

藥品分析

Pharmaceutical ANALYSIS

A textbook for
pharmacy students and
pharmaceutical chemists

原著 / David G. Watson

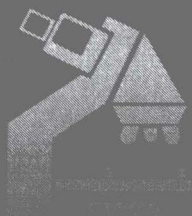
監修 / 長庚大學天然藥物研究所副教授 方嘉佑

編譯 / 國立台灣大學生化學碩士 郭進安



Health Sciences Asia.

合記圖書出版社 發行



藥品分析

Pharmaceutical Analysis

A textbook for pharmacy students and
pharmaceutical chemists

原著

David G. Watson

監修

長庚大學天然藥物研究所副教授

方嘉佑

編譯

國立台灣大學生化學碩士

郭進安



Health Sciences Asia



合記圖書出版社 發行

Pharmaceutical Analysis, First edition

D. G. Watson

ISBN: 0-443-05986-1

Copyright © 1999 by Elsevier Science. All rights reserved.

Authorized translation from English language edition published by the Proprietor.

ISBN: 981-4095-85-0

Copyright © 2002 by Health Sciences Asia, Elsevier Science. All rights reserved.

Health Sciences Asia, Elsevier Science

583 Orchard Road

#09-01 Forum

Singapore 238884

Tel: (65) 737 3593

Fax: (65) 734 1874

First Published 2002

2002 年初版

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the publisher.

本書任何部份之文字及圖片，如未獲得本公司之書面同意，不得用任何方式抄襲、節錄或翻印。

前言

(Preface)

本書的目標是在藥學和化學學生的大學教育上，而且本書對於藥品分析所用的主要技術均有所介紹。

最近10年來分析技術快速發展。相較於其它許多工業，品管對於製藥業尤為重要，因而有一些分析技術被開發出來，尤其是層析技術。目前藥物分析的書大多涵蓋技術的每一面，甚至很少使用的，因此每一單元均相當複雜冗長。而本書也收錄很多分析技術，但只選擇介紹每項技術的重點以及需要懂得的基本理論要點，而不是介紹一大堆的狀況，那是碰到問題再請教即可的。因此，各項技術的深奧之處，最好請再參閱專門書籍。

本書的自我練習題單元，是各章節需要瞭解的重點，在此特別強調利用分析數據結果作簡單的數學計算，雖然這些計算在練習後變得容易，但大學生的數學計算能力日益衰落是需要加以矯正的。

其他藥品分析書本常忽略藥物的一個層面，即 pK_a 值的重要，它在很多分析領域上是重要的；在大部分的化學課程中不重視此主題，而本書將對此加以著墨。立體化學有時也是學生困擾的來源，我將討論它與藥物的關係以及一些範例。與儀器分析技術一樣，我也會討論仍廣泛使用的滴定法，尤其是藥典個論中用到的。本書所介紹的儀器技術，我多已實際操作過（除了毛細電泳外），也借助了博士班學生使用這些日益重要技術的各種經驗。

本書最長的一章是討論高壓液相層析法，係藥品品質管制中最常用的技術。由於我的主要研究重點在結合層析法與質譜儀。有關這個主題，我試著不要寫得太深，因為除了生技藥品外，在藥品分析上那不是重心。質譜學及核磁共振光譜學為較複雜的光化學技術，所以盡可能減少其複雜性，而只寫出與藥品分析相關部分。對於統計部分只簡單介紹，因為大部分的情況，簡單的統計分析足以測定分析是否可信的。

感謝藥物科學部門的同事與我共分享研究生涯的成功與失敗。
最後感謝我的妻子和兒女，忍耐我熬夜完成此書。

D.G Watson

1999

序言

(Preface)

很高興看到郭進安先生在沈潛二十年之後重出江湖完成此書之譯介工作。郭先生距今二十年前的巨著－藥品鑑定學，在當時可堪稱為最完整、詳盡的一本藥物定性定量分析之教科書，幾乎藥學系的學生皆人手一本，幫助許多人度過艱難的期末考，之後我在指導大學部的學生及研究生時，亦要求他們必須詳讀這本書，以建立良好的知識基礎。

近十年來藥物的發展日新月異，大分子藥物如：蛋白質及胜肽類藥物，另外如：基因治療，皆在全球造成熱門的話題，但是相關的分析參考書卻尚未更新甚至付之闕如，現在總算盼到郭先生再度出馬翻譯整理這本 *Pharmaceutical Analysis*。此書內容完整，增加了許多可以分析藥物的新技術介紹，如：核磁共振、層析法及高效率毛細管電泳，另外在傳統的分析方法方面亦詳細地增列了對一些新型藥物的應用，因此不論是對於藥學界，化學界，甚至分子生物領域，應該皆可以受用於此書。

專業領域的翻譯工作實屬不易，尤其要將一些專有名詞或字句流暢化更是困難，郭先生現任職於藥界其成就已卓然有成，有目共睹。但是在穩定的生活當中，他願意犧牲閒暇時間投入此書之譯介工作逐字逐句完成，其嚴謹的態度及熱心的精神實在令人感佩，藥學界正需要像這種人才的投入，也希望他再接再厲，繼續介紹給我們一些好書，不要再讓我們引頸期盼另一個二十年，實是藥學界之福。

方嘉佑

謹識於長庚大學
2002年1月8日

譯者序

(Preface)

隨著科技的進步與發展，藥品的分析已由傳統簡單的分析方法，走入精密複雜的儀器分析，因此在相隔二十年後，秉著謙卑的心，嚴謹的態度翻譯 Watson 的 *Pharmaceutical Analysis*。

由於個人離開藥廠品管工作已多年，對於新穎、先進的儀器頗感生澀，幸賴長庚大學的方嘉佑副教授多方指正，本書方以順利完成。

有別於一般的儀器分析書籍，原文作者開宗明義地闡述分析方法品管概念，而與目前積極推廣的 GLP (good laboratory practice) 相互輝映。

儀器分析雖然快速便捷，但傳統的滴定分析和萃取在現代的藥品分析上仍有不可忽視的地位，尤其 pK_a 值著墨甚多，以便讀者在高壓液相層析法 (HPLC) 中移動相的選擇有所依循。

光譜學和層析法可說是目前藥品分析的主流，所以本書花了三分之二的章節詳述，並佐以實例，而讓初學者能更務實地瞭解。

最後謹以此書獻給好學不倦，半百獲得碩士的賢妻 - 瑩玉，我的小學妹女兒 - 桂伶，及小女兒 - 冠伶，並以此作為她的生日賀禮。

郭進安

謹識于 91.1.10

目錄

(Contents)

第一章 分析方法的品質管制 1

- 前言 1
- 分析中的誤差管制 2
- 正確和精確 4
- 重覆性及再現性 6
- paracetamol 錠含量測定的標準作業程序(SOP) 8
- 複合的隨機誤差 9
- 結果報導 10
- 分析程序管制中所用的其他術語 11

第二章 藥物分子的物理化學性質 17

- 前言 17
- 強 / 弱酸 / 鹼的水溶液 pH 值計算 18
- 酸及鹼強度及 pKa 20
- Henderson-Hasselbalch 式 20
- 藥物分子的離子化 21
- 緩衝液 23
- 鹽的水解 26
- 活性、離子強度及偶電常數 27
- 分配係數 28
- pH 對分配的影響 29
- 藥物安定性 31
- 藥物的立體化學 32
- 旋光度的測定 38
- 一些藥物分子的物理－化學性質概況 39
- 附加練習題 46

第三章 滴定及化學分析方法 49

- 要點 49
- 前言 50
- 儀器和試劑 50
- 水溶液中酸 / 鹼直接滴定 51
- 水溶液中的間接滴定 54
- 非水滴定 56
- 銀滴定 58
- 錯化合物滴定 58
- 氧化還原滴定 59
- 碘定滴定法 61
- 離子對的滴定 63
- 偶氮化滴定 64
- 電位滴定 65
- 費氏滴定法 68
- 濕化學法的自動化 68
- 流動注射分析在藥品分析上的應用 71

第四章 紫外光及可見光光譜學 75

- 要點 75
- 前言 76
- 在紫外光 / 可見光區控制輻射吸收的因素 77
- 比爾—藍伯法則 79
- 儀器裝置 80
- 儀器校正 80
- 一些代表藥品分子的紫外光光譜 82
- 利用紫外光 / 可見光分光光度法測定 pKa 值 85
- 紫外光 / 可見光分光光度法藥品定量分析上的應用 86
- 差異分光光度測定法 90
- 微分光譜 92
- 紫外光 / 可見光分光光度法於製劑前及製劑中的應用 94

第五章 紅外光分光光度測定法 97

- 要點 97
- 前言 98
- 紅外光光譜中決定吸收強度和能階的因素 99
- 儀器裝置 100
- 檢品配製 102
- 紅外光分光光度測定法在構造解析上的應用 104
- 藥物分子的紅外光光譜的範例 104
- 紅外光分光光度測定法用為指紋技術 110
- 紅外光分光光度測定法為同質多晶體的鑑別方法 111

近紅外光分析 (NIRA) 112

要點 112

前言 113

NIRA 應用的範例 113

附加練習題 116

第六章 原子分光光度測定法 119**原子發散分光光度測定法 119**

要點 119

前言 119

儀器裝置 120

以原子發散光度測定法定量的範例 121

原子發散光度測定分析中的干擾 123

利用標準液加入法的含量測定 123

原子吸收分光光度測定法 125

要點 125

前言 126

儀器裝置 126

利用 AAS 含量測定的範例 127

利用 AAS 的限量試驗的一些範例 129

感應偶合電漿發散分光測定法 130

第七章 分子發散光譜學 133**螢光光度測定法 133**

要點 133

前言 134

儀器裝置 134

會顯現螢光的分子 135

干擾螢光強度的因素 136

螢光光度測定法在藥品分析中的應用 137

拉曼光譜學 140

要點 140

前言 140

儀器裝置 141

應用 142

第八章 核磁共振光譜學 145

要點 145

前言 146

儀器裝置 147

質子核磁共振儀 148

NMR 於一些藥物分子的構造確認上的應用 155

碳-¹³NMR 159

NMR兩度空間光譜	161
NMR於定量分析上的應用	163
NMR的其他特殊應用	164

第九章 質譜學 167

要點	167
前言	168
儀器裝置	168
在電子撞擊離子化狀況下所得的質譜	170
分子斷裂圖型	171
一些藥物分子的電子撞擊質譜	175
氣相層析法－質譜法 (GC-MS)	180
GC-MS於雜質的應用	183
液相層析法－質譜儀 (LC-MS)	186
LC-MS在藥品分析中的應用	188

第十章 層析理論 195

前言	195
空白容量和容積因子	195
層析管效率計算	196
HPLC中帶變寬的來源	197
評估層析管效能所用的指標	201
資料的獲得	203
報告的產生	204

第十一章 氣相層析法 207

要點	207
前言	208
儀器裝置	208
液體固定相的選擇	212
衍生化在GC中的利用	219
支配毛細管GC效能的指標摘要	220
GC檢出器	222
GC在定量分析中的應用	224
以GC測定製造和分解的殘留物	229
殘留溶劑的測定	231
GC在生物分析上的應用	233
附加練習題	234

第十二章 高壓液相層析法 237

要點	237
前言	238
儀器裝置	238
固定相和移動相	239

控制化合物從 HPLC 層析管沖提出速率的構造因素	241
HPLC 中所用固定相的摘要	246
用於 HPLC 中的檢出器摘要	248
雙極行列檢出器的效能	250
HPLC 於製劑中藥物定量分析上的應用	252
利用內標準品對照校正的含量測定	259
涵蓋更專一的 HPLC 技術的含量測定	264
附加練習題	274

第十三章 薄層層析法 277

要點	277
前言	278
儀器裝置	278
TLC 層析圖	278
固定相	280
沖提系列和移動相	280
TLC 吸附劑的修飾	283
展層後，在 TLC 板上檢測化合物	285
TLC 分析的應用	286
高效能 TLC	290

第十四章 高效能毛細電泳法 293

要點	293
前言	294
儀器裝置	298
分離的控制	299
毛細電泳在藥品分析上的應用	300
附加練習題	311

第十五章 在藥物分析中的萃取方法 313

要點	313
前言	314
製劑中常用的賦形劑	314
溶劑萃取的方法	315
固相萃取	319
要點	319
前言	320
方法	320
固相萃取所用的吸附劑型式	321
在 HPLC 分析前，線上萃取自動化的 SPE 調整	327

1

分析方法的品質管制 (Control of the quality of analytical methods)

- | | | |
|------------|------------------|-------|
| • 前言 | 實驗空間再現性 | 校正 |
| • 分析中的誤差管制 | • paraatamol 錠含量 | 檢測限度 |
| • 正確和精確 | • 測定的標準作業程序 | 線性 |
| • 重覆性及再現性 | • 複合的隨機誤差 | 範圍 |
| 含量測定內的精確度 | • 結果報導 | 健全 |
| 重覆性 | • 分析程序管制中所用 | 選擇性 |
| 間日重覆性 | 的其他術語 | 靈敏度 |
| 實驗室內再現性 | 分析空白 | 差異法稱量 |

框1.1 藥物分析方法是用於解決

- 產品中成分是正確的嗎？
- 處方中各成分的標示含量的百分比多少？
- 處方中只含主成分或還有不純物嗎？
- 藥物在在處方中的安定性，以及產品的有效期如何？
- 藥物自處方中釋出，以便於身體吸收的速率如何？
- 處方中純藥物成分的鑑別和純度符合規格嗎？
- 純藥物成分中的特定不純物量是多少？
- 藥在組織或身體液中檢品的濃度？
- 研發中藥物的pKa 值，分配係數、溶解度及安定性如何？

一、前言 (Introduction)

藥品分析步驟可用以解決框1.1中所述的問題。藥品的品質可能偏離要求的標準，但在執行一項分析時，也應確定分析本身的品質也具有要求的品質。現代工業的所有程序均需品質管制，製藥工業當然也不例外。藥品的檢驗包括化學、物理及微生物分析。在英國，每年花在分析

方面的費用約有 100 億英鎊，這些分析程序遍布於食品、飲料、化妝品、清潔劑、金屬業、漆料、水、農化、生技產品及藥品。由於這麼多的錢花在分析品質上，所以提供正確和精確的分析是相當重要的。因此，出版一本從基礎上思考，用以判斷、分析品質準繩的藥物分析書籍是適當的。本書所用的分析品質上的術語可用於很多領域上，作者希望每個主題，具有正確性、精確性及再現性，這樣讀者需要時，可很快地吸取資訊並再現。下一節提供分析品質管制的概念，讀者有意進一步瞭解本章內容，可參閱本章後面所列的參考文獻。

二、分析中的誤差管制 (Control of errors in analysis)

除非能評估分析步驟中錯誤的可能性，否則這定量分析方法沒有多大的用途。單純地接受分析結果，就會因錯誤的分析而導致拒收或核准產品。基於此理由，檢品分析要重覆幾次測定，以確定結果的一致性。分析中可能出現的誤差有三種：粗略 (gross)、系統上 (systemic) 及隨機 (random)。粗略誤差很容易查覺出來，因為它包括分析過程中的差錯，如檢品溢出或減少，稀釋錯誤或儀器故障或不正確操作。若出現粗略誤差，則此分析結果不可採用，而且要從頭重新分析。由下面例子中，就可分別隨機和系統誤差：

paracetamol 錠劑一批，其標示含量為每錠 paracetamol 500mg；因此認定標示含量的 100% 為正確的答案。四個學生利用分光光度測定法分析錠劑抽取物，重覆分析錠中的 paracetamol 含量，而得到下列標示含量的百分比。

學生1：99.5%， 99.9%， 100.2%， 99.4%， 100.5%

學生2：95.6%， 96.1%， 95.2%， 95.1%， 96.1%

學生3：93.5%， 98.3%， 92.5%， 102.5%， 97.6%

學生4：94.4%， 100.2%， 104.5%， 97.4%， 102.1%

這些結果的平均值，可利用公式計算而得

$$\bar{x} = \sum_i \frac{x_i}{n} \quad \text{【公式 1】}$$

$\bar{x}$ = 算術平均值； x_i = i 項的數值； n = 測定的次數
結果可以畫成圖 1.1

圖 1.1

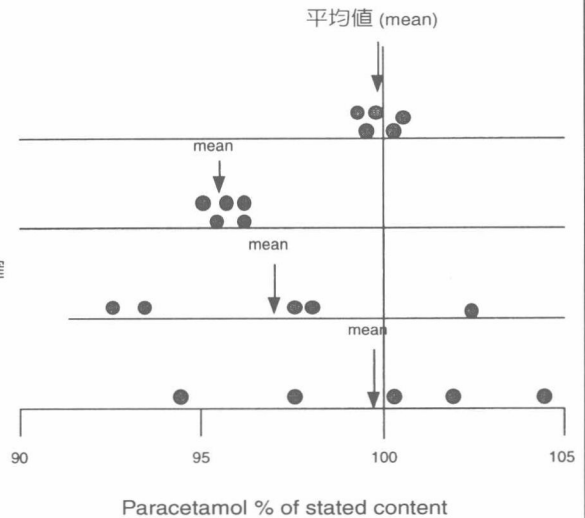
Paracetamol 錠
分析的正確和精
確性表示圖。

學生 1：精確且正確

學生 2：精確但不正確

學生 3：不精確也不正確

學生 4：不精確但正確



學生 1：所得的結果均接近標示含量的 100%，而且五次測定的平均值非常接近正確答案 (100%)。在此例中，測定既精確又正確，而且含量測定中每個步驟顯然均很小心地控制。

學生 2：所得的結果均很接近，但平均值小於正確答案。因此，他的含量測定雖然是精確的，但不正確。這組的結果顯示出分析者並無隨機的誤差（即結果分散大），但分析上有系統上的誤差。此誤差包括重覆不正確取量或讀取讀數前，未先將分光吸光度計正確歸零。分析者除了可能一個步驟引起不正確，而引起含量測定結果是精確的不正確外，其他的步驟都控制的很好。

學生 3：所得的結果相當零亂，因此不精確，而且所得的平均值小於正確答案。因此，其分析有隨機誤差，由零散的結果看來或許可能三種誤差均有。

因此分析的控制很差，需要比第二例學生更多的努力，以消除誤差。在這麼簡單的分析，零亂的結果，舉例來說，可能是來自於取液 (pipeting) 技巧差，取量不是高於就是低於所需量。

學生 4：所得的結果相當分散，但平均值接近正確值。學生 3 與學生 4 的區隔可能只是運氣，雖然答案是正確的，但最好不要去相信。

含量測定結果最佳的為學生 1，學生 2 的結果只要些微的努力便可改善。

在實際作業，很難說出學生 1 或學生 2 的分析那個是最好的，除非檢品是純的分析標準品，即已知檢品中的正確含量。為了要確定學生 1 或 2 的含量測定那個最好，則需要另一個分析員有類似精確的結果，才

能有確定正確的答案。導致含量測定結果不精確和不正確的因素，摘述於框 1.2 中。

框 1.2 含量測定不精確和不正確的致因

- 分析物標準品的稱量及傾倒不正確。
- 自製劑（如錠劑）萃取分析物質的效率不佳。
- 容量分析用的移液管 (pipette)，滴定管，或容量瓶的使用不當。
- 測定所用的儀器未作適當校正。
- 未使用分析上空白對照。
- 含量測定所選擇的條件會引起分析物質的破壞。
- 在測定分析物質時，無法容許或去除賦形劑的干擾。

練習題 1.1

在下面分析過程中，可能引起誤差為何？

- (1) 在分析蔗糖為基礎的醣劑時，以移液管量取醣劑而作分析。
- (2) 在最小稱量 0.1 mg 之分析天平中，稱取 2 mg 的分析用標準品。
- (3) 分析用標準品吸收空氣中的水分。
- (4) 著衣錠在萃取前，磨碎不完全。
- (5) 以溶解度差的溶劑萃取軟膏劑。
- (6) 使用未完全清除殘留清潔劑的滴管。

解答：(1) 醣劑的黏度會使醣劑無法完全從移液管流出。(2) 每次稱量的不準確度為 ± 0.05 mg 相對於 2 mg 是 $\pm 2.5\%$ ，而準確稱量，係指稱量誤差在 0.1% 或以內。(3) 吸收的水分重不穩定。(4) 分析物質的回收率。(5) 分析物質的回收率。(6) 滴定管的液面不呈凹形 (meniscus) 造成讀數不正確。

三、正確 (Accuracy) 和精確 (Precision)

分析的基本要求是正確和精確。可預測，但無法證實的是同一檢品的一系列測定值會於平均值 (μ) 附近常態分配，即如 Gaussian 圖型如圖 1.2。

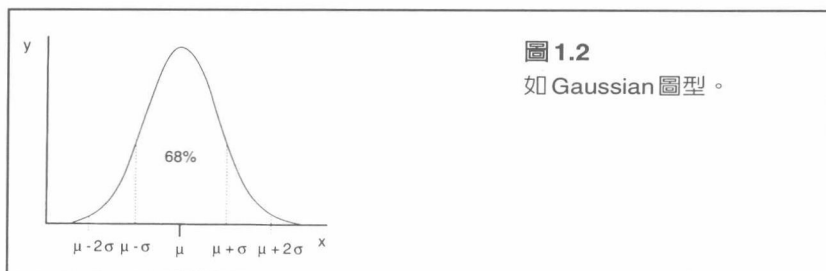


圖 1.2 中的距離 σ ，似乎接近分布寬 0.5，但由於曲線函數呈指數，故趨向於 0，而且無限小的機率有一 x 值會真正與 x 軸相交。

就實際情況而言，一系列的測定值中，約68%會位在平均值距離 σ 的兩側內，95%會位在平均值 $\pm 2\sigma$ 內。分析的目標係使 σ 值（佔 μ 值的百分比）愈小愈好。 σ 值可依公式2估算而得。

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}} \quad \text{【公式2】}$$

s = 標準偏差

n = 檢品數

x_i = 第 i 次測定值

$\bar{x}$ = 測定平均值

有時在公式中會用 n 取代 $n-1$ ，尤其是檢品數少時，可能低估 σ 值。測定值少時，可直接用計算機和上述公式算出 s 值。大部分的計算機有直接計算 s 的功能，計算機是利用上述公式估算 σ 值，通常標示為 σ_{n-1} 。以學生1所得的結果為例時，平均值為99.9%，代入公式2，結果如下：

$$\begin{aligned} s &= \sqrt{\frac{\sum(99.5 - 99.9)^2 + (99.9 - 99.9)^2 + (100.2 - 99.9)^2 + (99.4 - 99.9)^2 + (100.5 - 99.9)^2}{(5-1)}} \\ &= \sqrt{\frac{\sum(-0.4)^2 + (0)^2 + (0.3)^2 + (-0.5)^2 + (0.6)^2}{4}} \\ &= \sqrt{\frac{0.16 + 0 + 0.09 + 0.25 + 0.36}{4}} = \sqrt{\frac{0.86}{4}} = \sqrt{0.215} = 0.46 \end{aligned}$$

s = 標示含量的0.46%

s 之計算值，對分析結果的零亂狀況提供正式客觀的表達方法，而不是如圖1.1中的主觀視覺判定。由標準偏差（SD）所得的圖形中，我們可說，分析結果68%位在 $99.9 \pm 0.46\%$ （ $\pm \sigma$ ）或99.44-100.36%範圍中。若我們再檢視學生一的圖形中，我們可看到60%的結果落在此範圍內，只有二值位在範圍外，包括一個僅略低於範圍。此範圍是基於 $\pm \sigma$ 值所定義的68%信賴度；而信賴度95%時，就要用 $\pm 2\sigma$ ，亦即學生一的測定值95%位在 $99.9 \pm 0.92\%$ 或98.98~100.82%內。由實際狀況看來，學生一的測定結果均在此範圍內。

分析的精確度通常以 $\pm$ 相對標準偏差（ $\pm \text{RSD}$ ）表示，如公式3：

$$\text{RSD} = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\% \quad \text{【公式3】}$$

此例中，很少提到信賴度，但因為標準偏差SD是 σ 估算值，其信賴度通常為68%。以此方式表達精確度的好處是省掉單位，而且精確度可以