

药物分析实验讲义

(供药学专业用)

湖南医学专科学校药物分析教研室编

一九八九年四月

目 录

一、药物分析实验要求.....	1
二、葡萄糖杂质检查.....	5
三、药物中特殊杂质检查.....	10
四、蒸馏水杂质检查.....	14
五、P H 值吸收度比值法测定复方枸橼酸钠注射液 中枸橼酸钠的含量.....	16
六、氧瓶燃烧法.....	20
七、安钠咖注射液含量测定.....	22
八、乙酰水杨酸片含量测定.....	24
九、盐酸左旋咪唑片的含量测定.....	25
十、酸性染料比色法测定硫酸阿托品片的含量.....	27
十一、双波长法测定氯霉素的含量.....	29
十二、差示分光光度法维生素B ₁ 片的含量.....	31
十三、盐酸普鲁卡因注射液和碘酊的快速分析.....	33
十四、葡萄糖注射液的含量测定.....	36

十五、气相色谱法测定酊剂中乙醇的含量.....	42
十六、 <u>高效液相</u> 色谱法测定安钠咖注射液的含量.....	47
十七、红外分光光度法鉴定氢化可的松和醋酸 氢化可的松.....	50
十八、正交函数分光光度法.....	53
十九、一阶导数分光光度法.....	59
二十、附录	
附一：实验所需试剂及部分试药.....	63
附二：实验用供试品.....	67
附三：容量仪器的校正.....	68
附四：重铬酸钾清洁液的配制.....	71

药物分析实验课要求

药物分析是药学专业的一门专业课程。药物分析实验是本课程教学的组成部分，是药物分析教学过程中的一个重要环节。它与课堂教学密切配合，通过基本操作反复训练，要求学生能够较系统地掌握药典常用的分析方法和实验技术，获得比较完整的药品质量观念，从而使具备从事药品质量控制工作的能力。

根据教学大纲的要求，编入本实验内容的药物为常用的、典型的药物，其分析方法多选自中国药典（1985年版），少数选自文献或国内高等医药院设计的方法，药房快速分析部分选自医院制剂规范。

根据教学大纲，实验课的要求是：

一、全面理解药物分析工作各个环节的意义和重要性，培养工作责任心及实事求是，严谨踏实，勤俭办一切事业的工作作风和科学态度。

二、运用本课程理论及有关基础与专业知识和技能，解决实际问题，培养独立思考与独立工作能力。

三、掌握药物分析常用方法及操作技术，并能按药典规定与要求，运用于药物分析工作。

为提高实验课教学质量以达到上述三方面要求，学生应严格遵守下述实验课规则：

1、上课前必须认真预习，明确实验目的与要求，弄清实验原理及操作要点，考虑实验中必须注意的事项，安排好实验进程与使

用仪器的准备工作。

每次实验课均应有准备地接受指导教师提问或书面测验。

2、进实验室要随带一本编有页码的实验记录本，不能使用单页或活页本。必须忠实地、完整地记录实验过程、测量数据及有关资料，记录的原始数据不得随意涂改，如系写错，仅能将写错处划去（要仍能看清原来写错的数值）并再重写一次实际的原始记录。

3、实验中切实严格操作规程，注意基本技术与实验现象之观察分析。

4、任何实验过程，均应避免试剂污染、试剂瓶盖错盖或不随手加盖的现象发生，当不慎发生试剂污染时，应抱负责态度报告指导老师及时处理。

5、爱护公物，移物归位，节约水电、药品、试剂。不要擅自动用精密仪器。精密仪器用毕应登记签名，玻璃仪器用毕应洗净归位，破损仪器应及时登记报损。

6、注意安全，防火防爆。

7、实验后，腐蚀性残液应倒入废液缸中，切勿倒进水槽内，以免腐蚀水管水槽。可回收利用的废溶剂，应按指定办法回收，不可任意弃去。

8、清洁液一般只限于对滴定管、吸量管、容量瓶的洗涤，注意节约使用。洗涤时，应先用水冲洗仪器，沥至无滴水后，再用清洁液洗涤，其它玻璃仪器一般均用洗涤粉或去污粉、肥皂洗涤。

9、在实验过程中，应保持实验台、地面等整洁，不可随地乱扔废纸等，值日生在实验结束后要打扫好卫生，并检查实验室内

水、电及门窗安全事宜。

10 每次实验均应按指导教师规定时间交出实验报告。

原始记录及报告格式示例：

一、非水溶媒滴定

(一) 原始记录

1、样品：

2、标示含量：

3、称样量

I

II

III

瓶+样重

减样后重

样品重

4、滴定温度

5、消耗 $\text{HC l}^{\circ} 4$ 液体积

空白消耗

6、浓度校正： $F =$

7、含量计算

标示量% =

1、

2、

3、

相对平均偏差% =

平均值：

(二) 报告

检品名称

检验目的:

检验方法:

检验结果:

结 论:

讨 论:

二、酊剂中乙醇的含量测定

(一) 原始记录

1、样品名称:

2、标示含量:

3、取样量:

4、测定:

仪器型号:

实验条件:

附色谱图:

品 名	次 数	峰高 $h_{乙}$	峰高 $h_{正}$	$h_{正}/h_{乙}$
标准品	1			
	2			
	3			
	平 均			
样 品	1			
	2			
	3			
	平 均			

5、校正因子计算:

6、含量计算

(二) 报告

检品名称:

检验目的:

检验方法:

检验结果:

结 论:

讨 论:

实验一 葡萄糖的一般杂质检查

一、目的要求:

通过葡萄糖分析, 了解药物的一般杂质检查项目和意义, 掌握葡萄糖分析中氯化物、硫酸盐、铁盐、重金属、砷盐、炽灼残渣等限度检查的方法原理, 反应条件及其计算。

二、操作方法:

1、酸度: 取本样品 2 g, 加新沸过的冷蒸馏水 20 ml 溶解后, 加酚酞指示液 3 滴与氢氧化钠液 (0.02 mol/L) 0.2 ml, 应显粉红色。

2、溶液的澄清度与颜色: 取本样品 2.5 g, 加热水溶解后, 放冷, 用水稀释至 50 ml, 溶液应澄清无色, 如显色, 与对照液 (精密量取比色用氯化钴液 10 ml, 比色用三氯化铁 30 ml 与比色用硫酸铜液 20 ml, 加水稀释成 100 ml) 2.0 ml, 加水稀释至 50 ml 比较, 不得更深。

3、氯化物: 取本品 0.6 g, 加水溶解使成 25 ml (如

显碱性，可滴加硝酸使遇石蕊试纸显中性反应），再加稀硝酸10 ml，溶液如不澄清，滤过，置50 ml纳氏比色管中，加水适量使成约40 ml，摇匀，即得供试溶液。另取标准氯化钠溶液（ $10\mu\text{g Cl}^-/\text{ml}$ ）6 ml置50 ml纳氏比色管中，加硝酸10 ml，用水稀释使成约40 ml后，摇匀，即得对照溶液。

于供试溶液与对照溶液中，分别加入硝酸银溶液试液1 ml，再加水稀释成50 ml，摇匀，在暗处放置5分钟，同置黑色背景上，从比色管上方向下观察、比较，不得更浓（0.01%）。

4、硫酸盐：取本品2 g，加水溶解使成约40 ml（溶液如显碱性，可滴加盐酸使成中性），溶液如不澄清，滤过，置50 ml纳氏比色管中，加稀盐酸2 ml，摇匀，即得供试溶液。另取标准硫酸钾溶液2 ml（ $100\mu\text{g SO}_4^{2-}/\text{ml}$ ），置50 ml纳氏比色管中，加水使成约40 ml，加稀盐酸2 ml，摇匀，即得对照溶液。

于供试溶液与对照溶液中，分别加入25%氯化钡溶液5 ml，用水稀释成50 ml，充分摇匀，放置10分钟，同置黑色背景上从比色管上方向下观察比较，不得更浓（0.01%）。

5、炽灼残渣：取本品1—2 g，置已炽灼至恒重的瓷坩埚中，精密称定，加硫酸0.5—1 ml润湿，低温加热至硫酸蒸气除尽后，在700—800℃炽灼使完全灰化，移置干燥器内，放冷，精密称定后，再在700—800℃炽灼至恒重，所得炽灼残渣不得超过0.1%。

6、铁盐：取本品2 g，加水20 ml溶解后，加硝酸3滴，缓缓煮沸5分钟，放冷，加水稀释使成45 ml，加硫氰酸铵溶液（25→100）3 ml。再加水至50 ml摇匀，如显色，与标准铁溶液

液 2 ml (10 μ g Fe/ml) 用同一方法制成的对照液比较, 不得更深 (0.001%)。

7、重金属: 取 5.0 ml 纳氏比色管两支, 一支加标准铅溶液 (10 μ g Pb/ml) 2 ml, 稀醋酸 2 ml, 加水至 2.5 ml, 另一管取本品 4 g, 加水 1.9 ml 溶解, 加稀醋酸 2 ml, 加水至 2.5 ml, 各管分别加硫化氢试液 1.0 ml, 摇匀, 在暗处放置 10 分钟, 同置白纸上, 自上面透视, 供试液显出的颜色与标准铅溶液比较不得更深 (重金属不得超过百万分之五)。

8、砷盐: 取本品 2 g, 置测砷瓶中, 加水 5 ml 溶解后, 加稀硫酸 5 ml 与溴化钾溴试液 0.5 ml, 置水浴上加热约 20 分钟, 使保持稍过量的溴存在, 必要时, 再补加溴化钾溴试液适量, 并随时补充蒸发的水分, 放冷, 加盐酸 5 ml 与水适量使成 2.5 ml, 加碘化钾试液 5 ml 及酸性氯化亚锡试液 5 滴, 在室温放置 10 分钟后, 加锌粒 1.5 g, 迅速将瓶塞塞紧 (瓶塞上已安放好装有醋酸铅棉及溴化汞试纸的检砷管), 保持反应温度在 25—40℃ (视反应快慢而定, 但不应超过 40℃) 1 小时后, 取出溴化汞试纸, 将生成的标准砷斑比较, 颜色不得更深 (含砷量不得超过百万分之一)。

标准砷斑的制备: 精密吸取标准砷溶液 2 ml, 置另一检砷瓶中, 按供试品同法操作即可。

三、注意事项:

1、比色或比浊操作, 一般均在纳氏比色管中进行, 在选用比色管中, 必须注意管的大小相等, 玻璃色质一致, 最好不带任何颜色, 管上的刻度高低一致, 如有差别, 不得相差 2 毫米。比色管

用后应立即冲洗，避免久置，不可用毛刷或去污粉等洗刷，以免划出条痕损伤比色管内壁而影响比色，应用清洁液洗后，用自来水、蒸馏水依次冲洗干净。

2、注意平行原则，供试液与对照液同时操作，加入试剂的程序应一致。

3、检查氯化物时，供试液与对照液同时操作，都先制成40 ml水溶液，然后同时各加硝酸银溶液1 ml，以免在浓度较大时加入硝酸银产生氯化银沉淀，影响比浊测定。

4、比浊方法，应将供试品管与对照管同置于黑色（或白色）背景上，自上而下地观察混浊度，较易判断，对比色液应将供试品管与对照管同置于白色背景上，从侧面进行观察。

5、铁盐检查时，光线和温度影响颜色的稳定性。光线促使硫氰酸铁还原或分解退色，退色的程度与光照时间的长短成正比，葡萄糖在检查过程中加硝酸处理，可减低退色现象，但必须加热煮沸除去氧化氮，否则与硫氰酸根作用生成生成红色亚硝酰硫氰化物（ NO CNS ）而影响比色测定。温度越高，退色越快，所以测定时应特别注意供试液与标准液实验条件一致，以免造成误差。

6、检查重金属时，如供试液在加硫化氢试液之前带有颜色，应在对照管中滴加少量稀焦糖液，使两管的颜色一致，然后加硫化氢试液，如加稀焦糖液仍不能使两管的颜色一致，则可改用有机破坏的方法，以除去颜色。

标准铅溶液应在临用前精密量取标准铅贮备液新鲜配制，以防止铅的水解而造成误差。重金属含量以Pb计算为 $20\mu\text{g}$ （相当于标准铅溶液2 ml）时，加硫化氢显色最好。

7、测砷时，锌粒的大小，以通过1—2号筛为宜，过细则作用太快，过粗则作用太慢，为此可采用锌粒与锌粉各一半方式加入较好。

测砷器的装置，见中国药典（1985年版）二部附录，预先在干燥的试砷管中装入约8cm长的醋酸铅棉花，安装位置不宜过低，以防测砷瓶中反应剧烈时，发生大量氢气将反应液带上来，使醋酸铅棉花沾湿而影响砷斑的检出，同时必预先将溴化汞试纸装好。

加锌粒后，应立即将测砷瓶瓶塞盖上，以免有砷化氢气体逸出，影响限度检查的准确性。

反应温度以25—40℃为宜，如在冬季可置温水浴中。药典规定，砷斑为2 μg As（2ml标准砷液），供试品中砷的限度各有不同，可按规定，改变取样量，来与标准砷斑比较。

所用仪器和试液等照本法检查，均不应生成砷斑，或至多生成仅可辨认的斑痕。

8、检查炽灼残渣时，取样数量应根据供试品的炽灼残渣限度来决定，如规定限度为0.1%，取样量在1g左右，如规定为0.05%，取样量以2g为宜，规定为1%或以上者，取样量可在1g以下，如遇贵重药物或供试品数量不足时，也可适应减少取样量。

炽灼时，以先滴加少量浓硫酸使样品部分湿润，然后小火缓缓炭化，稍冷，再补加数滴硫酸，继续小火炭化至硫酸蒸气完全除尽，这样操作炭化时间较短。

取出经高温灼烧的坩埚时，先将高温炉冷却至一定温度（如400—600℃），置于耐火材料制成的盘上，炽灼后的坩埚

宜置于真空干燥器冷却，不宜应用普通干燥器以免干燥器内空气冷却后，器内压力降低而打不开干燥器盖。

四、思考题

- 1、计算本品中氯化物、硫酸盐、重金属、砷盐的限量。
- 2、在进行氯化物、硫酸盐或重金属检查时，遇到有颜色的样品应如何处理？
- 3、药典规定重金属检查的供试品溶液，大部分都取一定量供试品加蒸馏水溶解后，加稀醋酸 2 ml，与适量蒸馏水使全量成 25 ml，试求出此溶液的 PH 值，为什么重金属检查要在此 PH 下进行。
- 4、古蔡氏法测砷中所加各试剂的作用与操作注意点为何？
- 5、恒重的意义是什么？
- 6、本次实验中所用的检准溶液是如何配制的？
- 7、一般杂质检查的意义？
- 8、一般杂质主要包括哪些项目？

实验二 药物中特殊杂质检查

一、目的要求

了解本实验中药物特殊杂质的来源，掌握特殊杂质的检查原理及其操作方法。

二、操作步骤

1、葡萄糖中亚硫酸盐与可溶性淀粉的检查：

取本品 1 g，加水 10 毫升溶解后，加碘试液 1 滴，应即显

黄色。

2、葡萄糖注射液中5-羟甲基糠醛的检查：

精密量取本品适量（约相当于葡萄糖1.0g），置100ml量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，在284nm的波长处测定，吸收度不得大于0.32。

3、乙酰水相酸中游离水相酸的检查：

取本品0.1g，加乙醇1ml溶解后，加冷水适量使成50ml，立即加新制的稀硫酸铁铵溶液1ml，摇匀，30秒钟内如显色，与对照液（精密称取水相酸0.1g，加水溶解后，加冰醋酸摇匀，再加水使成1000ml，摇匀，精密量取1ml，加乙醇1ml，水48ml与上述新配制的稀硫酸铁铵溶液1ml摇匀）比较，不得更深（0.1%）。

4、乙醇中甲醇的检查

取本品5ml，用水稀释至100ml，摇匀，分取1ml，加磷酸溶液（1→10）0.2ml与5%高锰酸钾溶液0.25ml，在30—35℃保温15分钟，滴加10%焦亚硫酸钠溶液至无色，缓缓加入在水浴中冷却的硫酸溶液（3→4）5ml，在加入时应保持混合物冷却，再加新制的1%变色酸溶液0.1ml，置水浴中加热20分钟后，如显色，与标准甲醇溶液（精密称取甲醇20mg，加水使成200ml）1ml，用同一方法制成的对照液比较，不得更深（0.20%）。

5、氢化可的松中其它留体的检查：

取本品加氯仿—甲醇（9：1）制成每1ml中含3mg的溶液，作为供试品溶液；精密量取适量，加氯仿—甲醇（9：1）稀

释成为1 ml中含60 μ g的溶液作为对照溶液，照中国药典1985年版（二部）附录26页试验，吸取上述两种溶液各5 μ l，分别点于同一硅胶G薄层板上，以二氯甲烷—乙醚—甲醇—水（385：60：30：2）为展开剂，展开后晾干，在105℃干燥10分钟，放冷，喷以碱性四氮唑蓝试液，立即检视。供试品溶液如显杂质斑点，不得多于3个，其颜色与对照溶液的主斑点比较，不得更深。

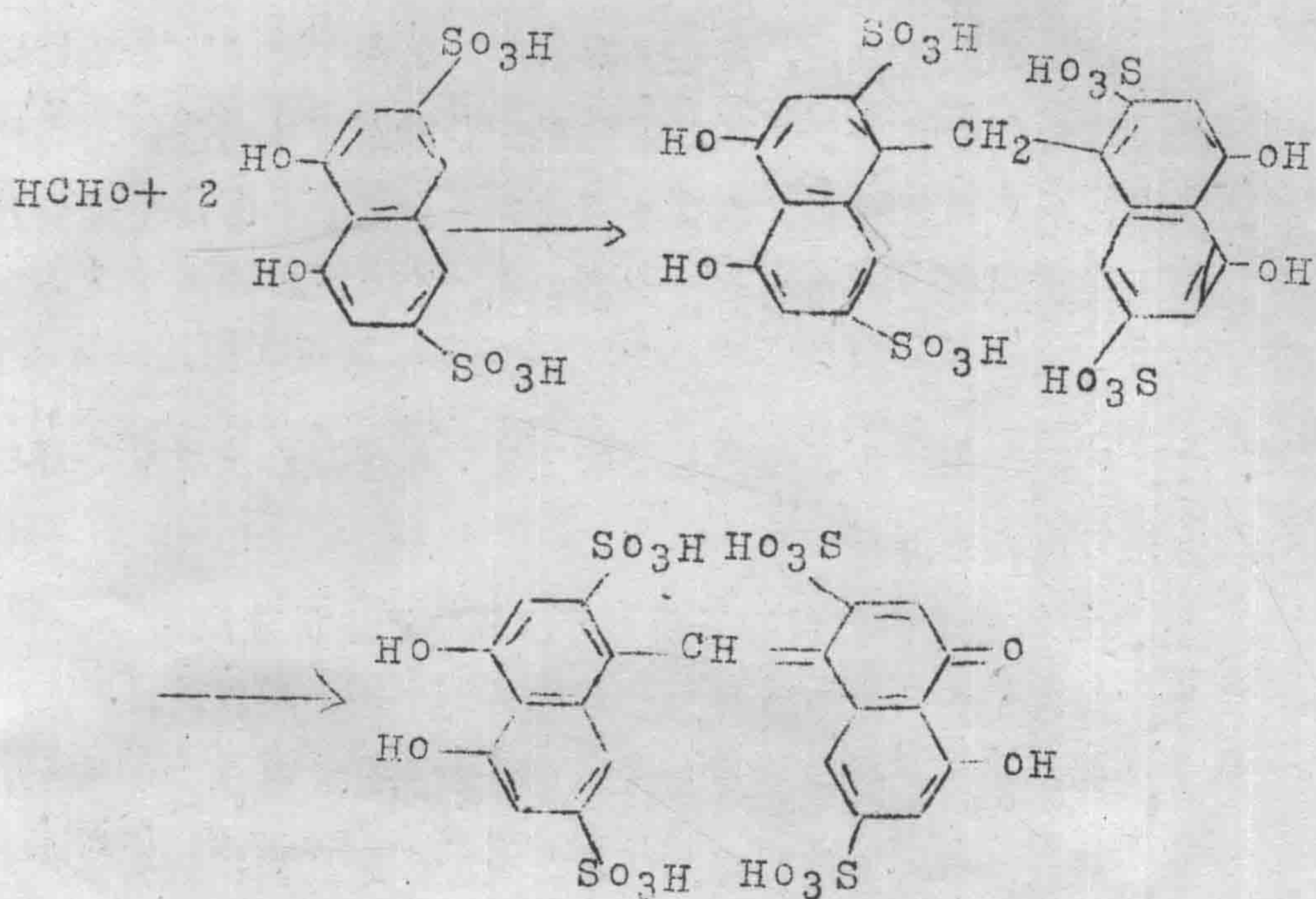
6、盐酸普鲁卡因注射液中对氨基苯甲酸的检查：

精密量取本品，加乙醇稀释使成每1 ml中含盐酸普鲁卡因2.5 mg的溶液，作为供试品溶液。另取对氨基苯甲酸对照品，加乙醇制成每1 ml含30 μ g的溶液，作为对照品溶液。照薄层层析法试验，吸取上述两种溶液各10 μ l，分别点于含有羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶H薄层板上，用苯—冰醋酸—丙酮—甲醇（14：1：1：4）为展开剂，展开后，取出晾干，用对二甲氨基苯甲醛溶液（2%对二甲氨基苯甲醛乙醇溶液100 ml，加入冰醋酸5 ml制成）喷雾显色。供试溶液如显与对照品相应的杂质斑点，与对照品溶液的主斑点比较，不得更深（1.2%）。

三、注意事项：

1、游离水相酸的检查，样品管应尽量干燥，不得带入过多水分，否则样品加醇后不易溶解。稀硫酸铁铵溶液的配制法为取1 mol/L盐酸，加硫酸铁铵指示液2 ml，再加水适量使成1000 ml。

2、乙醇中甲醇的检查所用变色酸溶液宜新鲜配制，其与甲醛的反应如下：



蓝紫色

3、薄层层析时，薄层板的制备可参照药典，将调制好的吸附剂均匀涂布于玻璃板上，置水平台上，在空气中晾干，在 110°C 活化 $0.5-1$ 小时，置干燥器中备用（可供一、二日内使用，层析效果良好）。薄层厚度一般应为 $0.2-0.3\text{ mm}$ ，可取硅胶 $2-2.5\text{ g}$ ，按 $1:3\text{ (W:V)}$ 比例加 0.5% 羧甲基纤维素钠上清液，研磨均匀，铺于一块 $5\text{ cm} \times 20\text{ cm}$ 的板上制备。

点样时，如点样溶液浓度不准，则检查结果不可靠，如供试品溶液及对照溶液的瓶塞不严密者或多次取用后溶剂挥发，浓度改变，则应重新配制点样液。

点样在距薄板底边 2.5 厘米处，展开时，展开剂浸入的深度约离薄层板底边 1 cm 。

4、碱性四氮唑试液，应在喷雾前临时配制（取0.2%四氮唑蓝的甲醇溶液1份加1.2%氢氧化钠的甲醇溶液3份混合均匀即得）。新鲜配制应呈黄色，颜色变深者不宜使用，1.2ml混合液能喷洒薄层板2块，使用时酌情配制避免浪费。

四、思考题：

1、乙酰水杨酸中，为什么要检查游离水杨酸？文献报导还有哪些方法可以检查游离水杨酸？

2、甾体激素中的何种基团可与四氮唑产生反应？

3、写出对氨基苯甲酸与对二甲氨基苯甲醛的反应式。

4、比较对氨基苯甲酸与盐酸普鲁卡因的 R_f 值。

5、药典规定检查氢化可的松中其它甾体时，以稀的样品溶液为对照，这种方法有何优缺点？

实验三 蒸馏水检查

一、目的要求：

掌握蒸馏水中各项杂质的检查原理与操作方法。

二、操作步骤：

1、酸碱度：取本品10ml，加甲基红指示液2滴，不得显红色；另取10ml，加溴麝香草酚蓝指示液5滴，不得显蓝色。

2、氯化物、硫酸盐与钙盐：取本品，分置三个试管中，每管各5.0ml。第一管中，加硝酸5滴与硝酸银试液1ml；第二管中，加氯化钡试液2ml；第三管中，加草酸铵试液2ml；均不得发生浑浊。