

揭阳职业技术学院  
生物工程系

# 授 课 教 案

2025 -- 2026 学年度第二学期

课程名称\_\_\_\_\_药物分析技术\_\_\_\_\_

班 级\_\_\_\_\_药学 251\_\_\_\_\_

教 研 室\_\_\_\_\_药学教研室\_\_\_\_\_

授课教师\_\_\_\_\_林文华\_\_\_\_\_

## 课程信息表

课程属性		专业必修课程		有无大纲	有	
授课总学时		54	学分	4	周学时	2/4
选用教材	教材名称	药物分析				
	出版社	科学出版社				
	编（著）者	刘然				
	版次	第五版				
课程所需参考资料		<p>[1] 孙莹、吕洁 主编. 药物分析. 北京: 人民卫生出版社, 2009.</p> <p>参考书:</p> <p>[2] 孙莹、吕洁 主编. 归纳·释疑·提升练习——药物分析分册. 北京: 人民卫生出版社, 2010.</p> <p>[3] 刘文英 主编. 药物分析（第五版）. 北京: 人民卫生出版社, 2003.</p> <p>[4] 倪沛洲 主编. 有机化学（第四版）. 北京: 人民卫生出版社, 2002.</p> <p>[5] 李发美 主编. 分析化学（第五版）. 北京: 人民卫生出版社, 2004.</p>				
班级		药学 251		总人数	64	
考核方式		考试				
主要教学方法及手段		多媒体讲授、师生互动、案例分析、视频观摩、实训				
备注						

章： 第一章
课题： 药物分析概论
<p><b>教学目标及要求</b>（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>教学内容： 介绍药物分析的性质、任务、发展历程及其在药品质量控制中的作用。</p> <p>教学目标：</p> <p>1、知识目标：</p> <p>①掌握药物分析的定义与主要任务</p> <p>②熟悉药品质量控制的全过程</p> <p>③了解国内外药典及药品法规的基本概况</p> <p>2、能力目标：</p> <p>①能够准确阐述药物分析在药学领域的地位</p> <p>②具备查阅相关法规文献的基本能力</p> <p>③能初步识别药品质量问题的类型</p> <p>3、素养目标：</p> <p>①树立严谨求实的科学态度</p> <p>②培养对药品质量安全的敬畏感</p> <p>③建立对专业学习的兴趣和使命感</p> <p>4、课程思政：</p> <p>①通过分析“齐二药”等药害事件，强化“药品安全无小事”的责任意识</p> <p>②融入《中国药典》发展史，增强民族自豪感与文化自信</p> <p>③强调“人民至上，生命至上”的药学服务宗旨</p>
<p><b>教学重点及难点：</b></p> <p><b>重 点：</b> 药物分析的定义、任务及其在药品质量控制中的核心地位。</p> <p><b>难 点：</b> 理解药品质量控制全过程中药物分析的关联性与系统性作用。</p>
<b>学 时：</b> 2 学时
<b>教学方法及手段：</b> 多媒体讲授
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;"><b>药物分析概论</b></p> <p>第 1 节 药物分析的主要任务</p> <p>一、药品与药物分析</p> <p>药品：指由药物和辅料经一定的处方和工艺制备而成的，并规定有适应症和用法用量，可供临床使用的商品，包括中药、化学药和生物制品等。</p> <p>药物：指用于预防、治疗、诊断人的疾病，有目的地调节人的生理功能的物质。</p> <p>药物分析：是利用分析测定手段，发展药物的分析方法，研究药物的质量规律，对药物进行全面分析、检测与控制的科学。主要研究药物及其制剂的组成、理化性质、辨别药物的真伪、纯度及其有效成分的含量等。</p> <p>药物分析是药学领域的一个重要组成部分，是药学专业的一门课程，主要是运用化学、</p>

物理化学或生物化学的方法和技术，研究化学结构已经明确的合成药物或天然药物及其制剂的质量控制方法，也研究有代表性的中药制剂和生化药物及其制剂的质量控制方法，药物分析的目的是从各个环节全面地控制和不断提高药品的质量，以保证人民用药安全、合理、有效。

## 二、药物分析的主要任务

### 对药品质量进行检验分析

药品是用于治疗救人、保护健康的特殊商品。为确保药品的质量，应严格按照国家规定的药品标准，对药品进行严格的分析检验与监督管理（quality by test, QBT），以保障药品安全有效、质量可控。为此，国家设有专门负责药品检验的法定机构，如中国食品药品检定研究院，省、市（县）各级药品检验所，药厂、医药公司、医院药剂科的质量检验部门等，对药品质量进行各个环节的层层把关。

### 对药品的生产过程进行质量控制

药品的生产过程是质量控制的重要环节。为了全面控制药品质量，须进行药物质量源于设计（quality by design, QBD）的生产工艺过程全面分析控制。因此应积极开展药物生产过程中关键工艺过程、关键工艺参数和关键质量属性的控制，不断促进生产工艺改进，提高药品的质量及其科学管理水平，为临床提供优质的药品。

### 对药品的贮存过程进行监督与控制

药物分析工作应与药品供应部门密切协作，对药品贮存过程的质量进行观察、检测与养护，以便采取科学合理的贮藏条件和管理方法，以确保临床用药的疗效与安全。

### 积极开展临床药物分析

临床是否合理用药直接影响药物的临床疗效。为了保证临床合理用药，应积极开展临床药物分析即体内药物分析工作，包括：①运用适当的分离分析方法，测定药物制剂的生物利用度及动力学数据。②研究药物在人体内的吸收、分布、生物转化和排泄过程，更好地指导临床用药，减少药物的毒副作用。③研究药物的作用机制，为开发疗效更好、毒性更小的新药提供信息。

### 药物研究与开发

在新药研究中进行分析与监测，并不断追踪国际药物分析新技术的发展前沿，改进和自主开发质量控制平台和分析技术，以使我国药品质量研究与世界同步，达到药品标准的国际化。

## 第2节 药品质量与管理规范

### 一、药品质量

药品标准是药品现代化生产和质量管理的重要组成部分，是药品生产、供应、使用和监督管理部门必须遵循的法定技术依据，具有法律的约束力，也是药品生产和临床用药水平的重要标志。国家药品标准是保证药品质量的法定依据。我国现行的法定药品标准为国

家药品标准，其标准有以下几种。

#### 《中华人民共和国药典》

简称《中国药典》（Chinese Pharmacopoeia, ChP），是由国家药典委员会编纂，经国家药品监督管理局批准颁布实施的，是我国记载药品质量标准的国家法典，是对药品质量要求的准则，具有全国性的法律约束力。

#### 国家药品监督管理局颁布的药品标准

简称局颁标准，列入局颁标准的品种有：①国家药品监督管理局审核批准的药品，包括新药、仿制药品和特殊管理的药品等；②上版《中国药典》收载而现行版未列入的，疗效肯定，国内仍生产、使用并需修订的药品。国家药品监督管理局制定的局颁标准，也具有全国性的法律约束力。

## 二、质量管理规范

国务院药品监督管理部门依据该法，制定了相关的管理规范：

《药品非临床研究管理规范》—— GLP

《药品临床试验管理规范》—— GCP

《药品生产质量管理规范》—— GMP

《药品经营质量管理规范》—— GSP

《中药材生产质量管理规范》—— GAP

"人用药品注册技术要求国际协调理事会"（International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH），遵循一切为了保护公众健康的利益，以科学有效和经济的方式开发优质、安全和有效新药的原则。通过协调一致，达成共识，制定出了有关药品的质量、安全性、有效性和综合四类的技术要求，为药品研发、审批和上市制定统一的国际性技术指导原则。我国已于 2017 年成为 ICH 会员单位。

### 第 3 节 药品质量控制的目的和意义

对药品的生产、销售和使用实施一系列严格的监管，确保药品的质量合格。药品质量控制的意义即在于保障药品安全、有效、质量可靠，保障用药者的健康和生命安全。

### 第 4 节 药物分析课程的学习

通过《药物分析》的学习，应努力掌握以下六个方面的基本内容：

熟悉《中国药典》的基本组成并能正确使用《中国药典》。

药物的鉴别、检查和含量测定的基本规律与基本方法。

从药物的结构出发，运用有机化学、分析化学、物理化学及其他的必要技术与方法进行质量分析的基本方法与原理。

化学制剂分析的特点及基本方法。

药物质量标准制定的基本原则、内容与方法。

药物质量控制中的现代分析方法与技术。

在药物分析的整个学习过程中，学生应学会自学，培养独立思考的能力，既重视药品质量分析的基础理论知识的学习，也重视基本实验技能的训练，具备药品质量全面控制的专业素养，同时加强创新能力的培养，具备运用所学知识和技能独立分析问题和解决问题的能力

作业：

完成课后练习题及学习通练习题

章： 第二章
课题： 药品质量标准
<p><b>教学目标及要求</b>（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>教学内容： 讲解药品质量标准的定义、分类、内容以及《中国药典》的基本结构和使用方法。</p> <p>教学目标：</p> <p>1、知识目标：</p> <p>①掌握药品质量标准（国家药品标准、企业标准）的分类与定义</p> <p>②熟悉《中国药典》凡例、通则与各论的组成</p> <p>③了解主要外国药典的概况</p> <p>2、能力目标：</p> <p>①能够熟练查阅《中国药典》并找到指定药品的质量标准</p> <p>②具备解读凡例中术语（如溶解度、温度）的能力</p> <p>③能正确区分不同标准的适用范围</p> <p>3、素养目标：</p> <p>①养成按标准办事的严谨工作作风</p> <p>②培养标准化、规范化的职业意识</p> <p>③树立质量标准的权威性和严肃性观念</p> <p>4、课程思政：</p> <p>①讲解我国药品标准不断完善的过程，体现国家治理能力的提升</p> <p>②对比中外药典，激发学生科技报国的热情</p> <p>③强调遵守标准是遵纪守法职业道德的基本体现</p>
<p><b>教学重点及难点：</b></p> <p><b>重 点：</b> 《中国药典》凡例、通则与各论的组成结构及查阅方法。</p> <p><b>难 点：</b> 凡例中专业术语（如溶解度、温度要求）的准确理解与灵活应用。</p>
<b>学 时：</b> 2 学时
<b>教学方法及手段：</b> 多媒体讲授
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;"><b>药品质量标准</b></p> <p>第 1 节 药品质量标准</p> <p>药品质量标准是国家对药品质量的规格及检验方法所作的技术规定，是药品生产、经营、使用和检验、监督管理部门共同遵循的法定依据。</p> <p>药品质量标准分类：</p> <p>国家药品质量标准</p> <p>临床研究用药品标准</p> <p>暂行或试行药品标准</p> <p>企业药品标准</p> <p>第 2 节 《中国药典》沿革</p> <p>我国是世界上最早颁布全国性药典的国家。</p>

我国已先后出版了 1953 年版、1963 年版、1977 年版、1985 年版、1990 年版、1995 年版、2000 年版、2005 年版、2010 年版、2015 年版、2020 年版、2025 年版共十二版《中国药典》。

ChP2025 年版分 4 部，为现行版中国药典。该版药典 2025 年 10 月 1 日起实施。其特点：

- (1) 稳步推进药典品种收载
- (2) 健全国家药品标准体系
- (3) 加快推进新技术、新方法、新工具标准转化应用
- (4) 加强药品安全性控制
- (5) 加强与国际标准的协调
- (6) 加强与审评检查检验指导原则的衔接
- (7) 体现药品标准绿色环保理念

《中国药典》2025 年版由一部、二部、三部、四部及其增补本组成。

一部收载中药，药材和饮片（包括植物油和提取物），成方制剂和单味制剂；

二部收载化学药品，化学药品抗生素和生化药品，放射性药品；

三部收载生物制品；

四部收载通用技术要求、指导原则和药用辅料。

《中国药典》（2025 年版）由凡例、品名目次、正文及其索引组成。

### 第 3 节 《中国药典》的内容

#### 凡例

解释和正确地使用《中国药典》进行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，避免在全书中重复说明。

“凡例”中的有关规定具有法定的约束力。

(1) “称取”或“量取”可按有效数位来确定：例：

0.1g —— 0.06~0.14g

2g —— 1.5~2.5g

2.0g —— 1.95~2.05g

2.00g —— 1.995~2.005g

(2) “精密称定”应准确至所取重量的千分之一；例 0.1g，精确至 0.0001g。

“称定”应准确至所取重量的百分之一。

“精密量取”量取体积的准确度应符合国家标准中对该体积移液管的精度要求。

“约”指取用量在规定量的±10%。

“量取”可用量筒或按照量取体积的有效位数选用量具。

(3) 恒重 连续两次干燥或炽灼后的重量差异<0.3mg（第二次称重需在干燥 1h 或炽灼 0.5h 后）。

#### 品名目次

按中文名称笔画顺序排列，同笔画数的字按起笔笔形一丨丿、㇇顺序排列。

本目次单味制剂排在原料后面，只排列药品品名，不排列附录项目。

如维生素 C 片的质量标准位于维生素 C 质量标准的后面。

#### 品种正文

正文部分为所收载药品或制剂的质量标准。正文（药品标准）系根据药物自身的理化与生物学特性，按照批准的来源、处方、生产工艺、贮藏运输条件等所制定的、用以检测药品质量是否达到用药要求并衡量其质量是否稳定均一的技术规定。

正文品种按中文药品名称笔画顺序排列，同笔画数的字按起笔笔形一丨丿、一顺序排列。单味制剂排在原料药后面。

内涵包括三个方面：真伪、纯度和品质优良度。

《中国药典》各品种项下收载的内容。

(1) 品名（包括中文名、汉语拼音与英文名）；(2) 有机药物的结构式；(3) 分子式与分子量；(4) 来源或有机药物的化学名称；(5) 含量或效价规定；(6) 处方；(7) 制法；(8) 性状；(9) 鉴别；(10) 检查；(11) 含量或效价测定；(12) 类别；(13) 规格；(14) 贮藏；(15) 制剂；(16) 杂质信息等。

通则

通则主要收载制剂通则、通用检测方法和指导原则。

制剂通则系按照药物剂型分类，针对剂型特点所规定的基本技术要求；

通用检测方法系各正文品种进行相同检查项目的检测时所应采用的统一的设备、程序、方法及限度等；

指导原则系为执行药典、考察药品质量、起草与复核药品标准等所制定的指导性规定。

索引

中文索引和英文索引。

中文索引按汉语拼音顺序排列；

英文索引按英文字母顺序排列。

#### 第4节 主要国外药典简介

##### 美国药典

《美国药典》（The Pharmacopoeia of the United States of American, USP），与美国国家处方集（National formulation, NF），合并出版 US Pharmacopoeia-National Formulary《美国药典-国家处方集》（简称 USP-NF）。

美国药典最新版本为 USP-NF 2025，法定生效时间为 2025 年 7 月。

##### 英国药典

《英国药典》（British Pharmacopoeia, BP）。

英国药典最新版本为 2024 版，法定生效时间为 2024 年 1 月 1 日。

##### 日本药局方

日本国药典名称是《日本药局方》（The Japancse Pharmacopoeia, 缩写为 JP），现行版为 18 版，2021 年 6 月 7 日生效。

##### 欧洲药典

《欧洲药典》（European Pharmacopoeia, 缩写为 Ph. Eur）由欧洲药典委员会编制、出版，为 37 个成员国及欧共同体所认可。现行版为第 11 版，于 2022 年 7 月出版发行，2023 年 1 月 1 日生效。

有英文和法文两种法定文本。

#### 第5节 药品标准的制定

##### 三、药品质量标准的主要内容

主要包括：名称、性状、鉴别、检查、含量测定、贮藏等。

#### (一) 名称

药品名称应科学、明确、简短。避免用可能给患者暗示的有关药理学、治疗学或病理学的药品名称。

外文名应尽量采用世界卫生组织编订的国际非专利名 (INN)，以便国际交流。

中文名应尽量与外文名相对应。

#### (二) 性状

本品为白色结晶性粉末；无臭，无味。

本品在乙醇或三氯甲烷中微溶，在水中几乎不溶。

吸收系数 取本品，精密称定，……，在 272nm 的波长处测定吸光度，吸收系数为 309~329。

[外观与臭味、溶解度、物理常数]

#### (三) 鉴别

一般鉴别试验和专属鉴别试验的区别

(1) 取吸收系数项下的溶液，……，在 272nm 的波长处有最大吸收，在 261nm 的波长处有最小吸收。

(2) 本品的红外吸收图谱应与对照的图谱一致。

(3) 取本品约 0.1g，……，显氯化物的鉴别反应。

#### (四) 检查

酸碱度 取本品 0.30g，……，应显红色。

有关物质 取本品，……

炽灼残渣 不得过 0.1%。

检查项下包括反映药品的安全性检查、有效性检查、均一性检查、纯度检查。

#### (五) 含量测定

含量测定主要是针对药品中有效成分含量的测定，是保证药品安全有效的重要手段。

常见含量测定方法及其特点：

理化方法 —— 含量测定，一般用含量百分率 (%) 来表示。

生物学方法 —— 效价测定，通常用效价 (国际单位 IU) 表示，包括生物检定法和微生物检定法。

#### (六) 类别

药品类别是指按药品的主要作用、主要用途或科学划分的类别。如解热镇痛药、抗生素等。

#### (七) 规格

制剂的标示量，系指每一片(支)或其他每一单位制剂中含有主药的重量(或效价)或含量(%)或装量。

例如注射液项下“1mL:5mg”系指注射液装量为 1ml，其中含有主药 5mg。

对于列有处方或标有浓度的制剂，也可同时规定装量规格。

#### (八) 贮藏

药品的贮藏条件由稳定性试验来确定。包括影响因素试验、加速试验、长期试验。

第 6 节 科学地全面控制药品的质量及管理

- 一、《药品非临床研究质量管理规范》（Good Laboratory Practice, GLP）
- 二、《药品生产质量管理规范》（Good Manufacture Practice, GMP）
- 三、《药品经营质量管理规范》（Good Supply Practice, GSP）
- 四、《药品临床试验管理规范》（Good Clinical Practice, GCP）

作业：

完成课后练习题及学习通练习题

章： 第三章
课题： 药品检验
<p><b>教学目标及要求</b>（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>教学内容： 阐述药品检验工作的基本程序、检验记录与报告的书写规范以及实验室安全要求。</p> <p>教学目标：</p> <p>1、知识目标：</p> <p>①掌握药品检验的基本程序（取样、检验、留样、报告）</p> <p>②熟悉原始记录和检验报告书的书写规范</p> <p>③了解实验室安全守则和基本应急处理知识</p> <p>2、能力目标：</p> <p>①能够按照 GMP 要求规范书写检验记录</p> <p>②具备对检验结果进行初步分析和判断的能力</p> <p>③能正确执行实验室安全操作规程</p> <p>3、素养目标：</p> <p>①培养“实事求是、忠于记录”的职业操守</p> <p>②养成整洁、有序的实验习惯</p> <p>③强化实验室安全意识与环保意识</p> <p>4、课程思政：</p> <p>①强调“真实、准确、可追溯”的记录是药检工作者的诚信底线</p> <p>②通过实验室事故案例分析，树立“安全第一，预防为主”的生命观</p> <p>③培养对药品检验结果的敬畏心，维护公众健康</p>
<p><b>教学重点及难点：</b></p> <p><b>重 点：</b>药品检验的基本程序（取样、检验、留样、报告）及记录书写规范。</p> <p><b>难 点：</b>检验记录的真实性、完整性与可追溯性要求的严格把控。</p>
<b>学 时：</b> 2 学时
<b>教学方法及手段：</b> 多媒体讲授
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;"><b>药品检验</b></p> <p>第 1 节 药品检验的职业道德</p> <p>为保证人民用药的安全、有效，药物检验工作者必须树立药品质量第一的观念。</p> <p>首先，确保客观公正是对药品检验工作最基本的职业要求，也是药品检验人员必须具备的职业道德，药品检验人员必须严格按照药品相关法规和药品检验标准进行检验，依据检验结果客观、公正地做出判定；</p> <p>其次，药品检验人员必须掌握熟练、正确的操作技能，不断提高自身的业务水平，以确保提供的检验数据真实、可信、准确；（精益求精）</p>

此外，要履行好药品技术监督检验的法定职能，以一丝不苟的工作态度、严谨求实的工作作风和准确无误的工作结果，树立并维护工作的权威。（履职尽责）

## 第2节 药品检验流程

取样（代表性、真实性）→ 检验（按照质量标准）（性状 → 鉴别 → 检查 → 含量测定）→ 检验记录（记录原始、真实，内容完整、齐全，书写清晰、整洁）→ 检验报告（依据准确，数据无误，结论明确，文字简洁，书写清晰，格式规范）→ 样品审查

### 一、样品审查

检验样品及资料的接收统一由业务科（室）办理。

业务科（室）负责对申请检验的有关资料进行审查，确定检验科室。

对于有特殊要求的样品，主检科室人员也应共同检查。

确认符合检验要求后，由送样人按要求填写“申请检验单”，登记，留样。

登记后，业务科（室）应将检验卡、样品和资料移交主检科室，主检科室应及时接样。必要时将有关资料和检品送至协检科室。

确定检验依据即药品质量标准如《中国药典》，应正确理解药品质量标准规定的检验项目和方法，然后进行检验分析。

### 二、取样

分析任何药品首先需要取样。应特别注意样品的代表性与真实性。

取样必须坚持随机、客观、均匀、合理的原则。药品生产企业抽取的样品包括进厂的原辅料、中间体和产品。取样时必须填写取样记录，包括品名、规格、批号、数量、来源、编号、取样日期、取样说明、取样人签字等。取样由专人负责。

取样量：设样品总件数为  $x$

当  $x \leq 3$  时，每件取样；

当  $3 < x \leq 300$  时，按  $\sqrt{x+1}$  随机取样；

当  $x > 300$  时，按  $\sqrt{x/2+1}$  随机取样。

### 三、检验

#### （一）性状

药品的性状检验是药品检验工作的第一步，药品的性状检验包括药品的外观和物理常数等。

例 布洛芬

【性状】 本品为白色结晶性粉末；稍有特异臭。

本品在乙醇、丙酮、三氯甲烷或乙醚中易溶，在水中几乎不溶；在氢氧化钠或碳酸钠试液中易溶。

熔点 本品的熔点（通则 0612 第一法）为  $74.5\sim 77.5^{\circ}\text{C}$ 。

#### （二）鉴别

鉴别（identification）是根据药物的组成、化学结构与理化性质进行试验。通过分析核对，鉴别其真伪，得出“是”或“否”的结论。

选用鉴别方法的原则是该方法必须准确、灵敏、简便、快捷。

例 苯甲酸

【鉴别】（1）取本品约 0.2g，加 0.4%氢氧化钠溶液 15ml，振摇，滤过，滤液中加三氯化铁试液 2 滴，即生成赭色沉淀。

（2）本品的红外光吸收图谱应与对照的图谱（光谱集 233 图）一致。

（三）检查

（1）有效性：是针对药品的药效特性进行的检查控制。如氢氧化铝片的制酸力、药用炭的吸附力、片剂与胶囊剂等的崩解时限、缓控释制剂的释放度等。

（2）均一性：是针对药品中主要活性成分与辅料混合均匀程度等的检查控制。如片剂的重量差异或含量均匀度、注射剂的装量或装量差异等。

（3）安全性：是针对影响药品安全的物质进行的检查控制。如注射剂的异常毒性、降压物质、热原、细菌内毒素、无菌等检查。

（4）纯度要求：是针对影响药物的纯度、稳定性或疗效，甚至影响患者健康的其它物质进行的检查控制，即杂质检查或纯度检查。如氯化物检查、水分检查。

（四）含量测定

药品在通过鉴别无误、检查项目合格的基础上，进行含量测定。含量测定就是测定药物中有效成分的含量，是保证药物疗效的重要环节。

含量测定常用理化方法或生物学检查方法，通过测定药品中主要有效成分的含量，以确定药品含量是否符合药品标准的规定要求。

四、检验记录

做好原始记录：

检验记录必须做到：记录原始、真实，内容完整、齐全，书写清晰、整洁。

检验过程中，检验人员应按要求及时如实记录，严禁事先记录、补记或转抄。

原始检验记录应采用统一格式，并用蓝黑墨水或碳素笔书写。

收集整理原始数据不得涂改（若需纠正，则注明并签名或盖章）。

要求记录本完整、无缺页损角，并要妥善保存以供备查。

电子数据和图谱，应按照相关规范记录完整信息、规范存档、打印粘贴于记录的适宜位置，操作者签名；必要时应当拍照或摄像记录。

五、检验报告

药品检验报告书是对药品质量作出的技术鉴定，是具有法律效力的技术性文件。药品检验人员完成全部项目检验后，应本着严肃认真的态度，根据检验记录，认真填写各项检验结果，得到明确结论。

应经逐级审核后，签发药品检验报告书，其书写打印要求做到：依据准确，数据无误，结论明确，文字简洁，书写清晰，格式规范。

每一张检验报告书只针对一个批号。

### 第3节 检验数据的处理与结果判定

#### 一、检验数据的处理

##### （一）有效数字

有效数字系指在检验工作中所能得到有实际意义的数值。其最后一位数字欠准是允许的，这种由可靠数字和最后一位不确定数字组成的数值，即为有效数字。最后一位数字的欠准程度通常只能是相差不超过 $\pm 1$ 。

例如，在分析天平上称取 0.2016g 的样品，0.2016 是一组有效数字，该有效数字的位数为 4 位且最后一位 6 是欠准的，其可能的真实重量是 0.2015~0.2017g。再如，滴定分析时，消耗滴定液的体积读数为 23.10ml，23.10 为有效数字，有效数字的位数为 4 位，实际消耗滴定液的体积是 23.09~23.11ml。

当有效数字的首位数为 8 或 9 时，该位有效数字相当于 2 位有效数字。

pH 值等对数值，其有效位数是由其小数点后的位数决定的，其整数部分只表明其真数的乘方次数。

非连续型数值是没有欠准数字的，其有效位数可视为无限多位。

在进行药品检验的测量和计算时，要根据测量所能达到的准确度确定有效数字的位数，即只保留一位可疑数值。

从 0 到 9，0 既可以作为有效数字也可以作为无效数字，其余数只能作为有效数字。

##### （二）有效数字的修约

#### 四舍六入五成双

测量值中被修约的那个数等于或小于 4 时舍弃，等于或大于 6 时则进位，等于 5 且 5 后无除 0 外的其他数时，如果进位后测量值的末位数成偶数，则进位；进位后，测量值的末位数成奇数，则舍弃。若 5 后还有除 0 外的其他数时，说明修约数比 5 大，宜进位。

例如，将以下测量值修约为三位数：2.0343 修约为 2.03；5.2765 修约为 5.28；3.1455 修约为 3.15；2.355 修约为 2.36；7.1250 修约为 7.12；6.325003 修约为 6.33。

#### 不得连续修约

对原测量值应一次修约至所需位数，不能分次连续修约。

例如，将 3.15486 修约为三位数，不能先修约成 3.155 再修约成 3.16，只能一次修约为 3.15。

#### 参与运算的数或中间数可多保留一位有效数字

在数据运算过程中，为了减少舍入误差，可先多保留一位有效数字，计算出结果之后，再按修约规则，将结果修约至应有的有效数字位数。

在修约标准偏差值时，修约的结果应使准确度的估计值变得更差一些。

### （三）有效数字的运算法则

许多数值相加减时，所得和或差的绝对误差必较任何一个数值的绝对误差大。因此相加减时应以诸数值中绝对误差最大（即小数点后位数最少）的数值为准，以确定其他数值在运算中保留的数位和决定计算结果的有效数位。

许多数值相乘除时，所得积或商的相对误差必较任何一个数值的相对误差大。因此相乘除时应以诸数值中相对误差最大（即有效位数最少）的数值为准，确定其他数值在运算中保留的数位和决定计算结果的有效数位。

## 二、结果判定

对药品检验结果的判定必须明确、有依据。判断一个药品的质量是否符合要求，必须全面考虑药品的性状、鉴别、检查和含量测定的各项检验结果。

凡属以下情况之一者，除另有规定以一次检验结果为准不得复检外，一般应予复检：

- ①平行试验结果误差超过规定的允许范围的；
- ②检验结果指标压限或不合格的；
- ③复核人或审核人提出有必要对某项指标进行复检的；
- ④技术标准中有复检要求的；
- ⑤原辅料超过贮存期限的。

如原样检验和复检结果不一致，除技术标准中另有规定外，应查找原因，排除客观因素，使原检验人与复检人的结果在误差允许范围内，以两人（或者多人）的平均值为最终结论。

## 第4节 检验记录与报告的撰写

### 一、检验记录的撰写

原始检验记录应采用统一印制的活页记录纸和各类专用检验记录表格，并用蓝黑墨水或碳素笔书写（显微绘图可用铅笔）。

检验记录中，应先写明检验的依据。

检验过程中，可按检验顺序依次记录各检验项目，内容包括项目名称、检验日期、操作方法、实验条件、观察到的现象、实验数据、计算和结果判断等，均应及时、完整地记录。

检验中使用的标准品或对照品，应记录其来源、批号和使用前的处理。

每个检验项目均应写明标准中规定的限度或范围，根据检验结果作出单项结论（符合规定或不符合规定），并签署检验者的姓名。

### 二、检验报告的撰写

药品检验报告书应在“检验报告书”字样之前冠以药品生产企业的全称。检验报告分三部分：表头栏目、检验项目及检验结论。

检验报告书表头一般设置有以下项目：企业名称、标题、报告编号、检品名称、剂型、规格、包装、批号、检品编号、生产厂家、检验项目、检品名称、检验项目、检验依据、请验部门、请验日期、报告日期等。

检验项目的编排与格式要求：在表中列出“检验项目”“标准规定”“检验结果”三个栏目。“检验项目”下，按质量标准列出【性状】【鉴别】【检查】与【含量测定】等大项目号，大项目号名称需添加方括号。每一个大项目下所包含的具体检验项目名称和排列顺序，应按质量标准书写。

各检验项目的书写规范如下。

药品检验报告书的结论包括检验依据和检验结论。

检验报告的填写和打印由专人负责并由其亲笔签名且加盖“质检报告专用章”(红色)，不得替代。

检验报告填写有相关注意事项。

结论：

全面检验均符合质量标准。

全面检验后有个别项目不符合规定，但尚可药用。

全面检验后不合药用者，或虽未全面检验，但主要项目不符合规定，已可作不得供药用处理。

根据送检者要求，仅做个别项目检验者。

作业：

完成课后练习题

章： 第四章
课题： 分析样品的制备
<p><b>教学目标及要求</b>（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>教学内容： 介绍药物分析前处理技术，包括样品的提取、分离、纯化及衍生化方法。</p> <p>教学目标：</p> <p>1、知识目标：</p> <p>①掌握常用的提取方法（如液液萃取、固相萃取）</p> <p>②熟悉样品破坏法（有机破坏）的原理与应用</p> <p>③了解衍生化反应的目的与分类</p> <p>2、能力目标：</p> <p>①能够根据药物性质选择合适的样品前处理方法</p> <p>②具备规范操作固相萃取等前处理技术的能力</p> <p>③能正确处理样品制备过程中的常见问题</p> <p>3、素养目标：</p> <p>①培养样品处理的精细化操作意识</p> <p>②养成节约试剂、保护环境的绿色化学理念</p> <p>③建立“样品制备决定分析结果成败”的严谨思维</p> <p>4、课程思政：</p> <p>①融入“失之毫厘，谬以千里”的工匠精神</p> <p>②强调样品制备过程中的环保责任，践行“绿水青山”理念</p> <p>③通过复杂样品分析，培养学生不畏困难、精益求精的品质</p>
<p><b>教学重点及难点：</b></p> <p><b>重 点：</b> 常用样品前处理方法（液液萃取、固相萃取）的原理与操作。</p> <p><b>难 点：</b> 根据药物理化性质与基质干扰选择合适的样品前处理策略。</p>
<b>学 时：</b> 2 学时
<b>教学方法及手段：</b> 多媒体讲授
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;"><b>分析样品的制备</b></p> <p>第 1 节 分析目的与样品的制备</p> <p>分析前要采用一定的方法，使待测药物或待测元素转化为适宜的状态后，再进行分析测定。</p> <p>目的：是使其能满足所选用分析方法的要求</p> <p>“是与非”的定性分析，重点是干扰的排除</p> <p>限度或定量分析，避免被测组分量的改变</p> <p>与分析目标与所选用的分析方法相关</p> <p>分析方法能够分离检测所有降解产物</p> <p>第 2 节 样品基质与样品的制备</p>

大多将样品直接溶解在适当的溶剂中

排除制剂中附加剂的干扰

常微量，需提取、分离、浓集等操作

除去生物基质的干扰

### 第3节 样品制备的常用方法

#### 一、直接溶解法

将实验样品直接溶解于适当溶剂或分散于适当稀释剂中，制成溶液或分散系分析。

适用范围：有效成分单一、辅料组成简单的制剂如单方常规片剂、注射剂等

#### 二、提取分离法

用适当的与水混溶的极性有机溶剂将被测物质与试验样品基质分离的过程

适用于基质复杂的分析样品的制备，如糖浆剂、软膏剂等辅料干扰严重制剂的前处理。

若被测物质含量较低，则需进一步浓集

#### 三、萃取浓集法

适用于复杂基质中微量或痕量物质分析时的制备

适用于中药复方制剂、生物样品等前处理

#### 四、化学分解法

部分降解

生成具有特征反应的官能团

生成具有特征元素离子

含卤素元素：卤素与脂肪链的碳原子相连 结合不牢固

卤素与芳环相连 结合牢固

含金属有机药物：金属离子不直接与碳原子相连（有机酸及酚的金属盐或配位化合物）

结合不牢固

有机金属药物：金属离子直接与碳原子以共价键相连 结合牢固

根据卤素或金属在分子中结合牢固程度不同而异

不经有机破坏的分析方法：直接测定法、经水解后测定法、经氧化还原后测定法

经有机破坏的分析方法：湿法破坏法、干法破坏法

#### 五、化学衍生化法

通过适当的化学反应，在药物分子中引入具有特征属性官能团的结构改造的过程。

适用于无可检测基团或特征元素药物的前处理，在常规药物分析中较少应用，更多应用于生物样品的分析。

#### 六、有机破坏法

将药物的有机结构经高温氧化分解为二氧化碳和水，从而使有机结合的特征元素原子转化为可溶性无机物的过程。

适用于含金属药物及含结合牢固的卤素、氮、硫、磷、硒的有机药物制备。

凯氏定氮法，以"氮测定法"收载于 ChP（2020）第四部（通则 0704），ChP 主要应用本法测定蛋白质含量（通则 0731 第一法）以及含有氨基或酰胺结构的药物含量。本法是将含氮有机药物与硫酸共热，药物分子中有机结构被氧化分解（亦称消解或消化）成二氧化碳和水，有机结合的氮则转变为无机氮，并与过量的硫酸结合为硫酸氢铵，经氢氧化钠分解释放出氨，后借水蒸气被蒸馏出，用硼酸溶液或定量的酸滴定液吸收后，再用酸或碱滴定液滴定。本法分为第一法（常量法）、第二法（半微量法）和第三法（定氮仪法）。其中，定氮仪法使用半自动或全自动定氮仪，适用于常量及半微量法测定含氮化合物中氮的含量。

氧瓶燃烧法，收载于 ChP（2020）第四部（通则 0703），是将有机药物放入充满氧气的密闭燃烧瓶（称为氧瓶）中进行燃烧，并将燃烧所产生的待测物质（气态）吸收于适当吸收液中，然后根据待测物质的性质，采用适当分析方法进行鉴别、检查或含量测定。本法是快速分解有机结构的最简单方法，不需要复杂的设备，在极短的时间内即可使有机结合的待分析元素定量转化为无机酸或盐的形式。本法被各国药典所收载，主要应用于含卤素或硫元素的有机药物定量分析的样品制备。

作业：

完成课后练习题

章： 第五章

课题： 药物的鉴别

**教学目标及要求**（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：

**教学内容：** 讲解药物鉴别的定义、方法（化学法、光谱法、色谱法）及鉴别试验的条件与灵敏度。

**教学目标：**

1、知识目标：

- ①掌握常用化学鉴别反应的原理
- ②熟悉紫外光谱、红外光谱在鉴别中的应用
- ③了解色谱法中保留时间作为鉴别参数的原理

2、能力目标：

- ①能够根据药典方法独立完成药物的化学鉴别试验
- ②具备正确解析简单红外光谱图的能力
- ③能准确判断鉴别试验结果的符合性

3、素养目标：

- ①培养“真伪把关”的药品质量卫士意识
- ②强化精准操作、仔细观察的实验习惯
- ③建立多参数、多角度验证的科学思维

4、课程思政：

- ①以“鉴真辨伪”类比做人要表里如一，树立诚信价值观
- ②通过严谨的鉴别流程，培养学生明辨是非的能力
- ③强调鉴别是打击假药、维护市场秩序的第一道防线

**教学重点及难点：**

**重 点：** 相对密度测定法、熔点测定法、旋光度测定法和折光率测定法的原理和方法

**难 点：** 各物理常数测定时的注意事项

**教学方法及手段：** 多媒体讲授，视频观摩

**学 时：** 2 学时

**教学过程：**

### 第一节 药物鉴别的目的和特点

1、药物鉴别的目的

**鉴别定义：** 就是依据药物的组成、结构与性质通过化学反应、仪器分析或测定物理常数，来判断药物的真伪。

鉴别试验仅使用于鉴别药品的真伪

对于原料药还应结合外观和物理常数进行确认

## 2、特点

- A、为已知物的确证试验-----供试品为已知物，鉴别的目的是确证供试品的真伪
- B、鉴别试验为个别分析，非系统分析-----一般只作一、二或三、四项试验
- C、通常采用不同方法鉴别，综合分析
- D、鉴别制剂，要注意辅料干扰，鉴别复方制剂，注意各成分干扰

### 第二节 鉴别试验的项目

#### (一) 性状 (Description)

##### 1.外观

药物的聚集状态、晶型、色泽以及臭、味等性质。是质量重要表征之一,在一定程度上反映药品的纯度及疗效。

VB1的描述：本品为白色结晶或结晶型粉末；有微弱的特臭，味苦；干燥品在空气中迅速吸收约4%的水分。

扑米酮 本品为白色结晶性粉末；无臭，味微苦。

反映药物特有的物理性质

##### 2. 溶解度

一定程度上反映了药品的纯度。

如磺胺嘧啶“在乙醇或丙酮中微溶，在水中几乎不溶；在氢氧化钠试液中易溶，在稀盐酸中溶解”。

试验法：除另有规定外，称取研成细粉的供试品或量取液体供试品，置于 $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ 一定容量的溶剂中，每隔5分钟强力振摇30秒钟，观察30分钟内的溶解情况，如无目视可见的溶质

颗粒或液滴，即视为完全溶解。

##### 3.物理常数

评价药物质量的重要指标之一，用于药品鉴别，反映其纯杂程度。

药典收载的物理常数包括：相对密度、馏程、熔点、凝点、比旋度、折光率、黏度、酸值、皂化值、羟值、碘值、吸收系数。

#### (1) 熔点:

固体熔化成液体的温度

熔融同时分解的温度

自初熔至全熔的一段温度

《中国药典》要求报告初融和全熔两个温度

由固体熔化成液体的温度

熔融同时分解的温度

在熔化时初熔至全熔的一段温度。

第一法：测定易碎的固体药品熔点

第二法：测定不易碎的固体药品（脂肪酸、石蜡等

第三法：测定凡士林或其他类似的物质

#### (2) 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。

反映手性药物特性及其纯度的主要指标。

用途：鉴别药品

纯度检查

含量测定

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。用途： 检查纯度测定制剂含量

### (3)吸收系数

100ml 溶液中所含被测物质的质量 (g)

#### (二) 一般鉴别试验 (General Identification Test)

依据某一类药物的化学结构或理化性质的特征，通过化学反应来鉴别药物的真伪。

无机药物

有机药物

阴离子和阳离子的特殊反应

典型的官能团反应

中国药典附录收载项目

丙二酰脲类、托烷生物碱类、芳香第一胺类、有机氟化物类、无机金属盐类、有机酸盐、无机酸盐

只能证实是某一类药物，而不能证实是哪一种药物！

只适用于纯品，混合药物或有干扰时不适用！

#### 1.有机氟化物

无机氟化物+茜素氟蓝+ 硝酸亚铈 蓝紫色络合物

地塞米松磷酸钠及其注射液，醋酸曲安奈德及其注射液、诺氟沙星、醋酸氟轻松、醋酸氟轻可的松等药物都含有氟

例：氟康唑

#### 【鉴别】

(1).....

(2).....

(3)本品显有机氟化物的鉴别反应(附录III)。

#### 2.有机酸盐

水杨酸盐、酒石酸盐、苯甲酸盐、乳酸盐、枸橼酸盐

##### (1) 水杨酸盐

①FeCl<sub>3</sub> 反应

②加稀 HCl，即析出白色沉淀；分离，沉淀溶于醋酸铵溶液。

例：水杨酸镁

#### 【鉴别】

(1) .....

(2) .....

(3) 本品的水溶液显镁盐与水杨酸盐的鉴别反应（附录III）。

##### (2) 酒石酸盐

供试品溶液（中性）+ 氨制硝酸银

例：酒石酸美托洛尔

【鉴别】 (1) ..... (2)取本品约 0.3g，置洁净的试管中，加水 10ml 溶解，加硝酸银试液过量，即生成白色沉淀，滴加氨试液恰使沉淀溶解后，将试管置水浴中加热，银即游离并附在管的内壁成银镜。

#### 3.芳香第一胺

取供试品约 5mg，加稀盐酸 1ml，必要时缓缓煮沸使溶解，放冷，加 0.1mol/L 亚硝酸钠液数滴，滴加碱性 β - 萘酚试液数滴视供试品不同，发生由橙黄到猩红色沉淀。

普鲁卡因，苯佐卡因等药物均呈此反应。

### 重氮化-偶合反应

对乙酰氨基酚、磺胺嘧啶、盐酸普鲁卡因及其注射液等芳香第一胺药物（橙黄色）

### 氨苯砒

【鉴别】 (1) 本品显芳香第一胺类的鉴别反应（附录III）。 (2) ……。

氢溴酸山莨菪碱，硫酸阿托品等药物的分子结构，都是由莨菪烷衍生物（又称托烷衍生物）与莨菪酸生成的酯，称为托烷生物碱类。

### 4.托烷生物碱

#### Vitali 反应

此类生物碱中具有莨菪酸结构，有 Vitali 反应,显紫色。

例：氢溴酸山莨菪碱

【鉴别】 (1) 本品显托烷生物碱类的鉴别反应（附录III）

(2) ……

(3) ……

### 5.无机金属盐

(1) 钠盐、钾盐、钙盐、钡盐的焰色反应

取铂丝，用盐酸湿润后，蘸取供试品，在无色火焰中燃烧，火焰即显各离子的特征颜色。

钠离子显鲜黄色，钾离子显紫色，钙离子显砖红色，铜离子显绿色。

例：氨苄西林钠

【鉴别】

(1) ……。

(2) ……。

(3) 本品显钠盐的火焰反应（附录III）

(2) 铵盐

测定原理 酰胺、内酰胺、磺酰胺、胺类和铵盐等在过量碱作用下水解，受热时放出氨或胺、有氨或胺臭，并可使湿润的红色石蕊试纸变蓝。

氨与硝酸亚汞反应析出单质汞。

### 6. 无机酸根

(1) 氯化物

鉴别一：硝酸银反应：



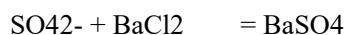
如供试品为生物碱或其他有机碱的盐酸盐，须先加氨试液使成碱性，将析出的沉淀滤过除去，取滤液进行试验。

鉴别二

取供试品少量，置试管中，加等量的二氧化锰,混匀,加硫酸湿润,缓缓加热,即发生氯气.

(2) 硫酸盐

鉴别一：



沉淀在 HCl 或 HNO<sub>3</sub> 中不溶解。

鉴别二：

取供试品溶液，加醋酸铅试液，即生成白色沉淀；分离，沉淀在醋酸铵试液或氢氧化钠试液中溶解。

鉴别三：取供试品溶液，加盐酸，不生成白色沉淀(与硫代硫酸盐区别)。

(3) 硝酸盐

鉴别一：

取供试品溶液，加等量硫酸，混合冷却沿壁管加  $\text{FeSO}_4$  试液，使成两液层，界面显棕色  
鉴别二：

取供试品溶液，加硫酸和铜丝，加热即生成红棕色蒸汽。

鉴别三：取供试品溶液，滴加高锰酸钾试液，紫色不应褪去(与亚硝酸盐区别)。

### (三) 专属鉴别试验 (Specific Identification Test)

是证实某一种药物的依据，它是根据每一种药物化学结构的差异及其所引起的物理化学特性的不同，选用某些特有的灵敏定性反应，来鉴别药物真伪。

5

#### 实例 1-巴比妥类药物

##### 丙二酰脲母核

如巴比妥类药物含有丙二酰脲母核，主要的区别在于 5，5 一位取代基和 2 一位取代基的不同：苯巴比妥含有苯环，司可巴比妥含有双键，硫喷妥钠含有硫原子，可根据这些取代基的性质，采用各自的专属反应进行鉴别。。

基本结构：环戊烷骈多氢菲

#### 实例 2-甾体激素类药物

又如甾体激素类药物含有环戊烷骈多氢菲母核，主要的结构差别在 A 环和 D 环的取代基不同，可利用这些结构特征进行鉴别确证

一般鉴别试验，区别不同类别的药物。

专属鉴别试验，区别各个药物单体，达到最终确证药物真伪的目的。

### 三、鉴别试验的方法

#### (一) 化学鉴别法

化学鉴别法是根据药物与化学试剂在一定条件下发生离子反应或官能团反应生成不同颜色，不同沉淀，放出不同气体，呈现不同荧光，从而做出定性分析结论的方法。

特点：反应迅速、现象明显

药物+化学试剂→反应→不同颜色

→不同沉淀→分析→结论

→不同气体

→不同荧光

化学鉴别法：专属性强、灵敏度高

这里对无机药物的鉴别不作叙述，只对有机药物做阐述

#### (二) 光谱鉴别法

##### 1、紫外-可见分光光度法

###### 基本概念

紫外区：含有芳环或共轭双键的药物有特征吸收

可见光区：含有生色团和助色团的药物有特征吸收

举例：化妆品中的防晒霜中含有吸光物质。

###### 具体方法

###### A、对比吸收曲线的一致性

按药品质量标准将供试品和对照品用规定溶剂分别配成一定浓度的溶液，在规定波长区内绘制吸收曲线，供试品和对照品的图谱一致。

一致：吸收曲线的峰位、峰形和相对强度一致

举例：

供试品

药品质量标准 + 规定溶剂→溶液→测定吸收曲线→比较图谱对照品

B、对比最大吸收波长和相应吸收度的一致性

供试品

药品质量标准 + 规定溶剂 → 溶液 → 测定吸收曲线 → 比较图谱

对照品

$\lambda_{\max}$   $A_{\max}$

C、对比最大吸收和最小吸收波长的一致性

$\lambda_{\max}$   $\lambda_{\min}$

D、对比最大、最小吸收波长和相应吸收度比值的一致性

$A_{\max}/A_{\min}$

举例：说明解释

## 2、红外光谱法

有机药物在红外光区有特征吸收

**讲解红外吸收的原理** 简单介绍电子跳跃是红外吸收的主要因数

**具有专属性强 准确度高的特点**

方法：

1、供试品的红外光谱与相应的标准红外光谱直接比较，核对----中国药典有专用红外光谱集

2、供试品的红外光谱与对照品的红外光谱比较，核对

讨论：方法简单，但无法消除不同仪器、不同操作人员造成的差异

对照品不容易得到。

3、近红外光谱法(Near-Infrared spectrophotometry)

利用原子蒸汽可以吸收由该元素作为空心阴极灯发出的特征谱线，供试液溶液在特征谱线处的最大吸收和特征谱线强度减弱程度进行定性、定量分析。

测定供试品指定基团上质子峰的化学位移  $\delta$  和偶合常数进行药物的鉴别

4、质谱分析法

物质被离子化后，按离子的质荷比大小分离，而实现物质成分和结构分析的方法  
结晶物质的鉴别

5、比较 供试品已知物质的 X 射线粉末衍射图

依据：各衍射线的衍射角 ( $2\theta$ )

相对强度

面间距

(三) 色谱鉴别法

利用不同物质在不同色谱条件下，产生各自的特征色谱行为（比移值或保留时间）进行的鉴别试验。

采用与对照品在相同条件下进行色谱分离，并进行比较，根据两者保留行为和检测结果是否一致来验证药品的真伪。

TLC 法

3. 色谱鉴别法 PC 法 ( $R_f$  样 =  $R_f$  对)

HPLC 法 ( $t_R$  样 =  $t_R$  对)

GC 法

1. 薄层色谱鉴别法 (Thin-Layer Chromatography)

一般采用对照品（或标准品）比较法，要求供试品与对照品主斑点的颜色与位置应一致。

同等条件下供试品与对照品的对比：

供试品与对照品等体积混合；

与供试品化学类似结构的样品与对照品的对比；

与供试品化学类似结构的溶液与供试品溶液混合；

例：硫酸阿米卡星

【鉴别】(1) 取本品与阿米卡星标准品适量，分别加水制成每 1ml 中含 10mg 的溶液，照薄层色谱法（附录 VB）试验，吸取上述两种溶液各 10  $\mu$ l，分别点于同一硅胶 H 薄层板上，以氯仿-甲醇-浓氨溶液-水(1:4:2:1) 为展开剂，展开后，晾干，显色，供试品溶液与标准品溶液所显主斑点的颜色与位置应相同。

#### 2.GC 和 HPLC 鉴别法

一般规定按供试品含量测定项下的色谱条件进行试验。要求供试品和对照品色谱峰的保留时间应一致。内标法时，要求药物与内标物峰的保留时间比值也应相同。

#### HPLC 实例

#### 四、显微鉴别法

#### 中药及其制剂的鉴别

#### （五）生物学法

利用药效学和分子生物学等有关技术来鉴定药物品质的一种方法，主要用于抗生素、生化药物及中药的鉴别。

#### 六、指纹图谱与特征图谱鉴别法

#### 中药及其制剂

### 第三节 鉴别试验的条件

溶液的浓度

溶液的温度

溶液的酸碱度

试验时间

干扰成分

鉴别方法的验证

#### 1、专属性(Specificity)

指有其他成分（杂质、降解物、辅料等）可能存在情况下采用的方法能准确测定出被测物的特性。

#### 2、耐用性

指测定条件稍有变动时，结果不受影响的承受程度。

② 化学法和仪器法相结合,每种药品一般选用 2~4 种方法进行鉴别试验,相互取长补短.

① 方法要有一定的专属性、灵敏性、且便于推广.

③ 尽可能采用药典中收载的方法.

鉴别法小结

鉴别法小结

鉴别方法

硫酸阿米卡星的薄层色谱法鉴别试验：

观摩视频：

1、相对密度测定法

2、馏程测定法

3、熔点测定法旋光度测定法

4、折光率测定法

5、黏度测定法

作业：

1、鉴别药物常用的方法有哪些？

2、在测定药物的熔点时应注意哪些问题

章： 第六章

课题： 药物的杂质检查

**教学目标及要求**（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：

教学内容： 介绍药物中杂质的来源、分类、限量计算方法以及一般杂质和特殊杂质的检查原理与技术。

教学目标：

1、知识目标：

- ①掌握氯化物、重金属、砷盐等一般杂质的检查原理
- ②熟悉杂质限量的计算方法
- ③了解薄层色谱法用于特殊杂质检查的原理

2、能力目标：

- ①能够规范进行一般杂质检查的比色、比浊操作
- ②具备计算杂质限量并判断结果是否合格的能力
- ③能正确制备杂质对照品溶液与供试品溶液

3、素养目标：

- ①培养“除杂务尽”的药品纯化追求
- ②树立杂质控制的严苛标准意识
- ③养成对照实验中的平行操作习惯

4、课程思政：

- ①通过杂质危害案例（如青霉素过敏原），强化对患者生命健康的责任感
- ②以“限量”概念引申做人要守住底线，勿以恶小而为之
- ③培养学生严谨细致的作风，体现对人民健康高度负责的态度

**教学重点及难点：**

**重 点：** 限量的表示方法及有关计算；氯化物、硫酸盐、铁盐、重金属、砷盐等一般杂质的检查原理和方法

**难 点：** 限量的表示方法及有关计算；各杂质检查时的注意事项

**教学方法及手段：** 多媒体讲授，视频观摩

**学 时：** 6 学时

教学过程：

### 第一节 药物的杂质与限量

一、药物的杂质与纯度

杂质：任何影响药物纯度的物质均称为杂质

——指药物纯净的程度,是反映药品质量的一项重要指标.

评价：药物外观、理化常数、杂质检查和含量测定.

——综合评定药物的纯度.

杂质检查 是药物纯度评价的一项重要内容.

1.药物的纯度

2. 药物纯度与试剂纯度

共同点：均规定所含杂质的种类和限量.

不同点：

a. 药物纯度——又称为药用规格, 主要从用药安全、有效和对药物稳定性等方面考虑, 只有合格品和不合格品。

b. 化学试剂的纯度——是从杂质可能引起的化学变化对使用的影响以及试剂的使用范围和使用目的加以规定, 它不考虑杂质对生物体的生理作用及毒副作用。

化学试剂——一般分为 4 个等级 (基准试剂、优级纯或特种试剂(光谱纯、色谱纯、农药残留检测级)、分析纯和化学纯)

例如: 硫酸钡 ( $\text{BaSO}_4$ )

试剂规格 对可溶性钡盐不做检查。

检查: 氯化物、铁、灼烧失重等

药用规格 如存在可溶性钡盐则导致医疗事故。

检查: 酸溶性钡盐、重金属、砷盐等

化学试剂不能代替药品使用

## 二、药物杂质的来源

### 1、药物生产过程引入

(1) 所用原料不纯

(2) 合成工艺中未反应完全的原料、合成中间体、副产物等。

(3) 从药用植物中提取分离过程中引入

(4) 合成工艺中使用的设备、器皿可能引入重金属、以及使用溶剂, 有机溶剂。

杂质来源

例: 阿斯匹林由水杨酸乙酰化制得

### 2、贮藏过程中引入杂质

例 1:

利血平在日光、有氧存在下, 易氧化变质光氧化产物无降压作用。

例 2:

维生素 C 在储存期间外观易变色, 颜色随储存时间延长而逐渐变深。

## 三、杂质的分类

### 1、按来源可分为 2 类

一般杂质

——指在自然界中分布广泛, 在多种药物的生产或贮存过程中容易引入的杂质。

特殊杂质

——指在特定药物的生产或贮存过程中引入的杂质, 有关物质 (Related Substances/Compounds)

### 2、特殊杂质按来源可分为 2 类

工艺杂质——合成中未反应完全的反应物, 试剂、中间体、副产物杂质。

降解产物、外来杂质——从反应物、试剂中混入的杂质

### 3、按毒性可分为 2 类

信号杂质——指本身一般无害, 但其含量多少可反映药物纯度水平, 指示生产工艺是否合理。

如: 氯化物、硫酸盐等。

毒性杂质——对人体有毒害的杂质, 在质量标准中严加控制, 以保证用药安全。

如: 重金属、砷盐、氰化物、氟化物等。

### 4、按化学类别和特性分为 3 类

无机杂质——Cl<sup>-</sup>、S<sup>2-</sup>、CN<sup>-</sup>、As、重金属。

有机杂质—中间体、副产物、分解物、异构体。

残留溶剂—反应过程中的提取溶剂

有机杂质 分为 2 类

特定杂质 一指在质量标准中分别规定了明确的限度,并单独进行控制的杂质 (结构已知和结构未知的杂质)。

非特定杂质—在质量标准中未单独列出, 而仅采用一个通用的限度进行控制的一系列杂质, 其在药品中出现的种类与概率并不固定。

#### 四、杂质的限量

——在不影响药物疗效、稳定性及不发生毒性的前提下,药物中所含杂质的最大允许量。

百分表示(%)

百万分之几表示(ppm)

1.杂质限量的控制方法:

#### 2 限量检查法

限量检查法 (Limit Test) 特点: 不需知道杂质的准确含量,有对照品

##### ① 标准对照法

操作:

平行试验 比较两比色管的颜色或浊度,判断杂质限量是否符合规定。

取限量量的待检杂质对照品配成的对照溶液,与一定量供试品配成的供试品溶液在相同条件下处理,比较反应结果,判断供试液中所含杂质限度是否符合规定。

##### ② 灵敏度法

系指在供试品溶液中加入试剂,在一定反应条件下,不得有正反应出现。

特点: 不需对照品

在供试品溶液中加入试剂,在试验条件下反应,不得出现正反应。既以检测条件下反应灵敏度控制杂质限量。

##### ③ 比较法

测定特定待检杂质的参数(如:吸光度等)与规定的限量比较,不得更大

特点: 准确测定杂质的量, 不需对照品

##### ④ 限量计算公式

若用 ppm 表示杂质限量

则:

注意: ①单位是否统一

②供试品是否有稀释

③表示方法%或 ppm

例 1. 对乙酰氨基酚中氯化钠的检查

对照品溶液: 标准 NaCl 溶液 gCl-/ml) (10

方法: 取 5.0ml 同法操作比较,浊度不得更大。

计算: 氯化物限量是多少(%)?

$$L = \frac{5 \times 0.01}{2 \times 1000 \times \frac{25}{100}} \times 100\% = 0.01\%$$

规定: 含重金属 > 百万分之五(5ppm)

计算: 应取标准铅溶液 gPb/ml) (10 多少 ml?

$$5 = \frac{V \times 0.01}{4 \times 1000} \times 10^6$$

$$\therefore V = \frac{4 \times 1000 \times 5}{0.01 \times 10^6} = 2.0(\text{ml})$$

例3 磷酸可待因中吗啡的检查

取本品 0.10 g,加盐酸溶液(9-1000)使溶解成 5ml, 加亚硝酸钠试液 2ml, 放置 15min, 加氨试液 3ml, 所显颜色与吗啡试液[取无水吗啡 2.0mg, 加盐酸溶液(9-1000)使溶解成 100ml] 5.0ml 用同一方法制成的对照液比较, 不得更深。问限量是多少?

## 第二节 杂质的常用检查方法

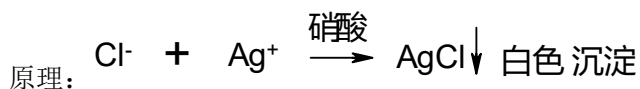
- (一) 化学方法
- (二) 色谱方法
- (三) 光谱方法
- (四) 物理方法

### 一、氯化物检查法

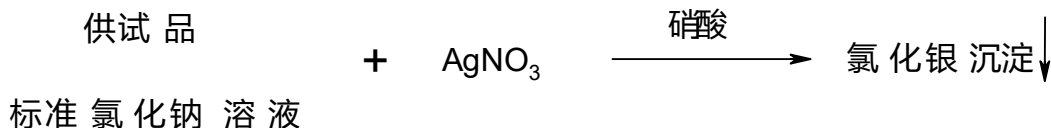
#### 1、检查意义

氯化物极易引入, 虽然微量氯化物对人体无害, 但检查氯化物含量, 可以考察药品的纯杂程度, 也就是说, 控制氯化物的量, 可以提高或保证药品的纯度, 因此, 我们认为氯化物是一种“指示性杂质”。

#### 2、检查原理和反应条件



方法:



黑色背景下, 垂直向下观察, 比浊

讲解: 纳氏管(介绍)

加硝酸作用:

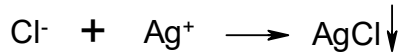
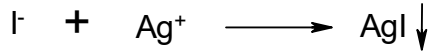
为什么加硝酸, 不加盐酸、硫酸或其他酸?

- 1、可消除  $\text{SO}_3^{2-}$ 、 $\text{CO}_3^{2-}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ 、 $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ 、 $\text{BO}_2^-$  等杂质离子的干扰;
- 2、可加速氯化银沉淀的生成;
- 3、可改善氯化银浑浊的均一性, 提高检查准确度。

在 50ml 溶液中以含硝酸 10ml 为宜, 过多会增大氯化银的溶解度而降低反应灵敏度。

试验注意点:

- 1、为了控制氯化银见光分解, 应在暗处放置 5min;
- 2、如供试品是碱性, 应先中和为中性, 再作检查;
- 3、如供试品中含  $\text{I}^-$ 、 $\text{Br}^-$ , 应先除去  $\text{I}^-$ 、 $\text{Br}^-$ ;

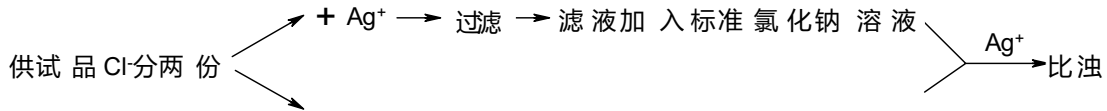


碘化银沉淀不溶于稀氨水，而氯化银沉淀可溶于稀氨水，然后可用碱恢复，再按常规检查氯化物：

Br<sup>-</sup> 离子则可加入 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>，氧化成 Br<sub>2</sub>，然后蒸除。

4、如供试品中有 KMnO<sub>4</sub>，加乙醇脱色后检查；

5、供试品如有颜色，则采用内消色法



如糖浆、中药制剂等

## 二、硫酸盐检查法

### 1、检查原理



试剂：BaCl<sub>2</sub>

标准溶液：K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液

酸：HCl，盐酸

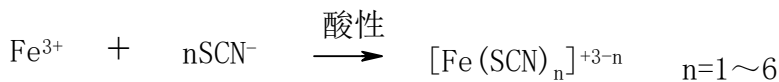
检查中所产生的浑浊程度与硫酸盐杂质的含量，硫酸钡微粒大小有关，所以应严格控制试验条件：

- 1、酸度：规定 50ml 溶液中加入稀盐酸 2ml，PH ≈ 1
- 2、BaCl<sub>2</sub> 浓度：25%BaCl<sub>2</sub> 试液，产生的浑浊度较稳定
- 3、标准 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液用量：以 1.0~5.0ml 为宜，供试品取用量应相匹配
- 4、加入 BaCl<sub>2</sub> 试液后，应立即摇匀；
- 5、黑色背景下，从上而下观察。

## 三、铁盐检查法

### 1、检查原理

采用硫氰酸盐检查铁盐



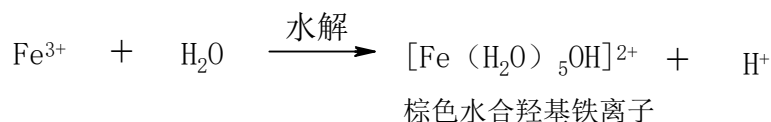
红色可溶性硫氰酸铁配位化合物

标准铁盐溶液：硫酸铁铵 FeNH<sub>4</sub>(SO<sub>4</sub>)·2.12H<sub>2</sub>O

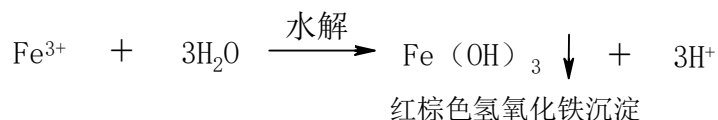
### 2、反应条件

- (1)、用稀盐酸调节酸性

在中性或碱性溶液中，三价铁离子易发生水解



或



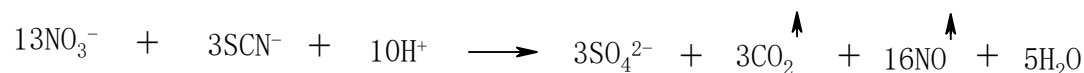
所以要调节酸性

一般：50ml 溶液中加稀盐酸 4ml 为宜

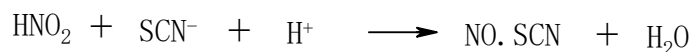
注意：调节酸性可以使用其他酸，但不能使用氧化性酸，如 HNO<sub>3</sub>，如果必须使用，则在使用后将硝酸除净。

原因：

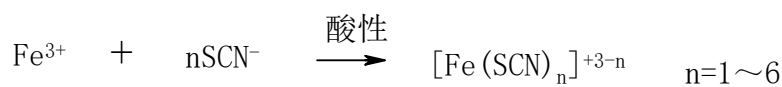
1、因为硝酸可以破坏显色剂 SCN<sup>-</sup>



2、亚硝酸与 SCN<sup>-</sup>生成红色的亚硝酰硫氰化物 (NOSCN)，对结果测定有影响



(2)、加过量显色剂



此络合反应为可逆反应

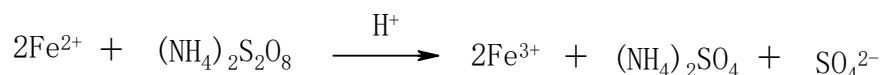
加入过量显色剂，有利于反应完全，并且能消除 Cl<sup>-</sup>干扰

一般：50ml 溶液中加 3ml (1→100) 显色剂

(3)、加氧化剂，过硫酸铵 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>

作用：1、氧化 Fe<sup>2+</sup> → Fe<sup>3+</sup>

2、防止光线使硫氰酸铁还原或分解



(4)、Fe<sup>3+</sup>含 10~50ug 含量为宜

太深、太浅都不能用肉眼观察比较

(5) 提取比色

供试管、标准管色调不同时，可采用提取比色，用正丁醇或异戊醇提取络合物，比色。

如：检查枸橼酸钠中铁盐，为避免枸橼酸钠的干扰，加盐酸 3ml 使酸度提高，但酸度增加使硫氰酸铁所呈颜色变浅，故用正丁醇提取后比色，而枸橼酸钠则留在水层中不影响。

四、重金属检查法

重金属系指在实验条件下能与显色剂作用显色的金属杂质

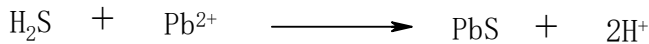
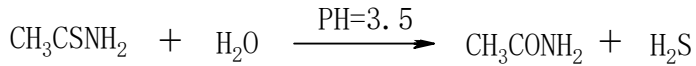
常用的显色剂：H<sub>2</sub>S (有恶臭，现已不用)、硫代乙酰胺 (CH<sub>3</sub>CSNH<sub>2</sub>)、硫化钠 (Na<sub>2</sub>S)

金属杂质：银、铅、汞、铜、镉、铋、砷、锑、锡、锌、钴、镍等

由于在药品生产过程中遇到铅的机会较多，同时铅在体内又易积蓄中毒，故检查重金属时以铅为代表检查。

### (一)、硫代乙酰胺法

#### 1、检查原理



#### 2、操作

纳氏管 2 支

供试品溶液  $\longrightarrow$  PH3.5醋酸缓冲液  $\longrightarrow$  硫代乙酰胺  $\longrightarrow$  白纸上，自上而下透视  
标准铅溶液

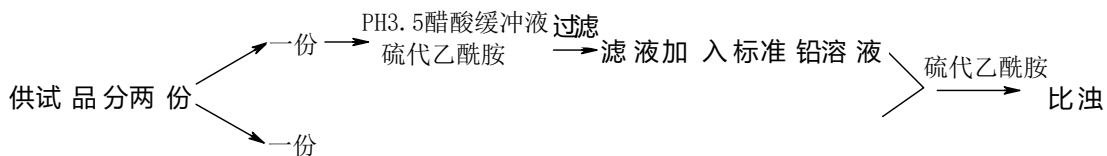
溶液 PH 值对于金属离子与 H<sub>2</sub>S 呈色影响较大

在 PH3~3.5，硫化铅 (PbS) 沉淀较完全

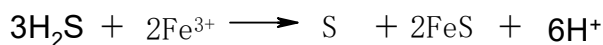
酸度增大，硫化铅沉淀颜色变浅，甚至不显色，因此，供试品如用强酸处理过，应在加硫代乙酰胺前用氨水调 PH 值。

#### 3、实验注意点

(1) 供试品如有颜色，可采用 A、外消色法 (加稀焦糖溶液或无干扰的有色溶液) 调颜色一致。B、内消色法



(2)、供试品中若有微量高铁盐 (Fe<sup>3+</sup>)，在弱酸性溶液中氧化 H<sub>2</sub>S 而析出 S，产生浑浊，影响比色。

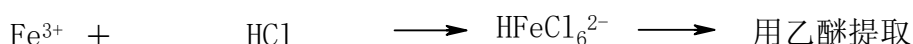


所以，应在检查前先加入抗坏血酸 (Vit C) 或盐酸羟胺，还原高铁离子。



(3) 多数药物在酸性条件下检查重金属，一些溶于碱而不溶于稀酸或在稀酸中产生沉淀的药物，如磺胺类，巴比妥类药物，均在碱性溶液中溶解，因此检查重金属，显色剂不能用硫代乙酰胺，而改用硫化钠：Na<sub>2</sub>S

(4) 供试品如为铁盐，如枸橼酸铁铵，则应将铁离子先除去，再检查。



比重 1.103-1.105

水层  $\longrightarrow$  加氨试液呈碱性  $\longrightarrow$  加 KCN 去除微量 Fe<sup>3+</sup>  $\longrightarrow$  Na<sub>2</sub>S  $\longrightarrow$  检查

(5) 含芳环或杂环的有机药物，如甲硝唑，应先行炽灼破坏，使与有机分子结合的重金属流离，再检查。

炽灼温度一般控制在 500~600℃

温度过高，重金属损失，如铅在 700℃ 经 6 小时炽灼，损失 68%。

炽灼残渣加硝酸加热处理，使有机物进一步破坏完全，但必须蒸干除尽氧化氮，否则亚硝酸可氧化硫化氢为硫，影响比色，然后再加盐酸，成铅离子后，再作检查。

## 五、砷盐检查法

中国药典中砷检查法有二种

第一种：古蔡氏法（药典中均用此法），第二种：二乙基二硫代氨基甲酸银法（附录中收载，但不使用）

二种方法所采用的还原剂一样，反应时间、反应温度（25~40℃），45min 都一样

区别在于显色剂使用不一样，结果比较方法也就不同。

### 一、古蔡氏法

#### 1、仪器装置

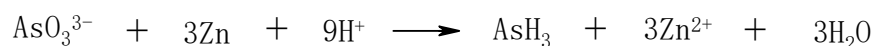
仪器如硫化物检查法装置

不同点：1、用溴化汞试纸代替醋酸铅试纸

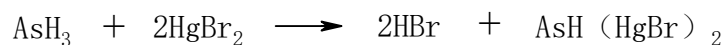
2、导气管中加塞醋酸铅棉花（高度 60~80mm）

#### 2、检查原理

金属 Zn 与酸作用生成新生态的氢，与药物中的微量砷盐反应生成具有挥发性的砷化氢



AsH<sub>3</sub> 遇溴化汞试纸，产生黄色至棕色的砷斑

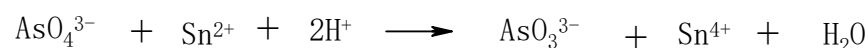
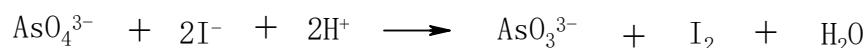


黄色砷斑

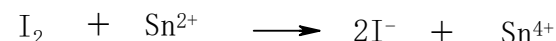


棕色砷斑

5 价砷也能被金属 Zn 还原为砷化氢，但生成 AsH<sub>3</sub> 的速度较 3 价砷慢，所以，在反应液中加入碘化钾、酸性氯化亚锡来还原五价砷为三价砷。



生成 I<sub>2</sub> 被氧化：



在形成络合物的同时，消耗 Zn<sup>2+</sup>，有利于 AsH<sub>3</sub> 反应不断进行

总结：

加 KI 的作用

1、还原五价砷为三价砷

2、和  $Zn^{2+}$  络合，有利于  $AsH_3$  的生成

3、抑制锑化氢生成

加酸性  $SnCl_2$  的作用

1、还原五价砷为三价砷

2、与  $Zn$  生成锌锡齐，从而使氢气均匀连续发生

3、抑制锑化氢生成

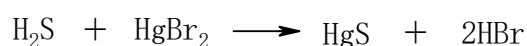
锑化氢可以和溴化汞试纸作用生成锑斑，影响试验结果。



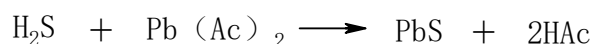
在试验条件下，由于加了  $KI$ 、 $SnCl_2$ ，供试品中有  $100\mu g$  的锑存在也不会干扰测定结果

醋酸铅棉花的作用：

如果供试品中含有少量硫化物，则会产生  $H_2S$  气体，干扰试验结果



所以，加入醋酸铅棉花来吸收硫化氢气体



醋酸铅棉花用量多或塞得过紧会影响  $AsH_3$  的通过，用的少或塞得松，则不能完全吸收  $H_2S$  气体；

中国药典规定：醋酸铅棉花用量  $60mg$  重量，高度大约  $60\sim 80mm$ ，来控制松紧度，这样即使供试品中有  $1000\mu g S^{2-}$  存在也不干扰测定结果。

### 3、反应条件

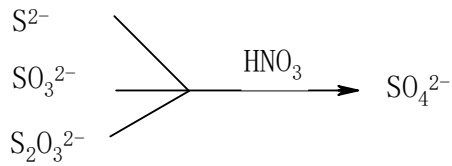
反应液酸度、酸性氯化亚锡试液用量，锌粒大小与用量、反应温度都会影响氢气发生速度，从而影响砷化氢气体的产生

- (1)、反应酸度：相当于盐酸液  $2mol/l$
- (2)、 $KI$  浓度：2.5%； $SnCl_2$  浓度：0.3%
- (3)  $Zn$  粒大小：60 目，用量 2g
- (4) 反应温度：25~40℃水浴
- (5) 反应时间：1 小时

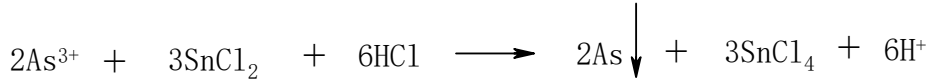
### 4、试验中注意点：

(1) 溴化汞试纸与砷化氢作用灵敏，但形成的砷斑不稳定，所以在反应中应保持干燥和避光，试验结束后立即与标准砷斑比较，否则时间长，砷斑会褪色。

(2) 如供试品为硫化物、亚硫酸盐、硫代硫酸盐等，则在酸性溶液中容易生成  $H_2S$  或  $SO_2$  气体，可与  $HgBr_2$  作用生成  $HgS$  或金属  $Hg$ ，干扰检查，应在检查前加入  $HNO_3$  处理，氧化成硫酸盐，再做检查。



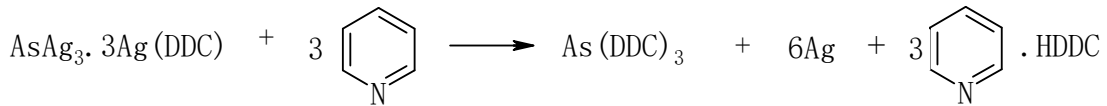
(3) 如供试品为含锑药物，如葡萄糖酸锑钠，则不能采用此方法，而改用白田道夫法  
白田道夫法：



## 二、二乙基二硫代氨基甲酸银法 (Ag-DDC 法)

### 1、检查原理

砷化氢生成的原理同古蔡氏法，



由于吡啶有恶臭，因此中国药典改用 1.8% 三乙胺的氯仿溶液

### 2、仪器装置

P50 图 4-7

采用平底玻璃管 5.0ml 溶液接受砷化氢气体

将 AsH<sub>3</sub> 气体导入盛有 Ag (DDC) 溶液 5.0ml 的 D 管内

反应时间：45min

反应温度：25~40℃ 水浴

试验结束后，添加氯仿至 5.0ml，在白色背景下，从上而下观察比色

本法用于硫化物、亚硫酸盐、硫代硫酸盐以及含锑药物，都不产生干扰，但灵敏度较低。

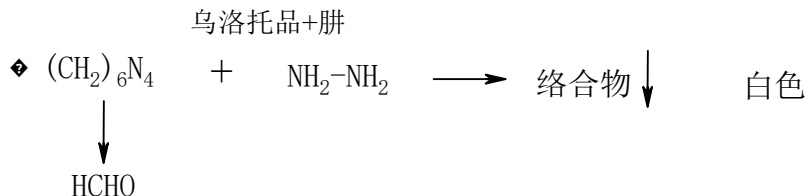
## 十二、溶液澄清度检查

药物中有不溶性杂质，影响药物的溶液澄清度，所以应作澄清度检查。

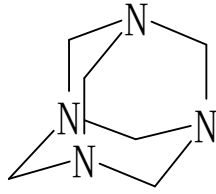
检查原理：

供试品溶液与标准浊液比较

标准浊液制备：



乌洛托品结构：



能在水中分解产生甲醛，甲醛和肼反应产生白色沉淀

1.0%硫酸肼水溶液 + 10.0%乌洛托品水溶液（等量混合）→ 24 小时避光放置，白色混悬液 → 作标准贮备液 → 取标准贮备液 15.0ml → 稀释 1000ml → 成浊度标准原液 → 按表中数据配制标准浊液（分级）。

共分 5 个级别：

级别号：0.5、1、2、3、4

供试品溶液配制后和标准级别的浊液比较，决定供试品溶液的澄清度。

检查时：

供试品溶液



标准浊液

比浊用玻璃管中，40mm 高度 → 黑色背景，从上而下观察比较，或垂直伞棚灯，照度 1000Lx，水平方向比较。

药典中规定：

澄清：供试品溶液的澄清度相当于所用溶剂，或未超过 0.5 号浊度标准液。

检查：

如葡萄糖中检查糠醛（不溶性）

#### 六、干燥失重测定法

定义：指药物在规定条件下，经干燥后，所减少的重量，主要指水分，也包括其他挥发性物质如乙醇等。

常用测定方法（根据干燥方法不同分为）

##### （一）、常压恒温干燥法

称量瓶 → 烘箱内，规定温度干燥 → 从减失的重量计算干燥失重

要求：

- 1、适用于受热较稳定的药物
- 2、干燥温度一般为 105℃，除规定外
- 3、干燥时间一般 2~4 小时，除规定外
- 4、供试品厚度不超过 5mm，疏松物质厚度不超过 10mm → 为使水分及挥发性物质易于挥散。
- 5、供试品为大颗粒结晶，必须研细至粒度 2mm。

##### （二）、减压干燥法

在减压条件下，可降低干燥温度和缩短干燥时间，故适用于熔点低，受热不稳定及难赶除水分的药物，如肾上腺素

##### （三）干燥剂干燥法

适用于不论常压或减压条件下加热烘干均容易分解、升华、挥发的药物。

常用干燥剂：五氧化二磷、硫酸、硅胶

P2O5：吸水效力、吸水容量、吸水速度均较好，但价格较贵，并且不能反复使用。

H2SO4：吸水效力、吸水速度次于五氧化二磷，但吸水容量较五氧化二磷好，用后加热除

水分后可重复使用。

硅胶：吸水效力、吸水速度均次于五氧化二磷、硫酸，但使用方便，价廉，可反复使用。

变色硅胶：加  $\text{Co}^{2+}$ ，变色 1g 硅胶吸水 20mg 后就开始变色 → 150℃干燥

水分测定法

药物中的水分包括结晶水和吸附水。

Ch.P、USP 和 BP 均收载了费休氏法和甲苯法。

原理：根据消耗碘的量来测定水分的含量。

卡尔·费休（Karl · Fischer）法，简称费休法或 K-F 法，是在 1935 年由卡尔·费休提出的测定水分的容量方法，属于碘量法，对于测定水分最为专一，也是测定水分最为准确的化学方法。

## 八、炽灼残渣检查法

主要检查无机杂质

炽灼残渣：取一定量供试品经缓缓炽灼至完全炭化 → 放冷，加  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.5~1ml → 除硫酸后 → 高温 700~800℃ 完全炭化 → 残留不挥发性硫酸盐即为炽灼残渣 → 称重确定限量

加硫酸目的：使有机物完全炭化或灰化

如要作重金属检查：炽灼温度在 500~600℃

## 九、易炭化物检查

检查药物中的有机杂质

有机物遇浓硫酸 → 发生炭化或氧化 → 呈色 → 比色法检查

与标准比色液比较：

标准比色液（氯化钴溶液、重铬酸钾溶液、硫酸铜溶液）不同比例配制

例：检查阿司匹林中的易炭化物

取比色管两支

甲：5ml（氯化钴 0.25ml、重铬酸钾 0.25ml、硫酸铜 0.4ml、水 4.1ml）

乙：硫酸 5ml，加入阿司匹林 0.5g

甲溶液  $\xrightarrow{15 \text{ min}}$  后白色背景  
乙溶液  $\xrightarrow{\text{侧面透视}}$  乙管不得比甲管深

## 十、残留溶剂测定法

残留溶剂：在合成原料药，辅料或制剂生产的过程中使用的，但在工艺中未能完全除去的有机溶剂。

检查方法：GC

检测器：FID 检测器（火焰离子化）

ECD 检测器（电子捕获）

## 十一、溶液颜色检查法

有些药物在制备过程中有色杂质未除净，或在贮存过程中新生成有色杂质，都会使溶液呈现颜色。

（一）、比色法

标准色液：

重铬酸钾溶液（橙色）

硫酸铜溶液（蓝色）

氯化钴溶液（红色）

配成黄绿、黄、橙黄、橙红、棕红五种贮备液颜色

分别调和成 10 种颜色

检查时：

供试品溶液与标准颜色的溶液比较

(二)、紫外分光光度法

通过吸收度控制有色杂质的限量

如：

Vit C 50mg/ml 测定 440nm、420nm 波长处的吸收度，规定 A 分别小于 0.07 和 0.06。

作业：

1、砷盐检查中加入醋酸铅棉花、酸性氯化亚锡和碘化钾的作用是什么？

章： 第七章
课题： 药物的含量测定
<p><b>教学目标及要求</b>（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>教学内容： 讲解各类含量测定方法（容量分析、仪器分析）的原理、计算及其在药品质量评价中的应用。</p> <p>教学目标：</p> <p>1、知识目标：</p> <p>①掌握滴定分析法在含量测定中的计算与应用</p> <p>②熟悉紫外分光光度法测定含量的原理（<math>A=ECL</math>）</p> <p>③了解高效液相色谱法（HPLC）外标法测定含量的原理</p> <p>2、能力目标：</p> <p>①能够熟练进行滴定管的操作和滴定终点的判断</p> <p>②具备正确使用分光光度计并计算含量的能力</p> <p>③能规范操作高效液相色谱仪并进行含量计算</p> <p>3、素养目标：</p> <p>①培养定量分析中的精准计量意识</p> <p>②养成爱护精密仪器的良好习惯</p> <p>③建立数据分析与误差控制的科学思维</p> <p>4、课程思政：</p> <p>①强调“含量”即“疗效”，精准测定是对患者生命健康的承诺</p> <p>②通过精密仪器的操作训练，培养精益求精的大国工匠精神</p> <p>③引导学生尊重数据、敬畏数据，杜绝篡改数据的学术不端</p>
<p><b>教学重点及难点：</b></p> <p><b>重 点：</b> 滴定分析法与紫外分光光度法的含量计算原理。</p> <p><b>难 点：</b> HPLC 外标法中校正因子的理解及色谱条件的优化选择。</p>
<b>学 时：</b> 8 学时
<b>教学方法及手段：</b> 多媒体讲授
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;"><b>药物的含量测定</b></p> <p>第 1 节 定量分析方法的分类与特点</p> <p>一、容量分析法</p> <p>二、光谱分析法</p> <p>三、色谱分析法</p> <p>四、色谱质谱联用分析法</p> <p>一、容量分析法</p> <p>（一）酸碱滴定法</p> <p>（二）非水溶液滴定法</p>

(三) 配位滴定法

(四) 氧化还原滴定法

(五) 沉淀滴定法

(一) 酸碱滴定法

定义：以质子转移反应为基础的滴定分析方法。

应用：适用于弱酸弱碱或其盐类的滴定。

示例：阿司匹林、水杨酸等药物可以通过强酸强碱滴定法测定含量。

溶剂选择：依据药物特性选用适当的溶剂（如水或中性乙醇）。

(二) 非水溶液滴定法

定义：在非水溶剂中进行滴定的分析方法。

应用：适用于有机碱及其盐类、有机弱酸等药物的含量测定。

特点：扩大了滴定分析的应用范围。

(三) 配位滴定法

定义：以配位反应为基础的滴定分析法。

应用：主要用于金属盐的测定。

示例：含 Mg、Ca、Al、Zn 或 Bi 药物的含量测定。

(四) 氧化还原滴定法

定义：以氧化还原反应为基础的滴定分析方法。

示例：使用高锰酸钾法测定某些药物的含量。

应用：可用于直接或间接测定具有氧化性或还原性的物质。

(五) 沉淀滴定法

定义：以沉淀反应为基础的滴定分析法。

应用：适用于无机卤化物等的测定。

示例：使用银量法测定氯化钠、氯化钾等药物的含量。

二、光谱分析法

(一) 紫外-可见分光光度法

(二) 荧光分光光度法

(一) 紫外-可见分光光度法

定义：利用紫外-可见光区特定波长处的吸光度进行定量分析的方法。

特点：灵敏度高，操作简便。

应用：适用于多种药物制剂的含量测定。

示例：使用吸收系数法或对照品比较法测定原料药含量。

(二) 荧光分光光度法

定义：通过物质的荧光谱线位置及其强度进行含量测定的方法。

特点：高灵敏度，适用于特定化合物。

应用：对具有发色团和刚性结构的物质进行含量测定。

### 三、色谱分析法

(一) 高效液相色谱法

(二) 气相色谱法

(一) 高效液相色谱法

定义：以高压液体为流动相的液相色谱分析法。

特点：分离能力强，应用广泛。

应用：大部分药物的含量测定。

示例：使用高效液相色谱法进行药物杂质检查。

(二) 气相色谱法

定义：采用气体为流动相的色谱方法。

应用：溶剂残留量的检查等。

示例：测定维生素 E 及其制剂的含量。

### 四、色谱质谱联用分析法

(一) 色谱质谱联用技术原理

定义：结合色谱法的分离能力和质谱法的定性能力。

特点：强大的分离和结构解析能力。

应用：杂质检查、体内药物分析等。

## 第 2 节 原料药的含量测定

### 一、原料药含量的表示方法与计算

(一) 原料药的百分含量计算

(二) 容量分析法的含量计算

(三) 光谱分析法的含量计算

(四) 色谱分析法的含量计算

(一) 原料药的百分含量计算

定义：原料药中有效成分占总量的比例。

计算公式：含量% =  $m_x / m \times 100\%$

(二) 容量分析法的含量计算

直接滴定法：计算公式：含量% =  $((V - V_0) \times F \times T \times 10^{(-3)}) / m \times 100\%$

剩余滴定法：计算公式：含量% =  $((V_0 - V) \times F \times T \times 10^{(-3)}) / m \times 100\%$

(三) 光谱分析法的含量计算

紫外-可见分光光度法

吸收系数法：计算公式：含量% =  $(A / (E_{1cm}^{(1\%)} \times l) \times 1/100 \times D \times V) / m$

× 100%

对照品比较法：计算公式：含量% =  $(A_x / A_R \times C_r \times D \times V) / m \times 100\%$

(四) 色谱分析法的含量计算

内标法：计算公式：含量% =  $(f \times A_x / (A_{s'} / C_{s'}) \times D \times V) / m \times 100\%$

外标法：计算公式：含量% =  $(C_R \times A_x / A_R \times D \times V) / m \times 100\%$

作业：

完成学习通计算题

章： 第八章
课题： 药物制剂的分析
<p><b>教学目标及要求</b>（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>教学内容：介绍片剂、注射剂、胶囊剂等常见剂型的分析特点、辅料干扰及排除方法。</p> <p>教学目标：</p> <p>1、知识目标：</p> <p>①掌握片剂（如崩解时限、溶出度、含量均匀度）的检查项目</p> <p>②熟悉注射剂（如无菌、热原、可见异物）的特殊检查要求</p> <p>③了解制剂分析中辅料干扰的排除方法</p> <p>2、能力目标：</p> <p>①能够根据制剂类型制定分析方案</p> <p>②具备规范操作溶出度测定仪的能力</p> <p>③能正确判断制剂检查结果的合格性</p> <p>3、素养目标：</p> <p>①培养剂型差异化的质量控制思维</p> <p>②强化对制剂工艺与质量关系的认知</p> <p>③树立“制剂创新、质量先行”的意识</p> <p>4、课程思政：</p> <p>①通过不同剂型的个性化要求，体现具体问题具体分析哲学思维</p> <p>②讲解热原检查对临床安全的重要性，强化慎独精神</p> <p>③通过仿制药一致性评价，激发学生科技报国、提升国药质量的使命感</p>
<p><b>教学重点及难点：</b></p> <p><b>教学重点：</b>片剂、注射剂等常用剂型的特殊检查项目（溶出度、可见异物）。</p> <p><b>教学难点：</b>制剂中辅料对主药测定的干扰识别与排除方法的选择。</p>
<b>学 时：12 学时</b>
<b>教学方法及手段：</b> 多媒体讲授
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;"><b>药物制剂的分析</b></p> <p>第1节 药物制剂分析的特点</p> <p>定义：药物制剂分析的概念</p> <p>制剂与原料的区别：</p> <p>辅料对分析的影响</p> <p>制剂分析的复杂性</p> <p>分析项目差异：</p> <p>剂型间检测项目的不同</p> <p>杂质检查项目的不同</p> <p>分析项目的要求不同</p>

含量测定表示方法与限度不同

## 第2节 片剂的分析

片剂概述

定义与分类

组成及分析步骤

分析流程

常规检查项目

片剂的特殊检查

### 1. 重量差异

方法：取一定数量的样品，称量每片重量，计算平均值和标准偏差。

注意事项：称量过程中避免样品受到污染。

### 2. 崩解时限

方法：使用崩解仪，在规定的条件下观察片剂完全崩解的时间。

注意事项：确保水温符合规定温度，且每次试验前检查设备是否正常。

### 3. 含量均匀度

方法：取一定数量的样品，分别进行含量测定，计算平均值并与标准比较。

注意事项：使用合适的分析方法确保准确性。

### 4. 溶出度

方法：使用溶出仪，在规定的条件下测量药物从片剂中溶出的速度。

注意事项：严格按照操作规程，确保溶出介质的温度和搅拌速度。

## 一、片剂的分析

### （一）性状

《中国药典》2025年版规定：片剂外观应完整光洁，色泽均匀，有适宜的硬度和耐磨性。

### （二）常规检查

片剂的常规检查项目有重量差异和崩解时限。除另有规定外，《中国药典》2025年版规定：检查含量均匀度的片剂，一般不再进行重量差异检查；检查溶出度的片剂，一般不再进行崩解时限检查。

### 1. 重量差异

（1）定义：系指按规定方法测定每片的重量与平均片重之间的差异程度。

（2）检查意义：控制各片重量的一致性，保证用药剂量的准确。

（3）检查方法：取供试品20片，精密称定总重量，求得平均片重后，再分别精密称定每片的重量。

（4）结果判断：每片重量与平均片重相比较（凡无含量测定的片剂或有标示片重的中药片剂，每片重量应与标示片重比较），超出重量差异限度的不得多于2片，并不得有

1 片超出限度 1 倍。

注意事项：

糖衣片的片芯需检查重量差异，包衣后不再检查。薄膜衣片在包衣后检查重量差异。

称量过程中，避免用手直接接触供试品；已取出的药品，不得放回供试品原包装容器内。

检查含量均匀度的片剂不需检查重量差异。

## 2. 崩解时限

(1) 定义：指口服固体制剂在特定条件下全部崩解溶散或成碎粒全部通过筛网（不溶性包衣材料或破碎的胶囊壳除外）所需的时间限度。

(2) 检查意义：片剂口服后，需经崩散、溶解，才能为机体吸收而达到治疗目的。

(3) 检查仪器：升降式崩解仪（吊篮、挡板）。

(4) 操作步骤：

将吊篮通过上端的不锈钢轴悬挂于金属支架上，浸入 1000ml 烧杯中，并调节吊篮位置使其下降时筛网距烧杯底部 25mm，烧杯内盛有温度为  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  的水，调节水位高度使吊篮上升至高点时筛网在水面下 15mm 处，升降的金属支架上下移动距离为  $55\text{mm} \pm 2\text{mm}$ ，往返频率为每分钟 30~32 次。

除另有规定外，取供试品 6 片，分别置上述吊篮的玻璃管中，启动崩解仪进行检查。

(5) 结果判断：

各片均应在规定时间内全部崩解。如有少量不能通过筛网，但已软化或轻质上漂且无硬芯者，可作符合规定论。如有 1 片不能完全崩解，应另取 6 片复试，均应符合规定。

注意事项：

在崩解时限检查过程中，烧杯内的水温应保持在  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

每崩解时限检查一次后，应清洗吊篮的玻璃内壁及筛网、挡板等，并重新更换水或规定的介质。

检查胶囊剂崩解限时，如胶囊上浮，需加挡板。

## 3. 含量均匀度

(1) 定义：系指小剂量或单剂量的固体、半固体和非均相液体制剂的每片（个）含量符合标示量的程度。

(2) 检查对象：除另有规定外，片剂、硬胶囊剂、颗粒剂或散剂等，每一个单剂标示量小于 25mg 或主药含量小于每一个单剂重量 25% 者；药物间或药物与辅料间采用混粉工艺制成的注射用无菌粉末；内充非均相溶液的软胶囊；单剂量包装的口服混悬液、透皮贴剂和栓剂等品种项下规定含量均匀度应符合要求的制剂，均应检查含量均匀度。

(3) 检查法：除另有规定外，取供试品 10 个，照各品种项下规定的方法，分别测定每一个单剂量以标示量为 100 的相对含量，求其均值和标准差以及标示量与均值之差的绝

对值。

(4) 结果判断 (具体标准略)

#### 4. 溶出度

(1) 定义: 系指活性药物从片剂、胶囊剂或颗粒剂等普通制剂在规定条件下溶出的速率和程度, 在缓释制剂、控释制剂、肠溶制剂及透皮贴剂等制剂中也称释放度。

(2) 检查意义: 固体制剂中的药物只有溶解之后, 才能被机体吸收。

(3) 检查仪器: 溶出度测定仪 (篮体、篮轴)

仪器使用步骤:

- 1) 开机
- 2) 调试 (转轴的安裝、仪器参数的设置)
- 3) 溶出介质的制备及脱气、温度控制
- 4) 溶出
- 5) 取样及过滤
- 6) 计算溶出度

(5) 结果判断: 符合下述条件之一者, 可判为符合规定:

- 1) 6 片 (粒、袋) 中、每片 (粒、袋) 的溶出量按标示量计算, 均不低于规定限度 ( $Q$ )。
- 2) 6 片 (粒、袋) 中, 如有 1~2 片 (粒、袋) 低于  $Q$ , 但不低于  $Q-10\%$ , 且其平均溶出量不低于  $Q$ 。
- 3) 6 片 (粒、袋) 中, 有 1~2 片 (粒、袋) 低于  $Q$ , 其中仅有 1 片 (粒、袋) 低于  $Q-10\%$ , 但不低于  $Q-20\%$ , 且其平均溶出量不低于  $Q$  时, 应另取 6 片 (粒、袋) 复试; 初、复试的 12 片 (粒、袋) 中, 有 1~3 片 (粒、袋) 低于  $Q$ , 其中仅有 1 片 (粒、袋) 低于  $Q-10\%$ , 但不低于  $Q-20\%$ , 且其平均溶出量不低于  $Q$ 。

片剂的特殊检查

检查项目	方法	注意事项
硬度	使用硬度仪测试片剂的硬度	确保测试条件的一致性
脆碎度	使用脆碎度仪测试片剂的脆碎度	避免外界因素影响测试结果
释放度	使用专用装置模拟体内药物释放情况	遵循相关指导原则进行实验
不溶性微粒	使用光阻法或其他适用的方法检测	仪器校准良好, 操作过程避免引入额外微粒

无菌	在无菌条件下接种样品到培养基上	严格遵守无菌操作规程
细菌内毒素或热原	使用鲎试剂或其他合适的方法检测	确保所有试剂和容器都是无菌的
装量	取一定数量的样品，测定装量	使用标化量筒，保证测量准确
装量差异	取一定数量的样品，称量装量	避免样品间的交叉污染
渗透压摩尔浓度	使用渗透压计测定	确保样品没有气泡，且温度恒定
可见异物	在特定光照条件下目测检查	检查环境应干净明亮，避免引入外来物质

### 第3节 注射剂的分析

注射剂系指原料药物或与适宜的辅料制成的供注入体内的无菌制剂。注射剂可分为注射液、注射用无菌粉末与注射用浓溶液。

#### (一) 性状

溶液型注射液应澄清

混悬型注射液原料药物粒度应控制在  $15\mu\text{m}$  以下，含  $15\sim 20\mu\text{m}$  者，不应超过 10%

乳状液型注射液应稳定，不得有相分离现象；静脉用乳状液型注射液中 90% 的乳滴的粒度应在  $1\mu\text{m}$  以下，不得有大于  $5\mu\text{m}$  的乳滴

#### (二) 常规检查

##### 1. 装量（注射液和注射用浓溶液）

(1) 检查意义：保证单剂量注射液的注射用量不少于标示量，以达到临床用药剂量的要求。

(2) 检查方法：标示装量为不大于 3ml 者，取 5 支（瓶）；3ml 以上至 10ml 者取供试品 3 支（瓶）。开启时注意避免损失，将内容物分别用相应体积的干燥注射器及注射针头抽尽，然后缓慢连续地注入经标化的量入式量具内，在室温下检视。每支（瓶）的装量均不得少于其标示量。

##### 2. 装量差异（注射用无菌粉末）

(1) 检查意义：保证药物含量的均匀性，保证临床用药剂量的准确。

(2) 检查方法：取供试品 5 瓶（支），除去标签、铝盖，容器外壁用乙醇擦净，干燥，开启时注意避免玻璃屑等异物落入容器中，分别迅速精密称定。倾出内容物，容器用水或乙醇洗净，在适宜条件干燥后，再分别精密称定每一容器的重量，求出每瓶（支）的

装量与平均装量。每瓶（支）装量与平均装量相比较（如有标示装量，则与标示装量相比较），应符合规定。如有 1 瓶（支）不符合规定，应另取 10 瓶（支）复试，均应符合规定。

### 3. 可见异物

（1）定义：指存在于注射剂、眼用液体制剂和无菌原料药中，在规定条件下目视可以观测到的不溶性物质，其粒径或长度通常大于  $50\ \mu\text{m}$ 。

（2）检查意义：注射液中若有不溶性微粒，使用后可能引起静脉炎、过敏反应，较大的微粒甚至可以堵塞毛细血管。

（3）检查方法：有灯检法和光散射法。一般常用灯检法，也可采用光散射法检查。

（4）操作步骤（灯检法）：

取供试品 20 支（瓶），除去容器标签，擦净容器外壁，将供试品置遮光板边缘处，在明视距离（通常为 25cm），手持容器颈部，轻轻旋转和翻转容器（但应避免产生气泡），使药液中可能存在的可见异物悬浮，分别在黑色和白色背景下目视检查，重复观察，总检查时限为 20 秒。供试品装量每支（瓶）在 10ml 及 10ml 以下的，每次检查可手持 2 支（瓶）。50ml 或 50ml 以上大容量注射液按直、横、倒三步法旋转检视。

（5）结果判断：

供试品中不得检出金属屑、玻璃屑、长度超过 2mm 的纤维、最大粒径超过 2mm 的块状物等明显可见异物。溶液型静脉用注射液：初试如检出可见异物的供试品超过 2 支（瓶），不符合规定；如 1 支（瓶）检出，应另取 20 支（瓶）同法检查，初、复试 40 支（瓶）超过 1 支（瓶）检出，不符合规定。

注意事项：

灯检法应在避光室内或在暗处进行。

检查人员视力应为 4.9 或以上，无色盲。

供试品至人眼的距离，通常为 25cm。

分别在黑色和白色背景下目视检查，总检查时限为 20 秒。

50ml 或以上大容量注射液按直、横、倒三步法旋转检视。

### 4. 不溶性微粒

（1）定义：在可见异物检查符合规定后，检查静脉用注射液中不溶性微粒的大小和数量。

（2）检查方法：光阻法和显微计数法。

（3）判断标准：光阻法为每 1ml 中含  $10\ \mu\text{m}$  及以上的微粒不得过 25 粒，含  $25\ \mu\text{m}$  及以上的微粒不得超过 3 粒。

### 5. 无菌、细菌内毒素或热原

测定方法：分别照《中国药典》2025 年版通则“无菌检查法”“细菌内毒素检查法”

“热原检查法”检查。

注射剂的特殊检查

检查项目	方法	注意事项
异常毒性	通过动物实验评估注射剂的安全性	遵循伦理指导原则
降压试验	检测药物是否会导致血压下降	需要专业实验室条件和训练有素的人员
过敏反应	评估药物引起的潜在过敏反应	需要专业的医疗监督

#### 第 4 节 片剂和注射剂的含量测定

常见干扰的排除

##### 1. 片剂中常用辅料的干扰及排除

###### (1) 糖类的干扰和排除

干扰：氧化还原滴定法（高锰酸钾法、溴酸钾法）

排除方法：避免使用氧化性强的滴定剂

###### (2) 硫酸钙和碳酸钙的干扰及排除

干扰：配位滴定法

排除方法：可通过调整 pH、加入掩蔽剂，或采用其他方法进行测定

###### (3) 硬脂酸镁的干扰及排除

干扰：配位滴定法和非水溶液滴定法

排除方法：

配位滴定法：调节酸碱度，选用合适的指示剂或用掩蔽剂

非水溶液滴定法：①用有机溶剂提取主药；②主药为水溶性时酸化或碱化后用有机溶剂提取；③主药量很少时用紫外-可见分光光度法测定

###### (4) 滑石粉等的干扰及排除

干扰：紫外-可见分光光度法、比色法、比浊法及旋光法

排除方法：滤过，除去干扰物

##### 2. 注射剂中常见附加剂的干扰及排除

###### (1) 抗氧剂的干扰及排除

常用抗氧剂：亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、硫代硫酸钠、维生素 C 等

干扰：对氧化还原滴定法及亚硝酸钠滴定法有干扰

排除方法：①加入掩蔽剂（丙酮或甲醛）；②加酸使抗氧剂分解；③加入弱氧化剂

(2) 渗透压调节剂的干扰及排除

干扰：氯化钠中的氯离子和钠离子分别对银量法和离子交换法有干扰

(3) 助溶剂的干扰及排除

干扰：葡萄糖酸钙注射液中的氢氧化钙干扰配位滴定法

排除方法：在制备过程中控制钙盐的用量

(4) 溶剂水的干扰及排除

干扰：对非水溶液滴定法有干扰

排除方法：水浴上加热蒸发或 105℃ 下干燥

(5) 溶剂油的干扰及排除

排除方法：①用有机溶剂稀释；②用有机溶剂提取后再测定

制剂的有关计算

(一) 容量分析法测定制剂含量的计算公式

例题 1：甲苯磺丁脲片剂

标示量 0.5g，10 片重 5.9480g，称取片粉 0.5996g

消耗氢氧化钠滴定液 (0.1008mol/L) 18.47ml

每 1ml 氢氧化钠滴定液 (0.1mol/L) 相当于 27.04mg

结果：含量合格

例题 2：盐酸普鲁卡因注射液

规格 1ml:50mg，取 2ml 测定

消耗亚硝酸钠滴定液 (0.1032mol/L) 3.50ml

每 1ml 亚硝酸钠滴定液 (0.1mol/L) 相当于 27.18mg

结果：含量合格

(二) 光谱学方法测定制剂含量的计算公式

例题 1：甲硝唑片

标示量 50mg，10 片重 0.5988g，称取片粉 0.0598g

测定吸光度 0.449，吸收系数 377

结果：合格

例题 2：马来酸氯苯那敏注射液

标示量 1ml:10mg，取 2ml 测定

测定吸光度 0.432，吸收系数 217

结果：合格

例题 3：甲氧苄啶片

标示量 50mg，20 片重 1.2003g，称取 0.05783g

供试品吸光度 0.420，对照品 0.412 (51.34mg)

结果：不合格

(三) 色谱法测定制剂含量的计算公式

作业：

完成学习通计算题

章： 第九章
课题： 药物稳定性试验
<p><b>教学目标及要求</b>（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>教学内容： 讲解药物稳定性试验的目的、类型（影响因素、加速、长期）及药品有效期的确定。</p> <p>教学目标：</p> <p>1、知识目标：</p> <p>①掌握影响因素试验、加速试验与长期试验的条件与目的</p> <p>②熟悉稳定性研究中的考察项目与指标</p> <p>③了解有效期的统计分析确定方法</p> <p>2、能力目标：</p> <p>①能够制定简单的药物稳定性试验方案</p> <p>②具备正确使用稳定性试验箱的能力</p> <p>③能对稳定性数据进行初步整理和分析</p> <p>3、素养目标：</p> <p>①培养药品全生命周期质量管理的意识</p> <p>②建立前瞻性质量控制思维</p> <p>③养成科学预测、严谨验证的习惯</p> <p>4、课程思政：</p> <p>①通过研究药物随时间的变化，引导学生树立发展、变化的辩证观</p> <p>②强调对药品未来质量负责，即是对患者未来生命负责</p> <p>③培养严谨、持续的科研态度，拒绝急功近利</p>
<p><b>教学重点及难点：</b></p> <p><b>教学重点：</b> 影响因素试验、加速试验与长期试验的条件设置与目的。</p> <p><b>教学难点：</b> 稳定性数据的统计分析 &amp; 有效期的科学推算方法。</p>
<b>学 时： 1 学时</b>
<b>教学方法及手段：</b> 多媒体讲授
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;"><b>药物稳定性试验</b></p> <p><b>一、药物稳定性试验的目的和内容</b></p> <p><b>（一）药物稳定性试验的目的</b></p> <p>为药品的生产、包装、贮存、运输条件提供科学依据；考察原料药物或制剂在温度、湿度、光线的影响下随时间变化的规律；建立药品的有效期。</p> <p><b>（二）药物稳定性试验的基本要求</b></p> <p>影响因素试验用 1 批原料药物或 1 批制剂，生物制品应直接使用 3 个批次。加速试验与长期试验用 3 批供试品。</p> <p>原料药物供试品应是一定规模生产的。</p> <p>加速试验与长期试验所用供试品的包装应与拟上市产品一致。</p> <p>要采用专属性强、准确、精密、灵敏的药物分析方法与有关物质的检查方法，并对方法进</p>

行验证。

从放大试验转入规模生产时，对最初通过生产验证的 3 批规模生产的产品仍需进行加速试验与长期稳定性试验。

对包装在有通透性容器内的药物制剂应当考虑药物的湿敏感性或可能的溶剂损失。

## 二、原料药稳定性考察的项目

### （一）影响因素试验

**高温试验：** 温度一般高于加速试验温度 10℃ 以上，如 60℃，可设定为 0 天、5 天、10 天、30 天等取样，按稳定性重点考察项目进行检测。

**高湿试验：** 在 25℃ 分别于相对湿度 90%±5% 条件下放置 10 天，于第 5 天和第 10 天取样，按稳定性重点考察项目要求检测。

**强光照射试验：** 选择输出相似于 D65/ID65 发射标准的光源，或同时暴露于冷白荧光灯和近紫外灯下，照度为 4500lx±500lx。

### （二）加速试验

**目的：** 通过加速药物的化学或物理变化，探讨药物的稳定性，为制剂设计、包装、运输、贮存提供必要的资料。

**条件：** 供试品在温度 40℃±2℃、相对湿度 75%±5% 的条件下放置 6 个月。

### （三）长期试验

**目的：** 为制定药物的有效期提供依据。

**条件：** 供试品在温度 25℃±2℃，相对湿度 60%±10% 的条件下放置 12 个月，或在温度 30℃±2℃、相对湿度 65%±5% 的条件下放置 12 个月，每 3 个月取样一次。

## 三、制剂稳定性考察的项目

### （一）影响因素试验

**目的：** 考察制剂处方的合理性与生产工艺及包装条件。

**条件：** 供试品用 1 批进行高温试验、高湿试验与强光照射试验，试验条件、方法、取样时间与原料药相同。

### （二）加速试验

**目的：** 通过加速药物制剂的化学或物理变化，探讨药物制剂的稳定性，为处方设计、工艺改进、质量研究、包装改进、运输、贮存提供必要的资料。

**条件：** 供试品在温度 40℃±2℃、相对湿度 75%±5% 的条件下放置 6 个月。

### （三）长期试验

**目的：** 为制订药品的有效期提供依据。

**条件：** 供试品在温度 25℃±2℃、相对湿度 60%±5% 的条件下放置 12 个月，或在温度 30℃±2℃、相对湿度 65%±5% 的条件下放置 12 个月，每 3 个月取样一次。

## 四、药包材相容性的稳定性考察

### （一）药包材的定义与分类

**定义：** 药包材是指药品生产企业生产的药品和医疗机构配制的制剂所使用的直接接触药品的包装材料和容器。药品应使用有质量保证的药包材，药包材在药物的有效期内应保证质量稳定。

**分类：**

**按用途分类：**

I 类药包材：直接接触药品且直接使用的药品包装用材料、容器。

II 类药包材：直接接触药品，但便于清洗，在实际使用过程中，经清洗后需要并可以消毒灭菌的药品包装用材料、容器。

III 类药包材：I、II 类以外其它可能直接影响药品质量的药品包装用材料、容器。

### 按材质分类：

**塑料类：**如药用低密度聚乙烯滴眼剂瓶、口服固体药用高密度聚乙烯瓶、聚丙烯输液瓶等。

**玻璃类：**有钠钙玻璃输液瓶、低硼硅玻璃安瓿瓶、中硼硅管制注射剂瓶等。

**橡胶类：**有注射液用氯化丁基橡胶塞、药用合成聚异戊二烯垫片、口服液体药用硅橡胶垫片等。

**金属类：**如药用铝箔、铁制的清凉油盒。

**其他类：**如纸、干燥剂等。

### （二）药包材的相容性研究

**目的：**检验药包材是否适用于预期用途，必须充分评价其对药物稳定性的影响，评价其在长期的储存过程中，在不同的环境条件下（如温度、湿度、光线等），在运输过程中（如与药物接触反应、对药物的吸附等）、药包材对药物保护效果和本身物理、化学、生物惰性。

**原则：**试验过程中应考虑剂型的风险水平和药物与药包材相互作用的可能性，既要考察包装材料与药物之间潜在的相互作用，又要评估包装材料是否影响到药物的质量和稳定性。

### （三）药包材相容性的稳定性考察

**考察药包材为目的时：**应选用3批包材制成的容器对拟包装的同一批药物进行试验。

**考察药物为目的时：**应选用3批药物对拟上市包装的同一批包材包装后进行试验。

**影响因素试验：**选取一批中试产品和参比制剂，除去内包装，分散为单层进行适宜条件的试验。条件包括高温（如60℃或40℃）、高湿（如92.5%、75%）和光照等。在一定时间点（如第5天和第10天）取样，考察药品的性状、含量、有关物质等，以及高湿增加的吸湿增重项目。

### 药包材的选择与评估：

**玻璃容器：**重点考察玻璃中碱性离子的释放对药液pH的影响；有害金属元素的释放；不同温度（尤其冷冻干燥时）不同酸碱条件下玻璃脱片；含有着色剂的避光玻璃被某些波长的光线透过，使药物分解；玻璃对药物的吸附以及玻璃容器的针孔、瓶口歪斜等项目。

**金属：**重点考察药物对金属的腐蚀；金属离子对药物稳定性的影响；金属上保护膜试验前后的完整性等项目。

**塑料：**重点考察水蒸气、氧气的渗入；水分、挥发性药物的渗出；脂溶性药物、抑菌剂向塑料的转移；塑料对药物的吸附；溶剂与塑料的作用；塑料中添加剂，加工时分解产物对药物的影响；微粒、密封性等。

**橡胶：**重点考察其中各种添加物的溶出对药物的影响；橡胶对药物的吸附以及填充材料在溶液中的脱落等项目。对注射剂、粉针、口服溶液剂等进行试验时，瓶子应倒置、侧放，使药液能充分与橡胶塞接触。

**加速试验与长期试验：**加速试验是在一定条件下模拟药品在贮存和使用过程中可能发生的变化，以评估药品的稳定性。长期试验则是为了更真实地模拟药品在实际使用过程中的稳定性，通常需要更长的时间和更严格的条件。

**临床使用条件下的稳定性研究：**对于需要溶解或者稀释后使用的药品，如注射用无菌粉末、溶液片剂、干混悬剂等，还需要考察临床使用条件下的稳定性。包括药品在使用过程中可能遇到的各种环境因素（如温度、湿度、光照等）对药品稳定性的影响。

## 五、药物包装系统密封完整性的稳定性考察

### （一）药物包装系统密封完整性的研究意义

**药物包装系统：**是指容纳和保护药品的所有包装组件的总和，包括直接接触药品的包装组件和次级包装组件。

**容器密封完整性的研究：**旨在评估药品包装系统是否能够有效地隔绝外界环境，防止微生物

物、水分、气体和其他潜在污染物的侵入，同时保持药品的稳定性和有效性。

**目的：** 保护药品不受这些因素的影响，确保药品在整个有效期内保持其疗效和安全性。

**无菌产品的容器密封系统要求：** 应防止内容物损失、微生物侵入以及气体(氧气、空气、水蒸气等)或其他物质进入，确保包装系统能够充分保护产品，免受储存、运输和使用过程中可预见的外部因素导致的产品污染或变质。

## (二) 药物包装系统密封完整性的研究内容

### 相关法律法规：

美国药典 USP1207：最早提出需对容器密封完整性检查 (container-closure integrity test, CCIT)。

《化学药品注射剂包装系统密封性研究技术指南 (试行)》(国家药品监督管理局药品审评中心于 2020 年 10 月)：重点对注射剂包装系统密封性检查方法的选择和验证进行阐述。国家药典委员会 (2024 年 2 月)：“2025 版药典《无菌药品包装系统密封性指导原则》征求意见稿公示”。

**总体考虑：** 注射剂包装系统的泄漏类型主要包括：微生物的侵入；药品逸出或外部液体/固体的侵入；顶空气体含量改变 (例如，顶空惰性气体损失、真空破坏和/或外部气体进入)。

**研究时间：** 持续贯穿整个产品生命周期，包括产品开发初期、产品工艺的开发期、密封性检查方法的开发和验证期、稳定性初期和末期外其他时间点、商业化生产期、药品上市后。

### 研究验证及生命周期的管理：

**包装密封系统的设计选择：** 产品包装的设计选择应基于注射剂的质量需求 (如产品的无菌性和顶空气体的维持)，考虑产品内容物、生产工艺、稳定性需求、储存和分发环境、产品最终使用方式等。

**产品工艺开发及验证：** 关注影响包装密封性的关键因素，如关键步骤、工艺条件、生产线及该包装系统的历史经验。

**包装密封性检查方法的选择：** 密封性检查方法分为确定性方法 (包括高压放电法、激光顶空法、质量提取法、压力衰减法和真空衰减法) 和概率性方法 (包括气泡释放法、微生物挑战法、示踪气检测法、液体示踪法) 两大类。

**包装密封性检查方法验证：** 重点关注方法灵敏度的考察，通过挑战性重复测试存在和不存在泄漏缺陷的包装确认方法灵敏度。

**稳定性考察的密封性要求：** 初期和末期进行无菌检查，其他时间点可采用包装系统密封性检查替代。

**拟定生产阶段的密封性检查：** 熔封的产品玻璃或塑料安瓿等应当作 100% 的密封性检测，其他包装容器的密封性应当根据操作规程进行抽样检查。

**药品上市后的变更研究：** 当包装设计、包装材料和/或生产工艺条件等变更可能影响包装密封性时，应考虑对产品包装系统密封性进行再评估和再验证。

## 六、稳定性试验结果的评价

### (一) 稳定性试验的意义

基于对原料药或制剂及其生产工艺的系统研究和理解，通过设计试验获得原料药或制剂的质量特性在各种环境因素 (如温度、湿度、光线照射等) 的影响下随时间变化的规律，并据此为药品的处方、工艺、包装、贮藏条件和有效期/复检期的确定提供支持性信息。

### (二) 稳定性试验结果的评价

**原料药：** 对至少 3 个批次的原料药试验及稳定性资料的评估 (包括物理、化学、生物学和微生物学等的试验结果)，建立适用于将来所有在相似环境条件下生产和包装的所有批次原料药的有效期 (复检期)。

**制剂：**系统陈述并评估制剂的稳定性信息，包括物理、化学、生物学和微生物学等的试验结果，以及制剂的特殊质量属性（如：固体口服制剂的溶出度等）。稳定性研究的最终目的是根据至少 3 个批次制剂的试验结果，确定将来所有在相似环境条件下生产和包装的制剂的有效期和说明书/标签上的贮藏说明。

**具体评价：**

稳定性数据表明试验原料药的降解与批次间的变异均非常小，从数据上即可明显看出所申请的有效期（复检期）是合理的，此时通常不必进行正式的统计分析。

稳定性数据显示试验原料药有降解趋势，且批次间有一定的变异，则建议通过统计分析的方法确定其有效期（复检期）。

对可能会随时间变化的定量指标（通常为活性成分的含量、降解产物的水平及其他相关的质量属性等）进行统计分析。

**（三）稳定性试验的承诺**

原料药与制剂当申报注册的 3 个生产批次样品的长期稳定性数据已涵盖了建议的有效期（复检期），无需进行批准后的稳定性承诺；但是，如有下列情况之一时应进行承诺：

尚未至有效期（复检期），则应承诺继续进行研究直到建议的有效期（复检期）。

稳定性试验数据少于 3 批，则应承诺继续进行研究直到建议的有效期（复检期），同时补充生产规模批次至少至 3 批。

未包含生产批次样品的稳定性试验数据（仅为注册批次样品的稳定性试验数据），则应承诺采用生产规模生产的前 3 批样品进行长期稳定性试验，直到建议的有效期（复检期）。

作业：

完成学习通计算题

章： 第十章
课题： 药物分析方法的验证
<p><b>教学目标及要求</b>（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>教学内容： 介绍分析方法验证的指标（专属性、线性、范围、准确度、精密度等）及验证方案的设计。</p> <p>教学目标：</p> <p>1、知识目标：</p> <p>①掌握分析方法验证的各项指标及其定义</p> <p>②熟悉准确度、精密度等参数的计算方法</p> <p>③了解验证报告的基本内容与要求</p> <p>2、能力目标：</p> <p>①能够设计简单的分析方法验证实验方案</p> <p>②具备使用统计学方法处理验证数据的能力</p> <p>③能正确评价一个分析方法是否可靠</p> <p>3、素养目标：</p> <p>①培养“方法可靠，数据可信”的科学严谨性</p> <p>②建立质量源于设计的理念</p> <p>③强化统计学在质量分析中的应用意识</p> <p>4、课程思政：</p> <p>①通过验证的严格要求，培养学生求真务实、拒绝虚假的科学精神</p> <p>②强调验证过程中的标准化操作，体现规则意识</p> <p>③类比人生需要不断“验证”自我，追求卓越品质</p>
<p><b>教学重点及难点：</b></p> <p><b>教学重点：</b> 分析方法验证的各项指标（专属性、准确度、精密度等）的定义与要求。</p> <p><b>教学难点：</b> 验证数据的统计学处理及方法可靠性（耐用性）的综合评价。</p>
学 时： 1 学时
教学方法及手段： 多媒体讲授
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;"><b>药物分析方法的验证</b></p> <p>一、分析方法验证的内容</p> <p>（一）专属性</p> <p>专属性系指在其他成分（如杂质、降解产物、辅料等）可能存在下，采用的方法能准确测定出被测物的特性。</p> <p>（二）准确度</p> <p>准确度系指用该方法测定的结果与真实值或参考值接近的程度，一般用回收率（%）表示。</p> <p>（三）精密度</p> <p>精密度系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。精密度包括重复性、中间精密度和重现性。</p>

#### (四) 检测限

检测限 (LOD) 系指试样中的被测物能被检测出的最低量。

**直观法:** 用已知浓度的被测物, 试验出能被可靠地检测出的最低浓度或量。

**信噪比法:** 一般以信噪比为 3:1 时相应浓度或注入仪器的量确定检测限。

**基于响应值标准偏差和标准曲线斜率法:**  $LOD=3.3\delta/S$

**数据要求:** 检测限数据须用含量相近的样品进行验证。

#### (五) 定量限

定量限 (LOQ) 系指试样中的被测物能被定量测定的最低量, 其测定结果应符合准确度和精密度要求。

**直观法:** 用已知浓度的被测物, 试验出能被可靠地定量测定的最低浓度或量。

**信噪比法:** 一般以信噪比为 10:1 时相应浓度或注入仪器的量确定定量限。

**基于响应值标准偏差和标准曲线斜率法:**  $LOQ=10\delta/S$

**数据要求:** 定量限数据须用含量相近的样品进行验证。

#### (六) 线性

线性系指在设计的范围内, 线性试验结果与试样中被测物浓度直接呈比例关系的能力。

#### (七) 范围

范围系指分析方法能达到精密度、准确度和线性要求时的高低限浓度或量的区间。

**原料药和制剂:** 一般为测定浓度的 80%~120%

**制剂含量均匀度检查:** 一般为限度的  $\pm 30\%$

**溶出度或释放度:** 一般为测定浓度的 70%~130%

#### (八) 耐用性

耐用性指在测定条件有小的变动时, 测定结果不受影响的承受程度, 为所建立的方法用于常规检验提供依据。

### 二、分析方法验证的设计

#### (一) 明确实验目的

确定适合的分析方法

验证方法的线性、范围、准确度等

优化分析条件

评估方法的稳定性

#### (二) 实验材料与方法

**对照品:** 纯度大于 99%

**试剂:** 分析纯级的酸、碱、有机溶剂等

**仪器:** 高效液相色谱仪等

**样品:** 纯度大于 99% 的药物样品

**色谱柱:** 选择合适的色谱柱

**实验方法:** 选择合适的实验方法

#### (三) 实验步骤

方法开发

方法优化

标准曲线制作

样品分析

方法验证

稳定性测试

#### (四) 实验结果与讨论

**范围：**方法的定量下限为 X  $\mu\text{g/mL}$ ，定量上限为 Y  $\mu\text{g/mL}$

**准确度：**回收率在 95%~105%之间

**精密度：**重复性实验的 RSD 小于 2%

**标准曲线：**相关系数大于 0.999

**稳定性：**药物成分在实验条件下保持稳定

**耐用性：**响应信号变化在可接受范围内

#### (五) 结论

本实验成功建立并验证了一种分析方法，该方法具有良好的线性、范围、准确度、精密度和耐用性，适用于药物中特定成分的定量分析。同时，该方法在短期和长期稳定性测试中表现稳定，可以用于实际样品分析。

### 三、分析方法验证的分析实例

#### (一) 药物简介

(以 ROX 药物为例)

#### (二) 分析方法验证

##### 色谱条件：

色谱柱：DIONEX-Acclaim C-18 柱 (250 mm×4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ )

流动相：0.3%磷酸缓冲液 (用三乙胺调节 pH 值至 6.2) -乙腈 (78 : 22)

流速：1.0  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$

检测波长：275 nm

进样量：20  $\mu\text{L}$

##### 线性关系考察：

精密称取 ROX 工作对照品适量，用流动相配制成浓度为 2.5、10、20、50、100、150  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的系列溶液。分别取上述各溶液 20  $\mu\text{L}$  进行液相色谱测定，将 ROX 峰面积 A 与其浓度 C ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 进行线性回归，得回归方程为：A=0.0935C-0.0006, r=0.9999。

##### 回收率试验：

按处方量 120%、100%、50%精密称取 ROX，按处方比例加入其它辅料，用流动相加至约 2/3，超声 20 min，静置至室温，稀释至刻度，过滤，配制成高、中、低 3 种浓度的 ROX 溶液 (每种浓度各配置 5 份)，分别取上述浓度的溶液 20  $\mu\text{L}$  进样，进行液相色谱测定，每个浓度测定 5 次，记录峰面积，计算回收率。

##### 精密度试验：

按处方量 120%、100%、50%配制成高、中、低 3 种浓度的 ROX 溶液 (每种浓度各配置 3 份)，分别取上述浓度的溶液 20  $\mu\text{L}$  进样，进行液相色谱测定，每个浓度一天内重复测定 5 次，求算日内相对标准偏差；每天测定一次，连续测定 5 天，求算日间相对标准偏差。

### 四、分析方法的确认与转移

#### (一) 分析方法的确认

**确认原则：**一般无需对法定方法进行完整的再验证。

**确认要求：**分析方法确认应包含对影响方法的必要因素的评估。

**确认豁免：**如果没有特别说明，药典收载的通用检测方法无需确认。

#### (二) 分析方法转移

分析方法转移，是一个文件记录和实验确认的过程，目的是证明一个实验室 (方法接收实验室) 在采用另一实验室 (方法建立实验室) 建立并经过验证的非法定分析方法检测样品时，该实验室有能力成功地操作该方法，检测结果与方法建立实验室检测结果一致。

**转移类型：**转移要素，转移方通常是方法开发方；接收方可能是质量控制部门、公司内部的其他部门，或其他公司。

**转移方案：** 双方通过讨论达成共识并制订文件形成转移方案。

**转移方法：** 应详细阐述分析方法的细节并进行明确的指导说明。

**转移报告：** 接收方应起草方法转移报告，报告应提供与可接受标准相关的实验结果，确认接收方已具备使用所转移分析方法的资格。

作业：

完成学习通计算题

章： 第十一章
课题： 体内药物分析
<p><b>教学目标及要求</b>（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>教学内容： 讲解生物样品（血、尿）的前处理特点及体内药物分析在临床药理学和药物监测中的应用。</p> <p>教学目标：</p> <p>1、知识目标：</p> <p>①掌握生物样品基质复杂、浓度低的特点</p> <p>②熟悉体内药物分析常用的样品前处理方法（如蛋白沉淀）</p> <p>③了解治疗药物监测（TDM）的临床意义</p> <p>2、能力目标：</p> <p>①能够区别体内分析与体外分析的差异</p> <p>②具备处理生物样品的基本操作技能</p> <p>③能初步解读血药浓度监测报告</p> <p>3、素养目标：</p> <p>①培养对微量分析的精准控制意识</p> <p>②强化生物安全意识</p> <p>③建立药物分析与临床个体化给药相结合的思维</p> <p>4、课程思政：</p> <p>①通过 TDM 实现个体化治疗，体现对每一个生命的尊重与关爱</p> <p>②强调生物样本的伦理要求，保护患者隐私</p> <p>③激发学生探索未知、攻克复杂基质分析难题的勇气</p>
<p><b>教学重点及难点：</b></p> <p><b>教学重点：</b> 生物样品（血、尿）的特点及常用前处理方法（蛋白沉淀、液液萃取）。</p> <p><b>教学难点：</b> 生物基质复杂、药物浓度低对分析方法的灵敏度与专属性提出的挑战。</p>
<b>学 时： 1 学时</b>
<b>教学方法及手段：</b> 多媒体讲授
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;"><b>体内药物分析</b></p> <p><b>一、概述</b></p> <p><b>（一）体内药物分析的性质</b></p> <p>体内药物分析是通过各种分析手段，了解药物在体内的数量和质量的变化的变化，获得各种药物代谢动力学的各种参数，药物在体内的生物转化、代谢的方式和途径等信息，从而为药物生产、实验研究、临床医疗等方面对所研究的药物作出估计与评价，以及对药物的改进和发展作出贡献。</p> <p><b>（二）体内药物分析的任务</b></p> <p>进行体液和组织中药物及其代谢物的测定，为临床药物监测、药物动力学等方面提供数据与信息。</p> <p>进行方法学研究，提供合理的最佳分析条件；探讨各种方法应用于体内药物分析中的规律</p>

性问题。

参与临床和药理研究，对所获得结果进行阐明工作。

### （三）体内药物分析的特点

样品复杂，干扰杂质多。

样品量少，不易重新获得。

要求简便、快速、准确。

实验室要拥有多种仪器设备，拥有样品冷贮、萃取、浓集以及多种检测条件，可进行多项分析工作。

工作量大。

### （四）样品的种类

血样能较好的反映药物浓度和治疗作用之间的关系，因此最常被用。

尿液常用来测定尿药浓度或药物的代谢产物，尿液同时可用于药物生物利用度、尿液排泄及毒代动力学的测定。

唾液采集最方便，且有时与血浆游离药物浓度具有相关性而时有使用。

其他样品：毛发、乳汁、泪液、脊髓液、汗液、胆汁、羊水、精液、粪便以及各种组织或其他接近有关药物作用点的检体。

## 二、样品的种类、采集与贮存

### （一）样品的采集

采集原则：

根据不同的分析目的和要求进行选取。

所取样品应能正确反应药物浓度与效应之间的关系。

样品应易于获取，便于处理、分析。

**血样：** 体内药物分析中最常用的血样包括血浆、血清和全血，其中选用最多的是血浆。

**采集方法：**（具体方法详见正文）

**血样制备：**

血浆：实际工作中制备血浆时最常用的抗凝剂为肝素。

血清：其量约为全血的 30%-50%。血清与血浆基本成分相同，血清是除去纤维蛋白原的血浆。

全血：详见正文。

**血样采集的量：** 血样的取样量受到一定限制，尤其是间隔时间较短的多次取样。一般取血量为 1~3ml。

**血样的取样时间间隔：** 血样的取样时间间隔随测定目的不同而异。

**尿液：**

尿药浓度测定主要用于药物剂量回收、肾清除率和生物利用度的研究以及药物代谢类型的测定。体内药物清除主要是通过尿液排出，药物以原型或代谢物及其缀合物形式排出。

尿液中药物浓度较高，但浓度变化也较大。

尿液测定时宜测定用药后一定时间内（8 小时或 12 小时或 24 小时或更长时间）尿液中药物的总量。

尿液取样后应即时测定。

**唾液：**

唾液作为样品的优点是样品容易获得，取样是无损性的，易为受试者（尤其是儿童患者）接受；唾液中某些药物的浓度与血浆相关，可从唾液中药物浓度推定血浆中药物浓度。

唾液的 pH 约在 6.9±0.5。唾液的分泌量每日 1~1.5L，其个体差异较大，同一人也有变化。

### （二）样品的贮存与稳定性

### **贮存:**

取样后应立即进行分析测定。若不能立即测定时, 应予冷藏(4℃)或冷冻(-20℃)保存, 即使这样也不能保证样品不起变化, 只是延缓变化的速度。

血浆或血清: 应在采血后及时分离, 分离后再进行冰冻保存, 若不预先分离, 则因冰冻, 有时易引起细胞溶解, 阻碍血浆或血清的分离。

尿液: 尿液主要成分是水、尿素及盐类, 是很好的细菌生长液, 所以常采取冷藏方法或加防腐剂, 以及改变尿液酸碱碱性来抑制微生物生长。

组织性样品: 多在-20℃速冻, 无需加防腐剂。

### **稳定性:**

两种情况: 一种是待测样品贮存中的稳定性; 另一种是添加对照品和标准品的使用期限。

常用的检测稳定性的方法有两种:

重复测定(将样品在4℃下贮存, 每隔二周测定一次)样品法。

在预期的范围内配制标准系列样品, 然后贮存, 与所贮存样品一起分析, 以观察其变化。

## **三、样品的制备**

### **(一) 制备方法的选择**

生物样品的类型

药物的理化性质和浓度范围

药物测定的目的

样品制备与分析技术的关系

### **(二) 蛋白质的去除**

加入沉淀剂和变性试剂:

加入中性盐

加入酸

加入金属离子

加入可与水混溶的有机溶剂

酶消化法

### **(三) 提取净化**

生物样品经除去蛋白质等处理后, 接着是从样品中分离提取药物。提取方法可分为液-液提取和液-固提取。

### **液-液提取:**

溶剂的pH调节

提取溶剂的选择

提取技术

### **固相萃取:**

亲水性担体

疏水性或离子交换树脂担体

### **(四) 样品的浓集**

一种方法用尽量少的萃取液, 使被测组分萃取到小体积溶剂中, 然后直接吸取适量进样分析测定。

另一种采用挥去溶剂的方法。

### **(五) 生物样品中待测组分的衍生化**

衍生化处理在气相色谱法中应用最普遍。

在高效液相色谱法中有时也采用柱前或柱后衍生化。

## **四、常用体内药物分析方法与应用**

**(一) 常用体内药物分析方法**

HPLC、GC、以及 GC-MS、LC-MS、LC-MS-MS 联用技术。

**(二) 分析方法的基本要求**

专属性

标准曲线与线性范围

精密度与准确度

定量下限 (LLOQ)

样品稳定性

提取回收率

基质效应

**(三) 应用实例**

荧光分光光度法测定体液中氨苄青霉素

反相高效液相色谱法测定血清中对乙酰氨基酚的浓度

作业:

完成学习通计算题

章： 第十二章
课题： 中药的分析
<p><b>教学目标及要求</b>（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>教学内容：介绍中药分析的复杂性、特点以及指纹图谱技术在中药质量控制中的应用。</p> <p>教学目标：</p> <p>1、知识目标：</p> <p>①掌握中药分析的特点（多组分、干扰多）</p> <p>②熟悉中药中各类有效成分（生物碱、苷类）的常用分析方法</p> <p>③了解中药指纹图谱的概念与应用</p> <p>2、能力目标：</p> <p>①能够根据中药指标成分选择合适的分析方法</p> <p>②具备中药样品（提取、纯化）的基本前处理能力</p> <p>③能初步识别中药色谱图的质量</p> <p>3、素养目标：</p> <p>①培养整体观的质量控制思维</p> <p>②树立传承与创新并重的中药发展观</p> <p>③强化对中药复杂体系的科学认知</p> <p>4、课程思政：</p> <p>①通过中药指纹图谱技术，弘扬中医药文化的博大精深</p> <p>②讲解现代科技让中药走向世界，增强文化自信</p> <p>③强调中药材道地性与质量的关系，引导学生热爱祖国传统医药</p>
<p><b>教学重点及难点：</b></p> <p><b>教学重点：</b> 中药分析的多组分、干扰多等特点及指纹图谱技术的应用。</p> <p><b>教学难点：</b> 中药指纹图谱的相似度评价及多指标成分的同时测定方法建立。</p>
<b>学 时： 1 学时</b>
<b>教学方法及手段：</b> 多媒体讲授
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;"><b>中药的分析</b></p> <p><b>导学案例：</b></p> <p>2023 年，国家药监局组织开展中药饮片专项抽检。全年共抽检 9 个中药饮片品种 2158 批次（其中配方颗粒 234 批，饮片 1924 批），重点针对可能存在的染色、增重、掺伪或掺假、不规范种植等质量问题，开展检验和探索性研究。在具体执行过程中，检验员首先依据“法定标准”对中药材进行“性状、鉴别、检查、含量测定”等检验项目，并出具相应的检验报告和总结，将对检验存在的问题进行后续的探索性研究。</p> <p><b>一、中药分析的特点</b></p> <p><b>（一）中药化学成分多样性和复杂性</b></p> <p>单味中药含有多种成分（以人参为例）。</p> <p>中药材质量不稳定性：</p> <p>品种基源（以麻黄为例：草麻黄、中麻黄、木贼麻黄）</p> <p>产地（以丹参为例）</p>

采收期（以薄荷为例）

中药随加工过程成分有量和质的变化：中药从药材采收、加工到成方制剂的生产整个过程（炮制、煎煮和制剂过程），其化学成分常有量和质的变化，主要涉及到溶解与再吸附、挥发、分解等方面。

### （二）中药有效成分的非单一性

中药产生的疗效并非某一种成分的单独作用效果，而是多成分、多靶点之间共同作用发挥整合药效。以四物汤为例，四物汤中的中药所含成分往往多达几十种、上百种，甚至几千种，起疗效的物质基础可以包括小分子化合物（挥发油、生物碱、黄酮类、皂苷类）及生物大分子（肽、蛋白、糖肽及多糖等）。

### （三）基于中医药理论

中药质量的整体轮廓控制（指纹图谱——中药整体成分表征）

运用组方的“君臣佐使”理论（选择合适的化学成分为指标来评价中药制剂的质量）

### （四）中药剂型的多样性

在分析方法上除考虑方法的专属性、灵敏度外，尚须注意药材在制剂中的存在形式、辅料对测定的影响及各成分间的干扰。

### （五）中药杂质来源的多途径性

中药材中非药用部位及未除净的泥沙

药材产地水源、土壤、空气等生长环境的污染，农药化肥的滥用

包装、保管不当发生的霉变、走油、泛糖、虫蛀

洗涤原料药材的水质二次污染

## 二、中药分析的主要内容

### （一）中药的鉴别

#### 性状鉴别法：

“性状”系指药材和饮片的形状、大小、表面（色泽与特征）、质地、断面（折断面或切断面）及气味等特征。性状的观察方法主要用感官来进行，如眼看（较细小的可借助于放大镜或体视显微镜）、手摸、鼻闻、口尝等方法（以桔梗为例）。

#### 显微鉴别法：

**定义：**指用显微镜对药材（饮片）切片、粉末、解离组织或表面制片及含饮片粉末的制剂中饮片的组织、细胞或内含物等特征进行鉴别的方法。

**鉴别特征：**薄壁细胞、木栓组织、分泌细胞和分泌腔、纤维及淀粉粒、花粉粒、碳酸钙结晶等（以黄芩粉末的显微特征图为例：韧皮纤维、石细胞、木纤维、淀粉粒、木栓细胞）。

#### 理化鉴别法：

**定义：**是根据中药中所含化学成分的理化性质，采用物理、化学或物理化学的方法进行鉴别，从而判断其真伪。

**方法：**主要有化学反应法、微量升华法、荧光法、结晶法等。

#### 色谱鉴别法：

薄层色谱法是中药鉴别中最为常用的定性鉴别方法，高效液相色谱法和气相色谱法是常用的定性定量分析方法（以大黄素、大黄对照药材、大黄样品的薄层色谱图为例）。

#### DNA 分子标记鉴别法：

**定义：**通过比较药材间 DNA 分子遗传多样性差异来鉴别药材基源、确定学名的方法，用于同属多基源物种、道地药材、动物药等的鉴别。

**技术：**基于分子杂交的指纹分子鉴定技术、基于聚合酶链式反应（PCR）技术的指纹分子鉴定技术、基于 DNA 序列分析的序列鉴定技术。

### （二）中药的检查

**灰分（通则 2302）：**

**总灰分（总灰分测定法）：**药材或制剂经加热炽灼灰化后残留的无机物，包含药物本身所含无机盐（称为生理灰分）外，还包括泥土、砂石等药材外表黏附的无机杂质。目的：控制泥土、砂土的量，同时还反映药材生理灰分的量。

**酸不溶性灰分（酸不溶性灰分测定法）：**泥土、砂石等硅酸盐在盐酸中不能溶解。

**重金属及有害元素（通则 2321）：**

中药重金属及有害元素检查法照 ChP（2020）第四部通则 2321 铅、镉、砷、汞、铜测定法，有原子吸收分光光度法及电感耦合等离子体质谱法两种方法。

**农药残留量（通则 2341）：**

由于环境污染和使用农药等原因，栽培药材除进行重金属及有害元素检测，还需要进行农药残留量的检测。

第一法：有机氯类农药残留量测定法（色谱法）

第二法：有机磷类农药残留量测定法（色谱法）

第三法：拟除虫菊酯类农药残留量测定法（色谱法）

第四法：农药多残留量测定法（质谱法）

第五法：药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法。

**二氧化硫残留量（通则 2331）：**

测定经硫黄熏蒸处理过的药材或饮片中二氧化硫的残留量，如山药、党参、白芍等。可根据具体品种情况选择适宜方法进行二氧化硫残留量测定。

第一法：酸碱滴定法

第二法：气相色谱法

第三法：离子色谱法

**真菌毒素（通则 2351）：**

是真菌产生的次级有毒代谢产物，易产生于中药材的种植、储存环节中。中药被曲霉属、镰刀菌属和青霉属等产毒真菌污染后所产生的毒素有黄曲霉毒素、赭曲霉毒素、呕吐毒素、玉米赤霉烯酮、展青霉素及伏马毒素等。

### （三）浸出物测定

浸出物测定是指用水、乙醇或其他适宜溶剂对药材及其制剂中可溶性物质进行测定，以浸出物含量评价药材及其制剂的质量，用于活性成分或指标性成分不明确、或含量很低、或尚无准确定量方法药材的质量控制。

### （四）含量测定

目前用于中药及其制剂含量测定的方法有化学分析法、光谱法、色谱法和生物学方法等。其中，色谱法应用最多，尤其是 HPLC 和 GC 法。

化学分析法

光谱法：紫外-可见分光光度法（UV-Vis）、近红外光谱法（NIR）

色谱法：高效液相色谱法（HPLC）、气相色谱法（GC）、色谱联用

生物学方法

**实例：**人参药材的含量测定——HPLC。本品为五加科植物人参的干燥根和根茎。多于秋季采挖，洗净经晒干或烘干。栽培的俗称“园参”；播种在山林野生状态下自然生长的称“林下山参”，习称“籽海”。

## 三、中药质量的整体控制

### （一）中药的指纹图谱

是指药材、饮片、提取物或中药制剂等经过适当处理后，采取一定的分析手段，得到能够标示该药材、饮片、提取物或中药制剂特性的共有峰图谱。

**实例：**复方丹参滴丸的指纹图谱。峰 1：丹参素。供试品的指纹图谱中应呈现八个与对照指纹图谱相对应的特征峰；按中药色谱指纹图谱相似度评价系统计算，供试品指纹图谱与对照指纹图谱的相似度不得低于 0.90。

### **（二）中药特征图谱**

是选取图谱中某些重要的特征信息，作为控制中药质量的重要鉴别手段，主要是指中药化学特征图谱。中药特征图谱要求在色谱图中选定一个参照峰（一般是峰面积较大，分离度较好的主峰），计算其他峰的相对峰面积和相对保留时间及其 RSD 值，标准中要求相对保留时间在 $\pm 5\%$ 以内才符合要求（实际 2%~5%均可），其 RSD 值在 $\pm 3\%$ 以内，相对峰面积的 RSD 值在 5%以内。

作业：

完成学习通计算题

章： 第十三章
课题： 生物制品的分析
<p><b>教学目标及要求</b>（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>教学内容：介绍生物制品（疫苗、抗体、重组蛋白等）的特点、质量控制项目及特殊分析方法（如生物活性测定、免疫学方法）。</p> <p>教学目标：</p> <p>1、知识目标：</p> <p>①掌握生物制品与传统化学药物的区别及质量控制特点</p> <p>②熟悉单克隆抗体、重组蛋白类药物的关键质量属性（如电荷异质性、聚集体、糖基化）</p> <p>③了解生物活性测定（如 ADCC 效应）及免疫学检测方法的原理</p> <p>2、能力目标：</p> <p>①能够规范查阅生物制品质量标准及相关总论要求</p> <p>②具备运用分子排阻色谱（SEC）分析蛋白聚集体的基本操作能力</p> <p>③能初步识别生物制品检定中的常见术语及检测项目（如唾液酸测定、宿主蛋白残留）</p> <p>3、素养目标：</p> <p>①培养对大分子药物复杂性的科学敬畏感</p> <p>②树立生物制品安全性与有效性的双重质量控制意识</p> <p>③建立创新生物药引领行业发展的专业自信</p> <p>4、课程思政：</p> <p>①通过国产单抗药物及长效生长激素的研发上市，增强科技报国的使命感</p> <p>②强调生物制品质量控制对患者用药安全的重要性，体现生命至上理念</p> <p>③通过严格的无菌和生物活性检测要求，培养严谨细致、一丝不苟的工匠精神</p>
<p><b>教学重点及难点：</b></p> <p><b>教学重点：</b>生物制品的关键质量属性（聚集体、电荷异质性）及活性测定方法。</p> <p><b>教学难点：</b>大分子药物结构的复杂性给分析方法带来的分离与检测挑战。</p>
学 时： 1 学时
教学方法及手段： 多媒体讲授
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;"><b>生物制品的分析</b></p> <p><b>导学案例：</b></p> <p>2023 年国家药品抽检共抽检生物制品 6 个品种 127 批次，其中生产、经营、使用环节分别抽取 50 批次、70 批次、7 批次。其中涉及治疗类品种 5 个，预防类品种 1 个。剂型为注射剂和体外诊断试剂。某省药品监督检验研究院承担“人血白蛋白”的药品抽检任务，依据“法定标准”对人血白蛋白进行“鉴别、检查、含量测定”等检验项目，并出具相应的检验报告和总结。进而，检验员将对检验存在的问题进行后续的探索性研究。</p> <p><b>一、生物制品分析的特点</b></p> <p><b>（一）结构确认的不完全性</b></p> <p>生物制品通常指的是应用生物技术制备的药品，如微生物、细胞、动物和人源的组织 and 液</p>

体等，多数为蛋白质或多肽及其修饰物，分子量相对较大，结构具复杂多样性和可变性等特点。

### （二）质量控制的过程性

生产过程中使用的各种材料来源复杂，可能引入外源因子或毒性化学材料；制品组成成分复杂且一般不能进行终端灭菌，制品的质量控制仅靠成品检定难以保证其安全性和有效性。

### （三）生物活性检测的重要性

生物制品对热、酸、碱、重金属及 pH 都比较敏感，各种理化因素的变化易对生物活性产生影响。生物活性检测成为反映生物制品天然结构是否遭受破坏、生产各阶段工艺合理性和评价终产品质量控制的重要内容。

### （四）分析方法的特殊性

由于生物制品的性质特殊，生产工艺复杂，易引入特殊杂质和污染物，故需进行安全性检查，如热原检查、过敏实验、异常毒性实验等。应根据产品的特异生理效应或专一生化反应拟定其专属的生物效价测定方法，以表明其所含生物活性成分含量的高低。

## 二、生物制品分析的主要内容

### （一）生物制品的鉴别

**酶法：**主要基于酶的特异性和催化活性。通过检测生物制品中特定酶的存在、活性水平或酶的催化反应产物，可以对生物制品进行鉴别和分析。

**电泳法：**指利用溶液中带有不同量电荷的阳离子或阴离子，在外加电场中使供试品组分以不同的迁移速度向对应的电极移动，实现分离并通过适宜的检测方法记录或计算，达到测定目的的分析方法。包括：琼脂糖凝胶电泳法、PAGE 法、SDS-PAGE 法、等电聚焦电泳法等。

**免疫分析法：**是以特异性抗原抗体结合反应为基础的分析方法。包括：免疫印迹法、免疫斑点法、免疫双扩散法、免疫电泳法、酶联免疫吸附法等。

**肽图检查法：**采用特定的化学试剂或酶，特异性将蛋白质裂解为肽段，经可靠方法分离和鉴定后与经同法处理的对照品图谱进行对比并判定结果。共两种方法：第一法胰蛋白酶裂解-反相高效液相色谱法，第二法溴化氰裂解法。

### （二）安全性检查

**无菌检查：**收载于 ChP（2020）四部通则 1101，该法系用于检查药典要求无菌的药品、生物制品、医疗器械、原料、辅料及其他品种是否无菌的一种方法。

**异常毒性检查：**收载于 ChP（2020）四部通则 1141，该法系给予动物一定剂量的供试品溶液，在规定时间内观察动物出现的异常反应或死亡情况，检查供试品中是否污染外源性毒性物质以及是否存在意外的不安全因素。除另有规定外，应包括小鼠试验和豚鼠试验。

**热原检查：**收载于 ChP（2020）四部通则 1142，该法是将一定剂量的供试品，静脉注入家兔体内，在规定时间内，观察家兔体温升高的情况，以判定生物制品中所含热原的限度是否符合规定。

**细菌内毒素检查：**ChP（2020）四部通则 1143 细菌内毒素检查法，利用鲎试剂来检测或量化由革兰阴性菌产生的细菌内毒素，以判断供试品中细菌内毒素的限量是否符合规定的一种方法。

### 升压和降压物质检查：

升压物质检查法收载于 ChP（2020）四部通则 1144，系比较赖氨酸升压素标准品（S）与供试品（T）升高大鼠血压的程度，以判定供试品中所含升压物质的限度是否符合规定。

降压物质检查法收载于 ChP（2020）四部通则 1145，系比较组胺对照品（S）与供试品（T）引起麻醉猫血压下降的程度，以判定供试品中所含降压物质的限度是否符合规定。

**过敏反应检查：** 收载于 ChP（2020）四部通则 1147，系将一定量的供试品溶液注入豚鼠体内，间隔一定时间后静脉注射供试品溶液进行激发，观察动物出现过敏反应的情况，以判定供试品是否引起动物全身过敏反应。供试用的豚鼠应健康合格，体重 250~350g，雌鼠应无孕。

### （三）含量及效价活性测定

**蛋白质含量测定法：** 该法收载于 ChP（2020）四部通则 0731，共六种方法：凯氏定氮法、福林酚法（Lowry 法）、双缩脲法、2,2'-联喹啉-4,4'-二羧酸法（BCA 法）、考马斯亮蓝法（Bradford 法）、紫外-可见分光光度法。

**生物测定法：** 以药物的药理作用为基础，以生物统计为工具，运用特定的实验设计在一定条件下，将标准品和待测样品分别与一定数量的适宜的生物试剂反应，根据试剂反应的结果来确定有效成分的含量或者生物活性。主要效力试验包括免疫力试验、活菌疫苗的效力测定、抗毒素和类毒素的单位测定、血清学试验和其他有关效力的检定和评价等。

### （四）纯度检查

纯度检查通常采用电泳法（通则 0541）和高效液相色谱法（通则 0512）。

电泳法：依法测定（通则 0541 第五法）。用非还原型 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法，分离胶的胶浓度为 15%，加样量应不低于 10 $\mu$ g（考马斯亮蓝 R250 染色法）或 5 $\mu$ g（银染法）。经扫描仪扫描，纯度应不低于 95.0%。

高效液相色谱法：依法测定（通则 0512）。色谱柱以适合分离分子质量为 5~60kD 蛋白质的色谱用凝胶为填充剂；流动相为 0.1mol/L 磷酸盐-0.1mol/L 氯化钠缓冲液，pH 7.0；上样量应不低于 20 $\mu$ g，在波长 280nm 处检测，以干扰素色谱峰计算的理论板数应不低于 1000。按面积归一化法计算，干扰素主峰面积应不低于总面积的 95.0%。

**实例：** 注射用人干扰素 $\alpha$ 1b 的纯度检查

### （五）相对分子质量或分子大小测定

常用的方法有凝胶层析法、电泳法第五法 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法（SDS-PAGE 法）和超速离心分析法（不同分子量的蛋白质在凝胶中运动示意图）。

## 三、生物制品质量的整体控制与分析实例

ChP（2020）中注射用人促红素的质量整体控制：

本品系由高效表达人红细胞生成素（简称人促红素）基因的中国仓鼠卵巢（CHO）细胞，经细胞培养、分离和高度纯化后获得的人促红素冻干制成。含适宜稳定剂，不含抑菌剂和抗生素。

质量控制项目包括：

基本要求

制造（2.1 工程细胞、2.2 原液、2.3 半成品、2.4 成品）

检定（3.1 原液检定、3.2 半成品检定、3.3 成品检定）

稀释剂

保存、运输及有效期

使用说明

作业：

完成学习通计算题

章： 第十四章
课题： 芳酸及其酯类的分析
<p><b>教学目标及要求</b>（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>教学内容：讲解芳酸类药物的结构特点、主要鉴别反应（与三氯化铁呈色）、杂质检查（特殊杂质）及含量测定方法（两步滴定法）。</p> <p>教学目标：</p> <p>1、知识目标：</p> <p>①掌握芳酸类药物（如氯贝丁酯、水杨酸类）的化学结构与分析方法的关系</p> <p>②熟悉异羟肟酸铁反应等特征性鉴别反应的原理</p> <p>③了解两步滴定法用于排除酯类水解产物干扰的机理</p> <p>2、能力目标：</p> <p>①能够完成芳酸类药物与三氯化铁的呈色反应操作</p> <p>②具备运用气相色谱法检查特殊杂质（如对氯酚）的基本认知</p> <p>③能正确计算两步滴定法的含量测定结果</p> <p>3、素养目标：</p> <p>①培养根据官能团特性选择分析方法的结构分析思维</p> <p>②强化酸性药物分析中的终点判断能力</p> <p>③养成关注水解产物对测定干扰的全面考虑习惯</p> <p>4、课程思政：</p> <p>①通过结构中羧基与酚羟基的特性差异，引导学生认识矛盾的特殊性与普遍性</p> <p>②强调中间体杂质的严格控制体现对药品纯度的极致追求</p> <p>③结合阿司匹林的百年应用史，感悟经典药物的科学价值</p>
<p><b>教学重点及难点：</b></p> <p><b>教学重点：</b> 芳酸类药物的特征鉴别反应（三氯化铁呈色）及两步滴定法原理。</p> <p><b>教学难点：</b> 两步滴定法中酯类水解产物对测定干扰的排除机理理解。</p>
学 时： 1 学时
教学方法及手段： 多媒体讲授
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;"><b>芳酸及其酯类的分析</b></p> <p><b>一、代表药物与其结构</b></p> <p><b>（一）代表药物种类与药理活性</b></p> <p>芳酸类药物按照结构大致可以分成水杨酸类药物、苯甲酸类药物、其他芳酸类药物。</p> <p><b>水杨酸类：</b> 大多数具有抗炎、抗风湿、止痛、退热和抗凝血等作用，临床上广泛用于风湿性关节炎和类风湿关节炎、多种发热和各种慢性疼痛，如头痛、关节肌肉痛、牙痛等症状的缓解。本类药物中主要包括阿司匹林、贝诺酯等药物。</p> <p><b>苯甲酸类：</b> 药理作用较为广泛，有作为防腐剂的苯甲酸及其钠盐、抗痛风药丙磺舒，诊断用药泛影酸等。</p> <p><b>其他芳酸类：</b> 有非甾体抗炎药布洛芬、利尿药依他尼酸等。</p> <p><b>（二）代表药物结构特点</b></p>

**水杨酸及其酯类药物的结构通式：**母核为水杨酸。代表药物：阿司匹林、贝诺酯。

**苯甲酸及其酯类药物的结构通式：**母核为苯甲酸。代表药物：苯甲酸钠、丙磺舒、泛影酸。

**其他芳酸及其酯类药物：**布洛芬、依他尼酸。

## 二、性质

### (一) 性状

#### **水杨酸及其酯类药物：**

水杨酸：白色细微的针状结晶或白色结晶性粉末；无臭或几乎无臭，水溶液显酸性；在乙醇或乙醚中易溶，在沸水中溶解，在三氯甲烷中略溶，在水中微溶。

阿司匹林：白色结晶或结晶性粉末；无臭或微带醋酸臭；遇湿气即缓缓水解；在乙醇中易溶，在三氯甲烷或乙醚中溶解，在水或无水乙醚中微溶；在氢氧化钠溶液或碳酸钠溶液中溶解，但同时分解。

贝诺酯：白色结晶或结晶性粉末；无臭；在沸乙醇中易溶，在沸甲醇中溶解，在甲醇或乙醇中微溶，在水中不溶。

#### **苯甲酸及其酯类药物：**

苯甲酸：白色有丝光的鳞片或针状结晶或结晶性粉末；质轻；无臭或微臭；在空气中微有挥发性；水溶液显酸性反应；在乙醇、三氯甲烷或乙醚中易溶，在沸水中溶解，在水中微溶。

丙磺舒：白色结晶性粉末；无臭，味微苦；在丙酮中溶解，在乙醇或三氯甲烷中略溶，在水中几乎不溶；在稀氢氧化钠溶液中溶解，在稀酸中几乎不溶。

泛影酸：白色粉末；无臭，味微酸；在水中极微溶解；在氨溶液或氢氧化钠溶液中溶解。

#### **其他芳酸及其酯类药物：**

布洛芬：白色结晶性粉末；稍有特异臭，几乎无味；在乙醇、丙酮、三氯甲烷或乙醚中易溶，在水中几乎不溶，在氢氧化钠或碳酸钠试液中易溶。

依他尼酸：白色结晶性粉末；无臭，味微苦涩；在乙醇或乙醚中易溶，在水中几乎不溶，在冰醋酸中易溶。

### (二) 化学性质

#### **水杨酸及其酯类药物：**

**酸性：**本类药物结构中有羧基，使其具有酸性，羧基直接跟苯环相连，酸性较强。

**水解性：**阿司匹林和贝诺酯的结构中具有酯键，在碱性条件下易水解生成羧酸和酚。

**三氯化铁反应：**水杨酸的结构中具有游离酚羟基，阿司匹林和贝诺酯水解后产生游离酚羟基，可与三氯化铁试液作用形成紫色或紫堇色的配位化合物。

**紫外和红外光谱特征：**药物分子结构中均具有苯环和特征官能团，有紫外和红外特征吸收光谱。

#### **苯甲酸及其酯类药物：**

**酸性：**药物分子结构中一般具有游离羧基，故显酸性。

**三氯化铁反应：**苯甲酸盐、丙磺舒的中性溶液，可与三氯化铁反应，生成沉淀。

**水解性：**丙磺舒具有酯键，在碱性条件下可水解。

**分解性：**苯甲酸钠、丙磺舒、泛影酸在一定条件下发生分解，分解产物发生特殊反应。

**紫外和红外光谱特征：**本类药物分子结构中均具有苯环和特征官能团，有紫外和红外特征吸收光谱。

#### **其他芳酸及其酯类药物：**

**酸性：**布洛芬和依他尼酸分子结构中具有羧基，具有酸性。

**水解性：**依他尼酸分子结构中具有 $\alpha$ ， $\beta$ 不饱和酮结构，在碱性条件下分解产生甲醛，也能和溴水发生加成反应。

**紫外和红外光谱特征：**布洛芬和依他尼酸均具苯环和特征官能团，具有紫外和红外吸收光谱特征。

### 三、鉴别试验

#### （一）水杨酸及其酯类药物

**三氯化铁反应：**水杨酸及其盐在中性或弱酸性条件下，滴加三氯化铁试液，即生成紫堇色配位化合物。阿司匹林、贝诺酯分子结构中均无游离酚羟基，与三氯化铁试液不直接发生显色反应。但其水溶液加热，或较长时间放置，即能水解产生游离酚羟基，再滴加三氯化铁试液，生成紫堇色的配位化合物。

**应用实例：**《中国药典》（2025年版）中阿司匹林的鉴别：取本品约 0.1g，加水 10ml，煮沸，放冷，加三氯化铁试液 1 滴，即显紫堇色。

**水解反应：**阿司匹林在碳酸钠试液中加热水解，生成水杨酸钠与乙酸钠，加入过量稀硫酸酸化后，生成水杨酸白色沉淀，并有乙酸的臭气。

**重氮化-偶合反应：**贝诺酯分子结构有潜在的芳伯氨基，在酸性条件下的水解产物，在酸性溶液中，亦可发生重氮化-偶合反应，产生橙红色沉淀。

**应用实例：**《中国药典》2025年版中贝诺酯的鉴别：取贝诺酯约 0.1g，加稀盐酸 5ml，煮沸，放冷，滤过，滤液显芳香第一胺的鉴别反应。

**红外光谱吸收法：**红外吸收光谱是由分子振动、转动能级跃迁所产生的特征图谱，其特征性很强，具有“指纹性”，目前已被广泛地应用于化合物的鉴别。《中国药典》（2025年版）采用标准图谱对照法，即待测药物的红外吸收光谱须与药典所附标准图谱相一致。在《中国药典》（2025年版）中水杨酸、阿司匹林、贝诺酯均采用红外吸收光谱法鉴别，其红外吸收图谱应依次与药典所附标准图谱（光谱集 57 图、5 图、42 图）一致。

**高效液相色谱法：**《中国药典》2025年版中阿司匹林制剂（片剂、肠溶片、肠溶胶囊、泡腾片）、贝诺酯片的鉴别项下增加了高效液相色谱法鉴别，鉴别方法均为在含量测定项下记录的色谱图中，供试品主峰的保留时间与对照品主峰的保留时间一致。

#### （二）苯甲酸及其酯类药物

**三氯化铁反应：**苯甲酸的碱性水溶液或苯甲酸钠的中性溶液，与三氯化铁试液生成赭色碱式苯甲酸铁沉淀。丙磺舒加少量氢氧化钠试液生成盐后，在 pH 为 5.0~6.0 水溶液中与三氯化铁试液反应，生成米黄色沉淀。

**应用实例：**《中国药典》2025年版中苯甲酸的鉴别：取本品约 0.2g，加 0.4%氢氧化钠溶液 15ml，振摇，滤过，滤液中加入三氯化铁试液 2 滴，即出现赭色沉淀。

#### 分解产物的反应：

丙磺舒为含硫药物，可与氢氧化钠熔融，分解生成亚硫酸钠，经硝酸氧化成硫酸盐，而显硫酸盐的鉴别反应。也可利用丙磺舒高温加热时产生的二氧化硫气体，特殊臭味来进行鉴别。

泛影酸为有机碘化物，加热破坏后分解生成碘蒸气，可供鉴别。例如，将泛影酸置坩埚中，小火加热，即分解产生紫色的碘蒸气。

#### 紫外吸收光谱法：

**应用实例：**《中国药典》（2025年版）中丙磺舒的鉴别：取丙磺舒，加含有盐酸的乙醇[取盐酸溶液（9→1000）2ml，加乙醇制成 100ml]制成每 1ml 含 20 $\mu$ g 的溶液，照紫外-可见分光光度法测定，在 225nm 与 249nm 的波长处有最大吸收，在 249nm 波长处的吸光度约为 0.67。

**红外吸收光谱法：**《中国药典》（2025年版）采用红外吸收光谱法鉴别苯甲酸、丙磺舒、泛影酸。

**薄层色谱法：**薄层色谱法是利用相同药品在同一条件下薄层色谱行为应相同，采用对比法

进行鉴别的一种分析方法。

**应用实例：**《中国药典》（2025年版）中泛影酸的鉴别：取本品与泛影酸对照品，分别加甲醇-浓氨溶液（97:3）溶解并稀释制成每1ml中约含5mg的溶液。吸取上述两种溶液各5 $\mu$ l，分别点于同一高效硅胶GF254薄层板上，用无水甲酸-丁酮-甲苯（20:25:60）为展开剂，展开后，晾干，置紫外光灯（254nm）下检视。供试品溶液所显主斑点的位置应与对照品的主斑点相同。

### （三）其他芳酸及其酯类药物

**水解产物反应：**依他尼酸分子结构中具有 $\alpha,\beta$ 不饱和酮结构，在水溶液中不稳定，尤其在碱性溶液中易分解，生成2,3-二氯-4-丁酰基苯氧乙酸和甲醛，甲醛遇变色酸钠和硫酸，显深紫色，可供鉴别。

**紫外吸收分光光度法：**布洛芬、依他尼酸都具有紫外吸收特征光谱。《中国药典》（2025年版）中布洛芬、依他尼酸的鉴别采用了此法。

**红外分光光度法：**《中国药典》（2025）年版对布洛芬、依他尼酸均用红外分光光度法鉴别，其红外吸收光谱图应依次与药典对照的图谱（光谱集943图、196图）一致。

## 四、有关物质与检查

### （一）水杨酸及其酯类药物

#### 阿司匹林杂质检查：

**溶液的澄清度：**本项检查系利用药物与杂质的溶解性能的差异，主要检查碳酸钠试液中的不溶物。阿司匹林可溶于碳酸钠试液，而杂质均不溶于碳酸钠试液。检查方法：取供试品0.50g，加热至约45 $^{\circ}$ C的碳酸钠试液10ml溶解后，溶液应澄清。

**游离水杨酸：**此项杂质主要来自阿司匹林生产过程中乙酰化不完全或贮藏过程中水解而产生。水杨酸对人体有毒性，而且分子中酚羟基在空气中易被逐渐氧化成一系列淡黄、红棕甚至深棕色醌型有色物质，而使阿司匹林药品变色。《中国药典》（2025年版）规定阿司匹林中游离水杨酸鉴别采用高效液相色谱法。

**易碳化物：**主要检查被硫酸炭化呈色的低分子有机杂质。检查方法：取本品0.50g，依法检查（通则0842），与对照液（取比色用氯化钴液0.25ml、比色用重铬酸钾液0.25ml、比色用硫酸铜液0.40ml，加水使成5ml）比较，不得更深。

**有关物质：**有关物质是药品中与活性药物成分相关的杂质，包括产品中残留合成原料、中间体、副产物及可能的降解产物等有机杂质。《中国药典》（2025年版）采用HPLC法检查。

#### 贝诺酯杂质检查：

**游离水杨酸：**杂质来源：此项杂质主要由贝诺酯生产和贮藏过程水解产生。检查原理：利用水解产物水杨酸与高铁盐反应呈紫堇色的原理，通过供试液与一定量水杨酸对照液生成的色泽对比，来控制供试液中游离水杨酸的限量。

**对氨基酚：**检查原理：贝诺酯的水解产物对氨基酚在一定条件下可与碱性亚硝基铁氰化钠反应呈色，而贝诺酯无此反应，以供试品不显色为合格来控制杂质限量。检查方法：取供试品1.0g，加甲醇溶液（1 $\rightarrow$ 2）20ml，搅匀，加入碱性亚硝基铁氰化钠试液1ml，摇匀，静置30分钟，不得显蓝绿色。贝诺酯片剂不再检查游离水杨酸和对氨基酚。

### （二）苯甲酸及其酯类药物

**苯甲酸的杂质检查：**《中国药典》（2025年版）主要收载了乙醇溶液的澄清度与颜色、卤化物和卤素、易氧化物、易碳化物、炽灼残渣、重金属等杂质的检查。

#### 丙磺舒的杂质检查：

**酸度：**取供试品2.0g，加新沸过的冷水100ml，置水浴上加热5分钟，时时振摇，放冷，滤过；取滤液50ml，加酚酞指示液数滴，用氢氧化钠滴定液（0.1mol/L）不得过0.25ml。

所用方法为酸碱滴定法。

**有关物质：**有关物质是药品中与活性药物成分相关的杂质，包括产品中残留合成原料、中间体、副产物及可能的降解产物等有机杂质。《中国药典》（2025年版）采用 HPLC 法检查。

#### **泛影酸的杂质检查：**

**游离碘：**泛影酸为有机碘化物，其水溶液对空气、日光以及温度较为敏感，受其影响易析出游离碘。检查方法：取泛影酸 4.8g，加氢氧化钠试液溶解成 10ml，取 2.0ml，加水稀释至 10ml，加稀乙酸至对石蕊试纸显酸性，加碘化钾 0.5g，振摇溶解后，加淀粉指示液 1ml，摇匀，如显色，与对照液比较，不得更深或有差异。

**卤化物：**泛影酸在生产过程中需要使用一氯化碘进行碘化反应，反应时生成氯化氢，再用稀盐酸处理，故可引入卤化物杂质。检查时可利用卤化物与硝酸银试液作用生成卤化银浑浊进行检查。采用的方法标准溶液对照法。

**碘化物：**碘化物是泛影酸生产和贮存过程中引入的。检查时可利用碘化物在酸性条件下被过氧化氢氧化，生成游离碘的原理进行检查。游离碘在三氯甲烷中显色，然后通过比较颜色的深浅做出判断。

**氨基化合物：**氨基化合物是生产过程中乙酰化反应不完全或泛影酸水解而引入的，因具有芳香第一胺，故可利用重氮化偶合反应进行限量检查。反应后生成有色物质，用紫外-可见分光光度法测定其吸光度，通过规定吸光度值的大小控制杂质含量。

**有关物质：**《中国药典》（2025年版）通过 HPLC 法控制杂质含量。

### **五、含量测定**

#### **（一）水杨酸及其酯类药物**

##### **阿司匹林及其制剂的含量测定：**

**酸碱滴定法（阿司匹林原料药）：**滴定液：0.1mol/L 的氢氧化钠滴定液；溶剂：中性乙醇（对酚酞显中性）；指示液：酚酞指示液。

**HPLC 法（阿司匹林制剂：片剂、肠溶片、肠溶胶囊、泡腾片、栓剂）：**外标法。

**贝诺酯及其制剂的含量测定：**采用 HPLC 法，外标法。

#### **（二）苯甲酸及其酯类药物**

**苯甲酸的含量测定：**采用直接酸碱滴定法。

##### **丙磺舒及其制剂的含量测定：**

丙磺舒的原料药采用 HPLC 法测定其含量，属于反相高效液相色谱法。

丙磺舒片采用紫外可见分光光度法测定含量，采取的是已知吸光系数法。

**泛影酸、泛影酸钠注射液的含量测定：**先用锌粉回流处理，得到无机碘化物，再采用银量法测定其含量。滴定液：0.1mol/L 硝酸银滴定液；指示液：曙红指示液。

#### **（三）其他芳酸及其酯类药物**

##### **布洛芬及其制剂的含量测定：**

直接酸碱滴定法（布洛芬原料药）。

HPLC 法（布洛芬的制剂：缓释胶囊、滴剂、口服溶液、糖浆）。

**依他尼酸及其制剂的含量测定：**都采用了溴量法，也属于剩余量滴定法。基本原理：先加入过量的溴滴定液，和依他尼酸充分反应后，剩下的溴滴定液将碘化钾试液氧化成单质碘，用硫代硫酸钠滴定液（0.1mol/L）滴定。

**作业：**

完成学习通计算题

章： 第十五章
课题： 青蒿素类抗疟药物的分析
<p><b>教学目标及要求</b>（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>教学内容：介绍青蒿素类药物的特殊结构（过氧桥）、鉴别方法及含量测定技术（如拉曼光谱、HPLC-ELSD）。</p> <p>教学目标：</p> <p>1、知识目标：</p> <p>①掌握青蒿素分子中过氧桥和内酯基团的特征结构及其与分析方法的关系</p> <p>②熟悉青蒿素类药物的理化性质及稳定性特点</p> <p>③了解激光拉曼光谱法在青蒿素含量测定中的应用原理</p> <p>2、能力目标：</p> <p>①能够识别青蒿素类药物的特征拉曼峰</p> <p>②具备运用现代仪器分析方法进行中药成分分析的初步认知</p> <p>③能理解复方制剂中青蒿素的含量测定策略</p> <p>3、素养目标：</p> <p>①培养从中药中发现化学药物的创新思维</p> <p>②树立中药现代化、科学化的质量评价理念</p> <p>③建立无损、快速检测技术在药物分析中的应用意识</p> <p>4、课程思政：</p> <p>①通过屠呦呦发现青蒿素获诺贝尔奖的事迹，弘扬中医药文化自信与科学创新精神</p> <p>②强调青蒿素对全球抗疟疾的贡献，体现中国科学家的世界担当</p> <p>③引导学生在继承传统中医药精髓的同时，勇于运用现代科学技术进行创新</p>
<p><b>教学重点及难点：</b></p> <p><b>教学重点：</b> 青蒿素过氧桥结构的特征及拉曼光谱在含量测定中的应用。</p> <p><b>教学难点：</b> 青蒿素无紫外吸收的特性对检测方法选择的限制与解决方案。</p>
<b>学 时： 1 学时</b>
<b>教学方法及手段：</b> 多媒体讲授
<p><b>教学过程：</b></p> <p style="text-align: center;"><b>青蒿素类抗疟药物的分析</b></p> <p><b>一、代表药物与其结构</b></p> <p><b>（一）代表药物种类与药理活性</b></p> <p>抗疟药通过作用于疟原虫生活史的不同发育阶段抑制或杀灭疟原虫。根据用药目的，将抗疟药分为三类：</p> <p>主要用于控制症状的抗疟药（如青蒿素、双氢青蒿素、蒿甲醚、青蒿琥酯、磷酸氯喹、硫酸奎宁、磷酸咯萘啶、苯芴醇等）。</p> <p>主要用于控制复发和传播的药物（如磷酸伯氨喹等）。</p> <p>主要用于病因性预防的抗疟药（如乙胺嘧啶、磺胺类等）。</p> <p>根据化学结构，抗疟药可分为：青蒿素类、喹啉类和嘧啶类。</p> <p><b>（二）代表药物结构特点</b></p>

**青蒿素：**从菊科植物黄花蒿中提取分离得到的，含有一个过氧基团的新型倍半萜内酯。不良反应少见，但复发率高，只能口服，生物利用度低，且因溶解度小而难以制成注射剂用于抢救严重病人。

**双氢青蒿素：**效价比青蒿素高 1 倍，存在半缩醛的结构，性质不够稳定，溶解度也未改善。

**蒿甲醚：**从双氢青蒿素出发合成了它的醚类、羧酸酯类和碳酸酯类衍生物，其中的蒿甲醚抗疟活性比青蒿素高 6 倍，油溶性大、性质稳定，近期复发率较低。

**青蒿琥酯：**双氢青蒿素的琥珀酸半酯在鼠疟筛选中抗疟效价比青蒿素高 3~7 倍，可生成溶于水的钠盐，用于制备水溶性静脉注射剂，是救治重症疟疾的速效、方便使用的剂型。

## 二、性质

### (一) 性状

无色或白色结晶或结晶性粉末。

具有一定的熔点与比旋度。

不溶或极微溶于水。

溶于丙酮或三氯甲烷等有机溶剂。

### (二) 化学性质

**氧化性：**具有过氧桥结构，是倍半萜内酯类化合物，具有氧化性。

**旋光性：**含有多个手性中心，均有旋光性，且均为右旋体药物。

举例：青蒿素的比旋度为 $+75^{\circ}\sim+78^{\circ}$ ；蒿甲醚的比旋度为 $+168^{\circ}\sim+173^{\circ}$ ；青蒿琥酯的比旋度为 $+4.5^{\circ}\sim+6.5^{\circ}$ 。

**水解反应：**具有内酯结构，在碱性条件下易发生水解。

**紫外吸收特性：**母核无共轭体系，其紫外吸收光谱主要是末端吸收。由于 C-10 位取代基不同，导致各种药物具有不同的紫外吸收特征。

## 三、鉴别试验

### (一) 化学鉴别

**过氧桥的氧化反应（碘化钾试液-淀粉）：**过氧桥的倍半萜内酯类化合物在酸性条件下与碘化钾试液和淀粉指示剂反应，显蓝紫色。

**羟肟酸铁反应：**含有内酯的化合物、羧酸衍生物和一些酯类化合物在碱性条件与羟胺作用，生成羟肟酸；在稀酸中与三氯化铁作用即生成红色异羟肟酸铁。

**香草醛反应：**含有羟基、氨基、富电子芳环等亲核性官能团，可与香草醛的醛基，在酸催化下发生加成反应，经脱水等一系列步骤，生成大共轭的 4-取代甲烯基环己二烯酮结构而显色。

### (二) 光谱鉴别

**紫外分光光度法：**末端吸收，UV 谱专属性不高。

**红外分光光度法：**原料药采用 IR 法；制剂如青蒿琥酯片可采用提取后红外分光光度法(IR)。

### (三) 色谱鉴别

**薄层色谱法（TLC）鉴别：**青蒿素类药物及其制剂时，供试品溶液主斑点的颜色和位置应与对照品溶液的主斑点一致。

**高效液相色谱法（HPLC）鉴别：**药物及其制剂时，供试品溶液主峰的保留时间与对照品溶液主峰的保留时间一致。

## 四、有关物质与检查

**有关物质的来源：**青蒿素的制备以天然产物提取分离为主，并用于青蒿素类衍生药物的生产，通常存在结构类似的有关物质。

**有关物质的检查方法：**ChP（2020）采用 HPLC 进行质量控制。

**示例：**ChP（2020）中青蒿素的有关物质检查：

**供试品溶液：**取本品，加流动相溶解并稀释制成每 1ml 中约含青蒿素 10mg 的溶液。

**对照溶液：**精密量取供试品溶液 1ml，置 100ml 量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀。

**灵敏度溶液：**精密量取对照溶液 1ml，置 20ml 量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀。

**色谱条件：**用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；以乙腈-水（50:50）为流动相；检测波长为 210nm；进样体积 20 $\mu$ l。

**系统适用性：**青蒿素峰与杂质 I 峰（相对保留时间约为 0.80）之间的分离度应大于 4.0。灵敏度溶液色谱图中，主成分峰高的信噪比应大于 10。

**测定法：**精密量取供试品溶液与对照溶液，分别注入液相色谱仪，记录色谱图至主成分峰保留时间的 1.5 倍。

**五、含量测定**

**高效液相色谱法：**

**原料药和制剂：**均采用 HPLC 法进行含量测定。

**该类药物制剂的溶出度：**

双氢青蒿素片、蒿甲醚胶囊：采用特征碱性降解后的 UV 法测定。

青蒿琥酯片和青蒿素哌嗪片：采用 HPLC 法测定。

作业：  
完成学习通计算题

章： 第十六章
课题： 苯乙胺类拟肾上腺素药物的分析
<p><b>教学目标及要求</b>（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>教学内容：讲解苯乙胺类药物（肾上腺素、去甲肾上腺素等）的结构特征、鉴别反应（与三氯化铁呈色）及特殊杂质检查（酮体）。</p> <p>教学目标：</p> <p>1、知识目标：</p> <p>①掌握苯乙胺类药物的基本结构（<math>\beta</math>-苯乙胺）及儿茶酚胺类药物的特点</p> <p>②熟悉该类药物的理化性质（光、氧不稳定）与分析方法的关系</p> <p>③了解酮体杂质的来源及紫外分光光度法检查原理</p> <p>2、能力目标：</p> <p>①能够完成肾上腺素与三氯化铁的显色鉴别反应</p> <p>②具备识别类药物紫外吸收特征的能力</p> <p>③能理解光学异构体在药物分析中的意义</p> <p>3、素养目标：</p> <p>①培养对光敏、氧敏药物的特殊保管和分析操作意识</p> <p>②建立手性药物立体结构与药效、分析关系的思维</p> <p>③强化对照品比对在鉴别中的重要性认知</p> <p>4、课程思政：</p> <p>①通过肾上腺素在临床急救中的关键作用，强化“时间就是生命”的药学服务意识</p> <p>②以儿茶酚胺类药物不稳定性为切入点，培养学生严谨细致的科研作风</p> <p>③强调杂质控制与用药安全的关系，体现对患者高度负责的职业精神</p>
<p><b>教学重点及难点：</b></p> <p><b>教学重点：</b> 儿茶酚胺类药物的光氧不稳定性及酮体杂质的紫外检查方法。</p> <p><b>教学难点：</b> 酮体杂质与主药紫外吸收光谱重叠时的分离与定量分析。</p>
学 时： 1 学时
教学方法及手段： 多媒体讲授
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;"><b>苯乙胺类拟肾上腺素药物的分析</b></p> <p>一、代表药物与其结构</p> <p>（一）代表药物种类与药理活性</p> <p>苯乙胺类拟肾上腺素药物主要具有收缩血管、升高血压、扩大瞳孔、舒张支气管、弛缓胃肠肌、加快心率、加强心肌收缩力等多种功效，临床上主要用作升高血压、平喘、充血治疗等。</p> <p>（二）代表药物结构特点</p> <p>苯乙胺类拟肾上腺素药物具有特定的结构通式（详见 PPT 图示）。</p> <p>二、性质</p> <p>（一）性状</p> <p>通常为白色或类白色结晶性粉末。</p>

具有一定的熔点。

该类药物多为盐酸盐形式，在水中易溶。

## （二）化学性质

**弱碱性：** 本类药物分子结构中具有烃氨基侧链，其氮为仲胺氮，显弱碱性，可采用非水滴定法测定含量。

**酚羟基特性：** 本类药物分子结构中多具有邻二酚羟基或单酚羟基结构，可与三氯化铁呈色，也可与重金属离子配位呈色，可被某些氧化性试剂（如过氧化氢、碘等）氧化变色。可用于鉴别和含量测定。

**旋光性：** 本类药物分子结构中多数具有手性碳原子，具有旋光性。

**光谱特性：** 本类药物均含有共轭体系和特征官能团，具有不同的紫外和红外吸收光谱特征，可用于鉴别或含量测定分析。

## 三、鉴别试验

### （一）化学鉴别

**三氯化铁反应：** 苯乙胺类拟肾上腺素药物（具有酚羟基）与三氯化铁试剂络合显色，大多为绿色。加入碱性试液则可被  $\text{Fe}^{3+}$  进一步氧化而显紫色或紫红色。

**氧化反应：** 本类药物分子结构中多数具有酚羟基，易被氧化剂氧化而呈现不同的颜色。例如，放置后加入硫代硫酸钠溶液，可由棕色变为淡红色。

### （二）光谱鉴别

**紫外分光光度法：** 本类药物结构中均有苯环，具有紫外吸收光谱特征。《中国药典》2020年版规定利用紫外特征吸收光谱进行鉴别。

**红外分光光度法：** 本类药物的原料药多采用红外光谱法进行鉴别，要求其吸收图谱与对照的图谱一致。

**示例：** ChP（2020）中盐酸异丙肾上腺素的鉴别：

取本品约 20mg，加水 2ml 溶解后，加三氯化铁试液 2 滴，即显深绿色；滴加新制的 5% 碳酸氢钠溶液，即变蓝色，然后变成红色。

取本品约 10mg，加水 10ml 溶解后，取溶液 2ml，加盐酸滴定液(0.1mol/L)0.1ml，再加 0.1mol/L 碘溶液 1ml，放置 5 分钟，加 0.1mol/L 硫代硫酸钠溶液 4ml，即显淡红色。

取本品，加水制成每 1ml 中约含 50 $\mu\text{g}$  的溶液，照紫外-可见分光光度法（通则 0401）测定，在 280nm 的波长处有最大吸收，吸光度约为 0.50。

本品的红外光吸收图谱应与对照的图谱（光谱集 349 图）一致。

本品的水溶液显氯化物鉴别（1）的反应（通则 0301）。

## 四、有关物质与检查

肾上腺素、重酒石酸去甲肾上腺素、盐酸去氧肾上腺素等均需检查酮体。这些药物在生产中都由其酮体氢化还原制得，若氢化过程不完全，易引入酮体杂质而影响药品质量，所以《中国药典》2020年版规定检查酮体。其检查方法为紫外-可见分光光度法，检查依据为酮体在 310nm 波长处有最大吸收，而药物本身在此波长处几乎没有吸收。

## 五、含量测定

**非水滴定法（测定原料药含量）：**

原理：含有氨基，具有弱碱性。

溶剂：以冰醋酸为溶剂。

滴定液：用高氯酸滴定液滴定。

指示剂：以结晶紫指示液指示终点。

干扰排除：若供试品为氢卤酸盐，需加入醋酸汞试液以消除干扰。

碱性增强：若被测物碱性较弱，可加入醋酐，提高其碱性。

**紫外分光光度法：** 本类药物结构中含有苯环，在紫外光区有吸收，可用于含量测定。如重酒石酸间羟胺注射液采用本法测定含量。

**高效液相色谱法：** 本类药物制剂的含量测定多采用高效液相色谱法。盐酸肾上腺素注射液、盐酸异丙肾上腺素注射液、重酒石酸去甲肾上腺素注射液、盐酸多巴胺注射液等均用此法测定含量。

作业：

完成学习通计算题

章： 第十七章
课题： 对氨基苯甲酸酯和酰苯胺类局部麻醉药物的分析
<p><b>教学目标及要求</b>（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>教学内容：介绍局部麻醉药物的结构特征、水解特性及鉴别方法（重氮化-偶合反应、红外光谱）。</p> <p>教学目标：</p> <p>1、知识目标：</p> <p>①掌握对氨基苯甲酸酯类药物（如普鲁卡因）的酯键水解特性及分析意义</p> <p>②熟悉重氮化-偶合反应的原理及在鉴别中的应用条件</p> <p>③了解酰苯胺类药物（如利多卡因）的结构特点与分析方法差异</p> <p>2、能力目标：</p> <p>①能够规范操作重氮化-偶合反应进行鉴别</p> <p>②具备运用液相色谱分离该类化合物的基本认知</p> <p>③能初步判断水解产物对分析结果的干扰</p> <p>3、素养目标：</p> <p>①培养从酯键稳定性角度考虑分析方法选择的思维</p> <p>②强化水解产物控制的质量意识</p> <p>③养成关注制剂中辅料对分析影响的习惯</p> <p>4、课程思政：</p> <p>①通过局麻药物的临床应用，引导学生理解药物安全对手术患者的重要性</p> <p>②以酯键水解特性比喻知识的更新与巩固，强调终身学习的重要性</p> <p>③通过规范鉴别操作，培养严谨求实的科学态度</p>
<p><b>教学重点及难点：</b></p> <p><b>教学重点：</b> 普鲁卡因的酯键水解特性及重氮化-偶合鉴别反应原理。</p> <p><b>教学难点：</b> 水解产物（对氨基苯甲酸）对鉴别与含量测定结果的干扰判断。</p>
学 时： 2 学时
教学方法及手段： 多媒体讲授
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;"><b>对氨基苯甲酸酯和酰苯胺类局部麻醉药物的分析</b></p> <p><b>一、代表药物与其结构</b></p> <p><b>（一）代表药物种类与药理活性</b></p> <p>局麻药物是一类能在用药部位局部可逆性地阻断感觉神经冲动发生与传导的药物。包括对氨基苯甲酸酯类（如盐酸普鲁卡因）和酰苯胺类（如盐酸利多卡因）。</p> <p><b>（二）代表药物结构特点</b></p> <p>对氨基苯甲酸酯类和酰苯胺类药物的基本结构（详见 PPT 图示）。</p> <p><b>对氨基苯甲酸酯类：</b> 盐酸普鲁卡因、盐酸丁卡因。</p> <p><b>酰苯胺类：</b> 盐酸利多卡因、盐酸布比卡因。</p> <p><b>二、理化性质</b></p> <p><b>（一）性状</b></p>

本类药物游离碱多为碱性油状液体或低熔点固体，难溶于水，可溶于有机溶剂。其盐酸盐均为白色结晶或结晶性粉末，具有一定熔点，易溶于水和乙醇，难溶于有机溶剂。

## （二）化学性质

**弱碱性：**两种类型局麻药物结构中大多含有碱性侧链（苯佐卡因除外），比如二甲氨基、二乙氨基或哌啶的衍生基团等，显弱碱性，常与盐酸成盐后用于临床。（代表药物：盐酸奥布卡因、苯佐卡因）

### 水解性：

对氨基苯甲酸酯类药物分子结构中含有酯键，故易水解，光、热或碱性条件可促进其水解。酰苯胺类药物的分子结构中含有酰胺基，在酸性条件下易水解，反应速率受分子结构的影响。如布比卡因和利多卡因的酰胺基邻位上有两个甲基，导致空间位阻较大，较难水解。

### 芳伯氨基特性：

对氨基苯甲酸酯类药物的结构中大多含有芳伯氨基（盐酸丁卡因除外），能发生重氮化-偶合反应；可与芳醛缩合，生成希夫碱。

酰苯胺类药物理论上可在酸性条件下水解，生成含有芳伯氨基的产物，但多受空间位阻影响，较难水解。

**与重金属离子反应特性：**盐酸利多卡因、盐酸布比卡因结构中含有芳酰胺和脂肪胺，可以在碳酸钠溶液中与铜离子或钴离子络合，生成有色的配位化合物，该化合物可溶于三氯甲烷等有机溶剂而显色。

**吸收光谱特性：**本类药物结构中均含有苯环的共轭结构，具有紫外特征吸收；本类药物结构中的特征官能团具有红外特征吸收。

## 三、鉴别试验

### （一）化学鉴别

**重氮化-偶合反应：**分子结构中含有芳伯氨基或潜在芳伯氨基的药物，均可在强酸存在下发生重氮化反应，生成的重氮盐可在碱性介质中与 $\beta$ -萘酚偶合生成有色的偶氮染料。

**与重金属离子反应：**分子结构中含有芳酰胺和脂肪胺的盐酸利多卡因在碳酸钠溶液中，与硫酸铜反应生成蓝紫色配位化合物，再转溶于三氯甲烷中显黄色。

**水解产物反应：**对氨基苯甲酸酯类局麻药物分子中含有酯键结构，在碱性条件下可水解。如苯佐卡因的水解产物鉴别：取本品约 0.1g，加氢氧化钠试液 5ml，煮沸，即有乙醇生成；加碘试液，加热，即生成黄色沉淀，并发生碘仿的臭气。

**制备衍生物测定熔点：**制备衍生物测定熔点为国内外药典常采用的一种鉴别方法。

**氯化物的鉴别反应：**局麻药物中，除苯佐卡因外，均属于有机碱的盐酸盐。因此，各国药典均采用氯化物的鉴别反应（与硝酸盐的沉淀反应）鉴别本类药物及其制剂。

### （二）光谱鉴别

**紫外分光光度法：**最大吸收波长、肩峰波长、最大吸收波长处的吸光度。

**红外分光光度法：**红外吸收光谱具有特征性强、专属性好的特点。ChP 收载的局麻药物原料药均采用红外分光光度法（IR）进行鉴别，盐酸普鲁卡因注射液经水浴蒸干、减压干燥后采用红外分光光度法（IR）进行鉴别。

### （三）色谱鉴别

色谱法是一种最常用的分离分析方法，广泛应用于药物的鉴别。本类药物中一些注射液原料药和药物制剂常采用高效液相色谱法进行含量测定，在此情况下可以将色谱法同时用于鉴别，以提高分析效率。要求在含量测定项下记录的色谱图中，供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致。

## 四、有关物质与检查

对氨基苯甲酸酯类局麻药结构中有酯键，可发生水解反应生成对氨基苯甲酸类杂质。其中，

对氨基苯甲酸可进一步脱羧生成苯胺，苯胺可进一步氧化为有色物，使注射液颜色变黄、疗效下降、毒性增加。

酰苯胺类局麻药物结构中的酰胺键水解会产生 2,6-二甲基苯胺等杂质。

为控制光学异构体杂质的限度，手性酰苯胺类局麻药物需进行光学纯度检查。

**实例：** 盐酸奥布卡因主要有关物质包括对氨基苯甲酸、4-氨基-3-丁氧基苯甲酸、4-氨基-3-羟基苯甲酸。ChP（2020）采用高效液相色谱法对盐酸奥布卡因有关物质进行检测。

## 五、含量测定

### 容量分析法：

局麻药物原料药的含量测定，ChP 多采用容量分析法测定其含量。

分子结构中含有芳伯氨基或潜在芳伯氨基的本类药物，可选用亚硝酸钠滴定法测定药物含量，可用永停滴定法指示反应终点。

本类药物大多含有碱性侧链，具有弱碱性，在水溶液中不能用标准酸直接滴定，可在水-乙醇混合溶剂或非水溶剂体系中滴定。

**紫外-可见分光光度法：** 本类药物结构中均含有苯环的共轭结构，具有紫外特征吸收。ChP（2020）采用此法对注射用盐酸丁卡因进行含量测定。

**高效液相色谱法：** 具有较强的分离能力和较高的灵敏度，在本类药物及其制剂的含量测定中得到广泛应用。ChP（2020）采用此法对盐酸利多卡因及其制剂、盐酸普鲁卡因注射液、盐酸奥布卡因滴眼液、盐酸布比卡因注射液、盐酸左布比卡因注射液、注射用盐酸罗哌卡因和盐酸罗哌卡因注射液等进行含量测定。

作业：

完成学习通计算题

章： 第十八章
课题： 二氢吡啶类钙通道阻滞药物的分析
<p><b>教学目标及要求</b>（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>教学内容：讲解二氢吡啶类药物（硝苯地平、尼索地平等）的光不稳定性、有关物质检查（光解产物）及含量测定方法。</p> <p>教学目标：</p> <p>1、知识目标：</p> <p>①掌握二氢吡啶类药物遇光氧化产生光解杂质的特性</p> <p>②熟悉该类药物的结构与分析方法的关系</p> <p>③了解有关物质检查中主成分自身对照法与对照品比较法的应用</p> <p>2、能力目标：</p> <p>①能够识别二氢吡啶类药物光解产物的分析意义</p> <p>②具备运用高效液相色谱法检查有关物质的基本认知</p> <p>③能理解杂质限度的制定依据及安全性评价的意义</p> <p>3、素养目标：</p> <p>①培养对光敏感药物的特殊防护意识</p> <p>②建立杂质研究与安全性评价相结合的质量控制思维</p> <p>③强化“杂质可控、安全有效”的全面质量管理理念</p> <p>4、课程思政：</p> <p>①通过光解杂质的研究案例，培养学生严谨求实、追根溯源的科研精神</p> <p>②强调杂质控制与国际标准接轨，树立药品质量强国的使命感</p> <p>③以杂质研究的深入性，引导学生认识科学无止境、追求卓越的品质</p>
<p><b>教学重点及难点：</b></p> <p><b>教学重点：</b> 二氢吡啶类药物的光不稳定性及光解产物的有关物质检查。</p> <p><b>教学难点：</b> 光解产物的结构确认及主成分自身对照法中校正因子的应用。</p>
学 时： 1 学时
教学方法及手段： 多媒体讲授
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;"><b>二氢吡啶类钙通道阻滞药物的分析</b></p> <p>一、代表药物与其结构</p> <p>（一）代表药物种类与药理活性</p> <p>二氢吡啶类钙通道阻滞药物，也称钙拮抗剂，其特异性高、具有很强的扩血管作用，广泛用于缺血性心血管疾病、高血压、脑血管疾病等的治疗。</p> <p>（二）代表药物结构特点</p> <p><b>结构通式：</b> 母核为苯基-1,4-二氢吡啶。</p> <p><b>代表药物：</b> 硝苯地平、尼群地平、尼莫地平、尼索地平、非洛地平、苯磺酸氨氯地平。</p> <p>二、性质</p> <p>（一）性状</p> <p>通常为白色或黄色结晶性粉末或粉末。</p>

具有一定的熔点。

该类药物一般在丙酮或三氯甲烷中易溶，在乙醇中略溶，在水中几乎不溶。

## （二）化学性质

**二氢吡啶环的还原性：** 本类药物与碱作用，二氢吡啶环 1,4-位上的氢均可发生解离，形成 p-π 共轭而发生颜色变化，可用于鉴别。本类药物的分子中均含有二氢吡啶环，具有还原性，可利用氧化还原反应进行鉴别和含量测定。

**二氢吡啶环氨基质子解离性：** （详见 PPT）

**硝基的氧化性：** 本类药物分子中的苯环上大多有硝基，硝基具有氧化性，能被还原剂还原为芳伯氨基，可通过重氮化-偶合反应进行鉴别。

**稳定性：** 药物遇光极不稳定，易发生光化学歧化作用。分析时应避光操作。

**旋光性：** 二氢吡啶环的 C4 位多为手性碳原子，具有旋光性，临床用的药物大多为消旋体。

**吸收光谱特性：** 药物的分子结构中均具有芳环，在紫外和红外光区有特征吸收，可用于鉴别。

## 三、鉴别试验

### （一）化学鉴别

**与亚铁盐反应：** 含硝基的二氢吡啶与氢氧化亚铁反应生成红棕色氢氧化铁沉淀。《中国药典》用本法鉴别尼莫地平（原料药、片剂、分散片及胶囊）。

**与氢氧化钠试液反应：** 本类药物的丙酮溶液与氢氧化钠试液反应显橙红色。《中国药典》用本法鉴别尼索地平、尼群地平及制剂、硝苯地平及制剂。

**沉淀反应：** 本类药物具有 1,4-二氢吡啶结构，可与重金属盐类反应生成不同颜色的沉淀。

**与氯化汞的反应：** 尼莫地平与氯化汞反应生成白色沉淀。

**与碘化铋钾反应：** 尼群地平与碘化铋钾反应生成橙红色沉淀。

**重氮化-偶合反应：** 二氢吡啶类药物苯环中的硝基具有氧化性，在酸性条件下被锌粉还原为芳伯氨基，可用重氮化-偶合反应鉴别。

### （二）光谱鉴别

**紫外分光光度法：** 最大、最小吸收波长；最大吸收波长处的吸光度或吸光度比值。

**红外分光光度法（原料药）：** 要求供试品的红外光吸收图谱应与《药品红外光谱集》的标准对照图谱一致。

### （三）色谱鉴别

**高效液相色谱法：** 《中国药典》用高效液相色谱法鉴别除尼群地平软胶囊以外的所有二氢吡啶类药物制剂。要求在含量测定项下记录的色谱图中，供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致。

**薄层色谱法：** 薄层色谱可排除原料药中杂质、制剂中辅料的干扰，可用于药物鉴别。《中国药典》2020 年版收载的苯磺酸氨氯地平及其制剂采用 TLC 鉴别。

## 四、有关物质与检查

**硝苯地平中有关物质：** ChP（2020）采用高效液相色谱法对硝苯地平的有关物质进行检测。主要有有关物质 I 和杂质 II（结构详见 PPT）。

## 五、含量测定

### 铈量法：

**原理：** 硝苯地平具有还原性，在酸性介质中可用硫酸铈滴定液直接滴定，用邻二氮菲作指示剂，终点时，微过量的  $Ce^{4+}$  将指示剂中的  $Fe^{2+}$  氧化成  $Fe^{3+}$ ，使橙红色的配合物离子转变成淡蓝色或无色的配位化合物离子，达到指示滴定终点的目的。

**紫外-可见分光光度法：** 《中国药典》2020 年版中采用本法测定尼群地平软胶囊的含量。

**高效液相色谱法：** 《中国药典》2020 年版为了防止制剂中的附加剂对测定的干扰，除了

尼群地平软胶囊外，均采用专属性强、灵敏度高的高效液相色谱法测定其他的二氢吡啶类药物制剂的含量。

作业：

完成学习通计算题

<p><b>章： 第十九章</b></p>
<p><b>课题： 苯并二氮杂草类镇静催眠药物的分析</b></p>
<p><b>教学目标及要求</b>（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：  <b>教学内容：</b>介绍苯二氮杂草类药物（地西洋、氯氮草等）的结构特征、鉴别反应（沉淀反应、荧光反应）及含量测定方法（非水滴定、HPLC）。  <b>教学目标：</b></p> <p>1、知识目标：</p> <p>①掌握苯二氮杂草类药物的七元杂环结构及碱性特征  ②熟悉与碘化铊钾的沉淀反应及硫酸-荧光反应的原理  ③了解非水溶液滴定法在该类药物含量测定中的应用条件</p> <p>2、能力目标：</p> <p>①能够完成苯二氮杂草类药物的沉淀反应鉴别操作  ②具备运用薄层色谱或高效液相色谱检查有关物质（如去甲基安定）的基本认知  ③能理解注射剂中附加剂对测定的干扰及 HPLC 法排除干扰的优势</p> <p>3、素养目标：</p> <p>①培养碱性药物非水滴定中的溶剂选择意识  ②建立药物与代谢产物同步分析的质量控制思维  ③强化特殊杂质检查在稳定性研究中的重要性认知</p> <p>4、课程思政：</p> <p>①通过镇静催眠药的滥用风险教育，强化合理用药、服务社会的药师责任  ②以荧光反应的独特性引导学生发现科学之美  ③强调精神类药品质量控制的严格性，体现对患者身心健康的双重关怀</p>
<p><b>教学重点及难点：</b></p> <p><b>教学重点：</b> 苯二氮杂草类药物的碱性特征、沉淀反应及非水滴定法原理。  <b>教学难点：</b> 非水滴定中溶剂、指示剂的选择及滴定终点颜色变化的准确判断。</p>
<p><b>学 时： 1 学时</b></p>
<p><b>教学方法及手段：</b> 多媒体讲授</p>
<p><b>教学过程：</b></p> <p style="text-align: center;"><b>苯并二氮杂草类镇静催眠药物的分析</b></p> <p><b>一、代表药物与其结构</b></p> <p><b>（一）代表药物种类与药理活性</b>  苯并二氮杂草类药物主要具有镇静、催眠、抗惊、抗焦虑等多种功效，是目前临床上应用最广泛的抗焦虑药。</p> <p><b>（二）代表药物结构特点</b></p> <p><b>结构通式：</b> 母核为苯并 1,4-二氮杂草。  <b>结构类型：</b>  苯环与 1,4-二氮杂草七元含氮杂环稠合而成的三环有机药物（如地西洋）。  1,2-并五元含氮杂环的唑仑类四环有机药物（如三唑仑）。</p> <p><b>二、性质</b></p>

### （一）性状

通常为白色或微黄色结晶或结晶性粉末。

具有一定的熔点。

一般不溶或极微溶于水。

溶于丙酮或三氯甲烷等有机溶剂。

### （二）化学性质

**碱性：** 本类药物结构中的二氮杂萘环为七元环，环上的氮原子碱性较强，但苯基的取代会降低其碱性。存在质子化阳离子（ $H_2A^+$ ）、中性分子（HA）、去质子化阴离子（ $A^-$ ）三种形态。如奥沙西洋分子结构中具有共轭仲酰胺和亚胺结构，能随介质的 pH 改变发生共轭异构化，从而影响其紫外光谱性质。

**稳定性：** 在强酸性溶液中，本类药物可水解，形成相应的二苯甲酮衍生物（主要有关物质）。

**荧光特性：** 溶于硫酸后，发生硫酸-荧光反应，在紫外光(365nm)下呈现不同颜色的荧光。

**吸收光谱特性：** 含有共轭体系和特征官能团，具有不同的紫外和红外吸收光谱特征。

## 三、鉴别试验

### （一）化学鉴别

**沉淀反应：** 含 N 碱性有机化合物（具有生物碱性质）与生物碱沉淀剂反应生成沉淀或颜色，具有一定熔点。

**硫酸-荧光反应：** 苯并二氮杂萘类药物溶于硫酸后，在紫外光（365nm）下，显不同颜色的荧光。

**氯化物的鉴别反应：** 本类药物大多为有机氯化物，经氧瓶燃烧法破坏前处理后生成氯化氢，以 5%氢氧化钠溶液吸收，加稀硝酸酸化，并缓缓煮沸 2min，可显氯化物反应。

**芳伯胺基反应：** 本类药物若 1-位 N 未发生取代，则与盐酸共热可水解生成芳伯胺，发生重氮化-偶合反应。例如，氯氮萘的盐酸溶液（1→2），缓慢加热煮沸，放冷，依次加入亚硝酸钠和碱性β-萘酚试液，即生成橙红色沉淀。

### （二）光谱鉴别

**紫外分光光度法：** 最大吸收波长；最大吸收波长处的吸光度或吸光度比值。

**红外分光光度法（原料药）。**

### （三）色谱鉴别

**薄层色谱法（TLC）：** 鉴别苯并二氮杂萘类药物及其制剂时，供试品溶液主斑点与对照品溶液主斑点的 R 值应一致。

**高效液相色谱法（HPLC）：** 鉴别药物及其制剂时，供试品溶液主峰的保留时间与对照品溶液主峰的保留时间一致。

## 四、有关物质与检查

氯氮萘主要有关物质包括：

4-氧化-7-氯-5-苯基-1,3-二氢-2H-1,4-苯并二氮杂萘-2-酮

3-氧化-6-氯-2-(氯甲基)-4-苯基喹唑啉

(2-氨基-5-氯苯基)苯甲酮

ChP（2020）采用高效液相色谱法对氯氮萘主要有关物质进行检测。

## 五、含量测定

**非水酸量法（非水滴定法）：** 奥沙西洋原料药在碱性介质中去质子化，具有一定酸性，采用氢氧化四丁基铵滴定液(0.1mol/L)滴定。

**紫外分光光度法（对照品比较法，吸收系数法）：** 多种药物的片剂和胶囊剂采用本法测定含量；原料药仅奥沙西洋采用本法测定。

**高效液相色谱法：** 大多采用反相高效液相色谱法，以甲醇-水或甲醇(乙腈)-缓冲液为流动

相。

作业：  
完成学习通计算题

章： 第二十章
课题： 维生素类药物的分析
<p><b>教学目标及要求</b>（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>教学内容：讲解维生素类药物（维生素 E、维生素 K<sub>1</sub>、维生素 C 等）的理化性质、专属鉴别反应及含量测定方法（GC、HPLC、碘量法）。</p> <p>教学目标：</p> <p>1、知识目标：</p> <p>①掌握维生素 E 的生育酚检查（铈量法）及气相色谱法测定原理</p> <p>②熟悉维生素 K<sub>1</sub> 中甲萘醌及顺式异构体的检查方法</p> <p>③了解不同维生素因结构差异而采用不同分析方法的原理依据</p> <p>2、能力目标：</p> <p>①能够完成维生素 E 与硝酸的呈色鉴别反应</p> <p>②具备运用气相色谱法进行含量测定的基本操作认知</p> <p>③能正确理解折光率、比旋度等物理常数在维生素分析中的应用</p> <p>3、素养目标：</p> <p>①培养针对不同维生素结构选择专属分析方法的辩证思维</p> <p>②建立物理常数与纯度相关联的质量评价意识</p> <p>③强化脂溶性维生素与水溶性维生素分析条件的差异化认知</p> <p>4、课程思政：</p> <p>①通过维生素缺乏症的案例，引导学生理解药品质量对公众营养健康的重要意义</p> <p>②以维生素 E 的抗氧化作用为切入点，弘扬科学造福人类健康的理念</p> <p>③通过物理常数测定的精准要求，培养学生精益求精的大国工匠精神</p>
<p><b>教学重点及难点：</b></p> <p><b>教学重点：</b> 维生素 E 的生育酚检查及气相色谱法测定原理；维生素 K<sub>1</sub> 的异构体检查。</p> <p><b>教学难点：</b> 不同维生素因结构差异导致的多种分析方法综合应用的逻辑理解。</p>
学 时： 2 学时
教学方法及手段： 多媒体讲授
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;"><b>维生素类药物的分析</b></p> <p>一、代表药物与其结构</p> <p>（一）代表药物种类与药理活性</p> <p>维生素是维持人体正常代谢所必需的微量活性物质，人体不能合成，需从食物中摄取。</p> <p><b>药理活性：</b> 维生素在体内参与许多重要的细胞代谢活动，主要体现在促进生长、维持上皮组织正常功能、参与糖代谢、提高机体免疫功能、促进血红蛋白合成、降低血脂、抗肿瘤等方面。</p> <p><b>分类：</b></p> <p>脂溶性：维生素 A、维生素 D、维生素 E</p> <p>水溶性：维生素 B、维生素 C</p> <p>（二）代表药物化学结构</p>

**维生素 A:** 具有一个共轭多烯醇侧链的环己烯, 具有多个立体异构体; 当侧链上  $R=H$ , 为维生素 A 醇; 当  $R=COCH_3$ , 为维生素 A 醋酸酯。

**维生素 E:** 苯并二氢吡喃衍生物, 苯环上有一个乙酰化的酚羟基; 在酸性或碱性溶液中加热易水解成游离生育酚, 又称生育酚。

**维生素 B<sub>1</sub>:** 由氨基嘧啶环和噻唑环通过亚甲基连接而成的季铵化合物的盐酸盐; 噻唑环上季铵及嘧啶环氨基均为碱性基团; 又称盐酸硫胺。

**维生素 C:** 有两个手性碳原子, 四种光学异构体, 其中以 L-构型右旋体的生物活性最强; 分子中具有与羰基共轭的烯二醇结构和内酯环结构。

## 二、理化性质

### (一) 维生素 A 的理化性质

**性状:** 淡黄色油溶液或结晶与油的混合物 (加热至  $60^{\circ}C$  应为澄清溶液); 无臭; 在空气中易氧化, 遇光易变色。

**溶解性:** 与三氯甲烷、乙醚、环己烷或石油醚任意比例混溶; 在乙醇中微溶; 在水中不溶。

**易氧化变质:** 氧气、氧化剂、紫外线可使维生素 A 氧化为环氧化合物、维生素 A 醛、维生素 A 酸等, 加热或有金属离子存在, 更易氧化变质。

**与三氯化锑呈色:** 维生素 A 与  $SbCl_3$  试剂、 $CHCl_3$  溶液反应显蓝色  $\rightarrow$  紫红色。

**具有紫外吸收:** 维生素 A 的环己烷或乙醇溶液在  $325nm \sim 328nm$  波长处有最大吸收。

### (二) 维生素 E 的理化性质

**性状:** 微黄色至黄色或黄绿色澄清的黏稠液体; 几乎无臭; 遇光色渐变深。

**溶解性:** 易溶于无水乙醇、丙酮、乙醚或植物油中, 不溶于水。

**易被氧化:** 游离生育酚在空气和日光下氧化变色。

**水解性:** 维生素 E 在  $H^+$  或  $OH^-$  作用下水解生成生育酚, 再经氧化生成醌型化合物。

**具有紫外吸收:** 结构中有苯环, 故有紫外吸收, 其无水乙醇溶液在  $284nm$  波长处有最大吸收。

### (三) 维生素 B<sub>1</sub> 的理化性质

**性状:** 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。

**溶解度:** 在水中易溶, 在乙醇中微溶, 在乙醚中不溶。

**显酸性:** 水溶液显酸性, 且在酸性溶液中较稳定。

**硫色素反应 (维生素 B<sub>1</sub> 专属反应):** 维生素 B<sub>1</sub> 在  $NaOH-H_2O$  作用下环合, 经  $K_3Fe(CN)_6$  氧化生成硫色素, 溶于正丁醇显蓝色荧光, 加  $H^+$  或  $OH^-$  荧光消失。

**与生物碱沉淀剂反应:** 与硅钨酸、碘化汞钾、三硝基酚等反应生成不同颜色沉淀。

**光谱吸收特征:** 分子结构中含有共轭双键, 在紫外光区和红外光区均有特征吸收。

**氯化物的鉴别反应:** 维生素 B<sub>1</sub> 水溶液显氯化物的鉴别反应。

### (四) 维生素 C 的理化性质

**性状:** 白色结晶或结晶性粉末; 无臭, 味酸; 久置色渐变微黄。

**溶解性:** 在水中易溶, 水溶液显酸性, 在乙醇中略溶, 在三氯甲烷或乙醚中不溶。

**糖的性质:** 分子结构与糖相似, 因而具有糖类性质的反应。

**旋光性:** 分子中有两个手性碳原子, 有四个光学异构体, 因而具有旋光性。

**还原性:** (详见 PPT)

**酸性:** 维生素 C 分子中具有烯二醇结构, 由于  $C_3-OH$  受共轭效应的影响, 酸性较强 ( $pK_1=4.17$ ),  $C_2-OH$  与  $C_1$  羰基形成分子内氢键而酸性较弱 ( $pK_2=11.57$ ), 故维生素 C 为一元酸。可与碳酸氢钠或氢氧化钠溶液作用生成钠盐。

**紫外吸收:** 分子结构中具有共轭双键, 在稀盐酸溶液中, 在  $243nm$  波长处有最大吸收,

若在中性或碱性条件下，则波长红移至 265nm 处。可用于定性鉴别和含量测定。

### 三、鉴别试验

#### (一) 维生素 A 的鉴别

**三氯化锑反应 (Carr-Price 反应)：** 反应条件为无水 (水可使三氯化锑水解生成氯化氧锑  $\text{SbOCl}$ )，无醇 (乙醇可与碳正离子作用，使正电荷消失)。

#### (二) 维生素 E 的鉴别

**硝酸反应：** 维生素 E 在无水乙醇溶解后，经  $\text{HNO}_3$  水解、氧化生成生育红，显橙红色。

**红外光谱法：** 供试品图谱应与对照品图谱 (光谱集 1206 图) 一致。

**气相色谱法：** 供试品主峰的保留时间应与维生素 E 对照品峰的保留时间一致。

#### (三) 维生素 B<sub>1</sub> 的鉴别

**硫色素反应：** (详见 PPT 反应式)

**红外光谱法：** 鉴别维生素 B<sub>1</sub> 原料药，其红外吸收图谱应与对照图谱《光谱集 1205 图》一致。

**氯化物鉴别反应：** 维生素 B<sub>1</sub> 的水溶液显氯化物的鉴别反应。

#### (四) 维生素 C 的鉴别

**硝酸银反应。**

**2,6-二氯酚钠反应：** 氧化型显蓝色，还原型无色。

**碱性酒石酸铜反应：** 鉴别维生素 C 钠。

**红外光谱法：** 分子结构中存在羰基、羟基和二烯醇基，在红外光区有特征吸收。

**薄层色谱法：** ChP (2020) 用薄层色谱法鉴别维生素 C 片、维生素 C 注射液、维生素 C 泡腾片、维生素 C 泡腾颗粒、维生素 C 颗粒。

### 四、有关物质与检查

#### (一) 维生素 A 的检查

**酸值：** 酸碱滴定法控制酸值限量。

**过氧化值：** 氧化还原滴定法控制过氧化物杂质限量。

#### (二) 维生素 E 的检查

**酸度：** 检查维生素 E 制备或储存过程中引入的游离醋酸 (酸碱滴定法)。

**生育酚 (天然型)：** 硫酸铈滴定法。

**有关物质：** 不加校正因子的主成分自身对照 GC 法。色谱条件：载气  $\text{N}_2$ ，固定液硅酮 (OV-17) 或二甲基聚硅氧烷，柱温  $265^\circ\text{C}$ ，检测器 FID。限度要求： $\alpha$ -生育酚 (杂质 I) 峰面积不得大于对照溶液主峰面积；其他单个杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积的 1.5 倍；各杂质峰面积的和不得大于对照溶液主峰面积的 2.5 倍。

**残留溶剂：** 顶空气相色谱法 (正己烷，限度为 0.029%)。

#### (三) 维生素 B<sub>1</sub> 的检查

**有关物质：** 高效液相色谱法中不加校正因子的主成分自身对照法。色谱条件：色谱柱  $\text{C}_{18}$ ，流动相甲醇-乙腈-0.02mol/L 庚烷磺酸钠溶液 (9:9:82)，检测波长 254nm，进样体积  $20\mu\text{l}$ 。限度：0.5%。

**总氯量：** 硝酸银滴定法。

#### (四) 维生素 C 的检查

**溶液澄清晰度与颜色：** ChP 采用紫外-可见分光光度法，通过测定吸光度控制有色杂质限量。

**铁盐和铜盐的检查：** 原子吸收分光光度法 (标准加入法、对照法)。

**草酸：** 草酸与氯化钙生成草酸钙沉淀，观察溶液浑浊度控制草酸的限量。

### 五、含量测定

#### (一) 维生素 A 的含量测定

ChP (2020) 记载了两种维生素 A 测定法：紫外-可见分光光度法和高效液相色谱法。

**测定原理（三点校正法）：** 在 3 个波长处测得吸光度，根据校正公式计算吸光度 A 的校正后，再计算含量。原理依据：①杂质的吸收在 310~340nm 波长范围内接近一条直线，且随波长的增大吸光度下降；②物质对光吸收呈加和性。

**波长选择：** 等波长差法( $\lambda_3 - \lambda_1 = \lambda_1 - \lambda_2$ )，ChP 测定维生素 A 醋酸酯时， $\lambda_1 = 328\text{nm}$ ， $\Delta\lambda = 12\text{nm}$ ， $\lambda_2 = 316\text{nm}$ ， $\lambda_3 = 340\text{nm}$ ；等吸收比法 ( $A_{\lambda_2} = A_{\lambda_3} = 6/7A_{\lambda_1}$ )，ChP 测定维生素 A 醇时， $\lambda_1 = 325\text{nm}$ ， $\lambda_2 = 310\text{nm}$ ， $\lambda_3 = 334\text{nm}$ 。

**测定方法：** 直接测定法（适用于高纯度的维生素 A 醋酸酯）；皂化法（适用于维生素 A 醇）。

### （二）维生素 E 的含量测定

《中国药典》记载的维生素 E 原料药及所有制剂的含量测定均采用气相色谱法。

### （三）维生素 B<sub>1</sub>的含量测定

维生素 B<sub>1</sub>原料药：非水溶液滴定法。

维生素 B<sub>1</sub>片剂、维生素 B<sub>1</sub>注射剂：紫外-可见分光光度法。

### （四）维生素 C 的含量测定

《中国药典》采用碘量法测定维生素 C 及制剂含量。

**原理：**（详见 PPT 反应式）

**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，至溶液显蓝色并在 30 秒内不褪。每 1ml 碘滴定液（0.05mol/L）相当于 8.806mg 的 C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>。本品含 C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub> 不得少于 99.0%。

**注意事项：** 酸性环境（减慢 VitC 被 O<sub>2</sub> 氧化速度）；立即滴定（减少 O<sub>2</sub> 的干扰）；新沸冷水（减免水中 O<sub>2</sub> 的干扰）；制剂测定时注意消除辅料的干扰。

作业：

完成学习通计算题

章： 第二十一章
课题： 甾体激素类药物的分析
<p><b>教学目标及要求</b>（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>教学内容：介绍甾体激素（肾上腺皮质激素、性激素等）的甾核结构特征、鉴别方法（呈色反应、红外光谱）及含量测定方法（HPLC）。</p> <p>教学目标：</p> <p>1、知识目标：</p> <p>①掌握甾体激素的基本结构（环戊烷多氢菲）及构效关系</p> <p>②熟悉四氮唑比色法、异烟肼法等专属鉴别反应的原理</p> <p>③了解甾体激素制剂中其他甾体杂质的检查要求</p> <p>2、能力目标：</p> <p>①能够识别甾体激素的官能团与分析方法的关系</p> <p>②具备运用高效液相色谱法分离结构相似甾体化合物的基本认知</p> <p>③能理解不同取代基（如C<sub>11</sub>-OH、C<sub>17</sub>-OH）对分析方法选择的影响</p> <p>3、素养目标：</p> <p>①培养从甾核母核与取代基两个层次分析药物的思维</p> <p>②建立结构高度相似化合物的分离分析意识</p> <p>③强化杂质谱研究的系统性和全面性理念</p> <p>4、课程思政：</p> <p>①通过甾体激素在临床的广泛应用（抗炎、免疫抑制），引导学生理解药物研发的社会价值</p> <p>②以甾核结构的稳定性比喻中华文化的源远流长</p> <p>③强调激素类药物合理使用的重要性，培养科学、审慎的用药指导意识</p>
<p><b>教学重点及难点：</b></p> <p><b>教学重点：</b> 甾体激素的甾核结构特征及四氮唑比色法、异烟肼法等专属鉴别反应。</p> <p><b>教学难点：</b> 结构高度相似的甾体化合物（如不同取代基）的色谱分离方法优化。</p>
<b>学 时： 1 学时</b>
<b>教学方法及手段：</b> 多媒体讲授
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;"><b>甾体激素类药物的分析</b></p> <p><b>一、代表药物与其结构</b></p> <p><b>（一）代表药物种类与药理活性</b></p> <p>甾体激素是一类由哺乳动物内分泌系统分泌的内源性物质，在维持生命、调节性功能、机体发育、免疫调节、皮肤病治疗等方面发挥重要作用。</p> <p><b>（二）代表药物结构特点</b></p> <p>甾体激素类药物基本骨架：母核为环戊烷并多氢菲。</p> <p><b>肾上腺皮质激素类药物结构特点：</b></p> <p>代表药物：氢化可的松、醋酸地塞米松。</p> <p>结构特征：A 环有<math>\Delta^4</math>-3-酮基；C<sub>17</sub>位上为<math>\alpha</math>-醇酮基（或羟甲基酮）；部分药物的 C<sub>6</sub>或 C<sub>9</sub></p>

位有卤素取代；部分药物的 C<sub>11</sub>位有羟基或酮基取代；部分药物 C<sub>21</sub>位上羟基形成酯。

#### **雄激素与蛋白同化激素类药物结构特点：**

代表药物：甲睾酮、丙酸睾酮、苯丙酸诺龙。

结构特征：A 环上有共轭体系 $\Delta^4$ -3-酮；C<sub>10</sub>位和 C<sub>13</sub>位上皆有甲基；D 环 C<sub>17</sub>位上无侧链，多为羟基（如甲睾酮），或由羟基形成的酯（如丙酸睾酮）。蛋白同化激素 C<sub>10</sub>位上无角甲基，母核仅有 18 个碳原子，如苯丙酸诺龙。

#### **孕激素类药物结构特点：**

代表药物：黄体酮、醋酸甲地孕酮、炔诺酮。

结构特征：A 环上有 $\Delta^4$ -3-酮基；C<sub>10</sub>位和 C<sub>13</sub>位上皆有甲基；D 环 C<sub>17</sub>位上有甲酮基，或是羟基，或由羟基形成的酯，还有些具有乙炔基。

#### **雌激素类药物结构特点：**

代表药物：雌二醇、炔雌醇。

结构特征：A 环为苯环，C<sub>3</sub>位上有酚羟基，有的药物 C<sub>3</sub>位上的酚羟基成酯或成醚。C<sub>17</sub>位上有羟基，有些药物 C<sub>17</sub>位上羟基成酯。有些药物在 C<sub>17</sub>位上有乙炔基。

## **二、性质**

### **（一）性状**

白色至微黄色粉末或结晶性粉末。

除钠盐外，多数在三氯甲烷中微溶至易溶，在甲醇或乙醇中微溶至溶解，在乙醚或植物油中极微溶解至略溶，在水中不溶或几乎不溶。

具有熔点、比旋度、吸收系数等物理常数。

### **（二）化学性质**

**紫外吸收特性：**  $\Delta^4$ -3-酮结构、苯环结构具有特征紫外吸收。

**还原性：** 肾上腺皮质激素具有 C<sub>17</sub>- $\alpha$ -醇酮基，具有还原性。

**水解性：** 某些甾体激素类药物具有羧酸酯的结构，可发生水解。

## **三、鉴别试验**

### **（一）化学鉴别**

**与强酸的呈色反应：** 甾体激素类药物与 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>、HClO<sub>4</sub>、HCl 等强酸作用可呈色（详见 PPT 表 22-1）。

**官能团的反应：**

**$\alpha$ -醇酮基的还原反应：** 肾上腺皮质激素药物与氨制硝酸银反应生成 Ag↓（黑色）；与碱性酒石酸铜反应生成 Cu<sub>2</sub>O↓（红色）；与四氮唑盐在 OH<sup>-</sup>条件下呈色。

**酮基的呈色反应：** 含 C<sub>3</sub>-酮基和 C<sub>20</sub>-酮基的甾体激素类药物与羰基试剂（2,4-二硝基苯肼、硫酸苯肼、异烟肼）反应缩合成腙。示例：黄体酮与异烟肼的反应。

**C<sub>17</sub>-甲酮基呈色反应：** 黄体酮的灵敏、专属的鉴别反应。

**酚羟基的呈色反应：** 雌二醇的鉴别：取本品约 2ml，加硫酸 2ml 溶解，有黄绿色荧光，加三氯化铁试液 2 滴，呈草绿色，再加水稀释，则变为红色。

**卤素的反应：** 有机氟经有机破坏后生成 F<sup>-</sup>，与茜素氟蓝-硝酸亚铈反应呈蓝紫色；有机氯经有机破坏后生成 Cl<sup>-</sup>，与硝酸-硝酸银反应生成 AgCl↓。

**炔基的沉淀反应**（详见 PPT）。

**酯的沉淀反应：** 水解生成相应的羧酸。

### **（二）光谱鉴别**

**紫外分光光度法：**  $\Delta^4$ -3-酮结构在 240nm 左右有最大吸收，苯环结构在 280nm 左右有最大吸收。方法包括规定 $\lambda_{max}$  及 $\lambda_{min}$ 、最大吸收波长处的吸光度、某两个波长处吸光度的比值。

**红外分光光度法：**红外光谱特征性强，各国药典中甾体激素原料药大多采用红外分光光度法进行鉴别（以醋酸可的松的红外吸收光谱为例）。

### （三）色谱鉴别

**薄层色谱法：**特别适用于甾体激素类药物制剂的鉴别。方法为对照品法，结果判断：供试品溶液所显主斑点的颜色和位置与对照品溶液的主斑点相同。

**高效液相色谱法：**适用于甾体激素类药物原料与制剂的鉴别。方法为对照品法，结果判断：供试品峰的 tR 与对照品峰的 tR 一致。

## 四、有关物质与检查

### （一）有关物质的检查

甾体激素类药物在制备中可能会引入原料、中间体、异构体、降解产物等和药物结构相似的杂质，这些杂质被定义为“有关物质”。

**高效液相色谱法：**采用供试品溶液自身稀释对照法。判定标准：规定杂质峰数目、规定杂质峰面积。

**薄层色谱法：**高低浓度对照法。判断标准：规定杂质斑点个数，控制杂质种类；规定杂质斑点颜色，供试品溶液杂质斑点颜色不得超过对照溶液主斑点。

### （二）游离磷酸盐的检查

检查对象：地塞米松磷酸钠、氢化可的松磷酸钠（生产、贮存可引入磷酸盐）。

原理：在 $\lambda_{\max}=740\text{nm}$ 处测定吸光度。

规定：供试品溶液的吸光度不得大于对照溶液的吸光度。

实例-地塞米松磷酸钠中游离磷酸盐的检查：供试品（20mg）与磷酸盐标准溶液（4.0ml， $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.035mg/ml）同法处理，测定  $A_{740}$ ，供试品  $A_{740}$  不得大于对照  $A_{740}$ 。游离磷酸盐的限量以磷酸（ $\text{H}_3\text{PO}_4$ ）表示，限量为 0.5%。

### （三）残留溶剂的检查

地塞米松磷酸钠的制备过程中使用甲醇、乙醇和丙酮，需进行检查。方法：GC。甲醇为第二类溶剂，限量 0.3%；乙醇、丙酮为第三类溶剂，限量 0.5%。

### （四）硒的检查

引入途径：在生产工艺中需使用二氧化硒脱氢，在药物中可能引入杂质硒。

原理：二氨基萘比色法，环己烷萃取，测定  $A_{378}$ 。

硒的限量：0.005%~0.01%。

## 五、含量测定

### （一）高效液相色谱法

各国药典多采用反相高效液相色谱法测定甾体激素类药物原料药和制剂的含量。

#### 例：复方左炔诺孕酮片的含量测定

色谱条件：固定相 ODS，流动相乙腈-水（60:40），检测波长 220nm。

系统适用性试验：按左炔诺孕酮峰计算不低于 5000，左炔诺孕酮峰与炔雌醇峰之间的分离度应大于 2.5。

### （二）紫外分光光度法

专属性不够强，不能区别药物和有关物质的紫外吸收，已逐步被高效液相色谱法所取代。仅有少量药物及制剂采用紫外分光光度法测定含量。

**例：醋酸泼尼松龙片的含量测定：**取本品 20 片，精密称定，研细，精密称取适量（约相当于醋酸泼尼松龙 20mg），置 100ml 量瓶中，加无水乙醇约 60ml，振摇 15 分钟使醋酸泼尼松龙溶解，用无水乙醇稀释至刻度，摇匀，滤过，精密量取续滤液 5ml，置 100ml 量瓶中，用无水乙醇稀释至刻度，摇匀。在 243nm 的波长处测定吸光度，按  $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_6$  的吸收系数为 370 计算。

### (三) 四氮唑盐比色法

**四氮唑盐的种类：** 红四氮唑（2,3,5-三苯基氯化四氮唑，TTC 或 RT）；蓝四氮唑（BT）。

**基本原理：** 肾上腺皮质激素类药物的 C<sub>17</sub>- $\alpha$ -醇酮基具有强还原性，在 OH<sup>-</sup>条件下可将四氮唑盐还原为有色甲腙（TTC 还原为红色甲腙，BT 还原为暗蓝色双甲腙）。

**测定方法：** 对照品法（实例：醋酸泼尼松眼膏的含量测定）。

**影响因素：** 药物结构（C<sub>11</sub>-酮基比 C<sub>11</sub>-羟基速度快）、溶剂（无醛乙醇）、水分、温度（25℃）、时间（40~45min）、碱种类（氢氧化四甲基铵）、顺序（先加四氮唑盐溶液再加碱液）、氧、光线（避光暗处）、干扰物。

### (四) 柯柏反应比色法

**基本原理：** 雌激素类药物与硫酸-乙醇共热呈色，第一步反应生成黄色（ $\lambda_{\max}=465\text{nm}$ ），第二步反应生成红色（ $\lambda_{\max}=515\text{nm}$ ）。以雌二醇 Kober 反应的吸收光谱为例。

作业：

完成学习通计算题

章： 第二十二章
课题： 抗生素类药物的分析
<p><b>教学目标及要求</b>（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>教学内容：介绍抗生素类药物（<math>\beta</math>-内酰胺类、氨基糖苷类、大环内酯类）的结构特点、效价测定方法（微生物检定法、HPLC）及高分子聚合物检查。</p> <p>教学目标：</p> <p>1、知识目标：</p> <p>①掌握抗生素类药物的常规检查项目（异常毒性、热原、无菌、降压物质）</p> <p>②熟悉<math>\beta</math>-内酰胺类抗生素的聚合物杂质及其检查意义</p> <p>③了解微生物检定法与理化测定法在抗生素含量测定中的适用范围</p> <p>2、能力目标：</p> <p>①能够区分不同类别抗生素的结构特点与分析方法差异</p> <p>②具备运用高效液相色谱法测定抗生素含量的基本认知</p> <p>③能理解抗生素效价单位的含义及换算关系</p> <p>3、素养目标：</p> <p>①培养抗生素安全性检查的全方位质量控制意识</p> <p>②建立效价与纯度双重评价的质量思维</p> <p>③强化对抗生素合理使用与耐药性问题的社会责任意识</p> <p>4、课程思政：</p> <p>①通过抗生素的发现史，弘扬科学发现中的偶然与必然辩证关系</p> <p>②强调抗生素滥用导致耐药性的社会问题，培养学生合理用药的职业责任感</p> <p>③通过严格的无菌和热原检查要求，体现对患者生命安全的高度负责</p>
<p><b>教学重点及难点：</b></p> <p><b>教学重点：</b> <math>\beta</math>-内酰胺类抗生素的聚合物杂质检查及微生物检定法原理。</p> <p><b>教学难点：</b> 效价单位（IU/mg）的含义理解及微生物检定法与理化测定法的结果相关性分析。</p>
<b>学 时： 1 学时</b>
<b>教学方法及手段：</b> 多媒体讲授
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;"><b>抗生素类药物的分析</b></p> <p>一、代表药物与其结构</p> <p>（一）代表药物种类与药理活性</p> <p>抗生素类药物是临床抗感染治疗的重要药物，是指由微生物在代谢过程中所产生的一类具有抑制或杀灭其他微生物生长能力的活性代谢产物。</p> <p>（二）代表药物结构特点</p> <p><b><math>\beta</math>-内酰胺类：</b></p> <p><b>青霉素类：</b> 母核为 6-氨基青霉烷酸（6-APA）。代表药物：阿莫西林。</p> <p><b>头孢菌素类：</b> 母核为 7-氨基头孢菌烷酸（7-ACA）。代表药物：头孢氨苄。</p> <p><b>氨基苷类：</b></p>

代表药物：硫酸链霉素、硫酸庆大霉素、硫酸卡那霉素。

#### 大环内酯类：

代表药物：红霉素、罗红霉素、阿奇霉素。

### 二、性质

#### (一) 性状

**$\beta$ -内酰胺类：**通常为白色结晶性粉末，有引湿性，在水中极易溶解，在乙醇中溶解。

**氨基苷类：**通常为白色或类白色的粉末，有引湿性，在水中易溶，在乙醇、丙酮或乙醚中不溶。

**大环内酯类：**通常为白色或类白色的结晶或粉末，微有引湿性，在甲醇、乙醇或丙酮中易溶，在水中极微溶解。

#### (二) 化学性质

##### $\beta$ -内酰胺类：

**酸性：**青霉素和头孢菌素分子中的游离羧基具有相当强的酸性，大多数青霉素的 pKa 在 2.5~2.8。

**稳定性：** $\beta$ -内酰胺环在酸、碱、酶及某些金属离子（铜、铅、汞和银）或氧化剂等作用下，易发生水解和分子重排，导致开环失去抗菌活性。

**旋光性：**本类药物具有 3 个手性碳（青霉素类）或 2 个手性碳（头孢菌素类），都具有旋光性。

**吸收光谱特性：**含有共轭体系和特征官能团，具有不同的紫外和红外吸收光谱特征。

##### 氨基糖苷类：

**酸性：**氨基糖苷类抗生素的分子中含有多个羟基（故也称多羟基抗生素）和碱性基团（如氨基和胍基），可与无机酸或有机碱成盐，临床主要应用硫酸盐。

**稳定性：**糖苷键易水解，配制注射液时需注意其 pH。

**旋光性：**本类抗生素分子结构中含有多个氨基糖，具有旋光性。

**吸收光谱特性：**链霉素在 230nm 处有紫外吸收，庆大霉素、奈替米星等无紫外吸收。

##### 大环内酯类：

**碱性：**大环内酯类药物结构中的氨基显碱性，可与酸成盐，盐易溶于水。

**稳定性：**大环内酯类药物分子结构中的内酯和苷键，对酸碱不稳定，可发生苷键水解、内酯环开环及脱酰基反应，导致药物的抗菌活性降低或丧失。

**旋光性：**结构中具有多个手性碳原子，原料药物均需测定旋光度。

### 三、鉴别试验

#### (一) 化学鉴别

**羟肟酸铁反应：**盐酸羟胺可使 $\beta$ -内酰胺环在碱性条件下开环形成异羟肟酸，在稀酸中与高铁离子生成有色的羟肟酸铁配合物。

**坂口反应：**硫酸链霉素在碱性条件下水解后，可生成特征的链霉胍，链霉胍可与 8-羟基喹啉、次溴酸钠反应生成橙红色产物，为链霉胍的特征反应。

**麦芽酚反应：**硫酸链霉素在碱性条件下水解为链霉糖，经分子重排后生成麦芽酚（ $\alpha$ -甲基- $\beta$ -羟基- $\gamma$ -吡喃酮）与高铁离子在微酸性溶液中形成紫红色配位化合物，为链霉素的特征反应。

#### (二) 光谱鉴别

**紫外分光光度法：**最大吸收波长；最大吸收波长处的吸光度或吸光度比值。

**红外分光光度法（原料药）。**

#### (三) 色谱鉴别

**薄层色谱法（TLC）：**鉴别药物及其制剂时，供试品溶液主斑点与对照品溶液主斑点的 R

值应一致。

**高效液相色谱法 (HPLC)：** 鉴别药物及其制剂时，供试品溶液主峰的保留时间与对照品溶液主峰的保留时间一致。

#### **四、有关物质与检查**

**2-萘酚：** 头孢氨苄、头孢拉定生产过程中，常用 2-萘酚作为沉淀剂，使之得以分离，再对 2-萘酚进行回收。若 2-萘酚回收不完全，随药物进入人体，将产生严重的安全隐患。因此，《中国药典》2020 年版规定头孢氨苄、头孢拉定均需检查 2-萘酚的杂质含量，均采用高效液相色谱法。

#### **五、含量测定**

**微生物检定法：** 本法系在适宜条件下，根据量反应平行线原理设计，通过检测抗生素对微生物的抑制作用，计算抗生素活性（效价）的方法。测定方法分为管碟法和浊度法。

**高效液相色谱法：** 该法具有对混合物分离及定量检测的优点，不但可快速、准确地测定药物含量，更能够将抗生素中存在的有关物质及有关组分分别检测及定量，具有较高的专属性。目前各国药典所收载的抗生素理化方法主要是高效液相色谱法。

作业：

完成学习通计算题