

罗国安 主编

YAOWU YU DUWU FENXI JISHU

药物与毒物分析技术



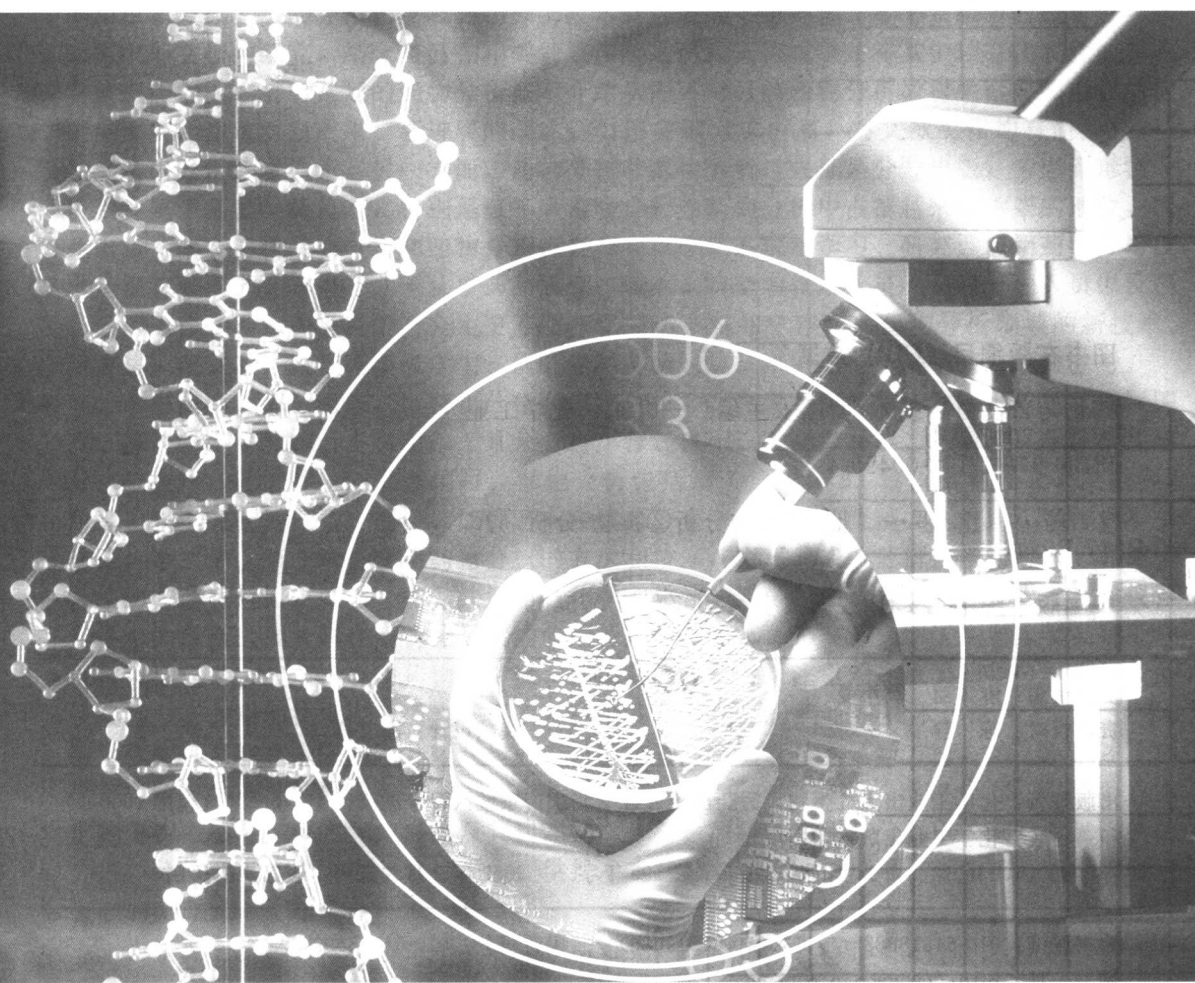
化学工业出版社

生物·医药出版分社

罗国安 主编
卓先义 陈令新 梁琼麟 副主编

YAOWU YU DUWU FENXI JISHU

药物与毒物分析技术



化学工业出版社

生物·医药出版分社

·北京·

本书包括现代药物分析和毒物分析两方面内容。在现代药物与毒物分析的方法和技术中,从分析仪器的角度,做了较全面深入的论述,并注重仪器和技术的最新进展及其在药物、毒物分析中的应用,分析仪器和技术包括常见的光谱(如红外光谱、紫外光谱、原子吸收光谱、荧光光谱和电感耦合等离子体光谱等)、色谱(如气相色谱、液相色谱、毛细管电泳和多维色谱)、质谱、核磁、电化学和芯片技术及其联用技术。在主要药物类别的分析中,从方法学的角度,注重论述该类药物分析中涉及的一般性分析方法和技术,并适当举例说明。对于毒物分析,则主要根据毒物分析的特点介绍了毒物分析的方法,还以应用实例为主对毒物在毛发中、体内分析及其代谢物的研究进行了详细的介绍,还将生物碱类、农药类等的分析和检测方法进行了介绍。

本书对药物分析和毒物分析工作者的教学、科研、实验工作提供参考,也会对分析及其相关专业的研究生、本科生开发新的研究思路、拓宽科学视野有所帮助。

图书在版编目(CIP)数据

药物与毒物分析技术/罗国安主编. —北京:化学工业出版社, 2007. 7
ISBN 978-7-122-00499-4

I. 药… II. 罗… III. ①药物分析②毒物-分析 IV. R917 R991

中国版本图书馆CIP数据核字(2007)第075509号

责任编辑:麻雪丽 莫小曼

责任校对:陈静

装帧设计:潘峰

出版发行:化学工业出版社生物·医药出版分社(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)

印装:化学工业出版社印刷厂

787mm×1092mm 1/16 印张23¼ 字数595千字 2007年7月北京第1版第1次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价:49.00元

版权所有 违者必究

前 言

药物分析贯穿于药品的研究、开发、生产、流通和临床等各个环节，为新药研究和开发，药品生产过程中的质量控制和工艺优化，药物及其原材料的质量检验，选择科学合理的药品储藏条件和管理条件，以及药物的疗效和安全性评价等提供有效的现代分析手段，是药品质量保证体系的关键。此外，毒物分析、兴奋剂检测、成瘾药物检查等一般也归属于药物分析的范畴。近年来，医药工业发展迅速，中药现代化和国际化进程加快，医药行业的市场竞争和国际竞争也日益加剧，对药物分析提出了更高的要求。另一方面，现代科学技术特别是现代仪器分析技术更加广泛地应用到药物分析中来，推动了药物分析学科的快速发展，产生了一大批的药物分析的新技术、新方法和新成果。

目前国内现有的药物分析书籍以教材和教学参考书为主，注重药物分析的基础理论、基本知识和经典方法的介绍，反映药物分析技术新进展的书籍不多。本书系编者通过对近年来的国内外文献的研究，结合自己在相关领域多年的研究工作成果，将其中较有代表性的新成果整理而成。本书对常规的药物分析技术介绍从简，对目前药物分析教材中已有的内容尽量避免重复，注重对新成果、新进展的阐述，引用文献力求全面，对文献工作均有简要评述，并提供出处供读者检索。另一方面，药物分析和毒物分析过去都是分开出版，考虑到毒物分析本身属于药物分析范畴，特别是近年来毒物分析在药物分析中占据越来越重要的地位，因此出版一本新书将毒物分析和药物分析综合起来对于更系统地学习、研究、应用药物分析技术是很有必要的。本书有助于从事药品研究、生产、检验的技术人员、高级管理人员以及药物分析工作者和相关学科的研究生更方便、快捷地了解 and 掌握当前药物分析领域的新技术、新方法，尤其适合大学高年级学生、研究生和科研人员从事药物分析等研究选题时参考。

本书由两大部分组成，即药物分析和毒物分析，药物分析包括第1章~第6章，由罗国安、陈令新、梁琼麟、王义明、王月荣、冉小蓉、曹阳、姚波、马赛、任康宁、苏强、吴娟芳、陈振玲、叶能胜、刘永锁编写。毒物分析包括第7章~第11章，由卓先义、洪战英、向平、张玉荣、沈保华、刘伟、汪蓉、卜俊编写。全书由罗国安统稿。其中第1章作为本书绪论，第2章、第3章是现代药物分析的方法和技术，以现代仪器分析技术为重点，介绍了常见的光谱、色谱、质谱、核磁共振、电化学和化学计量学等仪器、方法和技术，注重仪器和技术的最新进展及其在药物分析中的应用特点；第4章、第5章介绍了主要药物类别的分析，包括化学合成药、生物药物、中药、体内药物分析等，注重论述该类药物分析中涉及的一般性分析方法和技术，并适当举例说明；第6章是药物分析前沿技术，论述了芯片技术、纳米药物等可能在未来药物分析或研究中扮演重要角色的新技术、新方法。第7章概述了毒物分析的方法评价和质量控制；第8章~第11章介绍了主要类别的毒物分析，包括毛发中毒物分析方法与进展、体内毒品及其代谢物的分析、酒精的滥用与分析以及其它常见毒物的分析。另外，对在本书的编写过程中提供技术支持的刘明星、杨书雨、章弘扬、张敏等表示衷心的感谢。

由于编著水平所限，书中不足之处在所难免，恳请读者批评指正。

编者
2007年4月

目 录

第 1 章 绪论	1
1.1 药物分析学科的任务、发展和要求	1
1.2 现代药物分析的方法和技术	2
1.2.1 药品质量控制的科学管理	2
1.2.2 《中华人民共和国药典》的质量控制内容及其分析方法的演变	2
1.2.3 药物分析的方法和技术的发展	3
第 2 章 光谱分析和色谱分析	11
2.1 紫外-可见分光光度法	11
2.1.1 仪器的发展趋势	11
2.1.2 分析方法的发展	11
2.1.3 化学计量学方法	14
2.2 红外光谱法	15
2.2.1 红外光谱技术的特点	15
2.2.2 红外光谱技术的发展及应用	16
2.2.3 近红外光谱	17
2.2.4 红外光谱软件技术的进展	18
2.2.5 应用展望	19
2.3 原子吸收光谱法	19
2.3.1 原子吸收光谱的基本原理	19
2.3.2 火焰原子吸收光谱分析法	20
2.3.3 石墨炉原子吸收光谱分析法	21
2.3.4 蒸气发生-原子吸收光谱分析法	21
2.3.5 流动注射-原子吸收光谱分析法	21
2.3.6 生成络合物间接原子吸收光谱分析法	21
2.3.7 应用展望	22
2.4 荧光光谱法	22
2.4.1 荧光光谱分析的基本原理	22
2.4.2 药物荧光光谱分析技术	24
2.4.3 应用举例	25
2.4.4 应用展望	27
2.5 电感耦合等离子体发射光谱及其联用技术	27
2.5.1 电感耦合等离子体发射光谱	28
2.5.2 电感耦合等离子体质谱	28
2.5.3 联用技术	29
2.5.4 应用展望	32
2.6 薄层色谱法	32

2.6.1	薄层色谱法的概述	32
2.6.2	高效薄层色谱	33
2.6.3	薄层色谱的展开方法	34
2.6.4	检测方法	34
2.6.5	薄层色谱与其它仪器分析方法联用在药物分析中的应用	35
2.6.6	薄层色谱与质谱联用在药物分析中的应用	35
2.7	气相色谱法	36
2.7.1	气相色谱的分析过程和简单分类	37
2.7.2	气相色谱流动相	38
2.7.3	气相色谱固定相和气相色谱柱	38
2.7.4	气相色谱的进样技术和分类	40
2.7.5	样品处理方法与技术	44
2.7.6	气相色谱检测技术	46
2.7.7	气相色谱的分析对象和应用举例	49
2.8	液相色谱法	50
2.8.1	液相色谱法分类	51
2.8.2	液相色谱固定相	53
2.8.3	高效液相色谱仪	56
2.8.4	多维色谱技术	60
2.8.5	微柱高效液相色谱	60
2.8.6	微柱高效液相色谱的展望	64
2.9	毛细管电泳和毛细管电色谱	65
2.9.1	方法概述	66
2.9.2	生物样品的处理和待测成分富集	67
2.9.3	毛细管电泳-质谱联用	67
2.9.4	毛细管电泳技术传统电泳分离模式以及理论发展	68
2.9.5	研究热点	69
2.9.6	毛细管电泳新技术	71
2.10	多维色谱及联用技术	72
2.10.1	多维气相色谱	73
2.10.2	多维液相色谱	75
2.10.3	多维毛细管电泳	77
2.10.4	高效液相色谱和毛细管电泳联用	78
2.10.5	高效液相色谱和气相色谱联用	79
	参考文献	79

第3章	波谱和电化学分析	91
3.1	质谱	91
3.1.1	质谱仪器及其基本原理	91
3.1.2	应用	96
3.2	核磁共振波谱	102
3.2.1	核磁共振基础知识	102

3.2.2	药物体外研究	105
3.2.3	药物体内研究	108
3.2.4	核磁共振新技术	109
3.2.5	展望	114
3.3	电化学分析法	114
3.3.1	电化学测量系统概述	114
3.3.2	伏安法和极谱法	115
3.3.3	电位法	120
3.3.4	电化学检测器及其应用	124
3.3.5	电化学免疫分析	126
3.3.6	碳纳米管修饰电极在电化学分析中的应用	128
3.4	化学计量学	132
3.4.1	概述	132
3.4.2	实验设计和优化	132
3.4.3	模式识别	134
3.4.4	主成分分析	136
3.4.5	偏最小二乘回归	139
3.4.6	回归分析	140
	参考文献	141

第4章 化学合成药和生物药物分析

4.1	化学合成药分析	146
4.1.1	化学合成药的分析方法	146
4.1.2	应用实例	146
4.2	手性药物分离分析	160
4.2.1	手性药物拆分方法概述	161
4.2.2	手性拆分技术最新发展	164
4.2.3	手性拆分实例	168
4.2.4	手性药物拆分研究展望	174
4.3	生物药物分析	174
4.3.1	生物药物的来源、特性、分类与制备	175
4.3.2	生物药物的质量及分析检验	178
4.3.3	酶分析法	180
4.3.4	生物传感器与酶传感器	183
4.3.5	电泳法分析	185
4.3.6	高效液相色谱法新技术	188
4.3.7	生物质谱法和核磁共振谱	190
4.3.8	生物药物分析研究方法现状分析	190
	参考文献	192

第5章 体内药物和中药分析

5.1	体内药物与药物代谢分析	195
-----	-------------------	-----

5.1.1	样本采集与样品预处理	195
5.1.2	常用的体内药物分析方法	197
5.1.3	药物代谢研究的新技术——代谢物组学	197
5.1.4	体内药物分析示例	198
5.2	中药材及其制剂分析	207
5.2.1	分析方法概述	208
5.2.2	中药材及制剂分析实例	215
	参考文献	229
第6章	药物分析前沿技术	231
6.1	芯片技术	231
6.1.1	流动注射分析技术	231
6.1.2	微流控芯片技术	232
6.1.3	微阵列芯片技术在药物分析中的应用	240
6.1.4	展望	241
6.2	纳米药物分析	242
6.2.1	纳米药物的定义	242
6.2.2	纳米药物的主要特点	243
6.2.3	纳米药物分析方法及其进展	244
6.2.4	展望	245
	参考文献	246
第7章	毒物分析概述	251
7.1	毒物分析的任务、发展和特点	251
7.1.1	毒物分析的任务	251
7.1.2	中国毒物分析的发展	251
7.1.3	毒物分析的特点	252
7.2	毒物分析工作程序	253
7.2.1	受理委托	253
7.2.2	检验	254
7.2.3	毒物分析结果	255
7.3	毒物分析方法评价	255
7.3.1	专属性	255
7.3.2	灵敏度	256
7.3.3	精密度与准确度	256
7.3.4	回收率	257
7.3.5	线性范围	257
7.3.6	稳定性	257
7.4	毒物分析实验室质量控制	257
7.4.1	人员	258
7.4.2	环境设施	258
7.4.3	仪器设备	258

7.4.4	操作技术规范	258
7.4.5	检材的采集、接收和保护链	259
7.4.6	检测过程的质量控制	259
7.4.7	数据复核	260
7.4.8	结果报告	260
第8章	毛发中毒物分析方法与进展	261
8.1	毛发中毒物分析的特点	261
8.2	毛发的采集与处理	261
8.2.1	毛发的采集	261
8.2.2	毛发的处理	262
8.3	消化与提取	262
8.3.1	消化	262
8.3.2	提取	263
8.4	毛发中的毒物分析方法	264
8.4.1	免疫法	265
8.4.2	色谱法	265
8.4.3	色谱-质谱联用法	265
8.5	毛发中毒物分析的进展	268
	参考文献	268
第9章	体内毒品及其代谢物的分析	270
9.1	概述	270
9.2	毒品案件中检材的采集	271
9.3	阿片类毒品分析	273
9.3.1	概述	273
9.3.2	样品处理方法	276
9.3.3	检测方法	277
9.3.4	分析方法评价	279
9.4	苯丙胺类毒品分析	279
9.4.1	概述	279
9.4.2	样品处理方法	281
9.4.3	检测方法	283
9.4.4	分析方法评价	283
9.5	大麻分析	284
9.5.1	概述	284
9.5.2	样品处理方法	286
9.5.3	检测方法	286
9.5.4	分析方法评价及操作注意点	287
9.6	可卡因分析	288
9.6.1	概述	288
9.6.2	样品处理方法	289

9.6.3	检测方法	290
9.6.4	分析方法评价及操作注意点	290
9.7	氯胺酮分析	291
9.7.1	概述	291
9.7.2	样品处理方法	291
9.7.3	检测方法	292
9.7.4	分析结果评价	293
9.8	麦角二乙胺分析	293
9.8.1	概述	293
9.8.2	样品处理方法	294
9.8.3	分析方法	295
9.8.4	分析结果评价及操作注意点	296
9.9	苯环利定分析	297
9.9.1	概述	297
9.9.2	样品处理方法	299
9.9.3	分析方法	299
9.9.4	分析结果评价及操作注意点	300
9.10	γ -羟基丁酸的分析	300
9.10.1	概述	300
9.10.2	样品处理方法	301
9.10.3	分析方法	302
9.10.4	分析结果评价	303
	参考文献	303

第10章	乙醇的滥用与分析	304
10.1	乙醇的滥用	304
10.1.1	乙醇中毒	304
10.1.2	乙醇代谢	305
10.1.3	酒后驾车与血液中乙醇质量浓度	305
10.2	检材的处理与分析	306
10.2.1	化学反应法检验	306
10.2.2	乙醇脱氢酶法	306
10.2.3	气相色谱法	306
10.2.4	呼气乙醇测试法	308
10.2.5	唾液乙醇检测条法	309
10.3	分析结果评价	309
10.4	血液中乙醇含量测定不确定度的评估	310
10.4.1	血液中乙醇含量测定程序	311
10.4.2	数学模型	311
10.4.3	测量值	311
10.4.4	分析确定不确定度来源	311
10.4.5	方差公式	312

10.4.6	计算不确定度分量	312
10.4.7	评定合成不确定度	313
10.4.8	计算扩展不确定度	313
10.4.9	报告扩展不确定度	314
10.4.10	结论	314
10.5	血液中乙醇含量的推算	314
10.5.1	交通事故中肇事时间与抽血时间血液乙醇浓度的推算	314
10.5.2	饮酒量与BAC的推算关系	315
第11章 其它常见毒物、药物的分析 316		
11.1	催眠镇静类药物分析	316
11.1.1	催眠镇静类药物的性质与滥用	316
11.1.2	催眠镇静类药物分析预处理	318
11.1.3	检测方法	319
11.2	农药中毒的分析	322
11.2.1	有机磷农药	322
11.2.2	拟除虫菊酯类杀虫剂	327
11.2.3	毒鼠强分析	330
11.2.4	抗凝血类杀鼠剂分析	332
11.3	生物碱中毒的分析	334
11.3.1	乌头生物碱	334
11.3.2	马钱子碱与土的宁	339
11.3.3	钩吻生物碱	343
11.3.4	茶碱	346
11.3.5	奎宁、氯喹、伯氨喹	348
11.3.6	烟碱	352
11.3.7	莨菪生物碱	354
11.4	氰化物中毒的分析	357
11.4.1	概述	357
11.4.2	检材采取	358
11.4.3	分析方法	358
11.4.4	分析结果评价	359
11.5	“伟哥”分析	359
11.5.1	概述	359
11.5.2	样品处理方法	360
11.5.3	分析方法	361
11.5.4	分析方法评价	362
参考文献		362

第 1 章 绪 论

药物分析是药学科学领域的一门重要分支学科，它是药学和分析科学的交叉学科。药物分析的主要内容包括合成药物（原料、制剂、制药原料及中间体等）或天然药物（动物、植物、矿物类）及其制剂的检验、药物稳定性、生物利用度、药物临床监测检定以及生物药物检定等多方面的定性定量分析工作。此外，毒物分析、运动员的兴奋剂检测、成瘾药物检查等一般也归属于药物分析的范畴。药物分析一般使用化学、物理、生物、数学、计算机等多学科的分析测试方法和技术，与药物分析关系最密切的是化学，尤其是现代分析化学的应用。药物分析的目的是为药品生产过程中的质量控制、优化工艺，科学合理的贮藏条件和管理条件提供有效依据，为新药研究和开发提供了有效的现代分析手段，从而确保药物的质量，保证病人用药的安全有效。因此，药物分析学是“方法学科”、“眼睛学科”。

1.1 药物分析学科的任务、发展和要求

现代药学科学的迅猛发展对药物分析科学不断提出新的要求。药物分析的任务已经从静态的常规检验转变到生物体内、代谢过程、工艺流程、反应历程和综合评价上进行动态的分析监控。现代药物分析常常涉及到复杂基质中的微量、痕量、甚至超痕量药物成分分析。复杂基质即所研究的药物成分是处在复杂的混合体系中，例如，各种药物制剂（包括复方制剂）、天然药物（包括中成药）、生化药物和体液中的药物等。这就要求药物分析方法应该向着高灵敏度、高精度、快速、多种手段联用以及连续化、自动化、最优化、智能化、高通量方向发展。这种发展趋势促进了常规的药品质量控制的学科内容与有关学科和技术手段相互渗透，形成了现代药物分析体系。举例说明如下。

药剂学的剂型研究已经由一般的片剂或注射剂往微囊制剂、控释制剂、靶向制剂等方向发展；这些制剂必须运用适当的分析方法进行药物动力学、药效学的研究以及制订出相应质量标准；为了研究确定天然产物或中药的活性成分的化学结构，必须采用各种可能的先进的分离分析技术和多种结构分析方法并进行综合的波谱解析；药物及其代谢产物的分离分析及相应药理学研究必须与现代分离分析方法有机结合。

21 世纪生命科学的快速发展使药物分析由化学药物分析向生物药物分析过渡和转变，生物药物分析已经成为药物分析学中一个重要的快速发展的分支。长久以来，化学主要是研究相对快速而体系简单的小分子之间的反应。随着现代生命科学的发展，要求化学必须面对体系复杂的大分子与大分子或者大分子与小分子（药物）之间相对较慢的反应。这些作用的形式除了化学键的断裂、组合或重排，还包含了很多的弱相互作用（氢键、偶极作用、范德华力等），这些相互作用有可能涉及到复杂的结构层次上的变化，大分子可能通过有序的高级结构重组，其中的能量传递、信号分子的传递又会产生新的变化。化学家对小分子之间的相互作用已经有了一系列的监测、跟踪、定性、定量以及理论计算等方法。而大分子与大分子、大分子与小分子相互作用的复杂体系的慢过程缺乏相应的方法和工具，而现代药物化学为了研究药物的化学结构与生物活性之间的关系，深入揭示药物分子与作用受体之间的机制却正是这种相互作用的研究；另外，有些生物活性分子，对人体往往是异源物质，其化学性

质与生物学性质都很不稳定,对热、酸、碱、重金属等敏感,易引起变性和失活。而从生物原料中分离生物药物,通常比较困难,易受到微生物污染变质。因此,在原料储存,生产加工和成品保存及临床应用过程中,对制品的均一性、有效性、安全性和稳定性等应有严格要求,其制造工艺设计与质量标准的制定也应与一般化学药物有较多区别。

2005年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)在凡例、品种的标准要求、附录的制剂通则方面和检验方法等均做了修订,附录内容所设计的实验方法和技术与目前国际对药品质量控制的方法和技术基本一致。该版《中国药典》很好地反映了当前的中药、化学药、生物制品的特点和实际情况以及现代科学技术的发展现状,还首次将《中国生物制品规程》并入《中国药典》。

1.2 现代药物分析的方法和技术

1.2.1 药品质量控制的科学管理

药品质量控制的科学管理需要现代分析科学方法和技术作为保障。药品不同于一般产品,是用于防病、治病、诊断疾病、改善体质、增强抵抗力的物质。药品的质量好坏直接影响着人们的身体健康和生命安全;因此,药品必须要达到一定的质量标准,必须对药品质量进行全面控制,以确保人们用药的安全、合理和有效。

对药品的全面质量控制,是通过生产、储运、供应、调配、临床使用和检验一系列过程来实现的,必须把上述环节看作一个整体,对各个环节进行全面的控制和研究,才能确保人们用药的安全性、合理性和有效性。药物分析扮演着极为重要的角色,药物分析必须运用各种有效的检测手段参与各个环节的工作,按照合理的需要或规定进行药品质量检测和研讨,注重探索保证药品质量的新技术、新方法。为了确保药品的质量,应该遵循国家规定的药品质量标准(药典、部颁标准、地方标准)进行药品检验和质量控制工作。国家卫生行政部门的药政机构和药品检验机构代表国家行使对药品的管理和质量监督。《中华人民共和国药品管理法》规定药品必须符合国家药品标准。《中华人民共和国标准化法实施条例》规定药品标准属于强制性标准。药品质量标准,特别是《中国药典》既是组织生产、提高质量的手段,又是科学管理和技术监督的组成部分,也是联系科研、生产、储运、供应、调配、临床使用和检验的技术纽带。

1.2.2 《中华人民共和国药典》的质量控制内容及其分析方法的演变

《中国药典》是记载药品标准和规格的国家法典,是国家管理药品生产、供应、使用与检验的依据,通常由政府颁布施行。凡属《中国药典》收录的药品,其质量在出厂前均需经过检验,并符合药典规定的标准和要求,否则不得出厂、销售和使用。需要指出的是,《中国药典》中所规定的指标都是该药物应达到的最低标准,各生产厂可制定出自己的高于这些指标的标准,以生产出更高质量的药物。此外,药厂也完全可以使用自己认为合适的分析方法进行药品的质量控制,但是如果一旦产品质量出现问题,需要进行仲裁时,则要以《中国药典》收录的方法为准。

《中国药典》中对每一个药品及其制剂都单独列为一个项目,每项之下一般包括下列质量控制内容。①性状,主要是药品的各种物理化学性质。一般包括药品外观、色泽、溶解度、晶形、熔点、相对密度、折射率、紫外吸收系数等。这些都是药品的特性,根据这些性

质可以帮助初步判断是否为该检品。②鉴别, 主要从化学反应考虑, 根据药品的类别反应或特殊反应, 与某种试剂生成特异性颜色或产物, 有时可结合紫外吸收光谱与红外光谱, 帮助鉴别检品是否与品名相符。③检查, 主要是根据生产该药品所用的原料、制备方法、储存容器与储存过程可能发生的变化等检查杂质情况。考虑可能存在的杂质, 再联系这些杂质的毒性, 经综合考虑而提出的。一般情况下, 对杂质规定有一定限量, 不能超过这个限量, 否则即不合格。④含量测定, 主要确定药品中有效成分的含量范围, 测定方法力求简便、快速, 易于推广和掌握, 同时还要考虑所用仪器是否容易获得与使用情况。

《中国药典》中列出许多分析方法, 分别用于不同药物的检验, 并且要求这些方法必须是很成熟的方法, 同时也是容易推广和掌握的方法。因此尽管可能已经报道有更先进的新技术或仪器的方法, 在没有经过更多的检验之前, 还是不能收载在《中国药典》中。也就是说, 《中国药典》中给出的方法并不是越新、越高级越好。《中国药典》收载的常用分析方法也在随着现代科学技术的发展而不断增加与改进, 2005年版《中国药典》收录的方法已经与目前国际对药品质量控制的方法和技术基本一致。

1.2.3 药物分析的方法和技术的发展

药物分析中涉及的方法多种多样, 并随着现代分析科学的发展而发展。由于药物分析一般都涉及混合物的分离分析, 得到纯品, 然后再进行检测, 因此色谱法及其联用技术尤为重要。分析化学中常用的分析方法仍然都有应用。分析化学和药物分析工作者仍在不断地探讨各种新技术、新方法, 其发展方向总的说来是朝灵敏、高效、专一、准确、简便、快速、微量化方向发展, 分析仪器也朝自动化、微型化发展。而且, 利用生物技术的各种生物药物分析方法也有许多重要进展。此外, 配合医疗、开展体内药物分析、进行临床用药监护已越来越引起广泛关注, 体内药物分析的方法发展迅速。概括说来, 药物分析随分析化学的发展而发展, 药物分析的发展也推动了分析化学的发展。表 1-1 为现代药物分析的方法。

表 1-1 现代药物分析的方法

方 法	原理或特点说明	具 体 方 法
化学分析	基于化学反应	质量法, 各种容量法
光谱分析	基于光学或谱学	紫外(UV)分光光度法, 可见(Vis)分光光度法, 红外光谱法(IR), 荧光光谱法(FS), 拉曼(Raman)光谱法, 各种计算分光光度法等
色谱分析	分离获得纯品或作为样品预处理技术	纸色谱(PC), 薄层色谱(TLC), 气相色谱(GC), 高效液相色谱(HPLC), 离子色谱(IC), 空间排阻色谱(SEC), 超临界流体色谱(SFC), 毛细管电泳(CE)和毛细管电色谱法(CEC), 微流控芯片
质谱分析、核磁共振分析	可以单独使用, 或作为检测器与各种色谱仪的联用	质谱法及其联用技术(如 GC-MS, HPLC-MS, HPLC-MS-MS, CE-MS), 核磁共振(NMR)
电化学分析	基于电化学分析原理	各种极谱法, 伏安法, 库仑法, 离子选择电极及各种电化学传感器, 利用电流和电位的各种滴定方法等
化学计量学	数学、统计学、化学和计算机科学相互交叉形成的一门新学科	设计和选择最优的测量程序和实验方法, 并通过解析化学数据获得最大限度的信息

下面对这些方法涉及到的分析仪器和分析新技术的进展情况选择性举例扼要叙述, 供读者有概貌性了解。

1.2.3.1 光谱分析

光谱分析主要有紫外-可见分光光度法、原子吸收光谱法 (atomic absorption spectrometry, AAS)、荧光光谱法 (fluorescent spectrometry, FS)、红外光谱法 (infrared spectrometry, IR) 等。

紫外-可见分光光度法主要利用了由具有共轭结构有机化合物分子的电子跃迁而产生的紫外-可见光区的光谱, 因此对于相应的这些化合物的定性分析、定量分析、结构鉴定等具有重要意义。以分子吸收光谱为基础的紫外-可见分光光度分析法具有设备简单、适用性广、准确度和精密度较好等特点, 已在地质、环境、能源、材料、食品等科学中发挥重要作用, 尤其是随着多元络合物、胶束增敏光度法、有机试剂等发展, 它已经成为应用最广泛的分析手段之一。

分光光度法的早期应用集中在无机分析化学领域, 即对为数众多的无机离子和无机化合物进行定性分析或定量测定。有机物的光度分析较无机物的开展晚, 但发展十分迅速, 已经从定性分析、半定量分析发展到定量分析, 方法的灵敏度和选择性也有了很大的提高, 能够用光度法进行分析测定的物质种类也在不断增多。近几年来, 随着生命科学的发展, 有机物光度分析的研究和应用热点主要集中在生物、临床、药物等方面。由于大多数药物能吸收紫外光, 在规定的溶剂中测定吸收峰、吸收谷的波长和一定浓度溶液的吸光度可作为鉴别和定量的依据。因此, 光度法在药物分析中的应用历来受到大家的广泛关注和重视, 世界各国都进行这一领域的相关研究。测定的药物涉及生物碱、苯磺酰胺、芳胺、芳烃、巴比妥、甾体激素、咪唑、噻吩、吡啶、季铵盐、磺酰胺、氯胺酮类、醇、醛、醚、某些杂环化合物、某些糖及苷、抗生素和维生素等几大类。研究表明, 光度法在药物分析中的可靠性可以同色谱法相媲美, 但其设备简单、操作方便、价格低廉、易于普及等特点是色谱法难于做到的。因此, 可以相信, 光度法在药物分析中将大有作为。

利用紫外光谱测定中药材或制剂和天然药物中所含某类药效物质的量的技术从《中国药典》1995年版开始收载。不同品种中药材的紫外光谱不同, 相同品种之间有良好的重现性和特征性, 可用于中药材的真伪鉴别。为增强紫外光谱的选择性, 有人用多种溶剂提取, 分别测试紫外光谱, 组成紫外光谱组的方法, 在此基础上谋求建立标准图谱库来统一标准。近年来, 紫外光谱法已成为中药分析研究中主要的仪器分析法之一, 从原始光谱鉴别发展到导数光谱、多波长光谱鉴别, 从单一药材或纯组分分析拓展到复方组分分析。

紫外-可见分光光度法在药物分析中的应用极为广泛。随着分析试剂的发展, 尤其是具有识别能力的特效显色剂以及金属离子显色剂等的发展, 使得药物在可见光区的分光光度分析法将可能出现一个迅速发展阶段。在方法上, 随着可调谐染料激光器的广泛应用, 光声光谱法已经逐渐发展起来, 逐渐应用于分析生物试样以及研究药物、化妆品等对皮肤的吸收和渗透, 这也是一个值得重视的方向。随着化学计量学的发展, 将化学计量学方法应用于药物光度分析, 将是解决多组分测定以及中药等复杂样品快速测定的有效途径。将色谱等分离分析与光度法联用, 也是在复杂基体样品分析和中草药有效成分分析鉴定中常用的有效手段。特别是随着现代分析仪器的发展和电子计算机的应用, 用分光光度法可不经分离直接测定混合物的组分, 既可用于杂质检查, 又可用于复方制剂的含量测定, 是一种简便、快速、成本相对较低的药物分析方法。

原子吸收光谱法 (atomic absorption spectrometry, AAS) 是以居于蒸气相中待测元素的基态原子对其共振辐射的吸收强度来测定试样中该元素含量的一种仪器分析方法。原子吸收光谱法可分析周期表中的绝大多数金属与非金属元素, 可以直接或者间接用于元素成分分

析,并可利用联用技术对元素形态和同位素进行分析。在测定痕量元素和超痕量元素方面有较大优势。目前,原子吸收光谱法在基础研究和分析技术方面都取得很大进展,在广泛的科学技术领域已能够解决具有挑战性的分析方面的问题。近年来生物医药领域引起人们的热切关注,为适应这形势,原子吸收光谱法的联用技术和形态分析已成为主要热点之一。原子吸收光谱法在药物分析中的未来发展趋势应集中于以下几个方面。①药物和生物制剂的微量元素含量分析仍是原子吸收光谱法的主要应用领域。②拓宽原子吸收光谱法测定药物的应用范围,既为药物分析提供了新的分析手段,同时还可以金属离子为标准,弥补药物纯品缺乏的困难。③与常规药物高效分离技术(如毛细管电泳、高效液相色谱)结合,有效开展形态分析工作,为中药物质基础研究提供依据,进而推动中药现代化深入发展。

荧光是指分子吸收了较短波长的光(一般是紫外光和可见光),在很短时间内(几纳秒至几微秒)发射出较照射光波长为长的光,因此荧光光谱是一种发射光谱。根据物质的荧光波长可以确定物质分子具有某种结构;从荧光强度可测定物质的含量。这就是通常所谓的荧光光谱分析法。荧光光谱分析法以其突出的优点如灵敏度高(一般比紫外-可见吸收光谱法高 $2\sim 4$ 个数量级,检测下限可达 $0.001\mu\text{g}/\text{mL}$)、选择性好、操作简便等优点受到分析工作者的青睐,其在药物分析方面有极其重要的应用,广泛应用于生化分析、生物医学、临床分析等研究领域的痕量分析。荧光分析发展的主要趋势是:如何从复杂组成的样品(包括体液)中简便、灵敏、可靠地检测一些痕量成分,了解药物在生物体内的吸收、分布、排泄、代谢、转化的信息,研究药物分子与受体分子之间的作用关系,在改造药物的分子结构,减少药物的毒副作用,研制疗效更好、毒性更低的药物方面提供可靠的研究手段。今后其主要的发展方向是:探索并提出常规药物荧光分析的新方法;与计算机技术紧密结合,研制出自动化程度高,获得和处理信息速度快的荧光分析仪器;发现和合成选择性优良的药物荧光试剂;与其它各种现代化的分析仪器和方法联合使用,以更准确、更灵敏、更专一和更低检测限获得药物及药物与生物大分子相互作用的有关信息。

红外光谱是物质的分子吸收红外辐射后,引起振动-转动能级的跃迁而形成的光谱,因为出现在红外光区,所以称之为红外光谱。红外光谱提供了丰富的分子结构信息,不同物质具有不同的吸收波长和不同的红外光谱。在综合运用了计算机技术和复杂的数学工具后,红外光谱技术发展迅猛,特别是近红外光谱法(near infrared spectrometry, NIR)和傅里叶变换红外光谱法(Fourier transform infrared spectrometry, FTIR)的产生,为红外光谱法的应用提供了广阔的应用前景。红外光谱技术具备无损、方便、快速、准确等优点,其应用领域正不断被人们所拓展。红外光谱技术对样品进行无损分析已广泛应用于医药、文物、宝石鉴定和法庭科学等领域,该技术在细胞和组织的癌变检测取得进展,随着分析方法完善和研究病例的增多以及对于病变组织差异性的规律性认识深化,使光谱发展成无损诊断肿瘤方法的可行性得到确认。随着人们运用红外光谱测定生物组织和细胞结构及其结构细微变化的技术和水平不断的提高,红外光谱除了直接运用于研究药物结构与功能,还将更多地通过间接观测药物作用前后的被试细胞、组织及细菌等生物体本身物质结构所发生的红外光谱变化来探讨药物的作用机制。同时,还可以从药物在生物体中所产生的代谢产物的角度出发,研究药物的代谢产物的红外光谱特征,以达到筛选新药、指导药物设计及指导临床安全用药的作用。

近年来,随着计算机科学技术和用于光谱数据分析处理的化学计量学软件的快速发展,以及高信噪比的快速扫描光谱仪的开发,解决了严重影响近红外光谱应用的“瓶颈”问题,大大促进了近红外光谱技术的应用。近红外光谱吸收主要由C—H、O—H和N—H键产

生, 这些化学键存在于大多数药物中。近红外光谱分析的一些重要性质也使得它比传统的药物光谱分析方法更具吸引力。例如, 很少需要或无须进行样品预处理, 即可在常态下进行分析; 能够在 1min 或更短时间内快速分析复杂样品而获得结果; 无须使用贵重试剂或有毒试剂。将近红外光谱技术与计算机和光导纤维技术相结合, 采用透射、散射、漫反射等光学检测方法, 可以直接对颗粒状、固体状、糊状等不透明的复杂混合物样品进行分析, 这就为实现对药物生产过程质量的实时在线分析和无损的药品质量定性、定量分析提供了一个很有前景的分析技术。近红外光谱分析技术在药物分析上的应用很多。例如, 对原料药和制剂的鉴别和分类、含水量的测定, 对抗生素制剂生产全过程的控制分析, 对粉末、混合均匀性进行在线检测以及对固体制剂进行无损分析等。随着近红外光谱技术的不断提高和化学计量学的发展, 近红外光谱分析技术必将在现代药物分析领域中获得越来越广泛的应用。

1.2.3.2 色谱分析法

各种色谱模式及其联用技术是药物分析的重要方法, 而色谱分析法的进步使其在解决药物分析深层次复杂问题方面扮演着极为重要的角色, 主要表现在以下几个方面。

高效毛细管气相色谱 (gas chromatography, GC) 随着毛细管气相色谱柱控制技术的成熟和涂层技术的进步, 已经成为药物分析的常规分析技术, 特别适用于具有挥发性的复杂组分的分离分析, 并可以解决一般填充柱气相色谱难以解决的分离分析难题。多维毛细管气相色谱技术, 特别是全二维毛细管气相色谱 (comprehensive two dimensional capillary gas chromatography, 2D GC×GC) 大大提高了色谱峰容量、分离选择性, 其仪器及方法技术也越来越成熟, 从而使 GC 在药物分析的作用将变得越来越重要。

高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 从方法到技术取得了令人瞩目的进步, 微柱高效液相色谱 (microcolumn high performance liquid chromatography, μ -HPLC) 是高效液相色谱技术全面进步的一个缩影。微柱高效液相色谱是指色谱柱内径 0.1~0.5mm 的色谱微分离技术, 分离效能高, 流动相消耗少, 大大节省流动相的用量, 特别适用于痕量药物尤其是珍贵生物药物的分离检测。微柱高效液相色谱柱内径的减少使得与之配套的色谱泵、进样器、检测器和连接管道难度大大增加, 因此它不是常规高效液相色谱的简单的尺寸上的缩小, 而是一次革命, 是一种理想的分离分析技术。微柱高效液相色谱和各种高灵敏检测器联用可以解决十分复杂的药物分析问题。微柱液相色谱正在向纳米液相色谱发展, 即 0.1mm 以下的色谱柱及其相关技术的使用。高效液相色谱的另一个重要进步是超高效液相色谱 (ultra performance liquid chromatography, UPLC) 技术的发明, WATERS 推出的 ACQUITY UPLC 超高效液相色谱系统技术使用 1.7 μ m 的特制细粒度填料, 在与常规液相色谱高约 5~10 倍的压力下可以实现快速、高效分离分析。UPLC 在体内药物代谢研究中的痕量和超痕量分析方面具有明显优势。

超临界流体色谱 (supercritical fluid chromatography, SFC) 技术架起了在毛细管气相色谱和高效液相色谱之间的“桥”, 在中等大小的极性分子 (易受 CO₂ 和 N₂O 的良好的超临界作用而形成溶剂化物) 分离方面显示出极大的应用前景。全氟聚醚碳酸铵 PEPE 的应用把超临界 CO₂ 萃取扩展到水溶液体系。

离子色谱 (ionic chromatography, IC) 是一种液相色谱分析技术, 具有快速、灵敏、选择性好, 且可同时测定多组分的优点; 还能测定无机的离子或亲水性的有机阴离子。离子色谱在医药研究中的应用已经越来越深入。它不仅可用于药品的常规质量的同时分析, 也可有效地用于生产过程的质量控制和体内药物分析, 具有很好的应用前景。

薄层色谱 (thin layer chromatography, TLC) 是一种重要的、成熟的、简易的二维液