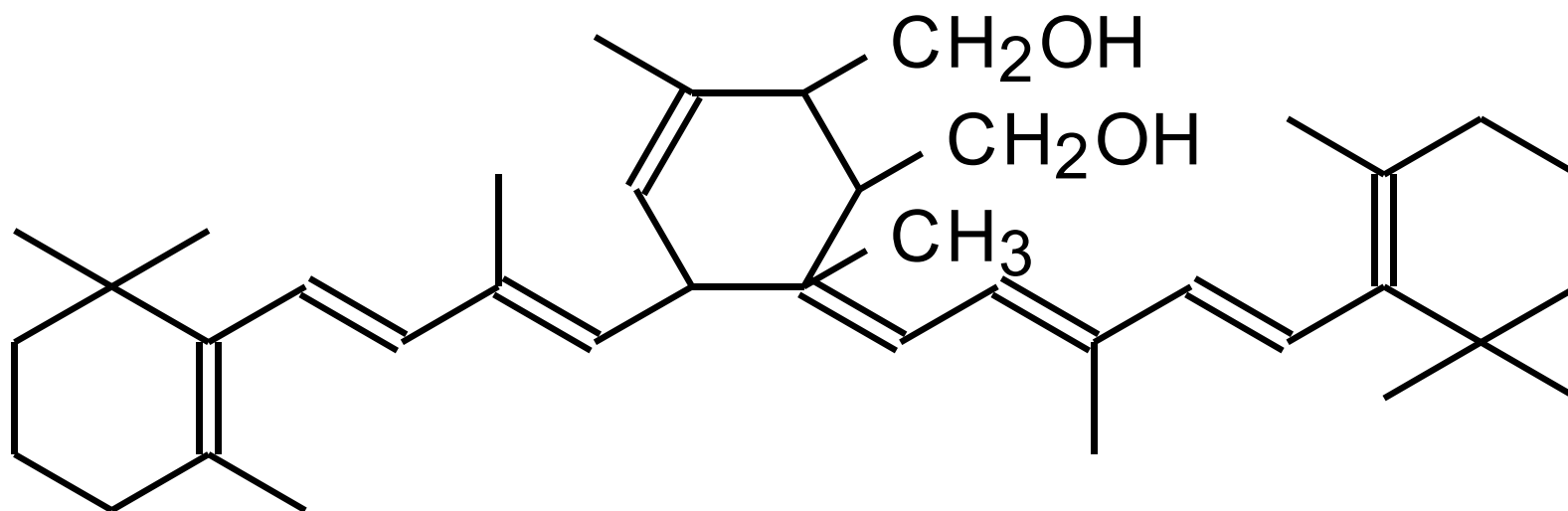


	$\lambda_{\max}$	相对生物效价
维生素A	325.5	100%
新维生素Aa	328	75%
新维生素Ab	320.5	24%
新维生素Ac	310.5	15%
异维生素Aa	323	21%
异维生素Ab	324	24%



易发生脱氢、脱水、聚合反应





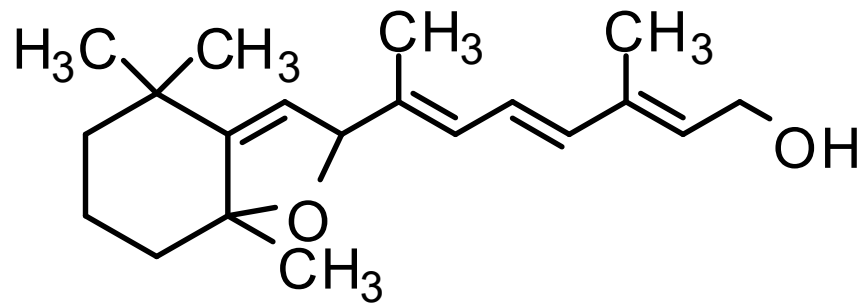
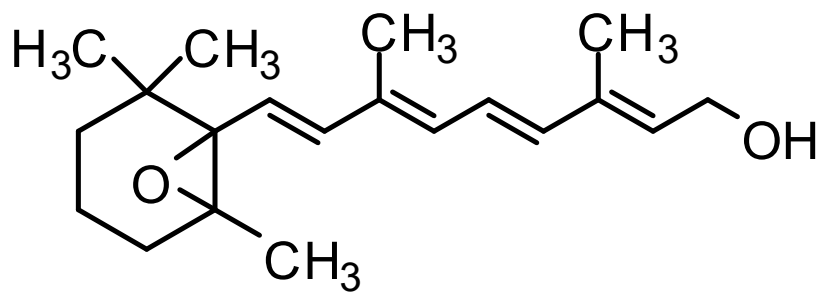
鲸醇



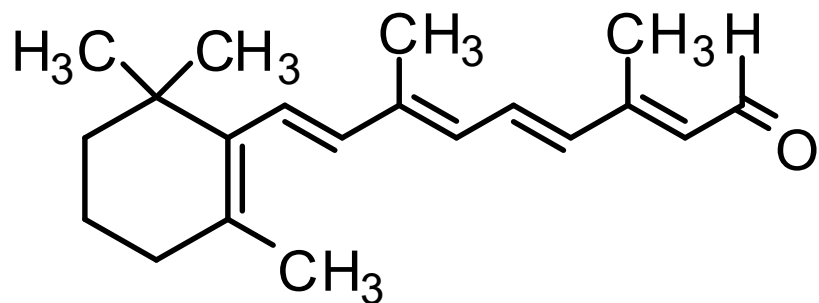
(二) 共轭多烯侧链 易被氧化

- 维生素A中含有多个不饱和键，性质不稳定。
- 易被空气中氧或氧化剂氧化，易被紫外光裂解，特别在加热和金属离子存在时，更易氧化变质，生成无生物活性的环氧化合物、维生素A醛或维生素A酸。

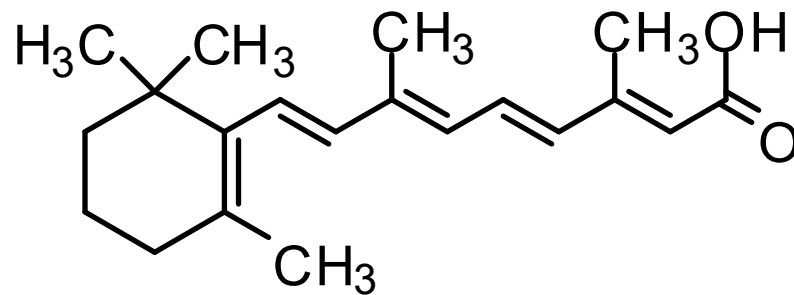




环氧化物



VitA醛

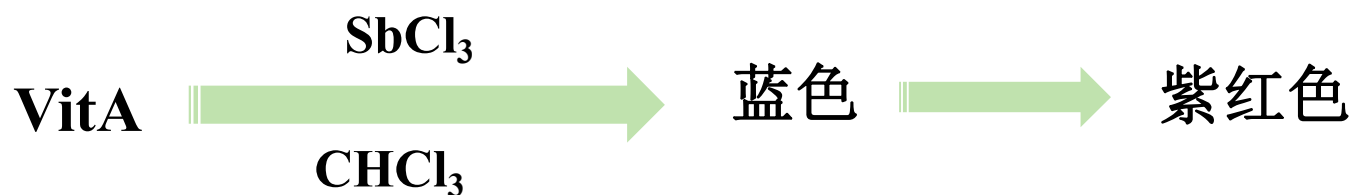


VitA酸

- 维生素A对酸不稳定（lewis酸/无水氯化氢乙醇溶液），脱水，生成去水维生素A，活性降低。



(三) 与三氯化锑发生呈色反应



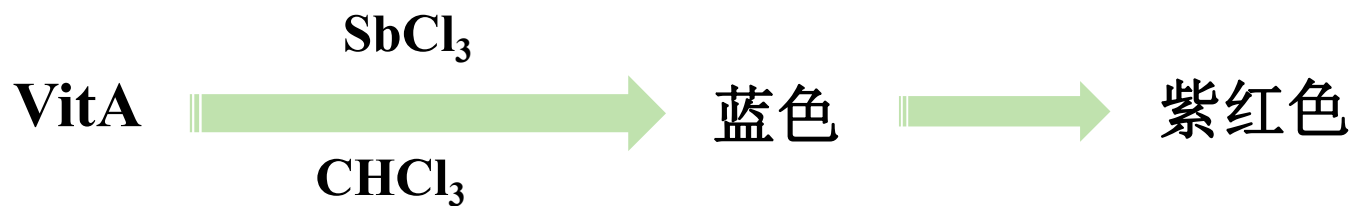
（四）溶解性

- 不溶于水
- 易溶于有机溶剂和植物油等



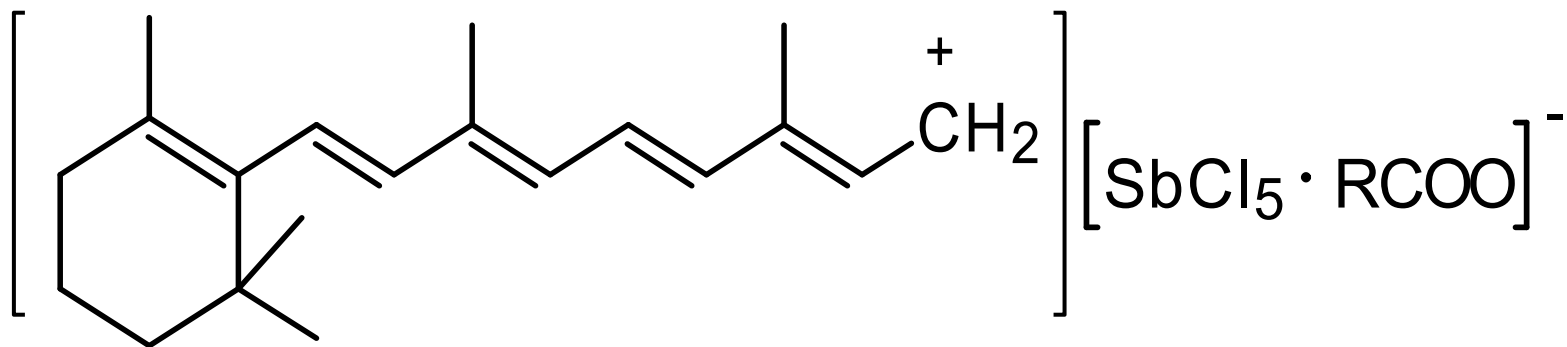
二、鉴别

三氯化锑反应 (Carr-Price)

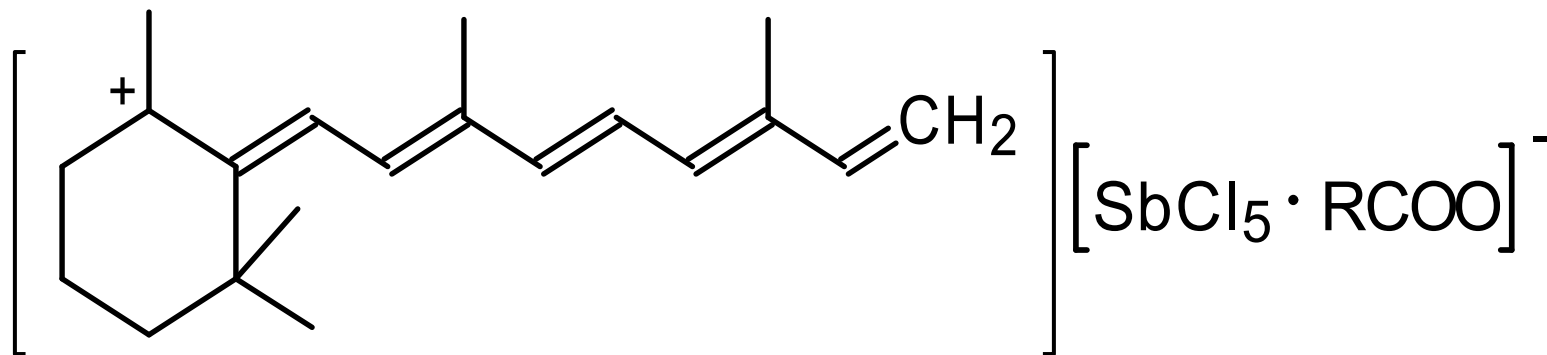


- 条件：无水无醇





蓝色

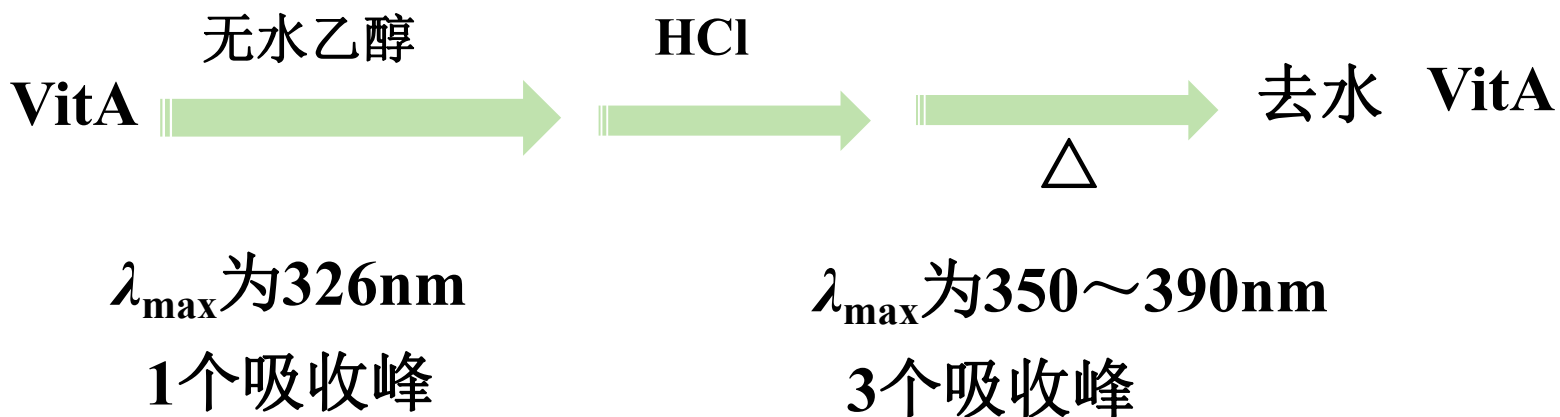


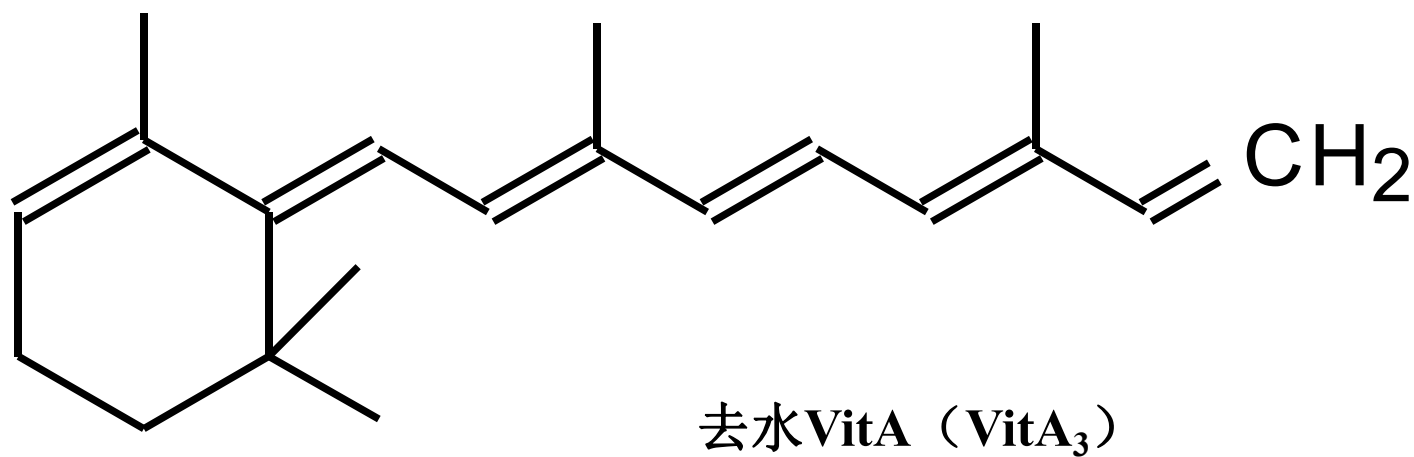
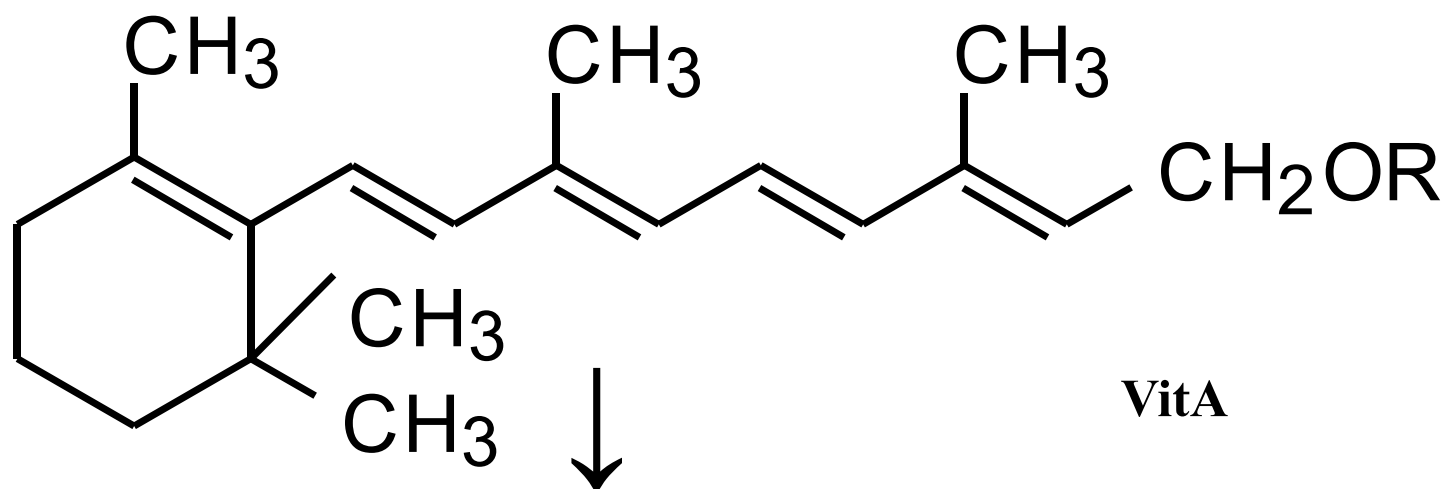
紫红色



UV法

(BP 2015)





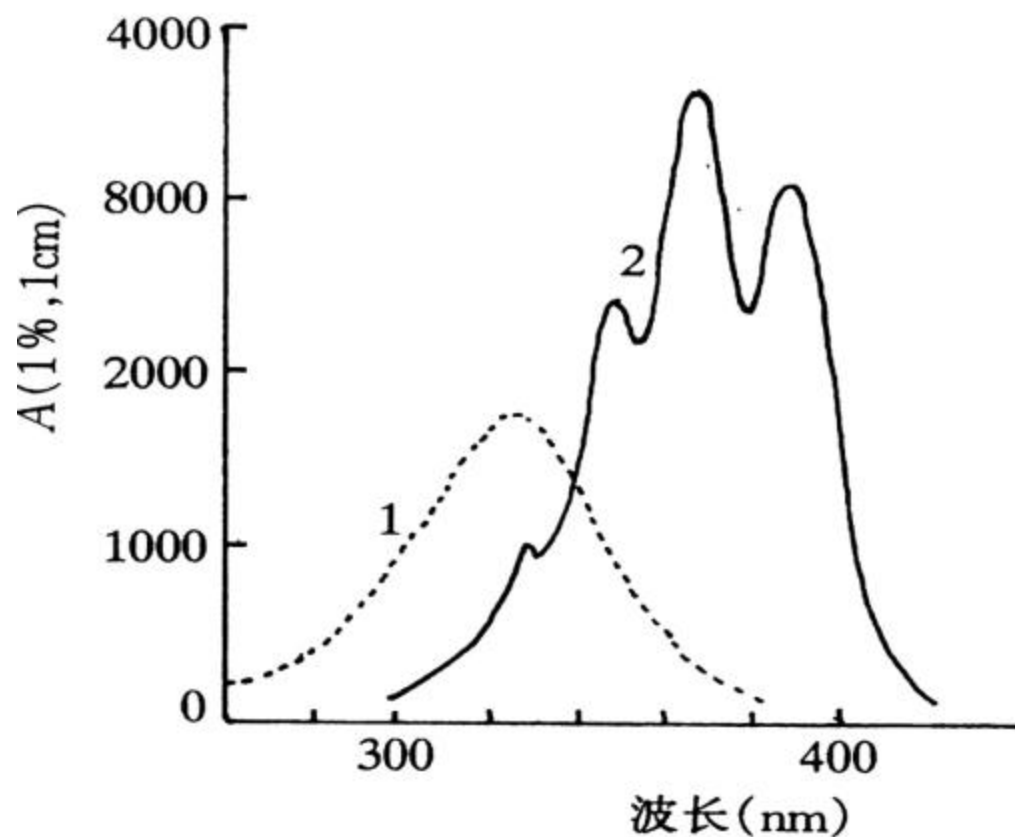


图14-1 维生素 A 和去水维生素 A 的紫外吸收光谱

1. 维生素 A 2. 去水维生素 A



TLC法

BP 对照品法

显色剂 三氯化锑

USP 显色剂 磷钼酸

规定斑点颜色和 R_f 值



三、含量测定

(一) UV法

- 立体异构体
- 氧化产物及光照产物
- 合成中间体
- 去氢维生素A (VitA₂)
- 去水维生素A (VitA₃)



三点校正法（ChP 2015）

1. 原理

- （1）杂质的吸收在310~340nm波长范围内呈一条直线，且随波长的增大吸收度减小；
- （2）物质对光的吸收具有加和性。



2. 波长的选择

(1) λ_1

- VitA的 $\lambda_{\max}$ (328nm)

(2) λ_2 λ_3

- 分别在 λ_1 的两侧各选一点



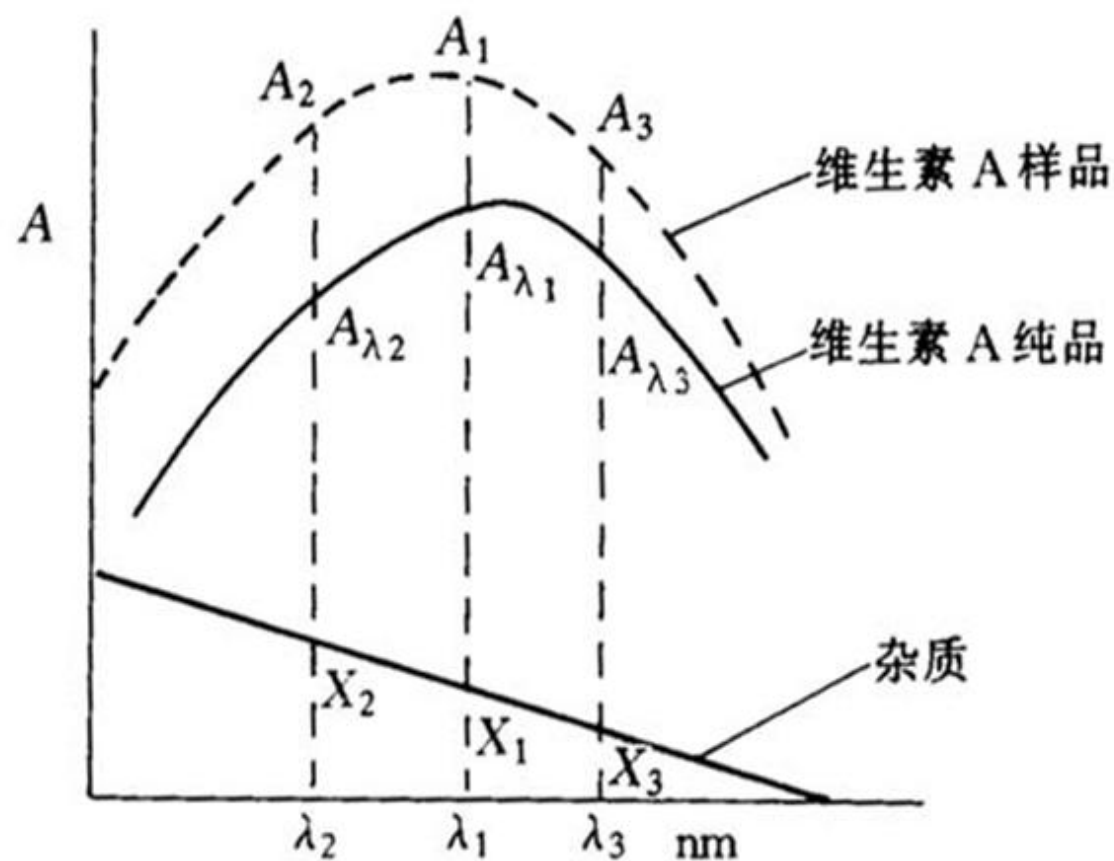
等波长差法

$$\lambda_{328} - \lambda_{316} = \lambda_{340} - \lambda_{328}$$

$$A_{328}(\text{校正}) = 3.52 (2A_{328} - A_{316} - A_{340})$$

- 测定对象 VitA醋酸酯





维生素 A 等波长差校正法图解



等吸收比法

$$\frac{6}{7} A_{\lambda_1} = A_{\lambda_2} = A_{\lambda_3}$$

$$A_{325} \text{ (校正)} = 6.815 A_{325} - 2.555 A_{310} - 4.260 A_{334}$$

- 测定对象 VitA醇



3.测定方法

(1) 基本步骤

- 第一步 吸光度 A 选择
- 选择依据：所选 A 值中杂质的干扰已基本消除



第二步 求 $E_{1\text{ cm}}^{\%}$ (样)

$$E_{1\text{ cm}}^{\%} (\text{样}) = \frac{A}{C (\%) \times L}$$

注意:

➤ $E_{1\text{ cm}}^{\%} (\text{样}) \neq E_{1\text{ cm}}^{\%} (\text{纯})$

➤ C 为混合样品的浓度



第三步 求效价

$$\text{效价 (IU / g) (样)} = E_{1 \text{ cm (样)}}^{\%} \times \text{换算因数}$$

- 换算因数由纯品计算而得：

$$\text{换算因数} = \frac{\text{效价 (IU / g)}}{E_{1 \text{ cm (纯)}}^{\%}}$$



1 IU = 0.344 mg 维生素 A 醋酸酯

$$\text{效价 (IU / g)} = \frac{1 \times 10^6 \text{ mg}}{0.344 \text{ mg}} = 2907\ 000$$

$$\text{换算因数} = \frac{\text{效价 (IU / g)}}{E_{1\text{ cm}}^{\%} \text{ (纯)}} = \frac{2907\ 000}{1530} = 1900$$



$$1 \text{ IU} = 0.300 \mu\text{g} \text{ 维生素 A 醇}$$

$$\text{效价 (IU / g)} = \frac{1 \times 10^6 \text{ mg}}{0.300 \text{ mg}} = 3330\,000$$

$$\text{换算因数} = \frac{\text{效价 (IU / g)}}{E_{1 \text{ cm}}^{\%}} = \frac{3330\,000}{1820} = 1830$$



第四步 求标示量%

$$\text{标示量}\% = \frac{\text{IU} / \text{丸}}{\text{标示量}} \times 100 \%$$

$$= \frac{\text{IU} / \text{g} \times \text{平均丸重}}{\text{标示量}} \times 100 \%$$

$$= \frac{\frac{A}{C} \times \text{换算因数} \times \text{平均丸重}}{\text{标示量}} \times 100 \%$$



(2) 直接测定法：维生素A醋酸酯

- 方法：

样品 — 环己烷 — → 9 ~ 15 IU / ml 溶液 →

分别于300、316、328、340、360nm处测 A_i



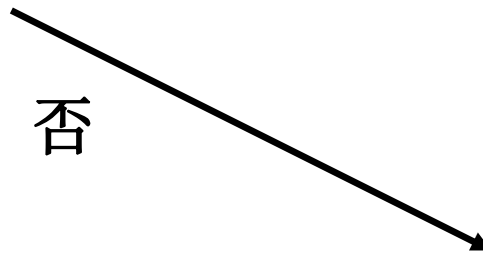
- 判断 $\lambda_{\max}$ 是否在326~329nm之间

$\lambda_{\max}$ 在326~329nm之间



是

- 求算 A_i / A_{328}
并与规定值比较



否

改用皂化法



A_i / A_{328} 规定值 差值

A_{300} / A_{328}	- 0.555	=?
A_{316} / A_{328}	- 0.907	=?
A_{328} / A_{328}	- 1.000	= 0
A_{340} / A_{328}	- 0.811	=?
A_{360} / A_{328}	- 0.299	=?



- 判断差值是否超过规定值的 ± 0.02

有一个以上超过
 ± 0.02



计算 A_{328} (校正)

无超过 ± 0.02



用 A_{328} 计算

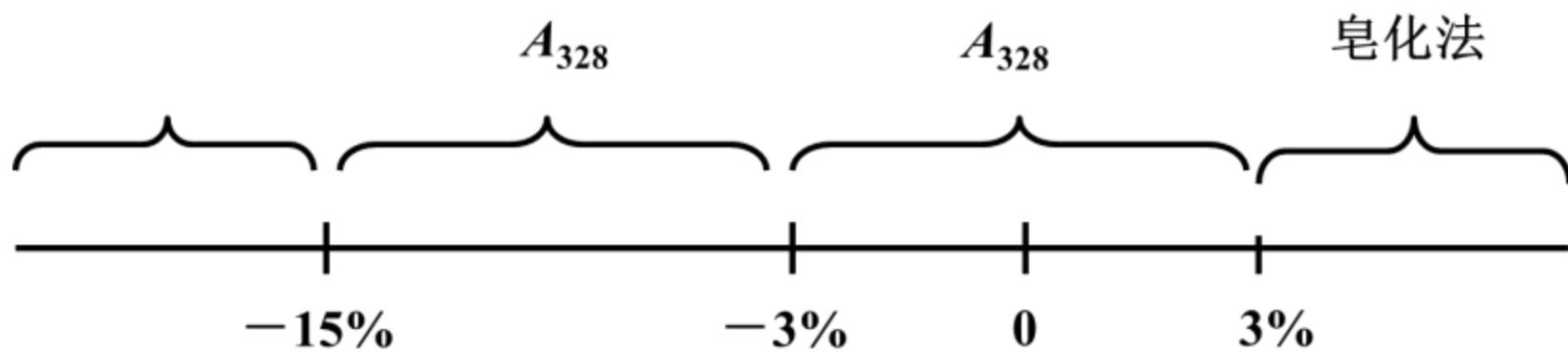


$$A_{328}(\text{校正}) = 3.52(2A_{328} - A_{316} - A_{340})$$

$$f = \frac{A_{328}(\text{校正}) - A_{328}}{A_{328}} \times 100\%$$



皂化法



VitAD软胶囊中VitA的含量测定

- 精密称取本品（规格VitA 10 000IU/丸）装量差异项下（平均装量0.07985g/丸）的内容物 0.1287g 至50ml量瓶中，用环己烷稀释至刻度，摇匀；精密量取2.0ml，置另一50ml量瓶中，用环己烷稀释至刻度，摇匀。以环己烷为空白，测定最大吸收波长为328nm，并在下列波长处测得吸光度如下：



$$A_{300} : 0.374$$

$$A_{316} : 0.592$$

$$A_{328} : 0.663$$

$$A_{340} : 0.553$$

$$A_{360} : 0.228$$

$$A_{300}/A_{328} : 0.564$$

$$A_{316}/A_{328} : 0.893$$

$$A_{328}/A_{328} : 1.000$$

$$A_{340}/A_{328} : 0.834$$

$$A_{360}/A_{328} : 0.344$$

- 求本品中 *VitA* 的含量？



$$A_{300}/A_{328} : 0.564 \quad - \quad 0.555 \quad = \quad + 0.009$$

$$A_{316}/A_{328} : 0.893 \quad - \quad 0.907 \quad = \quad - 0.014$$

$$A_{328}/A_{328} : 1.000 \quad - \quad 1.000 \quad = \quad 0$$

$$A_{340}/A_{328} : 0.834 \quad - \quad 0.811 \quad = \quad + 0.023$$

$$A_{360}/A_{328} : 0.344 \quad - \quad 0.299 \quad = \quad + 0.045$$

$$\begin{aligned} A_{328(\text{校正})} &= 3.52(2A_{328} - A_{316} - A_{340}) \\ &= 3.52(2 \times 0.663 - 0.592 - 0.553) \\ &= 0.637 \end{aligned}$$



$$f = \frac{A_{328(\text{校正})} - A_{328}}{A_{328}} \times 100\%$$

$$= -3.92\% \in (-15\% \sim -3\%)$$

$$\begin{aligned} \text{标示量}\% &= \frac{A_{328(\text{校正})} \times 1900}{C(\text{g} / 100 \text{ ml})} \times \frac{\text{平均丸重}}{\text{标示量}} \times 100\% \\ &= \frac{0.637 \times 1900}{0.1287 \times \frac{2}{50} \times \frac{1}{50} \times 100} \times \frac{0.07985}{10\,000} \times 100\% \\ &= 93.9\% \end{aligned}$$



(3) 皂化法（等吸收比法、6/7A法）

- 适用于维生素A醇

第一法无法消除杂质干扰时用此法



脂溶性

样品 $\xrightarrow{\text{KOH} / \text{乙醇}}$ 皂化液 $\left\{ \begin{array}{l} \text{VitA 醋酸酯} \rightarrow \text{VitA 醇} \\ \text{植物油} \rightarrow \text{甘油和脂肪酸盐} \end{array} \right\}$

水溶性

$\xrightarrow{\text{乙醚提取}}$ 除去植物油的干扰 $\xrightarrow{\text{挥干乙醚}}$ 异丙醇

溶解 $\rightarrow$ 稀释至 $9 \sim 15 \text{ IU} / \text{ml}$ $\rightarrow$ 于 300、310、325、

334 nm 处测 A_i



- 判断 $\lambda_{\max}$ 是否在323~327nm之间

是

计算

$$\frac{A_{300}}{A_{325}}$$

否

取未皂化样品采用色
谱法纯化后再测定



- 判断 A_{300} / A_{325} 是否大于0.73

否

计算 A_{325} (校正)

是

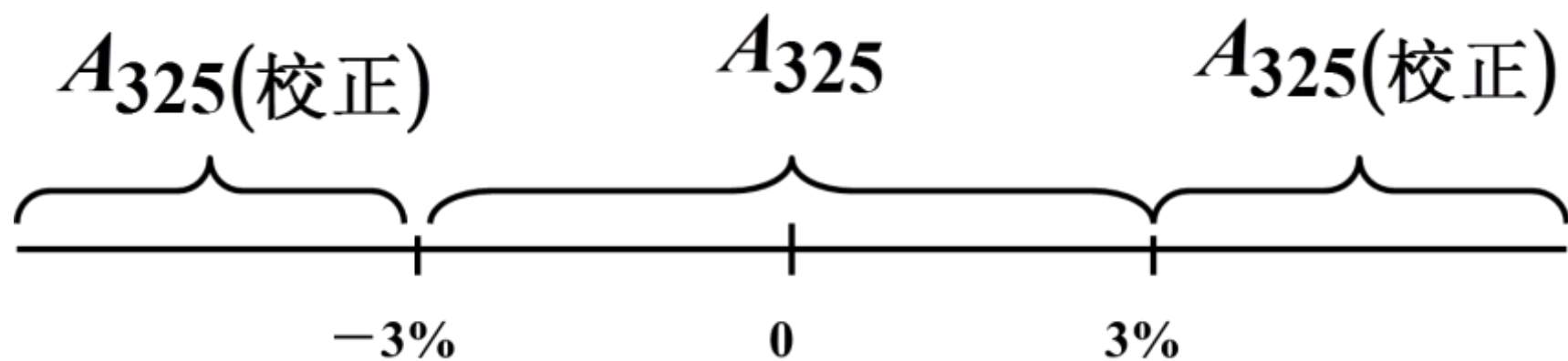
取未皂化样品采用色
谱法纯化后再测定



$$A_{325}(\text{校正}) = 6.815A_{325} - 2.555A_{310} - 4.260A_{334}$$

$$f = \frac{A_{325}(\text{校正}) - A_{325}}{A_{325}} \times 100\%$$





(二) 高效液相色谱法

- 适用于维生素A醋酸酯原料及其制剂中维生素A的含量测定。



仪器与色谱条件

(1) 仪器：高效液相色谱仪、紫外检测器

(2) 色谱条件与系统适用性试验

- 填充剂：硅胶
- 流动相：正己烷-异丙醇（997：3）
- 检测波长：325nm
- 进样量：10 μ l
- 维生素A醋酸酯主峰与其顺式异构体峰的分离度应大于3.0。
- 对照品溶液连续进样5次，主成分峰面积的相对标准偏差不得过3.0%。

**VitA对照品（约相当于
维生素A醋酸酯300mg）**

碘试液

0.2ml

混匀

放置10分钟

定量转移至
200ml量瓶中

正己烷稀释

精密量取1ml

置100ml量瓶中

系统适用性试验溶液



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

供试品（约相当于
15mg维生素A醋酸酯）

正己烷
→
100ml量瓶
定量，摇匀

精密量取5ml
→
50ml量瓶
正己烷
→
定量，摇匀
供试品溶液

- 另精密称取维生素A对照品适量（约相当于15mg维生素A醋酸酯），同法制成对照品溶液。
- 按外标法以峰面积计算含量。

(三) 三氯化锑比色法

标准曲线法



- 优点 简便 快速 λ_{max} 618~620nm



缺点

呈色不稳定（5 ~ 10秒内）

水分干扰 $\text{SbCl}_3 \xrightarrow{\text{H}_2\text{O}} \text{SbOCl} \downarrow$

与标准曲线温差 $\leq 1^\circ\text{C}$

专属性差

三氯化锑有腐蚀性

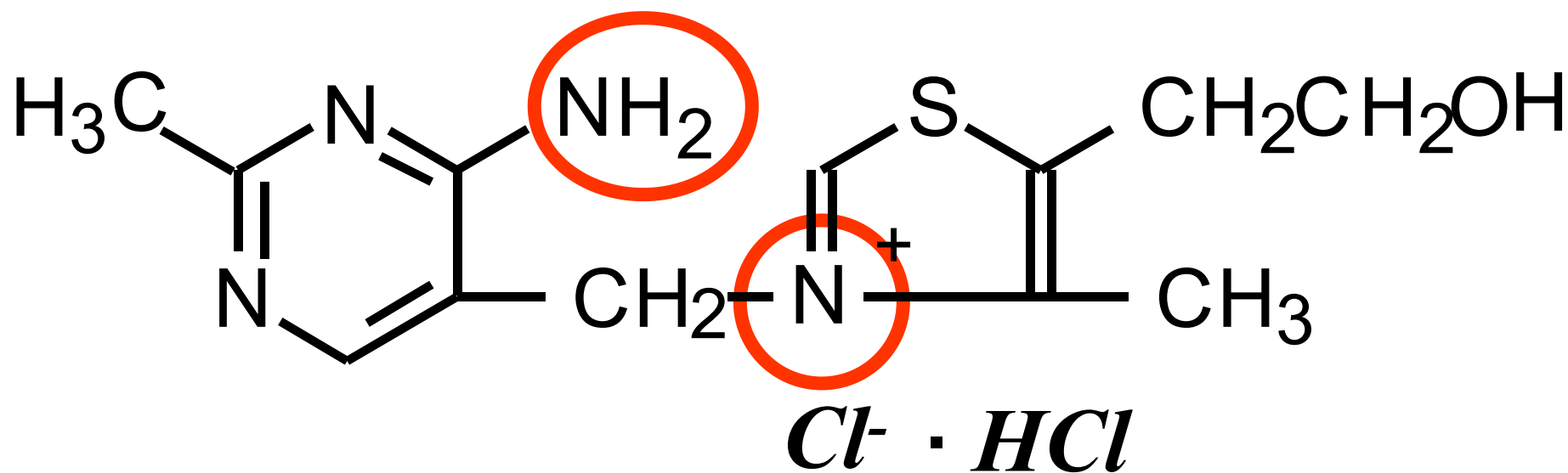
☆ 三种方法比较



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

第二节 维生素B₁





氨基嘧啶环— CH_2 —噻唑环（季铵碱）

一、结构与性质

(一) 溶解性

1. 易溶于水

2. 水溶液呈酸性

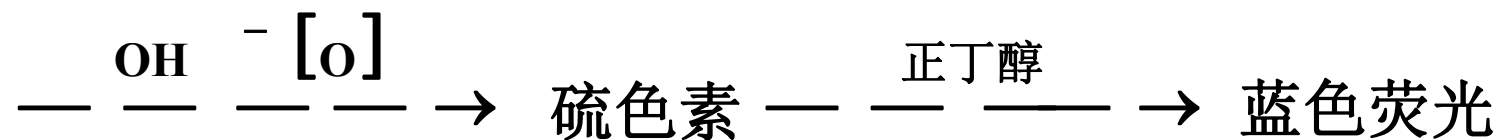


(二) UV 共轭双键

- $\lambda_{\max} = 246nm$



(三) 硫色素反应



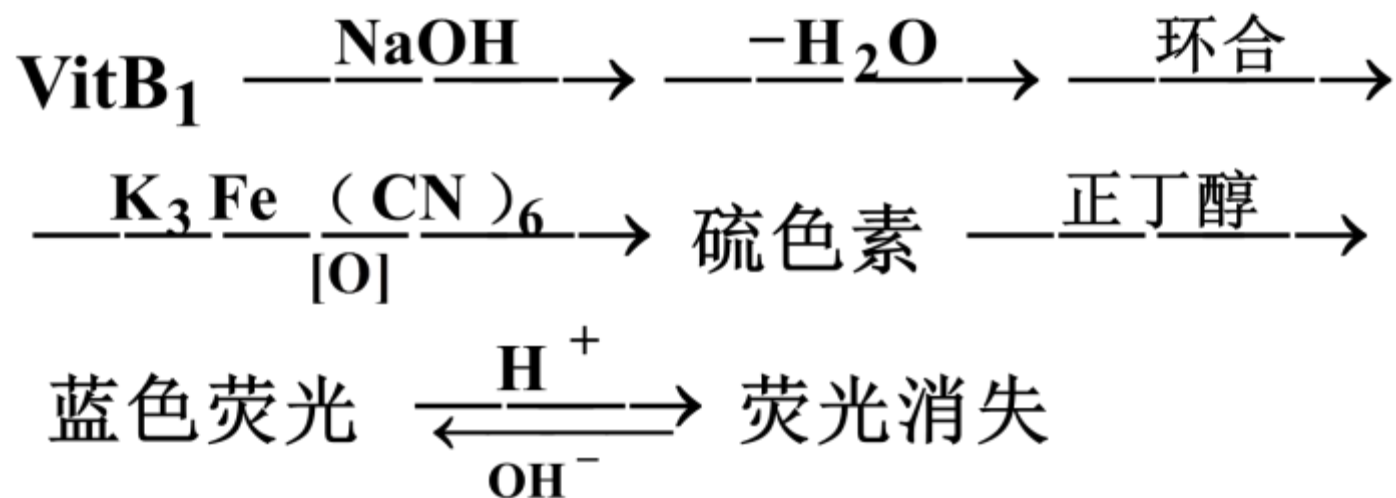
（四）碱性

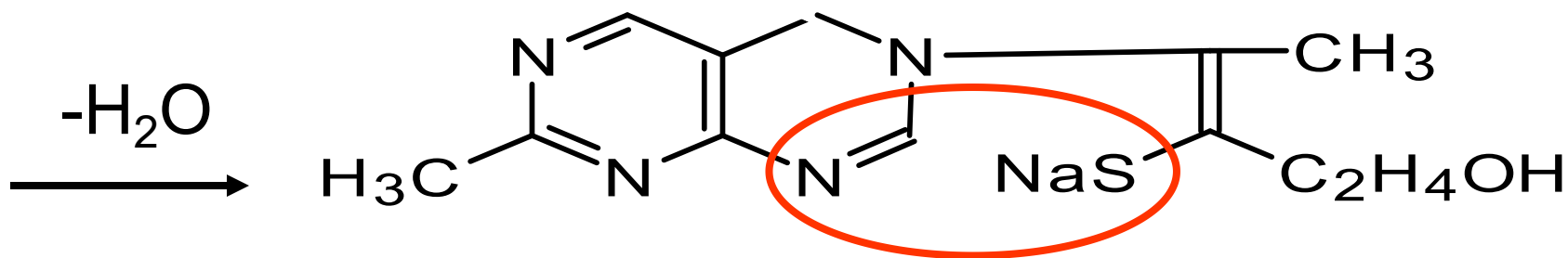
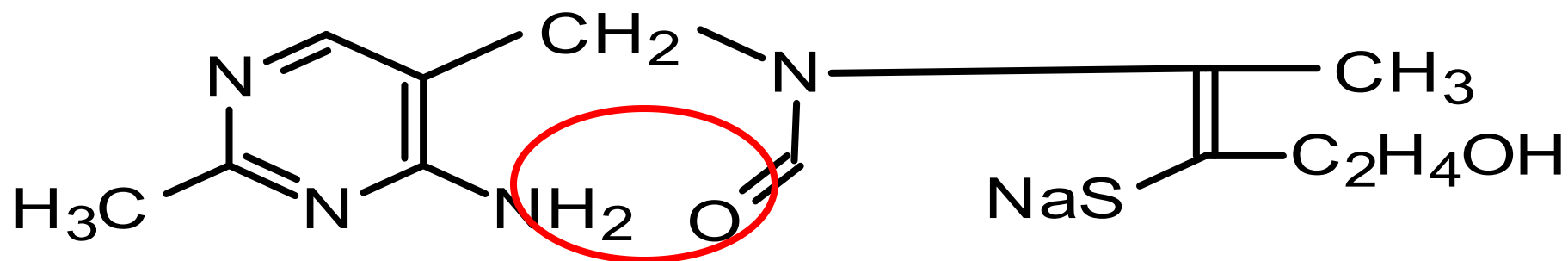
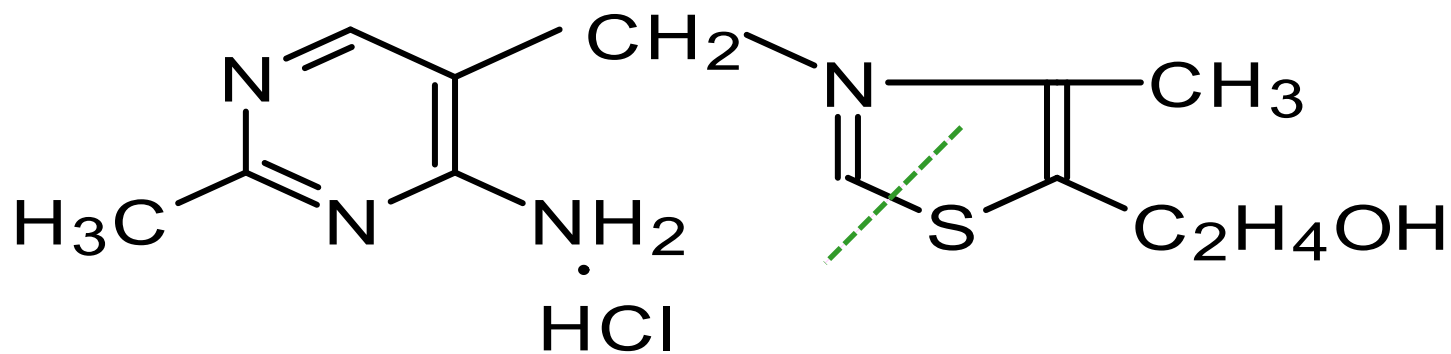
- 嘧啶环 —— 伯胺
 - 噻唑环 —— 季铵
1. 可与酸成盐
 2. 与生物碱 $\downarrow \rightarrow \downarrow$
 3. 含量测定 —— 非水碱量法

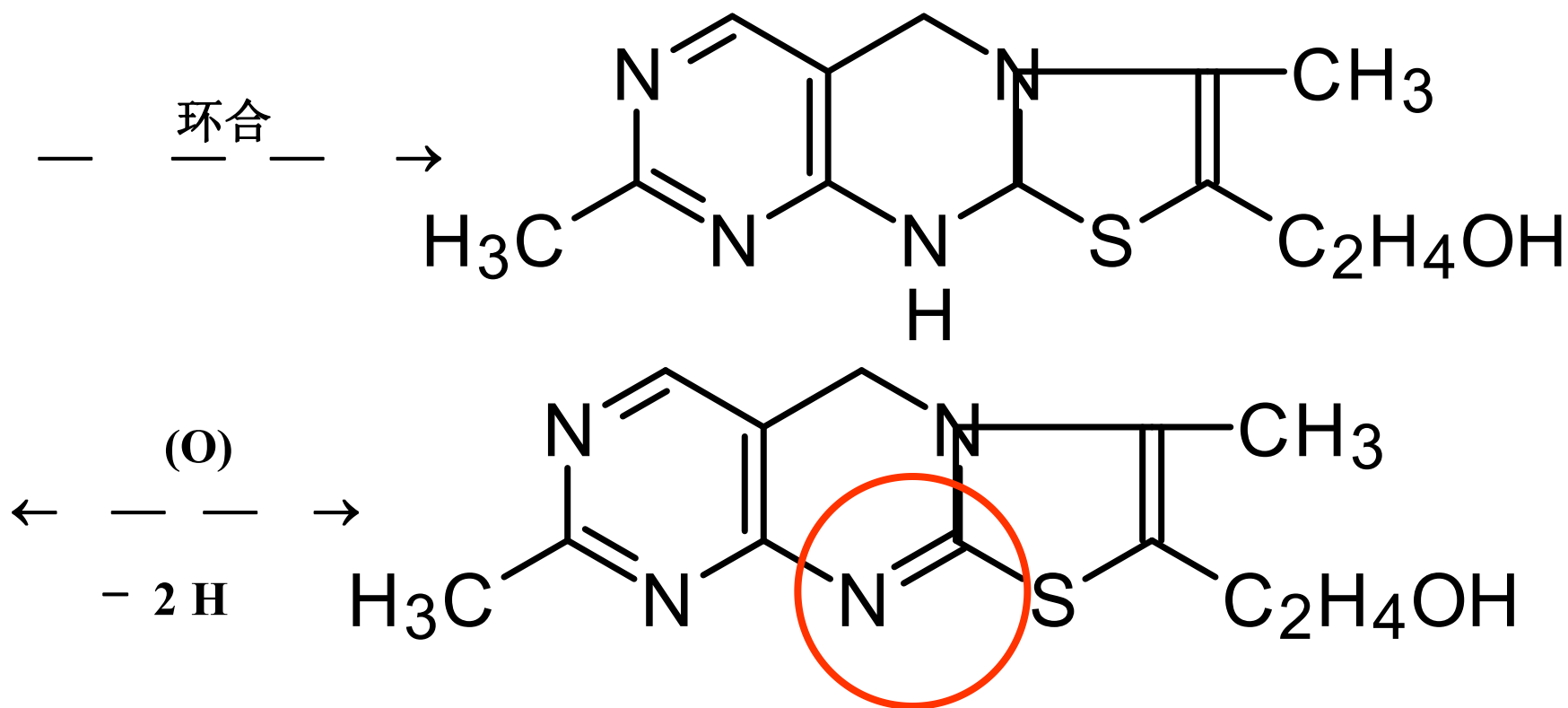


二、鉴别试验

(一) 硫色素反应



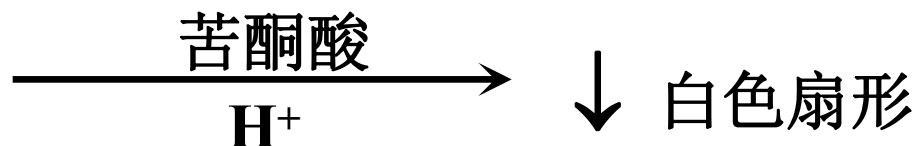
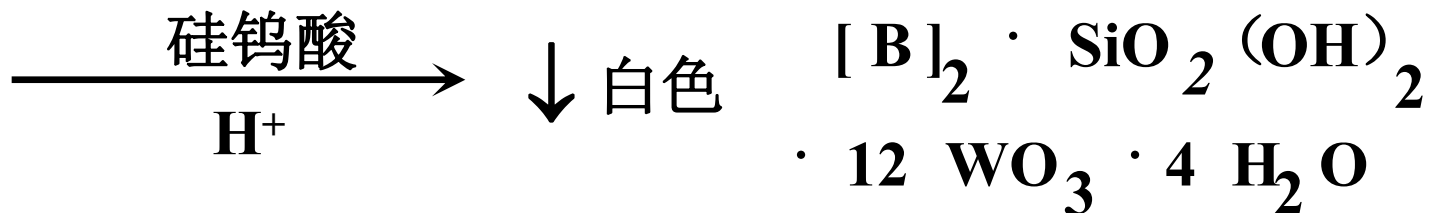
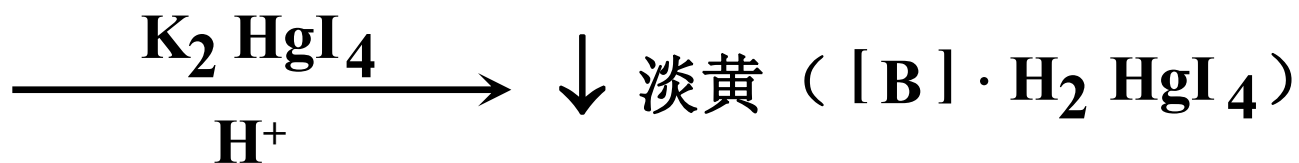




硫色素

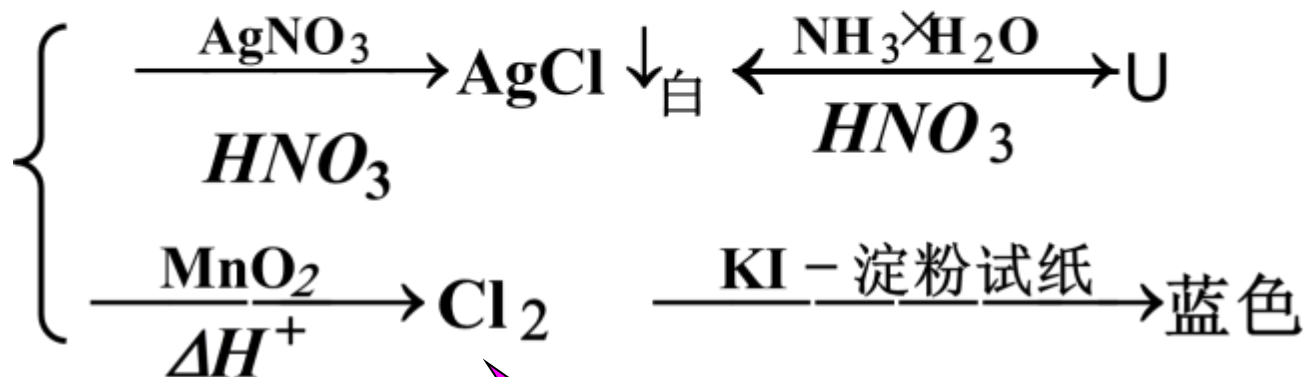
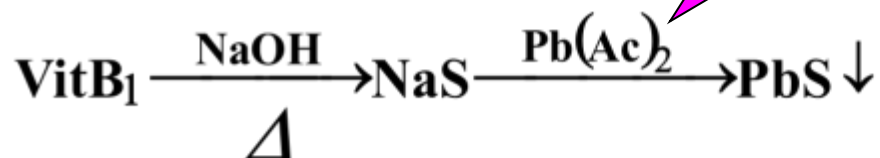


(二) 沉淀反应 VitB₁



(三) 其他反应

S元素反应

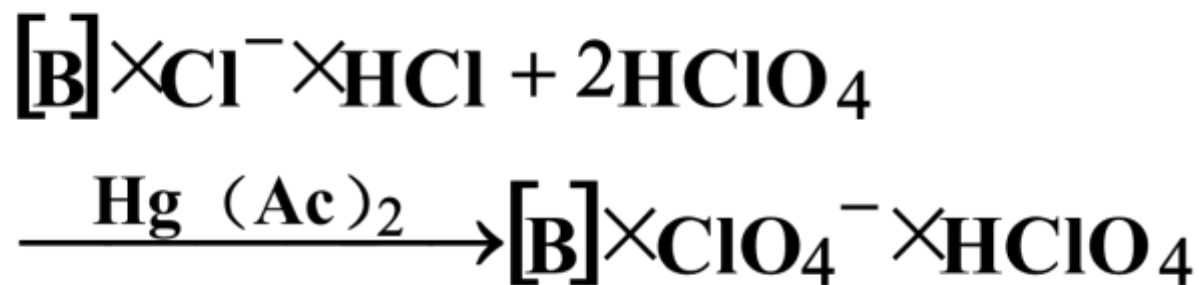


Cl-反应



三、含量测定

(一) 非水溶液滴定法



喹那啶红—亚甲蓝
(紫红→天蓝)



$$T = \frac{C \times M}{n} = \frac{0.1 \times 337.27}{2}$$

$$= 16.86 \text{ (mg / ml)}$$

$$\text{含量}\% = \frac{(V_{\text{样}} - V_{\text{空}}) \cdot T \cdot F}{W} \times 100\%$$

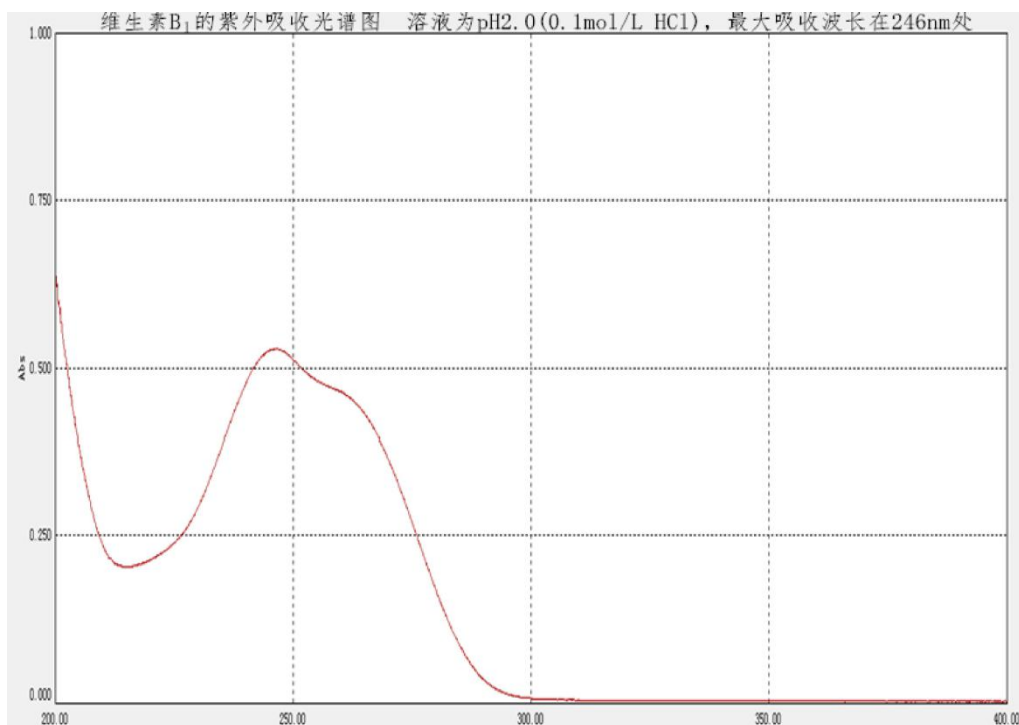


(二) UV法 ChP 片剂、注射剂

$$E_{1cm}^{1\%} = 421$$

$$A = ECL$$

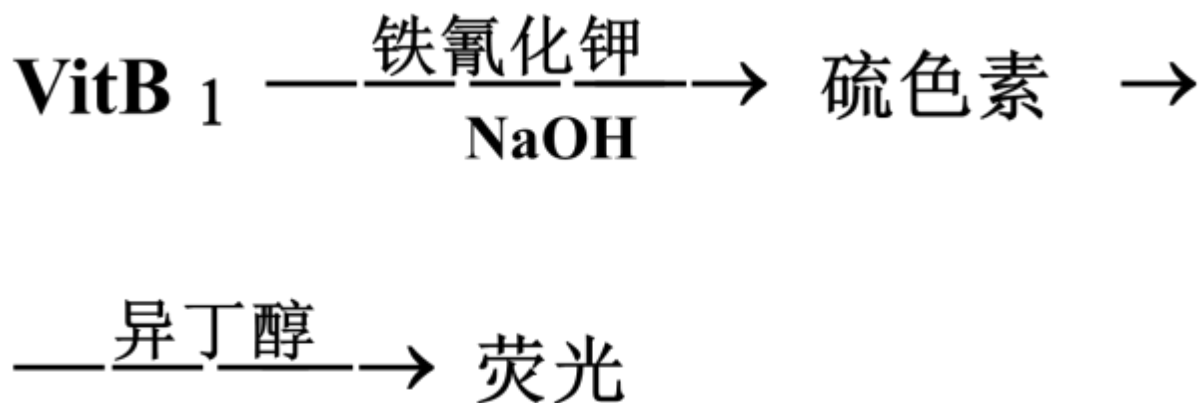
g/100ml



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

(三) 硫色素荧光法

1.原理



2.方法与计算

- 激发波长365nm
- 发射波长435nm



对照液	+ NaOH + 铁氰化钾 + 异丁醇	S
	+ NaOH + 异丁醇	d
供试液	+ NaOH + 铁氰化钾 + 异丁醇	A
	+ NaOH + 异丁醇	b

$$5\text{ml 供试品溶液中维生素 B}_1 \text{ 的 } \mu\text{g 数} = \frac{A - b}{S - d} \times 0.2 \times 5$$



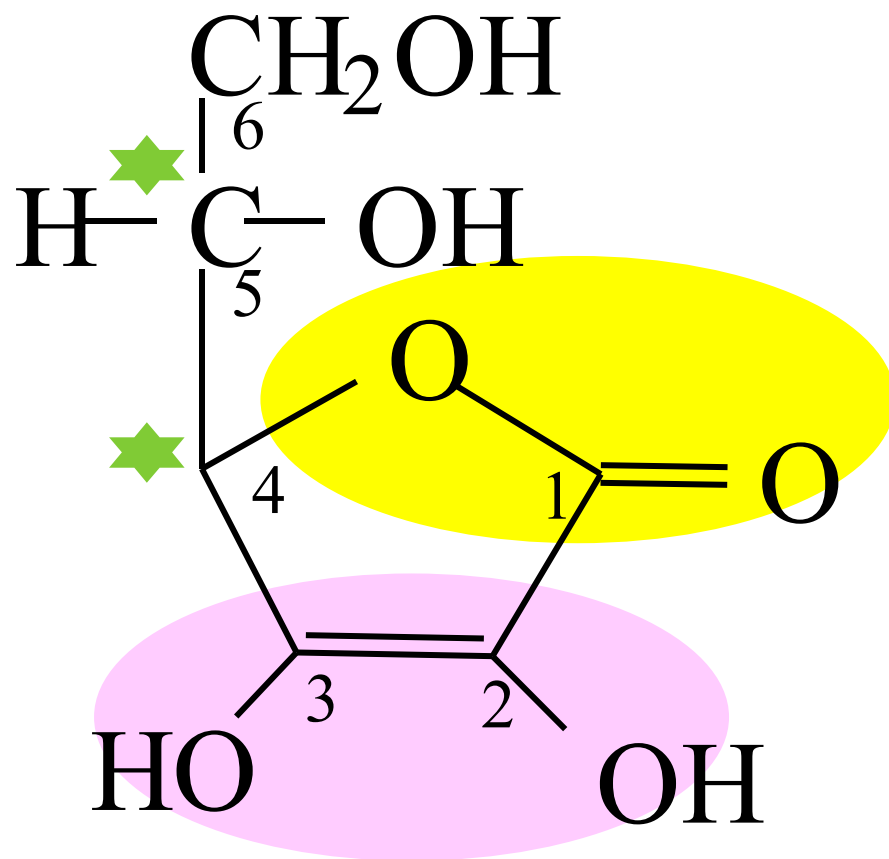
3.特点

- (1) 灵敏度高，线性范围宽
- (2) 代谢产物不干扰，适用于体液分析



第三节 维生素C





L-抗坏血酸



一、结构与性质

(一) 溶解性

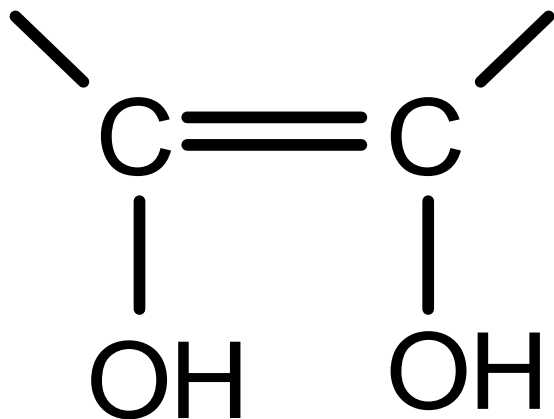
1. 易溶于水

2. 水溶液呈酸性

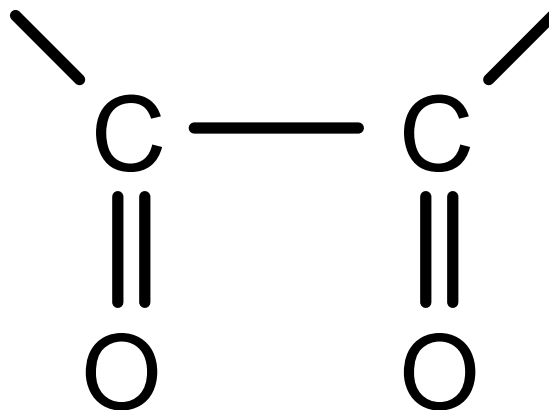


(二) 强还原性

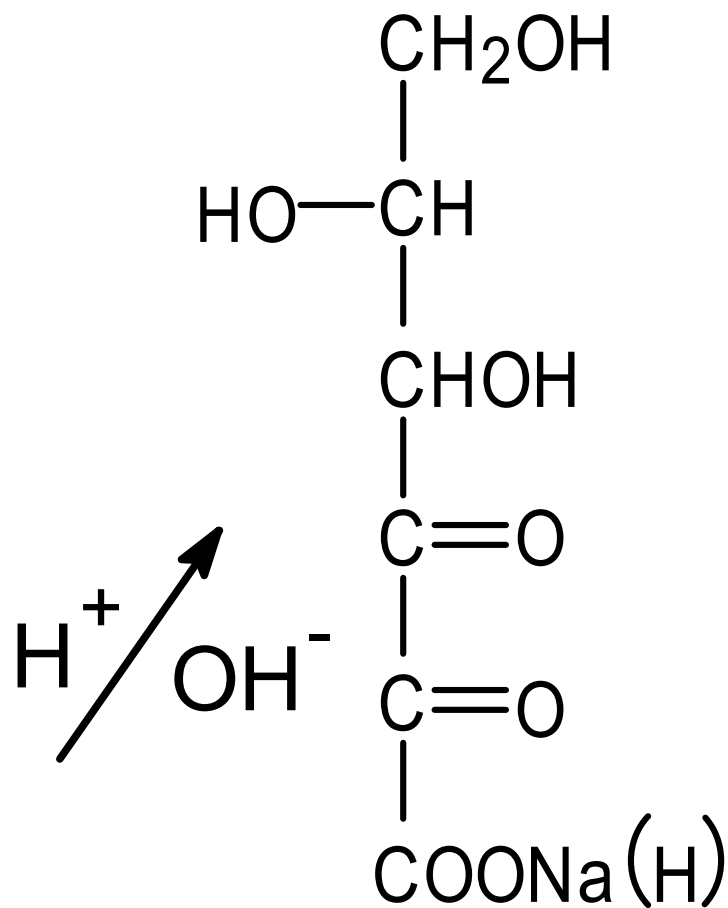
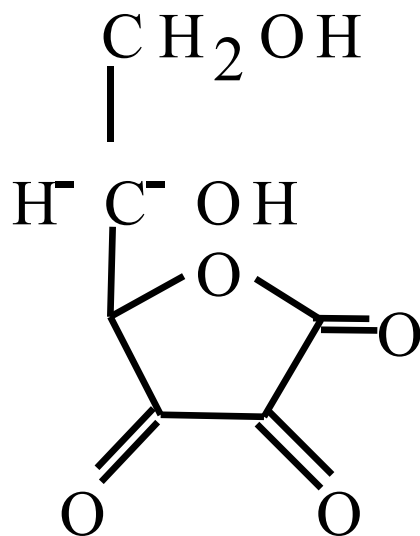
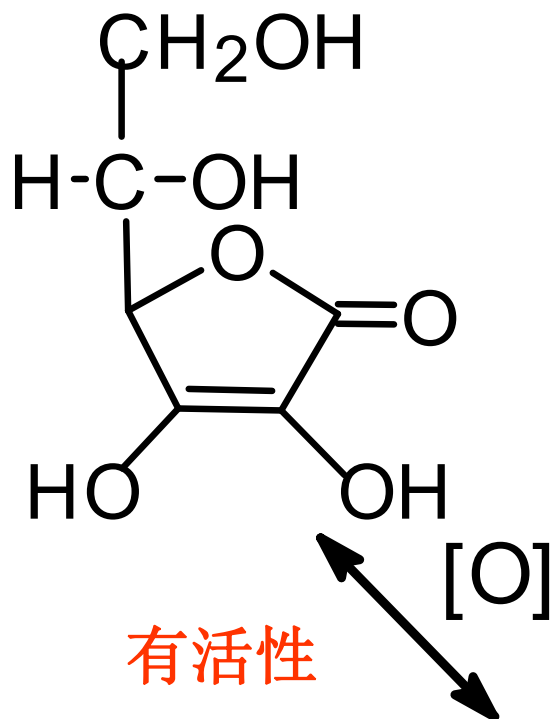
二烯醇结构



二烯醇结构



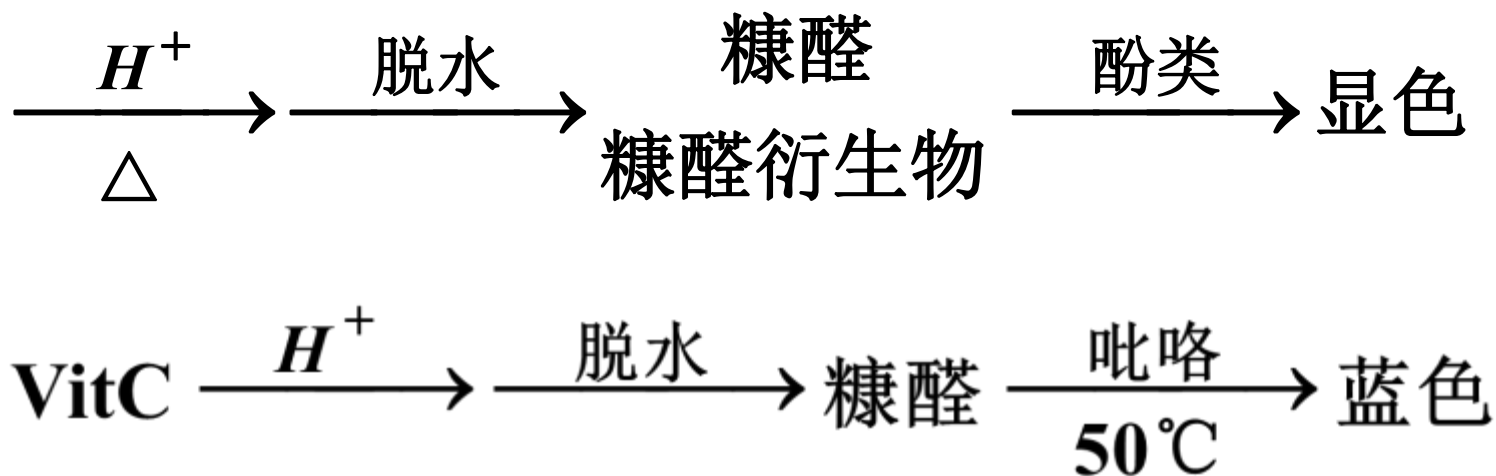
二酮基结构



(三) 具糖的性质

结构与糖类相似

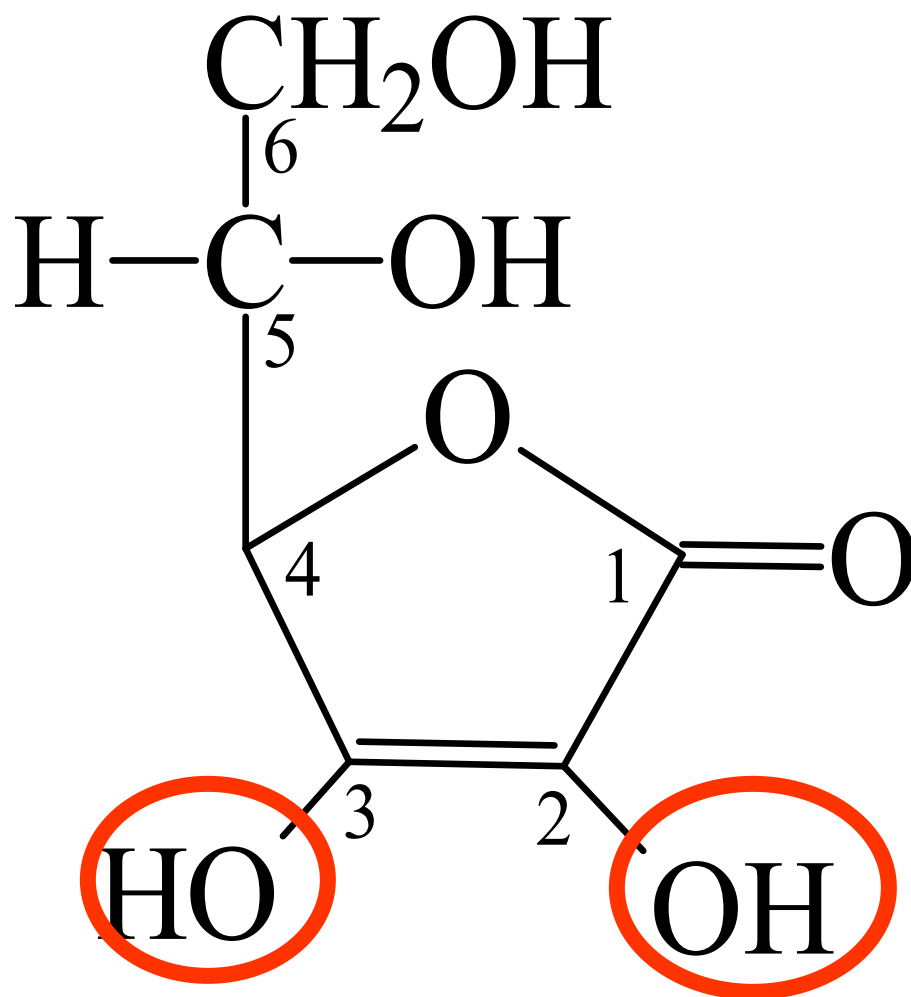
糖类的显色反应



(四) 酸性 一元酸

C_3-OH 的
 $pK_a = 4.17$

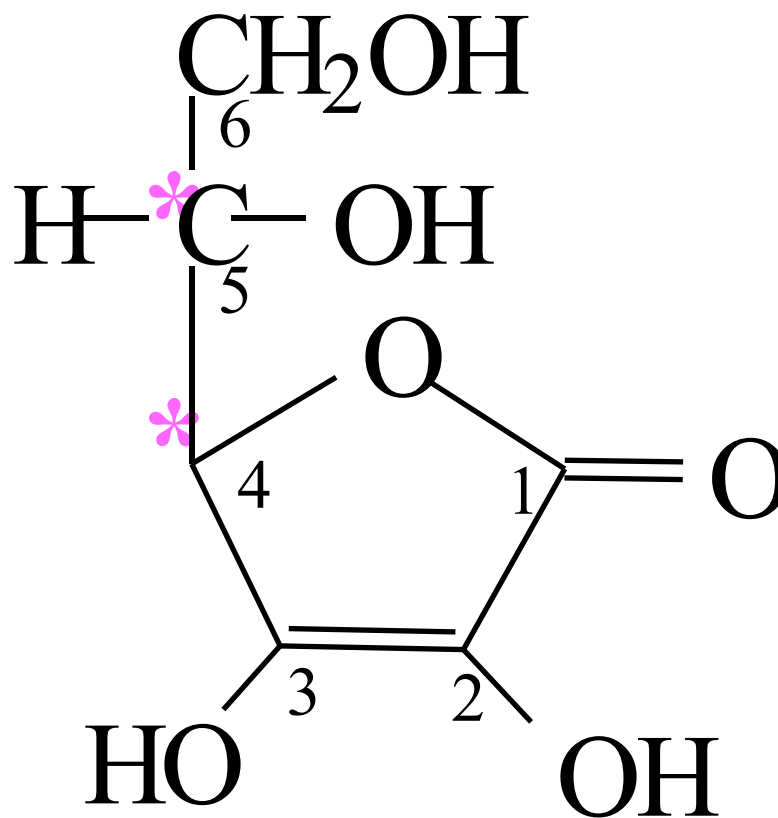
C_2-OH 的
 $pK_a = 11.57$



（五）光学活性

手性C (C₄、C₅)

L (+) - 抗坏血酸
活性最强

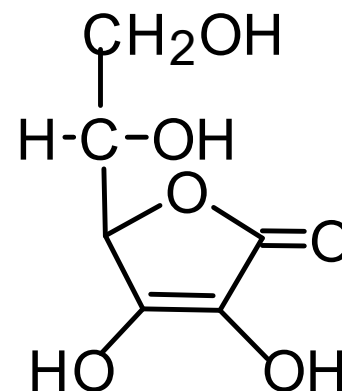


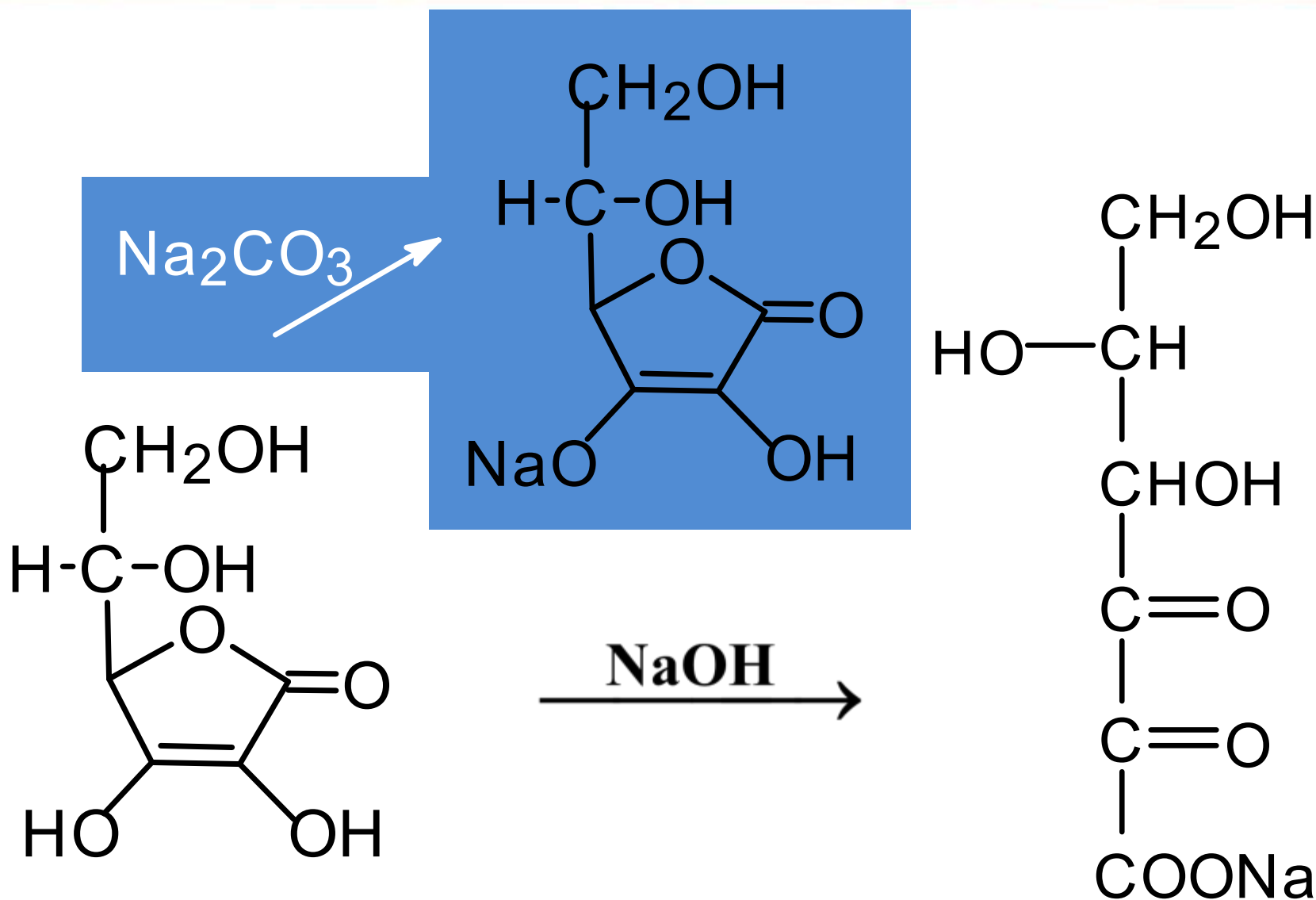
(六) 水解反应

与碱反应

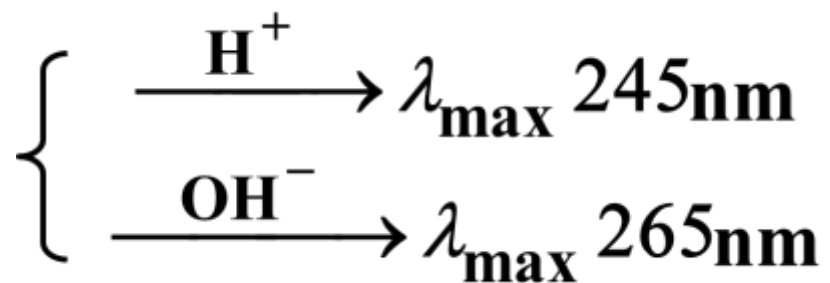
$\xrightarrow{\text{Na}_2\text{CO}_3}$ 单钠盐

$\xrightarrow{\text{NaOH}}$ 水解 $\rightarrow$ 酮酸盐



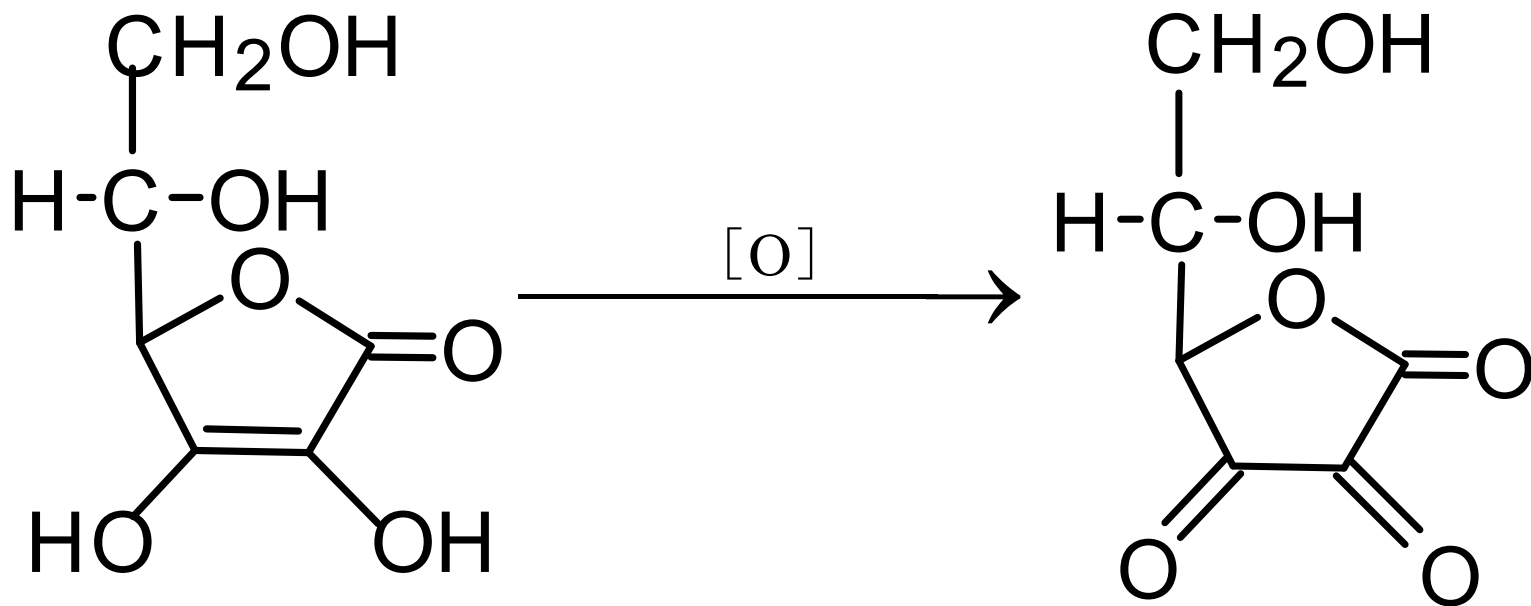
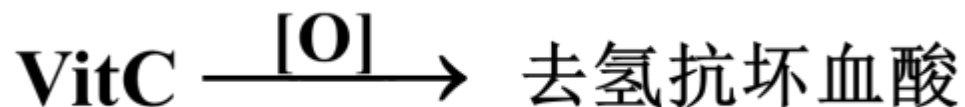


(七) UV特征

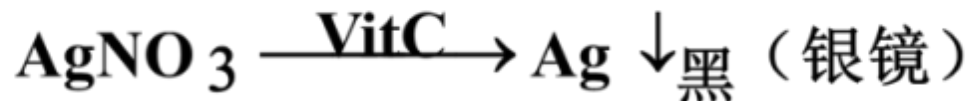


二、鉴别试验

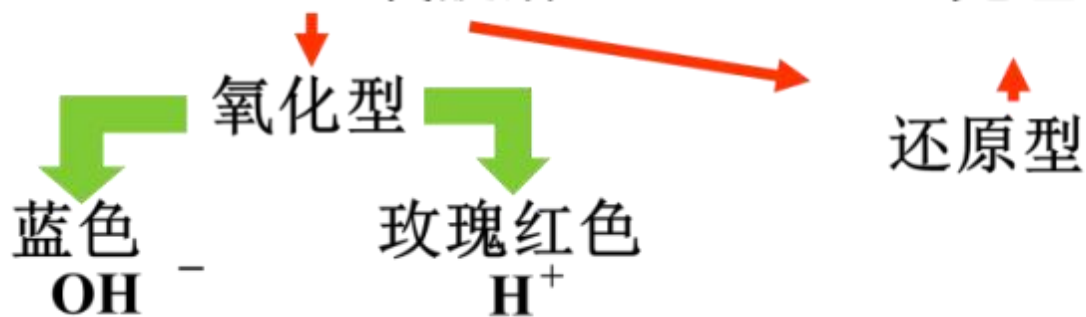
(一) 与氧化剂的反应



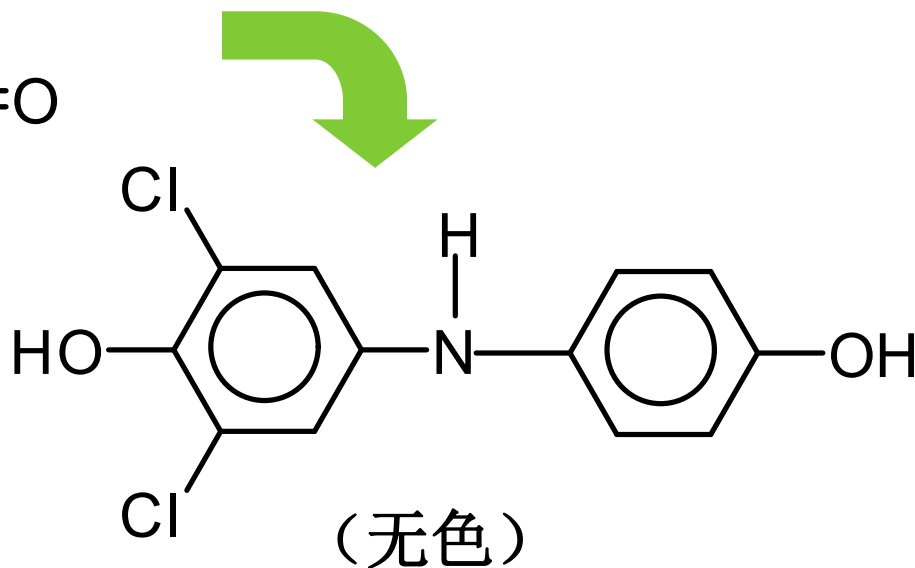
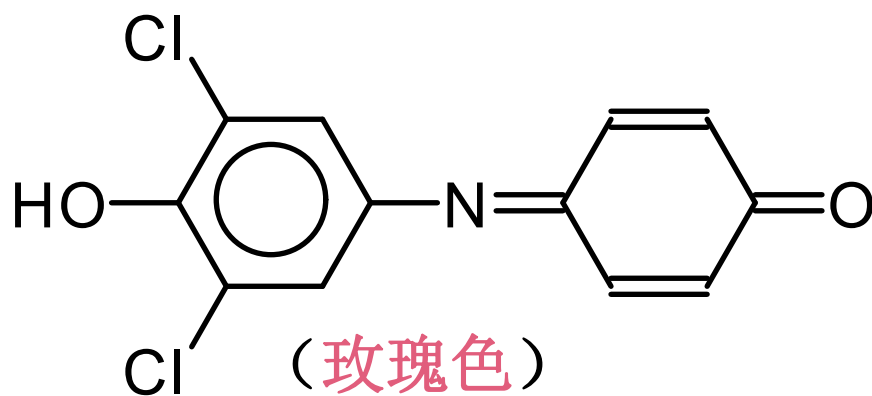
1. 与 AgNO_3 反应 (ChP2015)



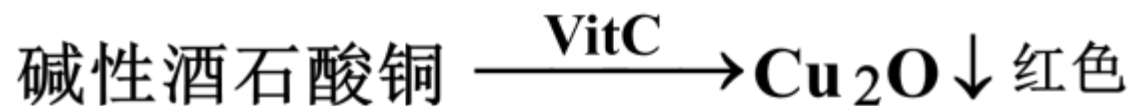
2. 与 2,6 - 二氯靛酚反应 (ChP2015)



- **ChP2015:** 取本品0.2g，加水10ml溶解。取该溶液5ml，加二氯靛酚钠试液1~2滴，试液的颜色即消失。



3.与碱性酒石酸铜反应



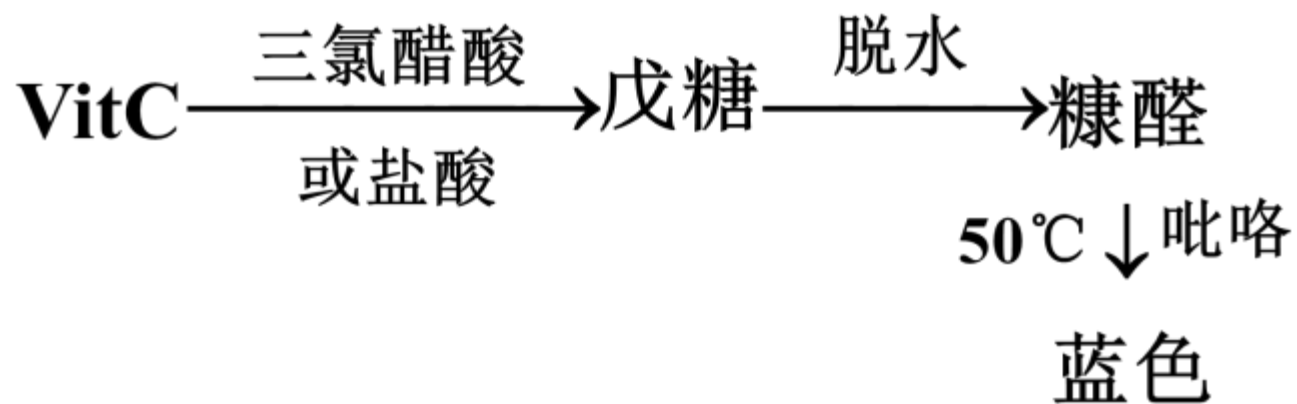
4.与KMnO₄反应

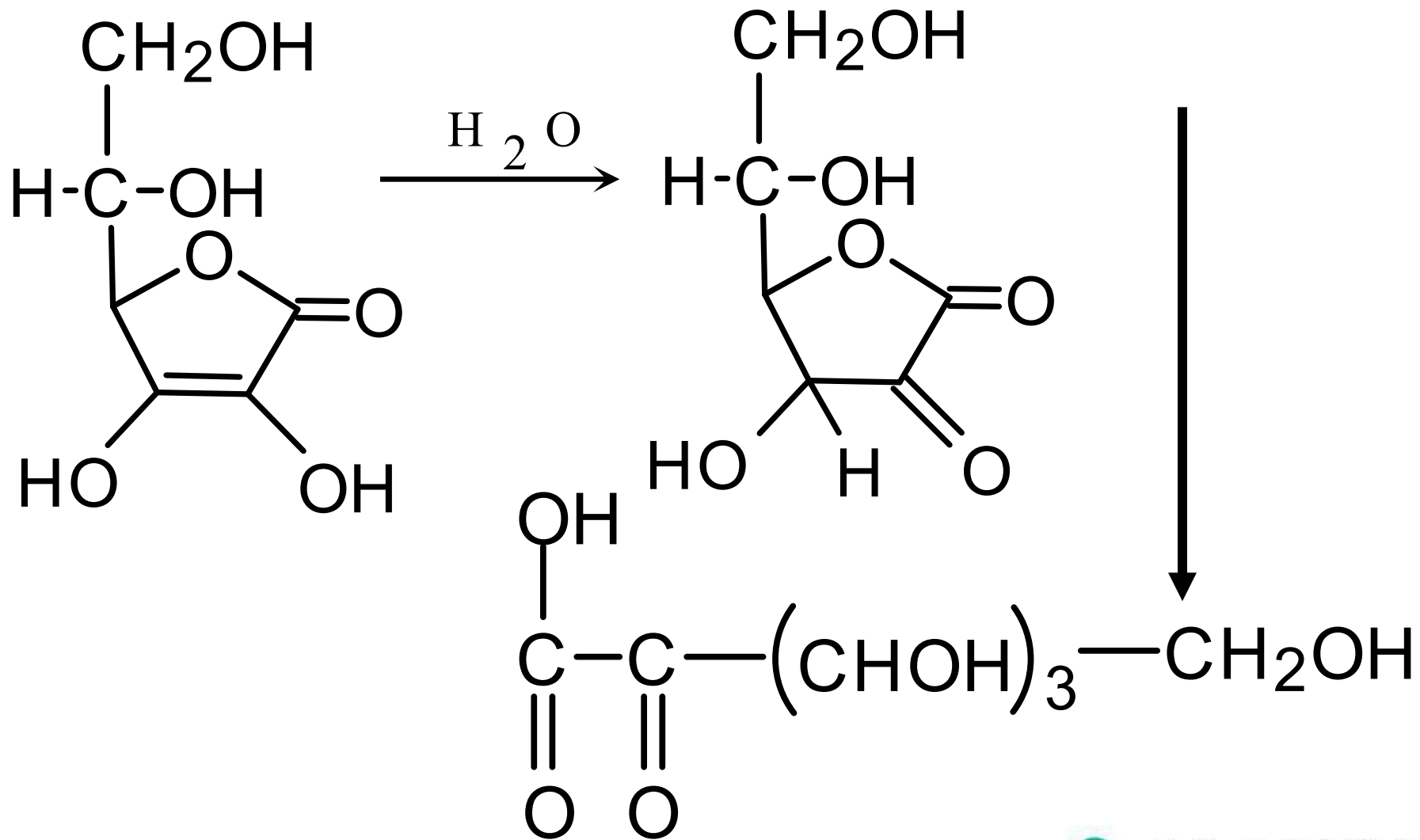


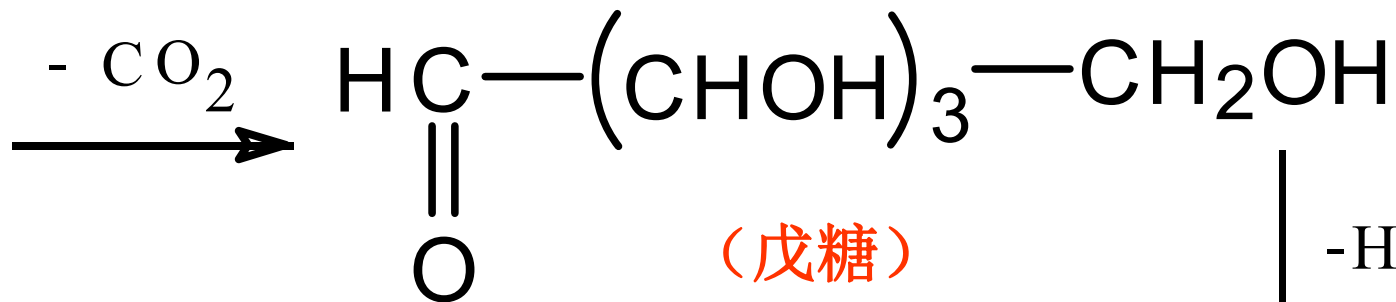
(二) 薄层色谱法

- **ChP2015**采用薄层色谱法对维生素C制剂进行鉴别。

(三) 糖类的反应

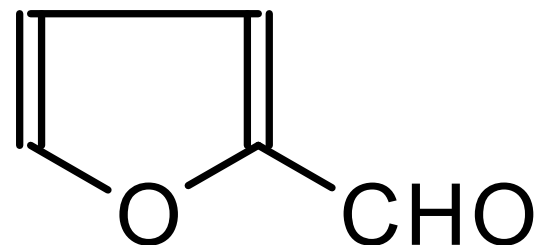




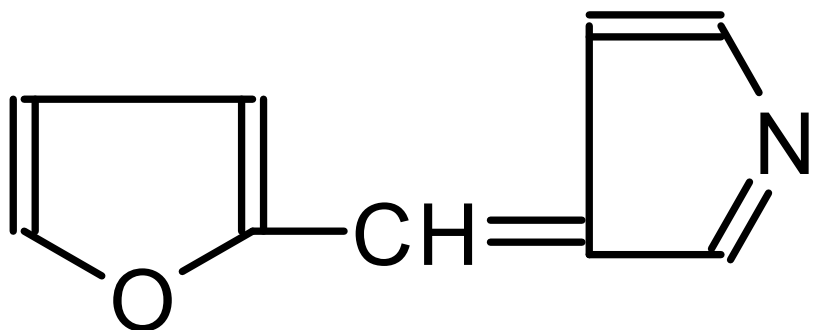


(戊糖)

$-\text{H}_2\text{O}$

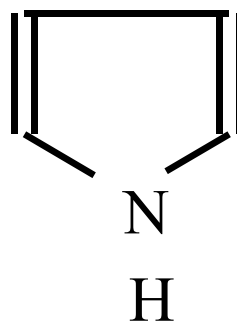


(糠醛)

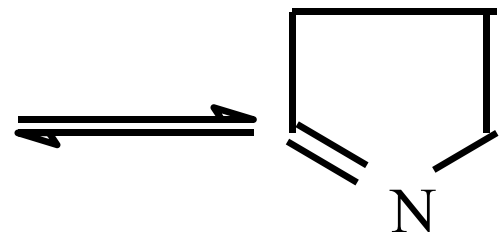


(蓝色)

50°C



(吡咯)



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

(四) UV BP

0.01mol/L HCl

$$\lambda_{max} = 243 \text{ nm}$$

$$E_{1\%}^{1\text{cm}} = 545 \sim 585$$



三、杂质检查

(一) 溶液的澄清度与颜色检查

- VitC、VitC片、VitC注射液



(二) 铁、铜离子的检查

- **VitC**



(三) 草酸的检查

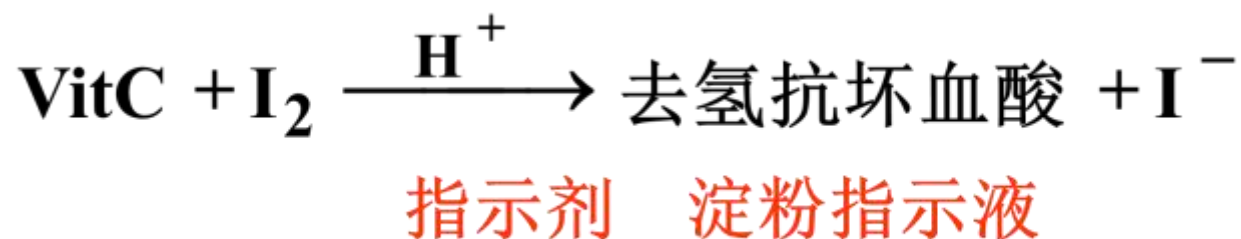
- VitC、VitC注射液

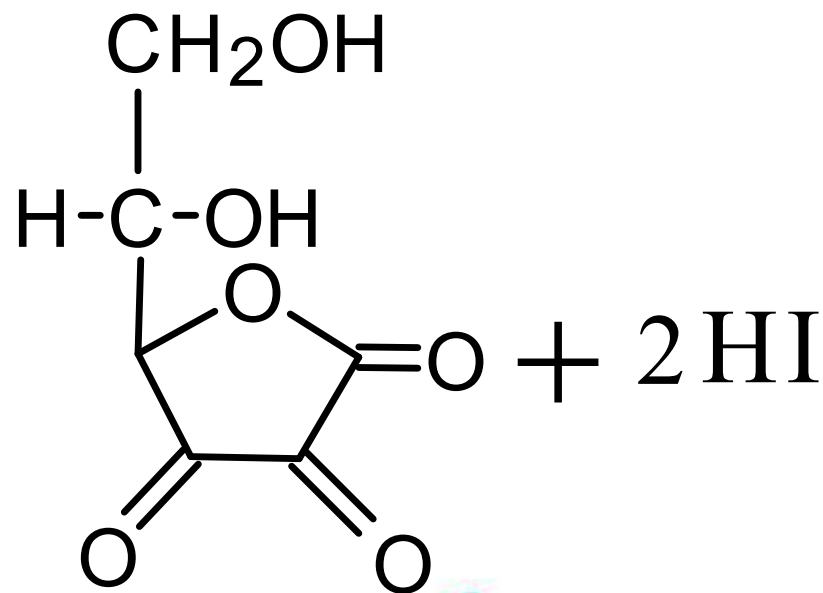
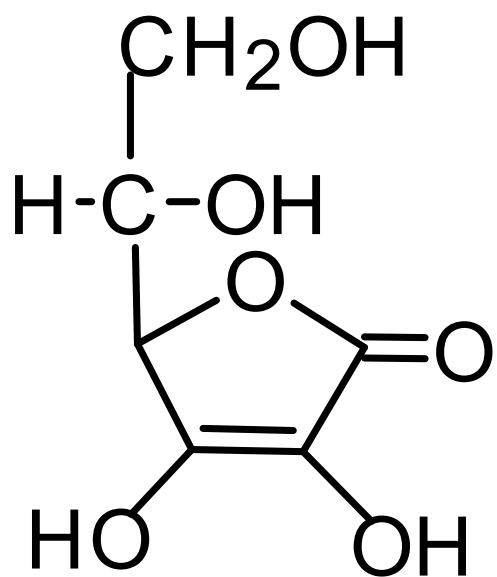


四、含量测定

(一) 碘量法

1. 原理





2.方法

- 取本品约0.2g，精密称定，加新沸过的冷水100ml与稀醋酸10ml使溶解，加淀粉指示液1ml，立即用碘滴定液（0.05mol/L）滴定，至溶液显蓝色，在30秒内不褪。每1ml碘滴定液（0.05mol/L）相当于8.806mg的 $C_6H_8O_6$ 。



3.讨论

(1) 酸性环境 稀醋酸

- 减慢VitC被 O_2 氧化速度

(2) 新沸冷 H_2O

- 赶走水中 O_2

(3) 立即滴定

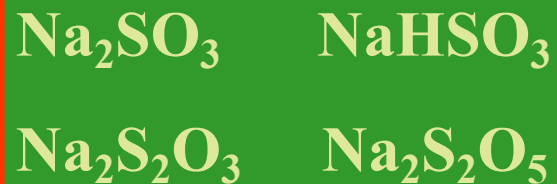
- 减少 O_2 的干扰

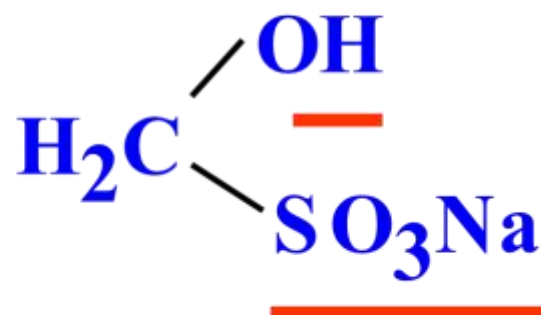
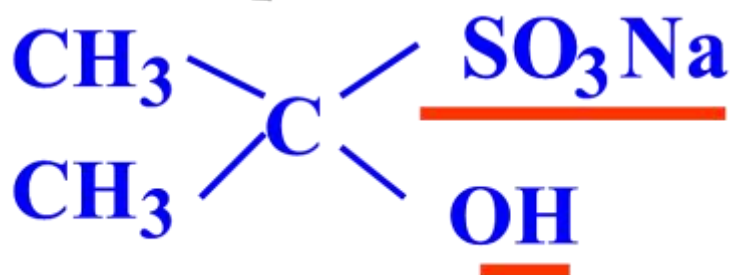


(4) 附加剂干扰的排除

片剂——滑石粉——过滤

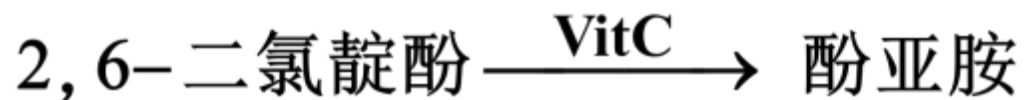
注射剂 —— **抗氧剂** —— { **丙酮**
甲醛



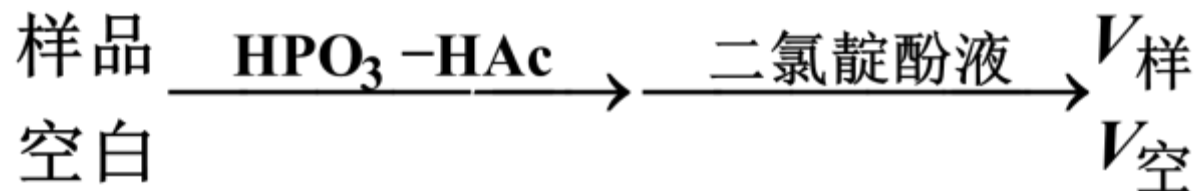


(二) 二氯靛酚钠滴定法

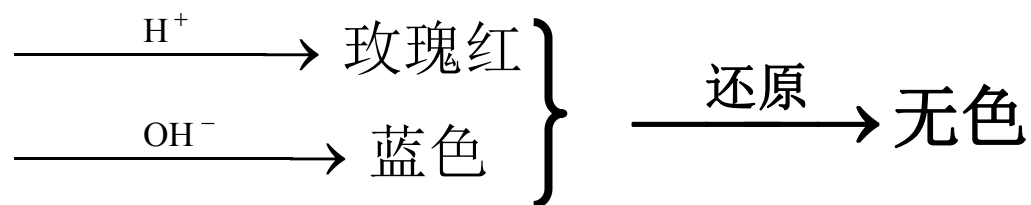
1. 原理 USP JP



2.方法



自身指示终点法



3.讨论

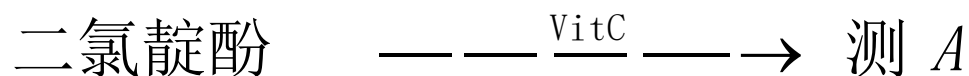
(1) 酸性环境 $\text{HPO}_3\text{-HAc}$

- 稳定VitC

(2) 快速滴定 2分钟内

- 防止其他还原性物质干扰

(3) 剩余比色测定




(定量过量)


(测剩余染料)



(4) 缺点

不稳定 { 需经常标定
贮存 $\leq$ 1周

- 干扰多 氧化力较强



(三) HPLC法

1. HPLC的优点

灵敏度高

微量分析

选择性高

干扰少

分离分析同步

快速



2. HPLC法分离VitC常用方法及测定对象

方法 离子交换色谱法

离子对色谱法

分配色谱法（正、反相）

对象 制剂、生物样品、果汁



血、尿、组织、细胞等



第四节

维生素D的分析

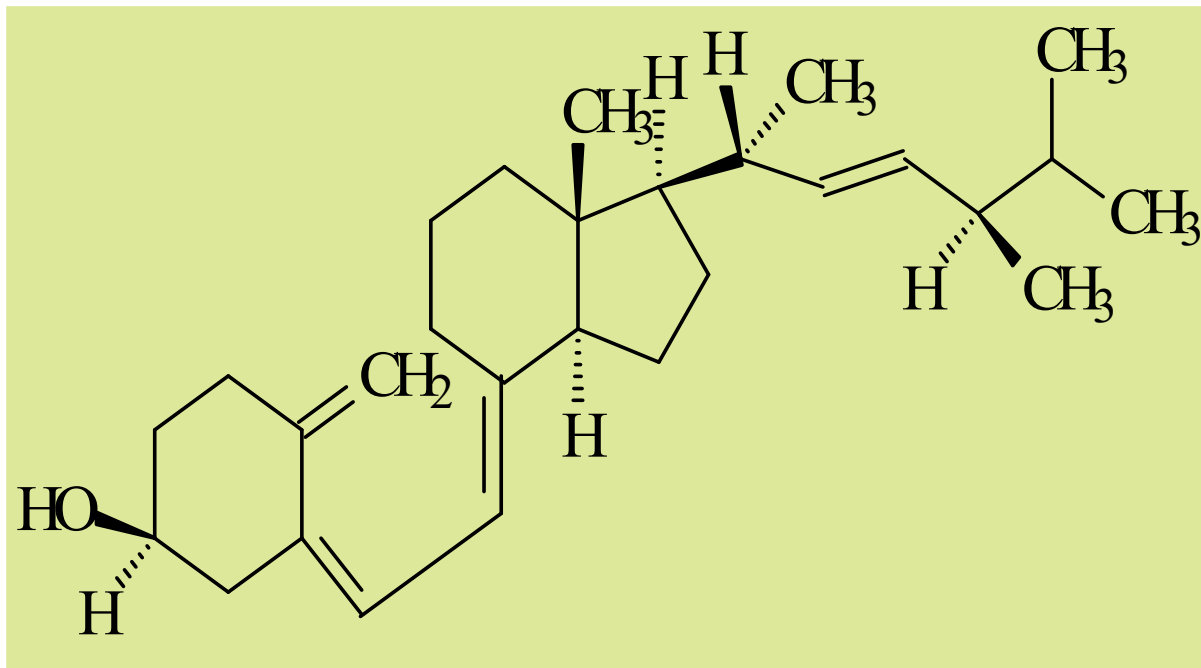


- 是一类抗佝偻病维生素的总称
- 目前已知的维生素D类物质至少有十多种，它们都是固醇的衍生物。



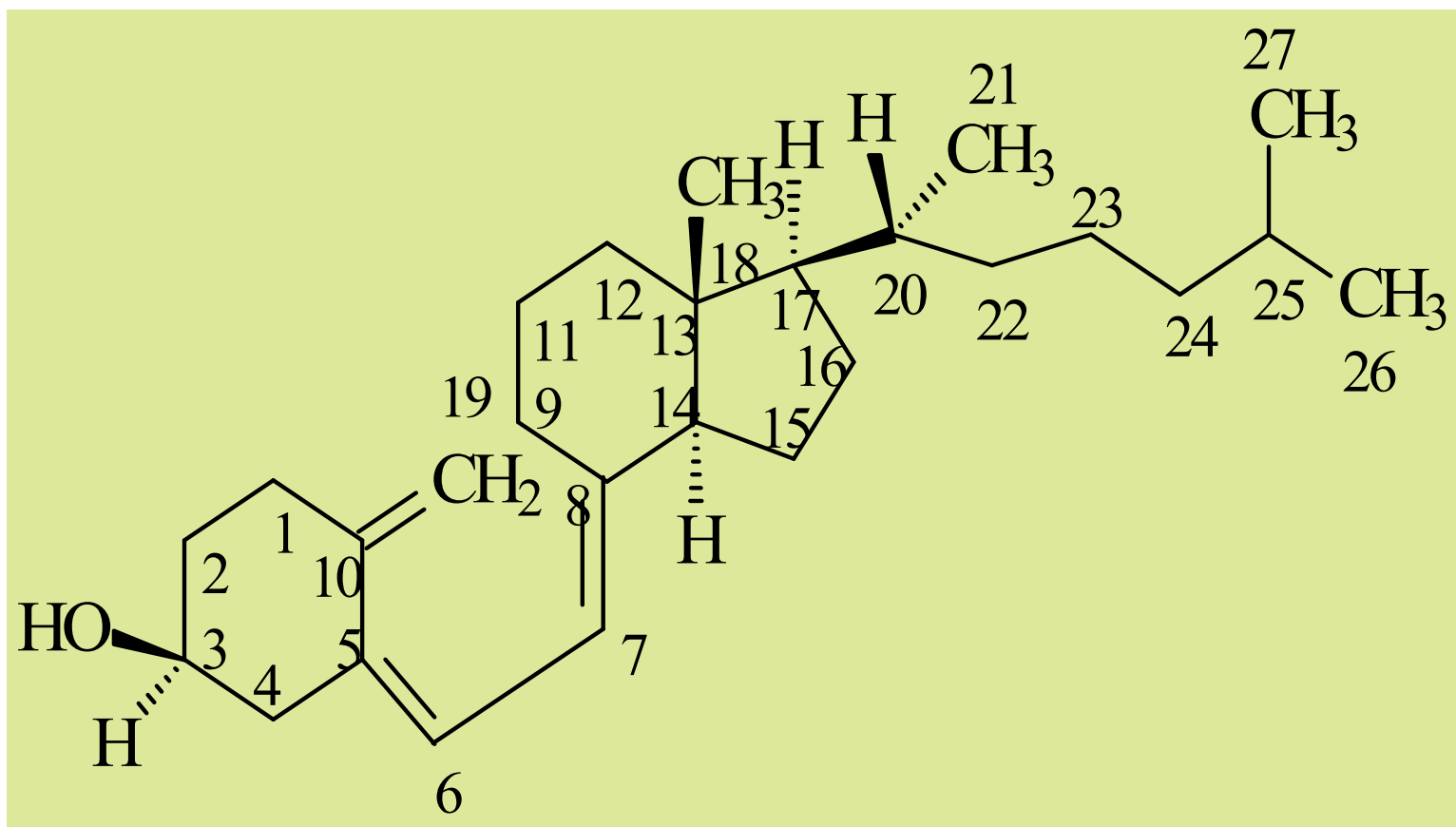
一、结构与性质

(一) 结构



维生素D₂ (C₂₈H₄₄O, 396.66)





维生素D₃ (C₂₇H₄₄O, 384.65)

(二) 性质

1.性状

- 均为无色针状结晶或白色结晶性粉末；无臭，无味；遇光或空气均易变质。

2.溶解性

- 维生素D₂—在三氯甲烷中极易溶解，在乙醇、丙酮或乙醚中易溶；
- 维生素D₃—在乙醇、丙酮、三氯甲烷或乙醚中极易溶解；两者均在植物油中略溶，在水中不溶。



3.不稳定性

- 维生素D₂、D₃因含有多个烯键，所以极不稳定，遇光或空气及其他氧化剂均发生氧化而变质，使效价降低，毒性增强。本品对酸也不稳定。

4.旋光性

- 维生素D₂具有 6个手性碳原子，
- 维生素D₃具有5个手性碳原子。



5.显色反应

- 本品的三氯甲烷溶液，加醋酐与硫酸，初显黄色，渐变红色，迅即变为紫色，最后变为绿色。本反应为甾类化合物的共有反应。

6.紫外吸收特性

- 取本品，加无水乙醇溶解，照分光光度法，在265nm的波长处测定吸收度，维生素D₂的吸收系数为460～490；维生素D₃的吸收系数为465～495。



二、鉴别试验

(一) 显色反应

1. 与醋酐-浓硫酸反应

- 取维生素D₂或D₃约0.5mg，加三氯甲烷5ml溶解后，加醋酐0.3ml与硫酸0.1ml，振摇，维生素D₂初显黄色，渐变红色，迅即变为紫色，最后成绿色。维生素D₃初显黄色，渐变红色，迅即变为紫色、蓝绿色，最后变为绿色。



2.与三氯化锑反应

- 取本品适量（约1000U），加1,2-二氯乙烷1ml溶解，加三氯化锑试液4ml，溶液即显橙红色，逐渐变为粉红色。

3.其他显色反应

- 维生素D + 三氯化铁→橙黄色
- 维生素D + 二氯丙醇和乙酰氯试剂→绿色，均可用于鉴别，但专属性不强。



(二) 比旋度鉴别

- 取维生素D₂，精密称定，加无水乙醇溶解并定量稀释制成每1ml中含40mg的溶液，依法测定，比旋度为 $+102.5^{\circ} \sim +107.5^{\circ}$ ；
- 维生素D₃加无水乙醇溶解并定量稀释制成每1ml中含5mg的溶液，依法测定，比旋度为 $+105^{\circ} \sim +112^{\circ}$ 。



(三) 其他鉴别方法

- 维生素D₂、D₃可用薄层色谱法、HPLC法和制备衍生物测熔点进行鉴别。此外，亦可通过其红外、紫外吸收光谱的特征加以鉴别。



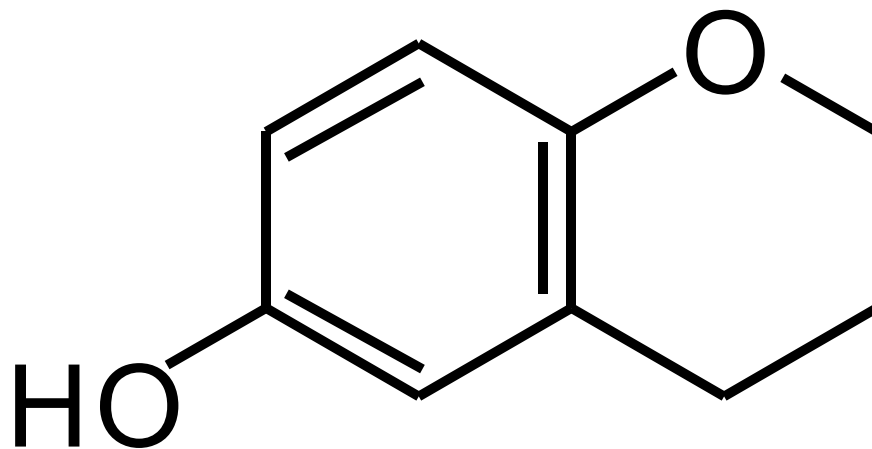
(四) 维生素D₂、D₃的区别反应

- 取维生素D 10mg，溶于96%乙醇10ml中。取此液0.1ml，加乙醇1ml和85%硫酸5ml。维生素D₂显红色，在570nm波长处有最大吸收；维生素D₃显黄色，在495nm波长处有最大吸收。此反应也用于D₂和D₃的含量测定。



第五节 维生素E





苯并一二氢吡喃醇

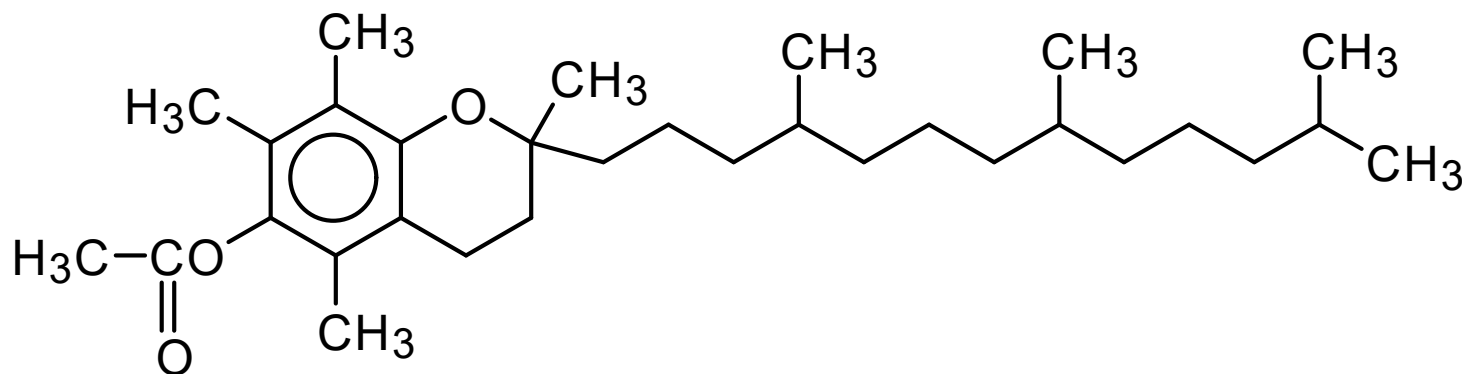


生物效价

- 右旋体：消旋体 = 1.4 : 10

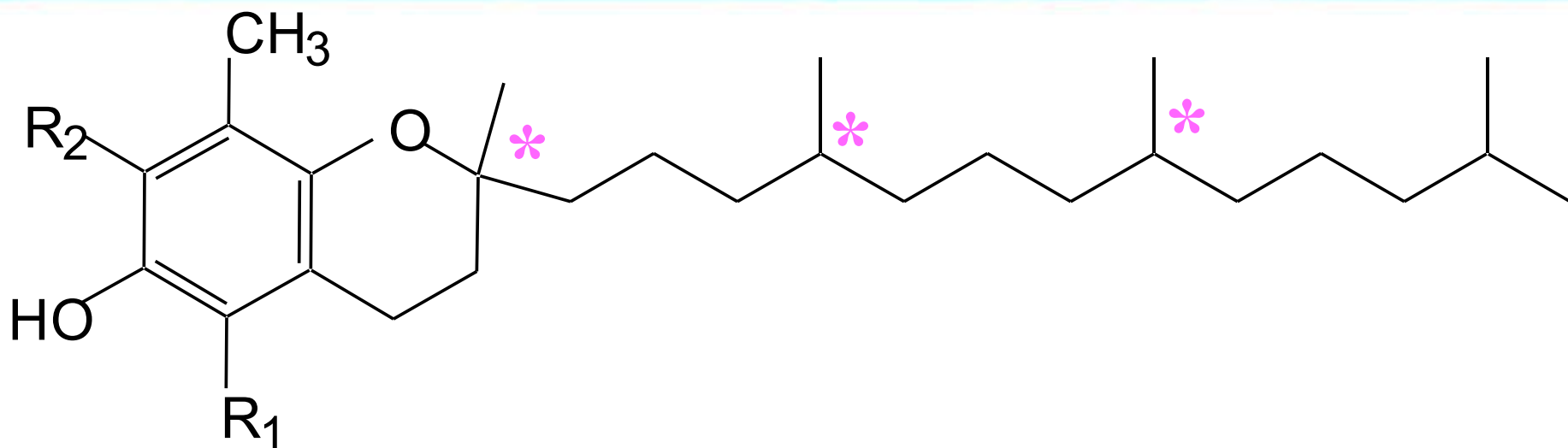
(天然品)

(合成品)



dl- α -生育酚醋酸酯





名 称	R_1	R_2	相对活性
α -生育酚	CH_3	CH_3	1.0
β -生育酚	CH_3	H	0.5
γ -生育酚	H	CH_3	0.2
δ -生育酚	H	H	0.1



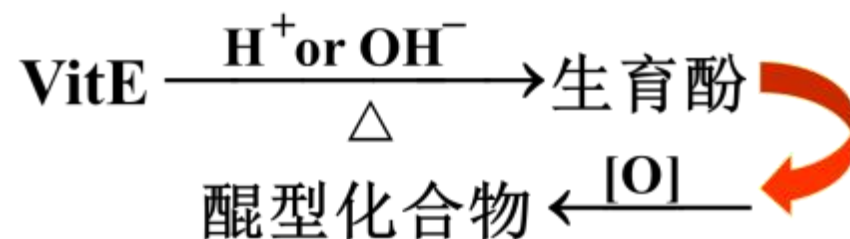
一、结构与性质

苯环 + 二氢吡喃环 + 饱和烃链

1. 易溶于有机溶剂，不溶于水

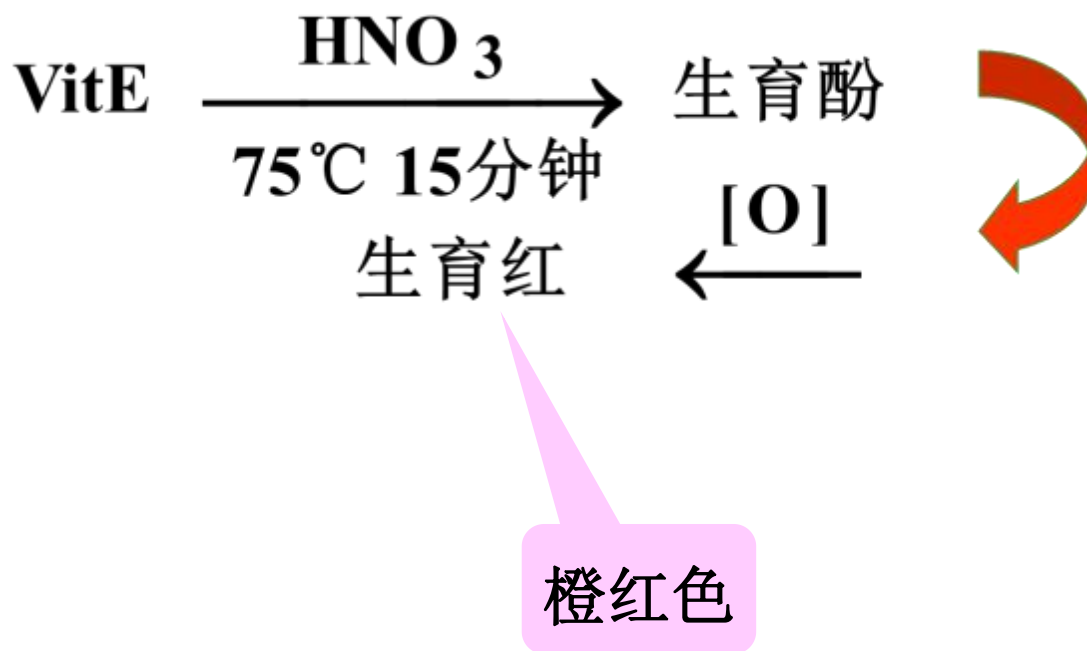
2. UV

3. 酯键 易水解

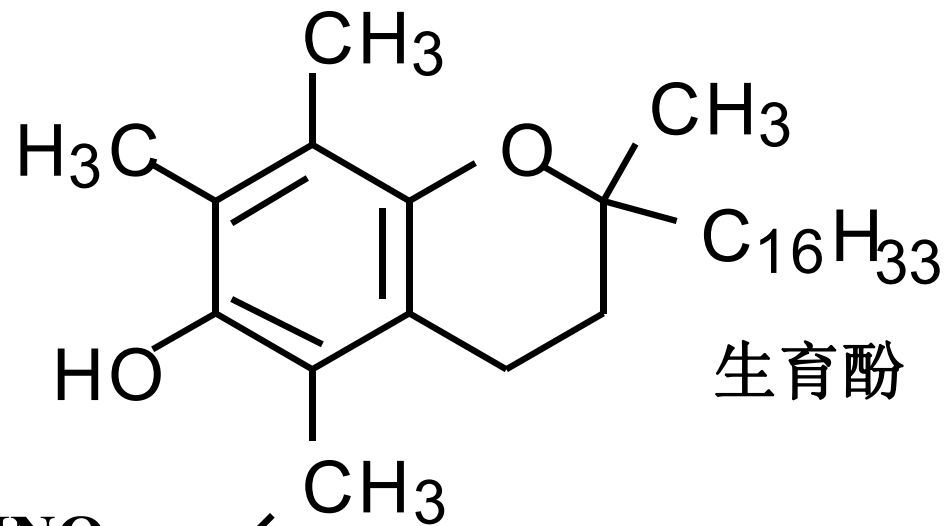


二、鉴别

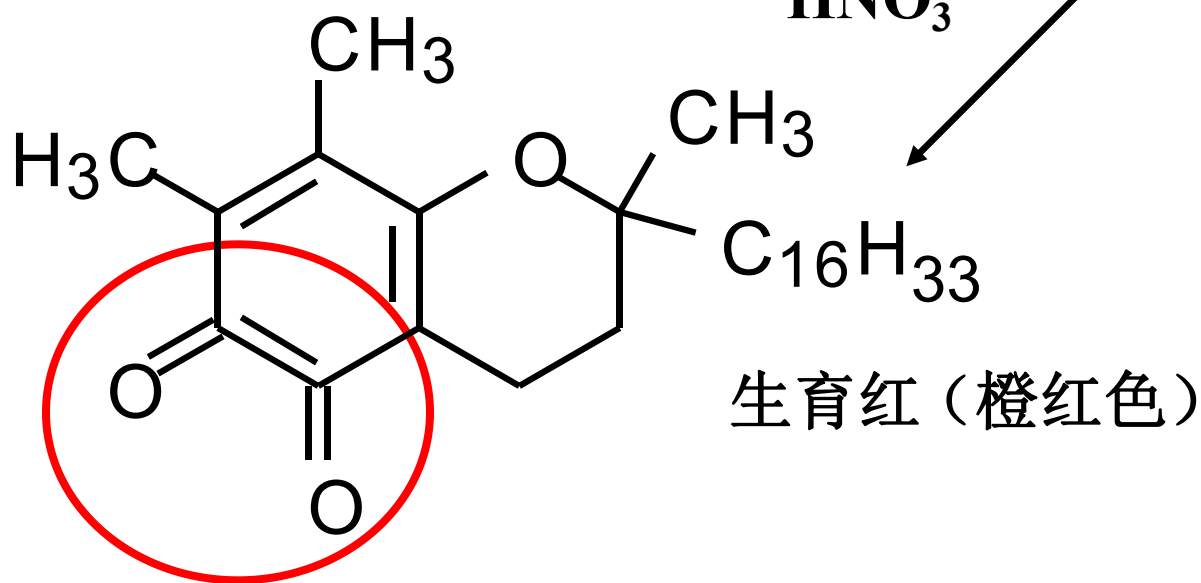
(一) 硝酸反应



强氧化剂



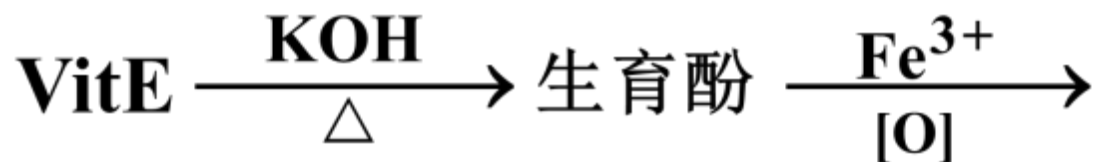
HNO_3



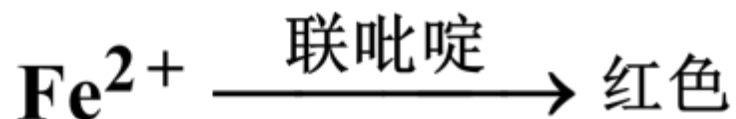
- 取本品约30mg，加无水乙醇10ml溶解后，加硝酸2ml，摇匀，在75℃加热15分钟，溶液应显橙红色。

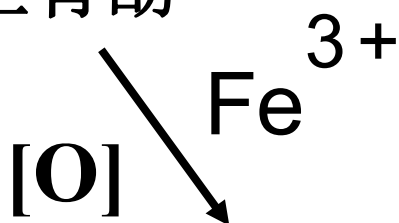


(二) 三氯化铁—联吡啶反应

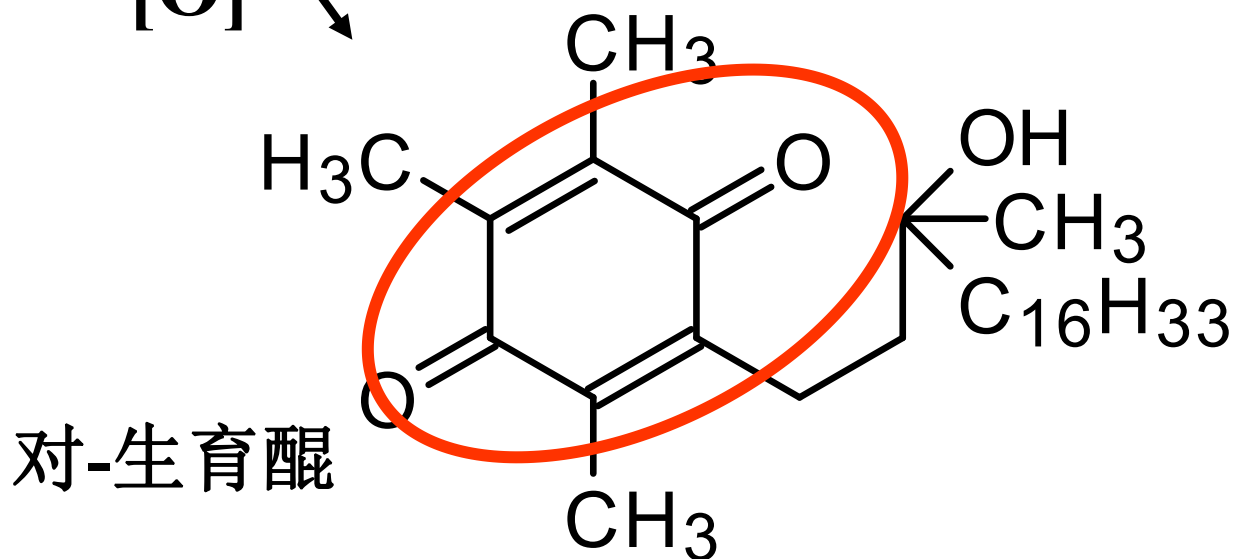


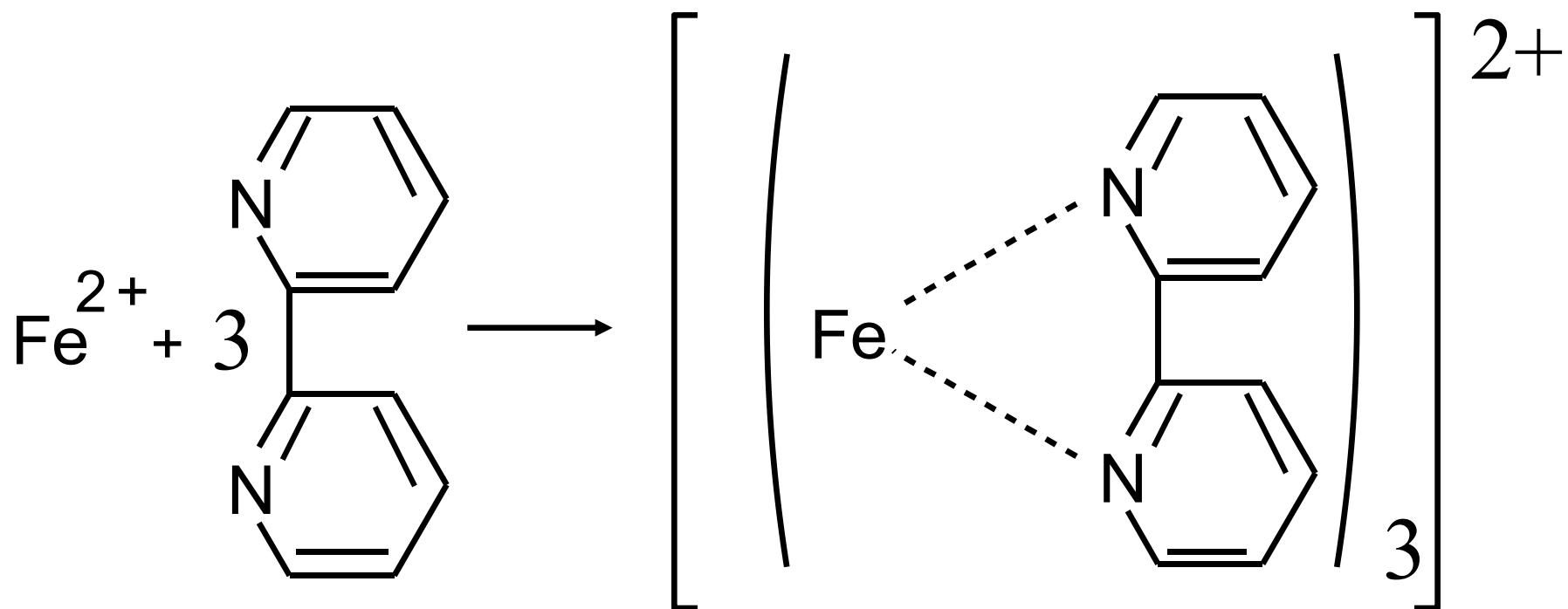
对-生育醌





弱氧化剂





血红色



(三) UV法

0.01%无水乙醇中

$$\lambda_{\max} = 284\text{nm}$$

$$\lambda_{\min} = 254\text{nm}$$

$$E_{1\text{cm}}^{1\%} = 41.0 \sim 45.5$$



(四) TLC法

薄层板 硅胶G

展开剂 环己烷 - 乙醚 (4 : 1)

显色剂 浓硫酸 (105°C 5分钟)

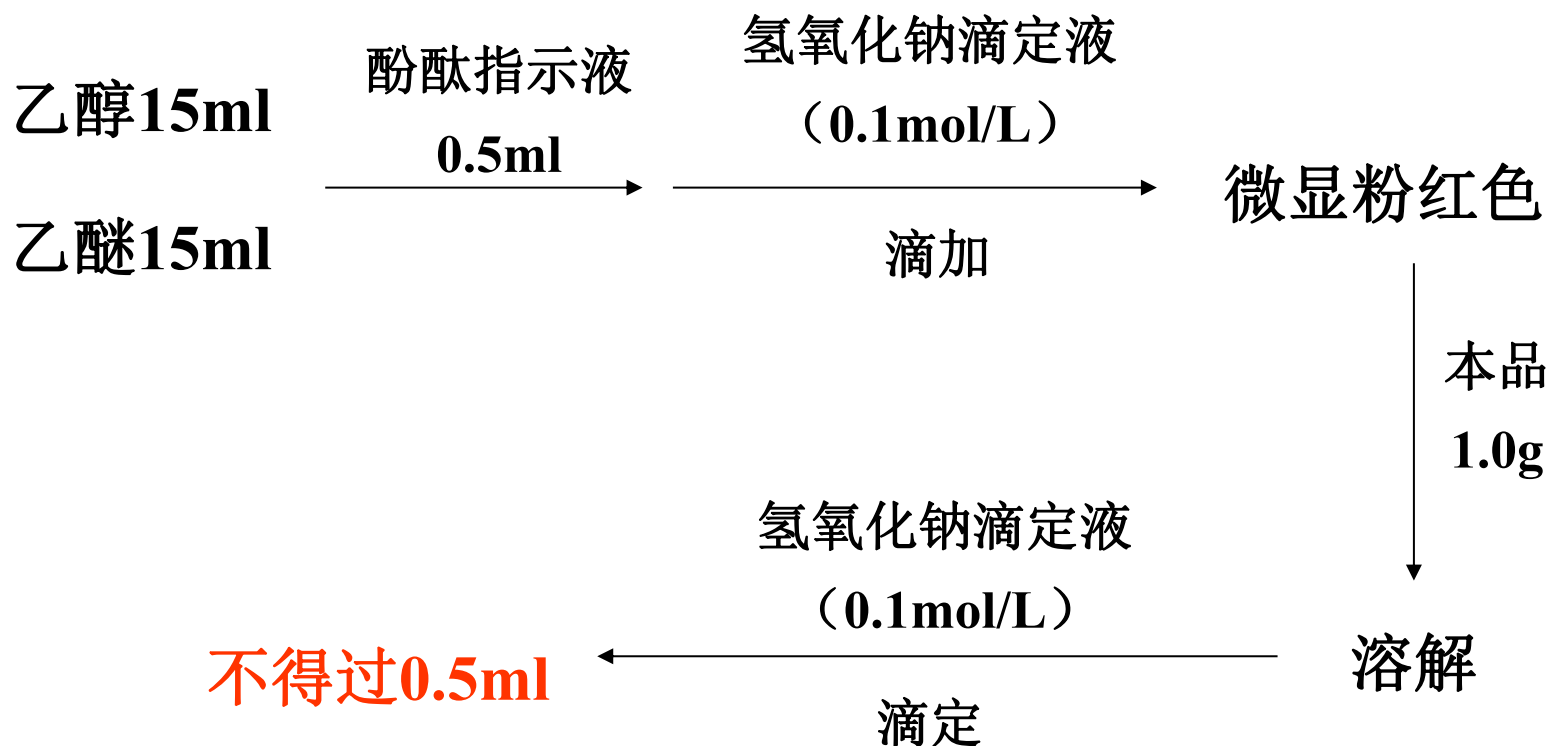
VitE $R_f = 0.7$



三、检查

(一) 酸度

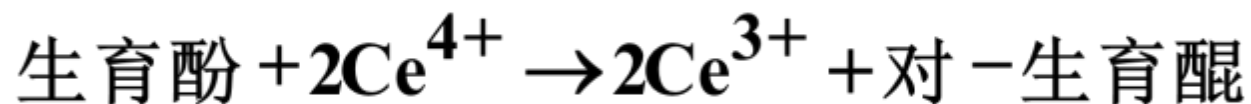
- 目的：检查维生素E制备过程中引入的游离醋酸。



(二) 游离生育酚

1. 原理

- 利用游离生育酚的还原性，将硫酸铈还原成硫酸亚铈



2. 试剂

- 硫酸铈滴定液 (0.01mol/L)
- 二苯胺 (亮黄→灰紫)



$$T = \frac{CM}{n} \quad (M_{\text{生育酚}} = 430.7)$$

$$T = \frac{0.01 \times 430.8}{2} = 2.154 (mg / ml)$$

例

- 取本品**0.10g**，加无水乙醇5ml溶解后，加二苯胺试液1滴，用硫酸铈液（**0.01mol/L**）滴定，消耗硫酸铈液（**0.01mol/L**）不得过 **1.0ml**。



3. 限量 $\leq 2.15\%$

$$\text{限量}\% = \frac{V \cdot T}{W} \times 100\%$$

$$\begin{aligned}\text{限量}\% &= \frac{1.0 \times 0.002154}{0.1} \times 100\% \\ &= 2.15\%\end{aligned}$$



药典规定

- 消耗硫酸铈液（0.01mol/L） $\leq 1.0\text{ml}$
- 若硫酸铈液浓度不是0.01000mol/L，应重新计算硫酸铈的消耗量

设：应消耗硫酸铈液 $\leq V\text{ ml}$

$$0.01 \times 1.0 = \text{实际浓度} \times V$$

$$V(\text{ ml}) = \frac{0.01 \times 1.0}{\text{硫酸铈实际浓度}}$$



例

$\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 = 0.01020 \text{ mol/L}$

$$V(\text{ ml }) = \frac{0.01 \times 1.0}{0.01020} = 0.98(\text{ ml })$$



（三）有关物质

- **ChP2015版对维生素E（合成型）中有关物质进行检查。**

（四）残留溶剂

- ChP2015版对维生素E（天然型）中残留溶剂进行检查。



四、含量测定

(一) GC法

1. GC特点

- 选择性好
- 灵敏度高
- 速度快
- 分离效能好

挥发性低，不稳定，极性强→
衍生化易受样品蒸气压限制



2. VitE测定的色谱条件

- 载气→N₂
- 固定液→硅酮（OV-17）
- 担体→硅藻土或高分子多孔小球
- 柱温→265℃
- 检测器→氢火焰离子化检测器（FID）
- 内标→正三十二烷
- $n \geq 500$
- $R \geq 2$

内标法加校正因子



内标法

- 供试液（样品+内标）
- 对照液（对照+内标）

内标物

是样品中不存在的物质
与被测组分峰相近
能与各组分完全分离
与被测组分的量接近



(二) JP - RP - HPLC法（外标法）

- 样品→ *dl*- α -生育酚
- 固定相→十八烷基硅烷键合硅胶
- 流动相→甲醇-水（49：1）
- 检测波长→292nm
- $R > 2.6$
- $RSD \leq 0.8\%$

$$W_{\text{生育酚}} = W_{\text{对}} \times \frac{H_{\text{样}}}{H_{\text{对}}}$$



学习要求

- 1.掌握维生素A的化学结构与理化性质，掌握三氯化锑鉴别反应（Carr-Price反应），紫外分光光度法（三点校正法）和高效液相色谱法含量测定的原理与方法；了解其他鉴别反应和含量测定方法。
- 2.掌握维生素B₁的化学结构与理化性质，掌握硫色素鉴别反应，非水滴定法和紫外分光光度法测定含量的原理与方法；了解其他鉴别反应和含量测定方法。



- 3.掌握维生素C的化学结构与理化性质，掌握硝酸银、二氯靛酚钠的鉴别反应，碘量法和二氯靛酚滴定法测定含量的原理与方法；了解维生素C的杂质检查方法。
- 4.熟悉维生素D的化学结构与理化性质；了解维生素D的显色反应和鉴别方法，了解麦角固醇和有关物质的检查。
- 5.掌握维生素E的化学结构与理化性质；熟悉维生素E的显色反应和气相色谱法测定含量的方法；了解生育酚及其有关物质的检查。



Thank you very much!



人民卫生出版社

PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE