



西安交通大学

研究生创新教育系列教材
研究生教学研究与教学改革项目

现代药物分离与分析技术

傅强 主编



西安交通大学出版社
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY PRESS



西安交通大学

研究生创新教育系列教材
研究生教学研究与教学改革项目

现代药物分离与分析技术

(供药学类专业研究生使用)

主 编 傅 强
编 者 (以姓氏笔画为序)

石 娟	罗文娟	胡 震
郭 琦	郭增军	唐玉海
傅 强	韩 燕	曾爱国

西安交通大学出版社

· 西 安 ·

内容简介

本书以现代药物分离与分析技术为主线,主要介绍药学,特别是药物分析技术的最新发展。本书根据研究型综合性大学“使学生进行研究性学习”的人才培养目标,介绍了样品的提取分离方法、光谱分析技术、色谱分析技术、色谱联用技术、分子生物学技术、化学发光技术和过程分析技术等前沿技术和方法在药物分析中的应用和发展趋势。本书是现代分离技术、手性药物色谱分析和药学研究进展等课程的教学用书,供药学类专业研究生使用,也可供药学、制药工程等专业本科生高年级使用。

图书在版编目(CIP)数据

现代药物分离与分析技术/傅强主编. —西安:
西安交通大学出版社,2011.8
ISBN 978-7-5605-3995-9

I. ①现… II. ①傅… III. ①药物-分离-高等学校-教材②药物分析-高等学校-教材 IV. ①TQ460.6
②R917

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 150280 号

书 名 现代药物分离与分析技术
主 编 傅 强
责任编辑 赵 阳 问媛媛

出版发行 西安交通大学出版社
(西安市兴庆南路 10 号 邮政编码 710049)
网 址 <http://www.xjtupress.com>
电 话 (029)82668357 82667874(发行中心)
(029)82668315 82669096(总编办)
传 真 (029) 82668280
印 刷 陕西江源印刷科技有限公司

开 本 727mm×960mm 1/16 印张 28.5 字数 511 千字
版次印次 2011 年 8 月第 1 版 2011 年 8 月第 1 次印刷
书 号 ISBN 978-7-5605-3995-9/TQ·9
定 价 56.00 元

读者购书、书店添货如发现印装质量问题,请与本社发行中心联系、调换。
订购热线:(029)82665248 (029)82665249
投稿热线:(029)82665546
读者信箱:xjtupress@163.com

版权所有 侵权必究

总 序

创新是一个民族的灵魂,也是高层次人才水平的集中体现。因此,创新能力的培养应贯穿于研究生培养的各个环节,包括课程学习、文献阅读、课题研究等。文献阅读与课题研究无疑是培养研究生创新能力的重要手段,同样,课程学习也是培养研究生创新能力的重要环节。通过课程学习,使研究生在教师指导下,获取知识的同时理解知识创新过程与创新方法,对培养研究生创新能力具有极其重要的意义。

西安交通大学研究生院围绕研究生创新意识与创新能力改革研究生课程体系的同时,开设了一批研究型课程,支持编写了一批研究型课程的教材,目的是为了推动在课程教学环节加强研究生创新意识与创新能力的培养,进一步提高研究生培养质量。

研究型课程是指以激发研究生批判性思维、创新意识为主要目标,由具有高学术水平的教授作为任课教师参与指导,以本学科领域最新研究和前沿知识为内容,以探索式的教学方式为主导,适合于师生互动,使学生有更大的思维空间的课程。研究型教材应使学生在学习过程中可以掌握最新的科学知识,了解最新的前沿动态,激发研究生科学研究的兴趣,掌握基本的科学方法,把教师为中心的教学模式转变为以学生为中心教师为主导的教学模式,把学生被动接受知识转变为在探索研究与自主学习中掌握知识和培养能力。

出版研究型课程系列教材,是一项探索性的工作,有许多艰苦的工作。虽然已出版的教材凝聚了作者的大量心血,但毕竟是一项在实践中不断完善的工作。我们深信,通过研究型系列教材的出版与完善,必定能够促进研究生创新能力的培养。

编写说明

培养学生的创新精神,进行研究性学习是研究型综合性大学的教学特点。我校在药学类研究生的课程学习阶段开设了现代分离分析技术、手性药物色谱分析等课程,目的是为学生从事后期的药剂学、药物化学、生药学、药理学、生物制药和药物分析的研究工作奠定基础。另外,我校在药学和制药工程专业的本科高年级阶段开设了药学研究进展课程,目的是使学生了解药学的发展动态,开阔视野。本书是现代分离分析技术、手性药物色谱分析和药学研究进展等课程的教学用书。全书分为八章,分别为绪论(傅强编写)、样品的提取分离方法(郭增军编写)、光谱分析技术(郭琦编写)、色谱分析技术(石娟编写)、色谱联用技术(曾爱国编写)、分子生物学技术(罗文娟、韩燕编写)、化学发光技术(唐玉海编写)、过程分析技术(胡震编写)。书中内容结合了教师的研究工作,介绍了这些技术的前沿方法及其在药物分析中的应用和发展趋势。

本书在编写过程中得到了西安交通大学研究生教学研究与教学改革项目的资助,得到了西安交通大学出版社和西安交通大学医学院的大力支持。在书稿完成和资料收集过程中,西安交通大学医学院药学系主管技师常春,讲师侯晓芳,研究生张思若、杜玮、孙四娟、魏赛丽、刘晶等做了大量的具体工作,特此表示衷心感谢。

由于编者知识水平有限,教材内容难免有不足之处,恳请读者批评指正。

编 者
2011年5月

目 录

第一章 绪论	(1)
第一节 药物分析的对象	(1)
一、中药与天然药物	(2)
二、化学药物	(4)
三、生物药物	(11)
第二节 药物分析的技术与方法	(13)
一、样品预处理	(13)
二、光谱分析技术	(14)
三、色谱分析技术	(15)
四、色谱联用技术	(16)
五、分子生物学技术	(17)
六、化学发光技术	(17)
七、过程分析技术	(18)
第三节 中国药典的发展	(18)
第四节 药物分析常用的期刊与杂志	(20)
第二章 样品的提取分离方法	(36)
第一节 超声波提取技术	(36)
一、超声提取技术的发展	(36)
二、超声提取技术的原理	(37)
三、超声提取技术的条件及影响因素	(38)
四、超声提取技术的优点	(39)
五、超声提取技术的应用	(39)
第二节 微波提取技术	(40)
一、微波提取技术的发展	(40)
二、微波提取技术的原理	(40)
三、微波提取技术的条件及影响因素	(41)

四、微波提取技术的优点·····	(42)
五、微波提取技术的仪器设备·····	(43)
六、微波提取技术的应用·····	(43)
第三节 超临界流体萃取技术·····	(44)
一、超临界流体萃取技术的发展·····	(44)
二、超临界流体萃取技术的原理·····	(45)
三、超临界流体萃取技术的影响因素·····	(45)
四、超临界流体萃取技术的优点·····	(46)
五、超临界流体萃取技术的应用·····	(47)
第四节 亚临界流体萃取技术·····	(48)
一、亚临界流体萃取技术的发展·····	(48)
二、亚临界流体萃取技术的原理·····	(49)
三、亚临界流体萃取技术的影响因素·····	(49)
四、亚临界流体萃取技术的优点·····	(50)
五、亚临界流体萃取技术的应用·····	(50)
第五节 半仿生-酶法提取技术·····	(51)
一、半仿生-酶法提取技术的发展·····	(51)
二、半仿生-酶法提取技术的原理·····	(52)
三、半仿生-酶法提取技术的条件及影响因素·····	(52)
四、半仿生-酶法提取技术的特点·····	(53)
五、半仿生-酶法提取技术的应用·····	(54)
第六节 液-液萃取技术·····	(55)
一、液-液萃取技术的发展·····	(55)
二、液-液萃取技术的原理·····	(56)
三、液-液萃取技术的分类·····	(56)
四、液-液萃取技术的条件及影响因素·····	(57)
五、液-液萃取技术的优点·····	(58)
六、液-液萃取技术的应用·····	(59)
第七节 固相萃取技术·····	(60)
一、固相萃取技术的发展·····	(60)
二、固相萃取技术的原理·····	(60)
三、固相萃取技术的操作过程及注意事项·····	(61)
四、固相萃取技术的优点·····	(61)
五、固相萃取技术的应用·····	(62)

第八节 浊点萃取技术	(63)
一、浊点萃取技术的发展	(63)
二、浊点萃取技术的原理	(63)
三、浊点萃取技术的影响因素	(64)
四、浊点萃取技术的优点	(65)
五、浊点萃取技术的应用	(65)
第九节 高速逆流色谱	(66)
一、高速逆流色谱的发展	(66)
二、高速逆流色谱的原理	(66)
三、高速逆流萃取的条件及影响因素	(67)
四、高速逆流萃取技术的分类	(68)
五、高速逆流色谱的优点	(68)
六、高速逆流色谱的应用	(70)
第十节 分子印迹技术	(71)
一、分子印迹技术的发展	(71)
二、分子印迹技术的原理	(71)
三、分子印迹技术的分类	(71)
四、影响分子印迹聚合物合成的因素	(73)
五、分子印迹聚合物及分子印迹技术的特点	(75)
六、分子印迹技术的应用	(75)
第十一节 分子蒸馏技术	(77)
一、分子蒸馏技术的发展	(77)
二、分子蒸馏技术的原理	(77)
三、分子蒸馏技术的流程及装置	(78)
四、分子蒸馏技术的优点	(80)
五、分子蒸馏技术的应用	(81)
第十二节 膜分离技术	(81)
一、膜分离技术的发展	(81)
二、膜分离技术的原理	(82)
三、膜的分类	(82)
四、膜的组件	(83)
五、影响膜分离技术的因素	(83)
六、膜分离技术的优点	(83)
七、膜分离技术的应用	(84)

第三章 光谱分析技术	(91)
第一节 计算分光光度法	(91)
一、双波长分光光度法	(92)
二、三波长分光光度法	(95)
三、导数光谱法	(98)
四、卡尔曼滤波分光光度法	(100)
五、计算分光光度法的应用	(102)
第二节 近红外光谱分析技术	(107)
一、概述	(107)
二、近红外光谱分析技术基本原理	(110)
三、近红外光谱仪器	(117)
四、近红外光谱法的应用	(122)
第三节 拉曼光谱技术	(129)
一、概述	(129)
二、基本原理	(131)
三、拉曼光谱仪器	(133)
四、拉曼光谱法的应用	(134)
第四节 核磁共振波谱法	(139)
一、概述	(139)
二、基本原理	(139)
三、化学位移	(142)
四、自旋偶合与自旋分裂	(146)
五、自旋系统	(148)
六、核磁共振波谱仪	(150)
七、核磁共振波谱法的应用	(151)
第五节 X射线粉末衍射法	(158)
一、概述	(158)
二、基本原理	(160)
三、X射线衍射仪	(162)
四、X射线粉末衍射法的应用	(164)
第六节 电感耦合等离子体原子发射光谱法	(166)
一、概述	(166)
二、基本原理	(167)
三、ICP - AES 的仪器装置	(170)

四、ICP-AES 的应用	(173)
第四章 色谱分析技术	(178)
第一节 薄层色谱生物自显影技术	(178)
一、概述	(178)
二、TLC 生物自显影技术的特点	(179)
三、TLC 生物自显影技术的应用	(180)
第二节 毛细管气相色谱法	(189)
一、概述	(189)
二、毛细管气相色谱法的特点	(189)
三、毛细管气相色谱柱	(190)
四、进样方式	(192)
五、应用示例	(193)
第三节 离子色谱法	(201)
一、概述	(201)
二、对仪器的一般要求	(203)
三、样品处理	(205)
四、系统适用性试验	(206)
五、测定法	(206)
六、应用示例	(206)
第四节 超高效液相色谱分析	(213)
一、概述	(213)
二、方法特点	(214)
三、UPLC 的应用	(215)
第五节 手性药物色谱法	(221)
一、概述	(221)
二、手性高效液相色谱法	(222)
三、应用示例	(224)
第六节 分子排阻色谱法	(229)
一、概述	(229)
二、对仪器的一般要求	(229)
三、系统适用性试验	(229)
四、测定法	(230)
五、应用示例	(231)

第七节 毛细管电泳法	(232)
一、概述	(232)
二、对仪器的一般要求	(235)
三、系统适用性试验	(237)
四、测定法	(237)
五、应用示例	(237)
第八节 亲和色谱法	(239)
一、概述	(239)
二、分类	(240)
三、应用示例	(242)
第五章 色谱联用技术	(267)
第一节 质谱分析法	(267)
一、质谱法的基本原理	(268)
二、质谱仪	(268)
三、串联质谱	(273)
四、离子的类型	(280)
五、质谱分析	(281)
六、质谱法的应用	(283)
第二节 气相色谱-质谱联用技术	(285)
一、GC-MS 联用系统的组成及基本原理	(286)
二、GC-MS 联用仪	(287)
三、接口技术	(287)
四、GC-MS 中常用的衍生化方法	(288)
五、GC-MS 联用质谱谱库和检索	(292)
六、GC-MS 的定性定量方法	(293)
七、GC-MS 的应用	(294)
第三节 液相色谱-质谱联用技术	(300)
一、LC-MS 联用技术的特点	(300)
二、LC-MS 联用仪的组成	(301)
三、接口技术	(301)
四、LC-MS 分析条件的选择和优化	(303)
五、LC-MS 的定性定量方法	(306)
六、LC-MS 的应用	(306)

第四节 毛细管电泳色谱-质谱联用技术	(315)
一、CE-MS 联用系统的组成	(316)
二、接口技术	(317)
三、CE-MS 的应用	(319)
第五节 高效液相色谱-核磁共振波谱联用技术	(327)
一、HPLC-NMR 联用仪的基本组成	(328)
二、HPLC-NMR 的操作模式	(329)
三、接口技术	(330)
四、HPLC-NMR 的应用	(331)
第五节 气相色谱-傅立叶变换红外光谱联用技术	(336)
一、GC-FTIR 联用系统的组成	(337)
二、接口技术	(337)
三、GC-FTIR 系统的数据采集和处理	(339)
四、影响 GC-FTIR 结果的因素及实验条件的优化	(341)
五、GC-FTIR 的应用	(342)
第六章 分子生物学技术	(346)
第一节 聚合酶链反应技术	(346)
第二节 真核细胞 mRNA 的提取和鉴定	(348)
一、RNA 的提取	(348)
二、Northern 印迹	(349)
三、荧光定量聚合酶链反应	(351)
第三节 重组 DNA 技术	(351)
第四节 电泳技术	(357)
一、琼脂糖凝胶电泳和聚丙烯酰胺凝胶电泳	(358)
二、等电聚焦电泳	(359)
第七章 化学发光技术	(362)
第一节 化学发光的理论基础	(362)
一、基本概念	(362)
二、化学发光反应的机理	(366)
三、化学发光分析的基本原理	(372)
四、化学发光分析的灵敏度与选择性	(373)
第二节 化学发光检测技术	(375)

一、流动体系的化学发光检测技术	(375)
二、固定化技术及固相化学发光	(390)
三、偶合反应化学发光检测技术	(393)
四、超声诱导化学发光检测技术	(399)
五、胶束增溶化学发光检测技术	(404)
六、能量转移化学发光检测技术	(410)
七、化学发光探针检测技术	(413)
第三节 化学发光技术在药物分析中的应用	(416)
第八章 过程分析技术	(423)
第一节 概述	(423)
一、过程分析的产生及发展	(423)
二、过程分析技术的基本概念	(424)
三、过程分析技术的类别	(425)
第二节 简单过程分析技术	(425)
第三节 在线光谱技术	(427)
一、在线 AAS 分析技术	(427)
二、在线 UV - Vis 分析技术	(429)
三、在线 IR 分析技术	(432)
四、在线 NIRS 分析技术	(434)
第四节 在线色谱技术及其他 PAT 技术	(440)

第一章

绪 论

药学(pharmacy)是研究药物的成分、开发、制备、检验、作用、经营、使用和管理的一门综合性应用学科,是人们在长期的生产和生活实践中逐渐形成的。古今中外,基于对自身健康和长寿的追求,人们不断的运用各种知识,创造和发现新的药物。可以说,药学发展的水平体现了科学技术发展的水平,也反映了人类文明进步的程度。

根据研究重点不同,药学可分为药理学、药剂学、药物化学、生药学、生物制药和药物分析学等若干学科。这些学科既有区别,又相互联系,分离与分析是这些学科的共性问题。药物分析学(pharmaceutical analysis)运用物理、化学、物理化学、生物学以及药物信息学等方法和技术,获得药物的组成、结构、真伪、纯度、含量等相关质量信息,对药品研制、生产、流通和使用等各个环节进行全面监控,从而保障药品质量,使药品满足人们防病、治病的需求。药物分析学是药学领域中的一个重要组成部分,它为药学及其他相关学科提供研究技术和方法。

生命现象和生命过程的复杂性使得药物分析学科面临着严峻的挑战。21世纪药物分析学科的研究范围已不再局限于药品质量控制方法。从分析对象来看,除了传统意义上的药品检验研究以外,体内药物分析、药物作用过程分析、生产过程分析等也逐渐成为研究热点。从分析方法来看,高灵敏度、高选择性、高速度、自动化、连续化、智能化的分析技术在药物分析领域得到了广泛的应用。这对于进一步了解生命过程和药物的作用、保障药品质量、提高药品疗效起到了积极的推动作用。

第一节 药物分析的对象

众所周知,药品是指用于预防、治疗、诊断人的疾病,有目的地调节人的生理机能并规定有适应证或者功能主治、用法和用量的物质。药品种类包括中药材、中药饮片、中成药,化学原料药及其制剂、抗生素、生化药品、放射性药品、血清、疫苗、血液制品和诊断药品等。显然,这些药品或含有药品的样本均为药物分析的研究对象。

一、中药与天然药物

“神农尝百草,医药方兴焉”。来源于天然的植物、矿物和动物的药物是人类最先认识的药物。黄河、尼罗河、恒河、幼发拉底和底格里斯河流域各自所产生的中华文明、古埃及文明、古印度文明以及两河文明中均包含了人类对疾病和药物的认识。中药(traditional Chinese medicine,又可译为 Chinese medicine)是指在中医药学理论指导下用来预防和治疗疾病的物质。中药源远流长,是我国劳动人民积累起来的宝贵财富。到目前为止,中药依然是药品的一个重要大类,继续为人类的繁衍生息做出贡献。

中药主要来源于天然的植物、矿物和动物,在分离分析方法上也与化学药物和生物药物有明显的区别。中药的质量涉及面较广,从药材生长、采收到调配、使用等各个环节,必须进行全面质量控制(total quality control, TQC)。通过中药分离分析,完成从中药质量的确定、形成,到中药质量的保持和实现过程,最终达到防治疾病的目的。中药药效物质的筛选,药理和毒理作用的阐明,有效成分的确定和分离,质量标准的研究,生产过程中原料、辅料、中间体和制剂的质量控制,运输和供应环节中贮存条件的确定和质量变化的考察,以及中药的合理使用,均需要药物分析提供方法和技术。

与中药类似,天然药物也是直接来源于自然界的药物。但天然药物与中药有本质的区别,相当一部分的天然药物仅是由于含有某些活性成分或具有某些药理作用而用于临床。

《中国药典》(2010年版)收录的部分典型中药和天然药物见表1-1。

中医药主张标本兼治、整体系统治疗等辨证的治疗思路。因此,在进行中药分离分析时,应以中医药理论为指导思想,根据分析目的、样品特点,结合实验室的具体情况进行。中药是一个典型的复杂体系,化学成分复杂,分析背景干扰大,含量一般较低,故要求测定方法有较强的分离能力和较高的检测灵敏度。传统中药的主要缺点是物质基础不明确,在分子和细胞水平上作用机理不清,药物的质量不能很好地控制。

从方法学上看,色谱法等分离效能高、专属性强、灵敏度高的方法特别适用于中药的分析。薄层色谱法(thin-layer chromatography, TLC)、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、气相色谱法(gas chromatography, GC)和毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)等色谱方法在中药分析领域占有重要地位。这些方法在中药物质基础和作用机理研究,中药材、饮片和中成药等质量控制研究,中药方剂及有效组分体内过程研究,中药现

代分离提取技术应用研究,以及中药新药的开发研究等方面均有广泛的应用。

表 1-1 部分典型的中药及天然药物

类别	典型药物
药材及饮片	植物药 人参、三七、黄芪、丹参、鱼腥草、茵陈、酸枣仁、薄荷等 动物药 牛黄、蟾酥、乌梢蛇、鹿茸、麝香、地龙、斑蝥等 矿物药 石膏、明矾、云母、芒硝、雄黄、白矾、炉甘石等
成方制剂	丸剂 大山楂丸、左金丸、归脾丸、再造丸、华佗再造丸等 散剂 九分散、玉真散、乌贝散、五虎散、冰硼散、红灵散、保赤散等 膏剂 二冬膏、川贝雪梨膏、狗皮膏、枇杷叶膏、夏枯草膏等 丹剂 定坤丹、灵宝护心丹等 片剂 三七片、三黄片、丹参片、心宁片、小柴胡片、安胃片、护肝片等 胶囊剂 三宝胶囊、万应胶囊、牛黄上清胶囊、安神胶囊、抗骨增生胶囊等 颗粒剂 小儿咳喘颗粒、小儿感冒颗粒、小建中颗粒、妇宝颗粒等 口服液 双黄连口服液、心通口服液、通天口服液、银黄口服液等 其他制剂 万应锭、化痔栓、生脉饮、杏仁止咳糖浆、藿香正气水等
提取物	植物油脂 八角茴香油、肉桂油、松节油、香果脂、蓖麻油等 植物提取物 连翘提取物、黄芩提取物、银杏叶提取物等 浸膏提取物 大黄流浸膏、甘草浸膏、刺五加浸膏、益母草流浸膏、颠茄浸膏等

近三年来,从中国学术期刊全文数据库医药卫生核心期刊检索到色谱方法用于中药质量控制、体内动力学研究和药物筛选发现的文献约 360 篇(图 1-1A),其中有关 HPLC 技术的文献占 64%,有关 GC 和 CE 技术的文献占 36%。这些文献中,78%与中药质量控制相关,而研究中药物质体内过程和活性成分筛选的文献仅占 22%;从 ISI Web of Knowledge 数据库的四种国际学术期刊(Analytical Chemistry, Journal of Chromatography A, Journal of Chromatography B, Journal of Pharmaceutical Sciences, 以下同)检索到有关中药的色谱技术文献 108 篇(图 1-1B),其中 HPLC 技术相关的文献占 74%,GC 和 CE 相关的文献占 26%;HPLC 技术应用于体内作用过程分析的文献占 79%,中药质量控制方面的文献占 70%。这些都说明 HPLC 技术在中药分析中占有绝对优势。三种色谱技术在药物筛选方面的文献占 32%,比以往有所增加,说明中药有效成分筛选领域的研究正成为广大研究者关注的热点。

除色谱技术外,紫外、红外、核磁共振、原子吸收与发射、X 射线衍射等光谱技术在中药分析中也有发展。另外,分子生物学技术,如 DNA 指纹图谱技术、

DNA 测序技术也开始用于中药的质量控制。

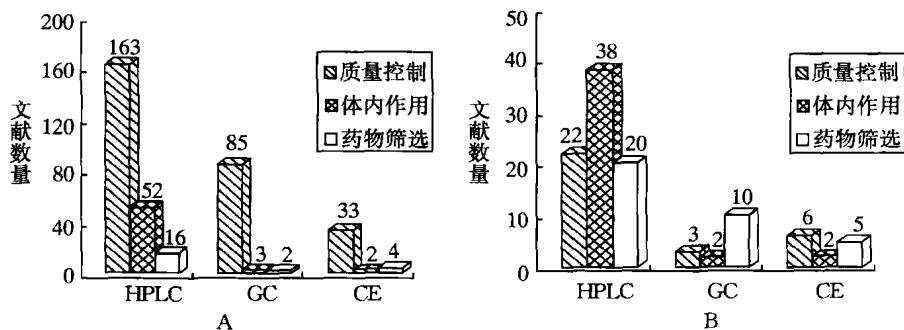


图 1-1 HPLC、GC 和 CE 方法在中药分析中的应用

A: 2008—2010 年 CNKI 中国学术期刊全文数据库医药卫生核心期刊;

B: 2008—2010 年 ISI Web of Knowledge 数据库四种国际学术期刊

二、化学药物

化学药物是指通过化学合成或半合成的方法而获得的药物。从 19 世纪后期至今,随着现代科学技术的发展,化学药物发生了革命性的进步。虽然其他种类的药品也有发展,但就现状而言,发源于西欧的化学药物仍然是药物的主体。《中国医药产业发展报告(1949—2009)》显示,2008 年我国化学原料药产值为 1781.9 亿元(占 21.1%)、化学制剂 2406.2 亿元(占 28.5%)、中成药 1705.1 亿元(占 20.2%)、中药饮片 378.8 亿元(占 4.5%)、生化药物 869.9 亿元(占 10.3%)、制药机械 53.2 亿元(占 0.6%)、卫生材料 409.2 亿元(占 4.8%)、医疗器械 829.4 亿元(占 9.8%),而化学药物、中药和生物药物的企业数分别为 2459、1479 和 746 家。由此可见化学药物依然处于最重要的地位。

按照结构分类,《中国药典》(2010 年版)收录的部分典型化学原料药和制剂见表 1-2。

化学药物一般纯度较高,故质量控制方法相对较为成熟,并为其他类药品的质量控制提供重要的参照。一般化学药物质量标准中包括了性状、鉴别、检查和含量测定等核心内容。