

高等学校教材

YAOWU FENXI SHIYAN
JIAOCHENG

药物分析实验

教程

主 编◎徐乃玉

副主编◎汪维鹏 谢洪平 张经硕



合肥工业大学出版社

国家精品课程

YAOWU FENXISHIYAN
JICHUJING

药物分析实验

教程

主编 王 健
副主编 王 健 王 健 王 健



中国医药出版社

药物分析实验教程

主 编 徐乃玉

副主编 汪维鹏 谢洪平 张经硕

合肥工业大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

药物分析实验教程/徐乃玉主编. —合肥:合肥工业大学出版社,2009. 8

ISBN 978-7-5650-0047-8

I. 药… II. 徐… III. 药物分析—实验—高等学校—教材 IV. R917-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 150435 号

药物分析实验教程

徐乃玉 主编

责任编辑 章建 郭艳

出版 合肥工业大学出版社

版次 2009 年 8 月第 1 版

地址 合肥市屯溪路 193 号

印次 2009 年 8 月第 1 次印刷

邮编 230009

开本 787 毫米×1092 毫米 1/16

电话 总编室:0551-2903038

印张 10.5

发行部:0551-2903198

字数 255 千字

网址 www.hfutpress.com.cn

印刷 合肥工业大学印刷厂

E-mail press@hfutpress.com.cn

发行 全国新华书店

ISBN 978-7-5650-0047-8

定价:20.00 元

如果有影响阅读的印装质量问题,请与出版社发行部联系调换。

前 言

《药物分析实验教程》是药物分析课程的配套教材之一,针对高等教育药物分析实验教学要求编写而成。本书以全国规划教材为基础,由三部分内容组成:一、药物分析常用的专业术语与规定和分析方法验证内容;二、药物分析实验:包括化学药物分析、体内药物分析、中药化学成分及其制剂分析、生物药物分析;三、附录:包括溶液的配制、药物分析中常用物理常数测定方法和常用分析方法。本书参照中国药典标准的最新要求编写而成,每部分实验项下均收录多种实验方法,适合药学类不同专业本科及专科学学生药物分析实验教学使用,也可作为本专业从业人员的工具书。

药物分析是药学专业教学计划中设置的一门主要专业课程,随着医学、药学、生物学及相邻学科的发展,药物分析的内容也有了很大的发展和拓宽。药物分析作为一门实践性很强的学科,实验是本课程的重要组成部分,通过药物分析实验,要求达到以下目的:明确全面控制药品质量的概念,获得完整的药品质量控制的方法;掌握药物分析中所用定性、定量分析方法及操作技能;掌握药物分析中所用仪器的使用、保养方法;熟练掌握药物中杂质检查基本程序、操作要点及限量计算;掌握药品质量标准中收载的典型药物及其制剂的鉴别、检查、含量测定方法,操作要领,结果及计算,检验报告的书写;掌握医院制剂快速分析的方法特点及基本操作;熟悉各类中药制剂分析方法、特点及基本操作;了解体内药物分析、生物药物分析和中药化学成分及其制剂分析的特点。本教材编入多种类型的分析方法,内容主要依据 2005 年中国药典及部分国外药典所收载的内容,着重培养学生基本理论的应用及实际操作能力,内容安排做到与理论教材相配套,与实际应用相结合。

本书的编写工作由徐乃玉、汪维鹏、谢洪平、张经硕共同完成,其中徐乃玉编写了约 11 万字,包括:第一部分,第二部分第一章(实验一~实验六、实验十一~实验二十一),第二部分第二章,第三部分附录Ⅲ;汪维鹏编写了约 10 万字,包括:第二部分第三章(实验一~实验五、实验七~实验十五),第二部分第四章,第三部分附录Ⅱ;谢洪平编写:第二部分第一章(实验七~实验十);张经硕编写:第二部分第三章(实验六),第三部分附录Ⅰ。全书最后由徐乃玉统稿。

在教材的编写过程中,我们得到了校内外许多专家学者的帮助与指导,同时我们还参考借鉴了一些同类教材的编写优点,这些对我们提高编写质量是大有帮助的,在此一并表示由衷的谢意。

由于编者水平和能力有限,书中错误和疏漏之处,恳请读者批评指正。

苏州大学药学院药物分析教研室

2009 年 7 月

目 录

第一部分 绪论

第一章 实验目的和要求	(1)
第二章 药物分析中的专业术语与规定	(3)
第三章 药物质量标准分析方法验证	(7)

第二部分 药物分析实验

第一章 药物的检查和含量测定	(11)
实验一 葡萄糖中的一般杂质检查	(11)
实验二 药物的特殊杂质检查	(16)
实验三 气相色谱法测定药物中有机溶剂残留量	(17)
实验四 醋酸可的松中其他甾体的检查	(20)
实验五 EDTA 标准溶液的标定和胃舒平片剂中铝和镁含量的测定	(21)
实验六 双相滴定法测定苯甲酸钠的含量	(24)
实验七 氧瓶燃烧法测定含碘药物的含量	(25)
实验八 非水溶液滴定法测定片剂中生物碱的含量	(28)
实验九 维生素 C 制剂中维生素 C 的含量测定	(29)
实验十 pH 指示剂吸收度比值法测定水杨酸钠的含量	(30)
实验十一 酸性染料比色法测定硫酸阿托品注射液的含量	(32)
实验十二 凯氏定氮法测定干酵母片的含量	(35)
实验十三 双波长法测定复方磺胺制剂中主要成分的含量	(37)
实验十四 葡萄糖注射液分析及其医院药房快速检验法	(41)
实验十五 差示分光光度法测定维生素 B ₁ 片剂的含量	(46)
实验十六 三点校正法测定维生素制剂中维生素 A 的含量	(48)
实验十七 甲萘酮片含量均匀度的测定	(50)
实验十八 荧光分光光度法测定吡哌酸片的含量	(52)
实验十九 气相色谱法测定维生素 E 片的含量	(54)

实验二十 高效液相色谱外标分析法测定头孢拉定胶囊的含量	(55)
实验二十一 高效液相色谱内标与外标法测定氯霉素眼药水的含量	(56)
第二章 体内药物分析	(59)
实验一 紫外分光光度法测定氨茶碱的血药浓度	(59)
实验二 固相萃取-高效液相色谱法测定法莫替丁的血浆浓度	(61)
实验三 高效液相色谱法测定血浆中阿司匹林的浓度	(63)
实验四 荧光分光光度法测定血清中氯喹的浓度	(65)
实验五 5-氟尿嘧啶血药浓度的测定	(67)
实验六 对乙酰氨基酚血药浓度测定回归方程的建立	(69)
实验七 高效液相色谱法测定尿中氧氟沙星浓度	(71)
第三章 中药化学成分及其制剂分析	(73)
实验一 双相滴定法测定延胡索中总生物碱的含量	(73)
实验二 薄层色谱-比色法测定人参中总皂苷含量	(76)
实验三 紫外分光光度法测定丹参中总丹参酮的含量	(78)
实验四 高效液相色谱法测定银杏中黄酮类成分的含量	(80)
实验五 气相色谱法测定薄荷中薄荷醇的含量	(83)
实验六 中药制剂的定性鉴别	(85)
实验七 三七伤药片中乌头碱的限量检查	(87)
实验八 酸碱滴定法测定止喘灵注射液中总生物碱的含量	(89)
实验九 差示光谱法测定六味地黄丸中丹皮酚的含量	(90)
实验十 比色法测定大山楂丸中总黄酮的含量	(92)
实验十一 可见分光光度法测定清开灵注射液中总胆酸的含量	(94)
实验十二 高效液相色谱法测定胃舒宁颗粒中甘草酸的含量	(97)
实验十三 高效液相色谱法测定三黄片中大黄素和大黄酚的含量	(99)
实验十四 气相色谱法测定十滴水软胶囊中樟脑的含量	(102)
实验十五 气相色谱法测定风油精中薄荷醇的含量	(104)
第四章 生物药物分析	(106)
实验一 中性蛋白酶活力测定条件实验	(106)
实验二 乳酸脱氢酶的活力测定	(109)
实验三 三磷酸腺苷二钠片的含量测定	(111)
实验四 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法测定蛋白质分子量	(114)
实验五 茚三酮比色法测定谷氨酸的含量	(118)

实验六 甲醛滴定法测定赖氨酸片中赖氨酸的含量·····	(121)
实验七 生物检定法测定肝素钠的效价·····	(123)
实验八 考马斯亮蓝染色法测定蛋白质的含量·····	(126)
实验九 二苯胺显色法测定 DNA 的含量·····	(128)
实验十 3,5-二硝基水杨酸比色法测定糖的含量·····	(130)
实验十一 高效液相色谱法鉴别中性胰岛素注射液·····	(134)
实验十二 高效液相色谱法测定肌苷片中肌苷的含量·····	(135)

第三部分 附 录

附录 I 溶液的配制·····	(138)
附录 II 理化常数测定法·····	(140)
一 相对密度测定法(药典附录 VI A)·····	(140)
二 馏程测定法(药典附录 VI B)·····	(141)
三 熔点测定法(药典附录 VI C)·····	(142)
四 旋光度测定法(药典附录 VI E)·····	(144)
五 折光率测定法(药典附录 VI F)·····	(145)
六 黏度测定法(药典附录 VI G)·····	(145)
七 pH 值测定法(药典附录 VI H)·····	(148)
附录 III 分析测定方法·····	(151)
一 荧光分析法(药典附录 IV E)·····	(151)
二 重金属检查法(药典附录 VIII H)·····	(152)
三 干燥失重测定法(药典附录 VIII L)·····	(153)
四 水分测定法(药典附录 VIII M)·····	(156)
五 炽灼残渣检查法(药典附录 VIII N)·····	(157)

第一部分 绪 论

第一章 实验目的和要求

一、药物分析的“三基”

要完成药物分析课程的学习,必须掌握药物分析的“三基”,即“基本理论、基本知识和基本操作”。

1. 基本理论

所谓基本理论就是要掌握药品质量控制过程中的分析方法所依据的有关理论,化学反应的原理及基本规律,化学变化中的当量关系,药物的化学结构、理化性质与分析方法选择之间的关系等。

2. 基本知识

为了掌握制订药品质量标准的依据,必须认真地学习各类药物的法定分析方法,掌握各类药物的通性,典型药物的特性,一般鉴别实验、一般杂质检查、制剂分析的特点与基本分析方法,限量、定量计算方法,临床药物分析方法等。这些知识具有应用上的广泛性,掌握了这些基本知识之后,就有“举一反三”、“触类旁通”之效。

3. 基本操作

熟练掌握各类仪器的洗涤、合理选用和正确使用;掌握药物的定性分析技巧,药物的杂质检查方法,容量分析中称量、滴定、定量转移、稀释等技术;掌握比色法、比浊法、旋光法、折光法、电位法、光谱法等分析技术的操作原理和测定方法;掌握常见的有机破坏方法。这些基本操作的熟练程度关系到分析结果的精确性,关系到对被检测药品“合格”与否的结论,同时也关系到对存在问题的判断和解释。

以上三者是相辅相成的,应用课堂理论知识指导实验,例如对反应原理、各步操作目的与注意问题及定量计算等做到心中有数,有目的、有准备地去进行实验,可少走弯路,避免差错。同时根据所学理论知识分析评判实验结果,探究实验成败的原因或对分析方法提出改进措施等,通过实验课的实践,加深理解课堂教学的内容,补充课堂教学未涉及的内容,充分重视实验技能的训练,打好基础,加强理论与实际的联系,课前作好预习,课后及时总结,必要时需对相关课程的有关内容进行复习,并前后联系,融会贯通,找出规律和异同点,不断总结,不断提高。

二、药物分析实验课的要求

药物分析实验课是培养学生掌握基本操作技能的重要教学环节。通过有限的教学时数,经过精心安排的实验内容的训练,使学生了解药品质量控制的全貌和建立分析方法的一般思路。过硬的基本操作技能是进行药品质量控制与药品质量研究的基本条件,也是保证药品质量真正符合法定标准的必要条件。掌握基本技能的关键在于“三严”,即严肃的态度、严密的方法和严格的要求。因此,要求学生珍惜实验训练机会,在实验过程中勤动手、勤思考。为提高实验课教学效率,必须做到如下几点:

1. 课前做好预习。明确该次实验的目的要求,弄懂原理及操作要点,考虑实验中必须注意的事项、实验的顺序、所需的仪器及必要的准备。

2. 要准备一个实验记录本,在对药物进行分析时,应将全部数据准确及时地记录在记录本上,尊重实验的原始记录是必要的科学作风,决不允许记在小纸条上和实验讲义上甚至手掌上。

3. 在实验中要养成整洁、细致、踏实、准确而有系统的优良习惯,切实严格遵守操作规程,注意基本操作与实验现象的观察分析。

4. 随时都要有量的概念。任何一项含量测定均要同时做两份,两次的测定结果相符,容量分析间差不大于 0.4% (间差 = $\frac{\text{含量高的值} - \text{含量低的值}}{\text{平均值}} \times 100\%$)。决不允许伪造或估计一个数据,两次实验结果不能做依据时,应重新测定一次。

5. 实验课不得随便旷课相互调课,实验期间不得擅自离开教室,有事需经指导老师同意后方可离开。实验报告必须按规定时间交给老师批改。

6. 为防止试剂、药品污染,取用时应仔细观察标签和取用工具上的标志,杜绝错盖瓶盖或不随手加盖的现象发生。当不慎发生试剂污染时,应及时报告任课教师。公用试剂、药品应在指定位置取用。此外,取出的试剂、药品不能再倒回原瓶。

7. 清洁液一般只限于洗涤滴定管、吸量管、容量瓶等。使用时,应先用水冲洗仪器,沥至无滴水后,用清洁液浸洗;其他玻璃仪器一般用肥皂或去污粉刷洗。注意节约纯化水,清洗玻璃仪器应遵守少量多次的原则。

8. 爱护公物,移物归位,节约水电、药品和试剂,公用药品试剂或仪器用后应及时归位。可回收利用的废溶剂应回收至指定的容器中,不可任意弃去。腐蚀性残液应倒入废液缸中,切勿倒进水槽。破损仪器要及时登记。

9. 实验期间确保安全,经常注意防火、防爆。

10. 实验完毕应认真清理实验台,仪器洗净后放回原处,擦净台面,晾好抹布、毛刷,放齐凳子,锁好柜子,经教师同意后,方可离开。值日生还应负责整理公用试剂台、打扫地面卫生、清除垃圾及废液缸中污物,并检查水、电、门窗等安全事宜。

11. 实验完毕,认真总结实验结果,按指定格式填写实验报告,并根据检验结果作出明确的结论,按规定时间交出。

第二章 药物分析中的专业术语与规定

1. 药典收载的原料药及制剂,均应按规定的方法作比较实验,根据实验的结果掌握使用,但仲裁仍是以药典规定的方法为准。

2. 标准中规定的各种纯度和限度数值以及制剂的重量差异,包括上限和下限两个数值本身及中间数值。规定这些数值不论是百分数还是绝对数字,其最后一位数字都是有效数字。

实验结果在运算过程中,可比规定的有效数字多保留一位数,而后根据有效数字的修约规则进舍至规定的有效位。计算所得的最后数值或测定读数值均可按修约规则进舍至规定的有效位,取此数值与标准中规定的限度值比较,以判断是否符合规定的限度。

3. 标准品、对照品系指用于鉴别、检查、含量测定的标准物质。标准品与对照品(不包括色谱用的内标物质)均由国务院药品监督管理部门指定的单位制备、标定和供应。标准品系指用于生物检定、抗生素或生化药品中含量或效价测定的标准物质,按效价单位(或 μg)计,以规定标准品进行标定;对照品除有另外规定外,均按干燥品(或无水物)进行计算后使用。

4. 实验时的温度,未注明者,系指在室温下进行;温度高低对实验结果有显著影响者,除另有规定外,应以 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 为准。

5. 实验用水,除另有规定外,均系纯化水。酸碱度检查所用的水,均系指新沸并放冷至室温的水。

6. 酸碱性实验时,如未指明何种指示剂,均系石蕊试纸。

7. 乙醇未指明浓度时,均系95%(mL/mL)的乙醇。

8. 计算分子量以及换算因子等使用的原子量均按最新国际原子量表推荐的原子量。

9. 药典采用的计量单位:

(1)药典使用的滴定液和试液的浓度,以 mol/L (摩尔/升)表示者,其浓度要求精密标定的滴定液用“XXX 滴定液(YYYmol/L)”表示;作其他用途不需精密标定其浓度时,用“ YYYmol/L XXX 溶液”表示,以示区别。此处XXX代表溶液名称,YYY代表摩尔浓度,例如,盐酸滴定液(0.1mol/L)表示 1mol/L 盐酸溶液。

(2)温度以摄氏度($^{\circ}\text{C}$)表示,如表1-1。

表 1-1 温度术语

术语	温度
水浴	除另有规定外,均指 98℃~100℃
热水	70℃~80℃
微温或温水	40℃~50℃
室温	10℃~30℃
冷水	2℃~10℃
冰浴	约 0℃
放冷	放冷至室温

(3)百分比用“%”符号表示,系指重量的比例;但溶液的百分比,系指溶液 100mL 中所含溶质若干克;乙醇的百分比,系指在 20℃时容量的比例。此外,根据需要可采用下列符号:

% (g/g)	表示溶液 100g 中含有溶质若干克
%(mL/mL)	表示溶液 100mL 中含有溶质若干毫升
%(mL/g)	表示溶液 100g 中含有溶质若干毫升
%(g/mL)	表示溶液 100mL 中含有溶质若干克

(4)液体的滴,系指在 20℃时,以 1.0mL 水为 20 滴进行换算。

(5)溶液后标记的“(1→10)”等符号,系指固体溶质 1.0g 或液体溶质 1.0mL 加溶剂使成 10mL 的溶液;未指明用何种溶剂时,系指水溶液;两种或两种以上液体混合物,名称间用半字线“-”隔开,其后括号内所示的“:”符号,系指各液体混合时的体积(重量)比。

10. 药品“性状”项下记载药品的外观、臭、味、溶解度以及物理常数等。

(1)外观性状是对药品色泽和外表感观的规定。遇有对药品的晶形、粒度或溶液的颜色需做严格控制时,应在检查项下另做具体规定。

(2)溶解度是药品的一种物理性质。正文品种下选用的部分溶剂及其在该溶剂中的溶解性能,可供精制或制备溶液时参考。药品的溶解度表示方法如表 1-2。

表 1-2 溶解度的表示方法

溶解度的表示方法	使 1g 或 1mL 溶质溶解的溶剂体积(mL)
极易溶解	<1mL
易溶	1~<10mL
溶解	10~<30mL
略溶	30~<100mL
微溶	100~<1000mL
极微溶解	1000~<10000mL
几乎不溶或不溶	10000mL 中不能完全溶解

实验方法:称取研成细粉的供试品或量取液体供试品,置于 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 一定容量的溶剂中,每隔 5 分钟强力振摇 30s;观察 30min 内的溶解情况,如看不见溶质颗粒或液滴时,即视为完全溶解。

(3)物理常数包括密度、馏程、熔点、比旋度、折光率、黏度、吸收系数、碘值、皂化值和酸值等;测定结果不仅对药品有鉴别意义,也是反映药品的纯度和评价药品质量的主要指标之一。

11. 药典鉴别项下规定的实验方法,仅适用于鉴别药品的真伪;对于原料药,还应结合性状项下的外观和物理常数进行确认。

12. 药典鉴别项下包括有效性、均一性、纯度要求与安全性四个方面;对于规定中的各种杂质检查项目,系指该药品在按既定生产工艺进行生产和正常贮藏过程中可能含有或产生并需要控制的杂质;改变生产工艺时需另考虑增修订有关项目。

(1)原料药和制剂生产过程中,如使用有害的有机溶剂,应按药典的有机溶剂残留测定法检查,并应符合规定。

(2)恒重,除另有规定外,系指供试品连续两次干燥或灼烧后的重量差异在 0.3mg 以下的重量;干燥至恒重的第二次及以后各次称量均应在规定条件下继续干燥 1h 后进行;灼烧至恒重的第二次称重应在继续灼烧 30min 后进行。

13. 含量测定。

(1)药典规定原料药的含量(%),除另有注明者外,均按重量计。如规定上限为 100% 以上时,系指用本药典规定的分析方法时可能达到的数值,它为药典规定的限度或允许的误差,并非真实的含量;如未规定上限时,系指不超过 101.0%。

(2)制剂的含量限度范围,系根据主药的含量多少、测定方法、生产过程和贮存期间可能产生的偏差或变化而制定的,生产中应按标示量的 100% 投料。如已知某一成分在生产或贮存期间含量会降低,生产时可适当增加投料量,以保证在有效期(或使用期限)内含量符合规定。

(3)试验中供试品与试药等“称重”或“量取”的量,均以阿拉伯数字表示,其精确度可根据数值的有效数字来确定,如称取“0.1g”,系指称取量可为 0.06~0.14g;称取“2g”,系指称取重量可为 1.5~2.5g;称取“2.0g”,系指称取重量可为 1.95~2.05g;称取“2.00g”系指称取重量可为 1.995~2.005g。

“精密称定”系指称取重量应准确到所取重量的千分之一;“称定”系指称取重量应准确至所取重量的百分之一;“精密量取”系指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密度要求;“量取”系指可用量筒或按照量取体积的有效数字选用量具。取用量为“约”若干时,系指取用量不得超过规定量的 $\pm 10\%$ 。

(4)试验中规定“按干燥品(或无水物,或无溶剂)计算”时,除另有规定外,应取未经干燥(或未去水,或未去溶剂)的供试品进行实验,并将计算中取用量按检查项下测得的干燥失重(或水分,或溶剂)扣除。

(5)实验中的“空白实验”,系指在不加供试品或以等量溶剂替代供试液的情况下,按同法操作所得的结果;含量测定中的“并将滴定的结果用空白实验校正”,系指按供试品所耗滴定液的体积(mL)与空白实验中所耗滴定液体积(mL)进行计算。

14. 制剂的规格,系指每一支、片或其他每一个单位制剂中含有主药的重量(或效价)或含量(%)或装量;注射液项下,如为“1mL:10mg”系指1mL中含有主药10mg。

15. 贮藏项下的规定,系对药品贮存与保管的基本要求,以下列名词表示:

遮光:系指用不透光的容器包装,例如棕色容器或黑纸包裹的无色透明、半透明的容器;

密闭:系指将容器密闭,以防止尘土及异物进入;

密封:系指将容器密封以防止风化、吸潮、挥发或异物进入;

熔封、严封:系指将容器熔封或用适宜材料严封,以防止空气与水分的侵入并防止污染;

阴凉处:系指不超过20℃;

凉暗处:系指避光并不超过20℃;

冷处:系指2℃~10℃;

常温:系指10℃~30℃。

第三章 药物质量标准分析方法验证

药品质量的标准分析方法验证是根据其使用的对象和检验目的都有相应的效能指标。对分析方法评价的目的不仅是要验证采用的方法是否适合于相应的检验要求,同时也是建立新的分析方法的实验研究依据。《中国药典》规定需验证的分析项目有:鉴别实验,杂质定量或限度检查,原料药或制剂中其他成分(如降解产物、防腐剂等)的测定以及药品溶出度、释放度等测试方法。

分析方法的效能评价指标包括:准确度,精密度(包括重复性、中间精密度和重现性)、专属性、检测性、定量限、线性、范围和耐用性。根据不同分析项目拟订验证的内容。

一、准确度

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,一般以回收率(%)来表示。准确度应在规定的范围内建立。

1. 含量测定方法的准确度。原料药可用已知纯度的对照品和样品进行测定,或用本法所得结果与已建立准确度的另一种方法测定的结果进行比较。

制剂可用含已知量被测物的各组分混合物进行测定。如不能得到制剂的全部组分,可向制剂中加入已知量的被测物进行测定,或向另一个已建立准确度的方法比较结果。

2. 杂质定量测定的准确度。可向原料药或制剂中加入已知量杂质进行测定。如果不能得到杂质或降解产物,可用本法测定的结果与另一成熟的方法进行比较,如药典标准方法或经过验证的方法。如不能测得杂质或降解产物的相对响应因子,则可用原料药的响应因子。应明确单个杂质和杂质总量相当于主成分的重量比(%),或是面积比(%)。

3. 测定数据要求。在规定的范围内,制备高、中、低 3 个不同浓度的样品,各测试 3 次,用 9 次测定的结果进行评价。应报告已知加入量的回收率(%),或测定结果平均值与真实值之差及其可信限,回收率的相对标准偏差(RSD)一般应在 2% 以内。

二、精密度

精密度系指在规定的测试条件下,同一个均匀样品,经多次取样测定所得结果之间的接近程度。精密度一般用偏差、标准偏差或相对标准偏差表示。

在相同条件下,由一个分析人员测定所得结果的准确度称为重复性;在同一个实验室,不同时间,不同分析人员用不同测定设备测定结果的精密度,称为中间精密度;在不同实验室由不同分析人员测定结果的精密度,称为重现性。

1. 重复性。在规定范围内,制备三个不同浓度的样品,各测定 3 次,用 9 次测定结果进行评价,或把被测物浓度视为 100%,用至少 6 次的结果进行评价。
2. 中间精密度。为考察随机变动因素对精密度的影响,应进行中间精密度实验。变动因子为不同日期、不同分析人员、不同设备。
3. 重现性。当分析方法被法定标准采用时,应进行重现性实验。如建立药典分析方法时通过协同检验得出重现性结果。
4. 分析数据的要求。均应报告标准偏差、相对标准偏差和可信限。

三、专属性

专属性系指在可能存在其他成分(如杂质、降解产物、辅料等)的情况下,采用的方法能准确测定出被测反应物的特征。鉴别反应、杂质检查、含量测定方法,均应考察其专属性。

1. 鉴别反应。应能与可能共存的物质或结构相似化合物区分。不含被测定成分的样品,以及结构相似或组分中的有关化合物,均应呈负反应。

2. 含量测定和杂质测定。色谱法和其他分离方法,应附代表性图谱,以说明专属性。图中应标明诸成分的位置,色谱法中的分离度应符合要求。

在杂质可获得的情况下,对于药物含量的测定,试样中可加入杂质或辅料,考察测定结果是否受干扰,并与未加杂质和辅料的试样比较测定结果。对于药物杂质的测定,也可向试样中加入一定量的杂质,考察杂质能否得到分离。

在杂质或降解产物不能获得的情况下,可将含有杂质或降解产物的试样进行测定,与另一个验证了的或药典方法比较结果。用强光照射,高温,高湿,酸、碱水解或氧化的方法进行加速破坏,以研究降解产物。含量测定方法应对比两法的结果,杂质测定应对比检出的杂质个数,必要时可采用光电二极管阵列检测和质谱检测,进行纯度检查。

四、检测限

检测限系指试样中被测物能被检测出的最低量。常用的方法如下:

1. 非仪器分析目视法。用已知浓度的被测物,测定出能被可靠检测出的最低浓度或量。
2. 信噪比法。用于能显示基线噪音的分析方法,即把已知低浓度试样测出的信号与空白样品测出的信号进行比较,算出能被可靠检测出的最低浓度或量。一般以信噪比 3 : 1 或 2 : 1 时相应浓度或注入仪器的量确定检测限。
3. 测定数据要求。应附加测试图谱,说明测试过程和检测限结果。

五、定量限

定量限系指样品中被测物能被定量测定的最低量,其测定结果应具有一定的准确度和精密度。杂质和降解产物用定量测定方法研究时,应确定定量限。

常用信噪比法确定定量限。一般以信噪比 10 : 1 时相应的浓度或注入仪器的量进行确定。

六、线性

线性系指在设计的范围内,测试结果与试样中被测定物浓度直接呈正比关系的程度。

应在规定的范围内测定线性关系。可用一贮备液经精密稀释,或分别精密称样,制备一系列供试样品的方法进行测定,至少制备 5 份供试样品。以测得的响应信号作为被测定物浓度的函数作图,观察是否呈线性,再用最小二乘法进行线性回归。

测定数据要求:应列出回归方程、相关系数和线性图。

七、范围

范围系指能达到一定精密度、准确度和线性,测试方法适用的高低限浓度或量的区间。

范围应根据分析方法的具体应用和线性、准确度、精密度结果和要求确定。原料药和制剂含量测定,范围应为测试浓度的 80%~120%;制剂含量均匀度检查,范围应为测试浓度的 70%~130%,根据剂型特点,如气雾剂、喷雾剂,范围可适当放宽;溶出度或释放度中的溶出量测定,范围应为限度的 $\pm 20\%$ 。如规定范围,则应为下限的 -20% 至上限的 $+20\%$;杂质测定,研究时,范围应根据初步实测,拟订出规定限度的 $\pm 20\%$ 。如果含量测定与杂质检查同时测定,用百分归一化法,则线性范围应为杂质规定的 -20% 至含量限度(或上限)的 $+20\%$ 。

表 1-3 检验项目和验证内容

项目内容	鉴别	杂质测定		含量测定及 溶出量测定
		定量	限度	
准确度	—	+	—	+
精密度	—	—	—	+
重复性	—	+	—	+
中间精密度	—	+(1)	—	+(3)
专属性(2)	+	+	+	+
检测限	—	—(3)	+	—
定量限	—	+	—	—
线性	—	+	—	+
范围	—	+	—	+
耐用性	+	+	+	+

+: 必须验证的试验; —: 不需验证的试验

(1) 已有重现性验证, 不需验证中间精密度;

(2) 如一种方法不够专属, 可用其他分析方法予以补充;

(3) 视具体情况予以验证。