

高等医药院校教材

药物分析实验指导

陈伟 主编

7-33
2



厦门大学出版社
XIAMEN UNIVERSITY PRESS

国家一级出版社
全国百佳图书出版单位

药物分析实验指导

主 编 陈 伟

副主编 姚 宏

厦门大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

药物分析实验指导/陈伟主编. —厦门:厦门大学出版社,2013.12

ISBN 978-7-5615-4850-9

I. ①药… II. ①陈… III. ①药物分析-实验-医学院校-教学参考资料
IV. ①R917-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 308668 号

厦门大学出版社出版发行

(地址:厦门市软件园二期望海路 39 号 邮编:361008)

<http://www.xmupress.com>

xmup@xmupress.com

南平市武夷美彩印中心印刷

2013 年 12 月第 1 版 2013 年 12 月第 1 次印刷

开本:720×970 1/16 印张:9.5

字数:160 千字 印数:1~2 000 册

定价:23.00 元

本书如有印装质量问题请直接寄承印厂调换

前 言

“药物分析”是药学专业课程之一,是以实验为基础的一门学科。其任务是培养学生具备药品全面质量控制的观念,使学生能胜任药品研究、生产、供应和临床使用过程中的分析检验工作,并能研究探索解决药品质量问题的一般规律。药物分析实验是药物分析教学中必不可少的重要教学环节。

本书以卫生部“十二五”规划教材及《中国药典》2010版为基础,依据药学专业的业务培养目标、长期教学实践经验以及学生工作后的知识需求反馈而编写。教材在编写时充分考虑到各医药院校的实践教学条件、各院校和不同专业对药物分析实践教学的不同要求,对实验内容进行了精选和安排。

本书共分十九章,第一章为药物的鉴别与检查的基本知识和操作,第二章为药物的常用含量测定方法,第三章至第十四章为各类药物的分析,第十五至第十七章为药物、中药制剂及生物制品分析,第十八章为体内药物分析,第十九章为医院制剂的快速检测。全书共四十一个实验,每个实验后附有注意事项和思考题,便于学生预习,掌握关键操作及方法。在各论中出现的仪器分析方法,参照药典内容在实验后附有相应的通用分析方法介绍,便于学生查阅及进一步学习。

本书在编写时突出以下几点:

1. 对实验章节进行了精心编排。前两章为药品检验工作的主要步骤及内容,注重培养药品全面质量控制的观念及复习和强化药品容量滴定分析、高效液相色谱分析等药物分析的基本知识和技能;后面章节为药品检验分析验证性实验,着重训练药品质检技能及报告书写能力等。希望通过逐层次的实践训练,使学生在掌握和巩固药物分析理论知识的同时,具备扎实的药物分析实验技能及初步具备开展药物分析科学研究的相关能力。

2. 在各类药物的分析实验内容上,以《中国药典》2010版收载的质量标准内容为主要依据进行编写,使学生熟悉药典质量标准内容,为今后依据药典进行药品检验及开展药品质量标准研究工作奠定基础。

3. 生物制品在临床已有越来越广泛的应用,为扩大学生知识面及适应社会需求,同时考虑到各院校的可能条件,适当安排了生物制品分析的部分内容。

本书可作为医药院校药学及相关专业药物分析实验课的教材,也可作为药物分析实验课的参考书。

本书得到“福建医科大学高等教育教学改革工程”基金资助(J12005),由陈伟教授(第十一至十四章)、姚宏副教授(第十五至十九章)、郑艳洁博士(第一至五章)、翁少煌博士(第六至十章)共同编写。福建医科大学药物分析系林新华教授、黄丽英教授审阅了全书,提出了许多宝贵意见,在此一并表示感谢。

由于水平所限,书中难免有纰漏之处,敬请读者批评指正。

编者

2013年11月

目 录

第一章 药物的鉴别与检查	1
实验一 巴比妥类药物的鉴别及显微结晶反应.....	1
实验二 葡萄糖的分析.....	7
实验三 药物中特殊杂质的检查	13
第二章 药物的含量测定方法与验证	17
实验四 苯甲酸钠的分析	17
实验五 高效液相色谱测定氟罗沙星的含量	19
实验六 葡萄糖注射液的旋光法、折光法与快速分析法.....	22
第三章 芳酸类非甾体抗炎药物的分析	30
实验七 阿司匹林肠溶片的分析	30
实验八 对乙酰氨基酚片的分析	33
第四章 苯乙胺类拟肾上腺素药物的分析	36
实验九 盐酸多巴胺的分析	36
实验十 盐酸去氧肾上腺素的分析	38
第五章 对氨基苯甲酸酯和酰胺类局麻药物的分析	42
实验十一 盐酸利多卡因的分析	42
实验十二 注射用盐酸普鲁卡因的分析	45
第六章 二氢吡啶类钙通道阻滞药物的分析	48
实验十三 尼群地平软胶囊的分析	48
实验十四 硝苯地平的的分析	50

第七章 巴比妥及苯并二氮杂革类镇静催眠药物的分析	53
实验十五 差示分光光度法测定苯巴比妥片的含量	53
实验十六 氯氮革的分析	55
第八章 吩噻嗪类抗精神病药物的分析	59
实验十七 癸氟奋乃静的鉴别与含量测定	59
实验十八 盐酸氯丙嗪注射液的分析	61
第九章 喹啉与青蒿素类抗疟药物的分析	64
实验十九 硫酸奎宁的分析	64
实验二十 青蒿素的分析	67
第十章 莨菪烷类抗胆碱药物的分析	70
实验二十一 硫酸阿托品注射液的分析	70
实验二十二 氢溴酸东莨菪碱的质量分析	73
第十一章 维生素类药物的分析	76
实验二十三 维生素 A 软胶囊中维生素 A 的含量测定	76
实验二十四 维生素 B ₁ 片的分析	79
第十二章 甾体激素类药物的分析	83
实验二十五 醋酸氢化可的松片的分析	83
实验二十六 地塞米松磷酸钠的分析	86
第十三章 抗生素类药物的分析	100
实验二十七 头孢氨苄的分析	100
实验二十八 氯霉素滴眼液的高效液相色谱分析	107
第十四章 合成抗菌药物的分析	110
实验二十九 磺胺嘧啶的分析	110
实验三十 诺氟沙星乳膏的分析	112

第十五章 药物制剂分析	116
实验三十一 复方磺胺甲噁唑片中磺胺甲噁唑与甲氧苄啶的含量测定	116
实验三十二 异烟肼片的分析	118
实验三十三 肌苷片的分析	121
第十六章 中药及其制剂分析	123
实验三十四 薄层扫描法测定九分散中土的宁的含量	123
实验三十五 牛黄解毒片的分析	125
第十七章 生物制品分析	128
实验三十六 冻干人血白蛋白制剂的含量测定	128
实验三十七 注射用重组人干扰素 γ 的纯度分析	130
第十八章 体内药物分析	133
实验三十八 尿中维生素 B ₂ 浓度的测定	133
实验三十九 大鼠血浆中氯氮平浓度的测定	135
第十九章 医院制剂分析	138
实验四十 3% 硼酸溶液的快速检验	138
实验四十一 碘酊的快速分析	140

第一章 药物的鉴别与检查

实验一 巴比妥类药物的鉴别及显微结晶反应

一、实验目的

1. 掌握丙二酰脲类药物鉴别试验的原理及操作方法；
2. 掌握巴比妥类药物中特殊元素及取代基的化学鉴别；
3. 掌握巴比妥类药物微晶反应的原理及方法。

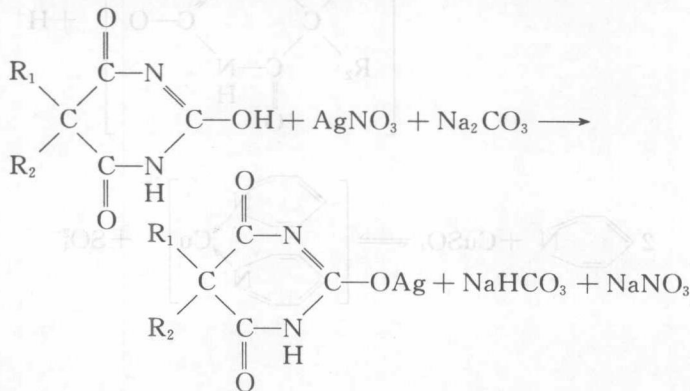
二、实验原理

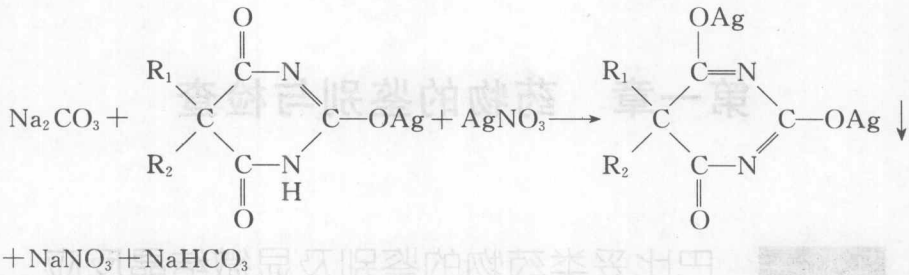
(一) 丙二酰脲反应

巴比妥类药物的分子结构中含有丙二酰脲或酰亚胺基团，在合适的 pH 溶液中，可与某些金属离子（如银盐、铜盐、钴盐、汞盐等）生成有色或不溶性有色物质。这种性质虽专属性不强（含有酰亚胺基结构的其他类药物如磺胺类药物也有此反应），但仍常用于本类药物的鉴别和含量测定。

1. 与银盐的反应

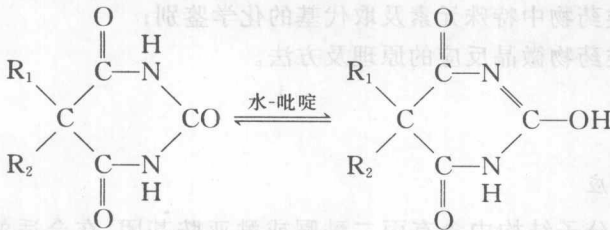
巴比妥类药物的基本结构中含有酰亚胺基团，可在碱性溶液中与银盐反应，生成可溶性白色银盐；若继续加入银盐溶液，则生成二银盐白色沉淀。



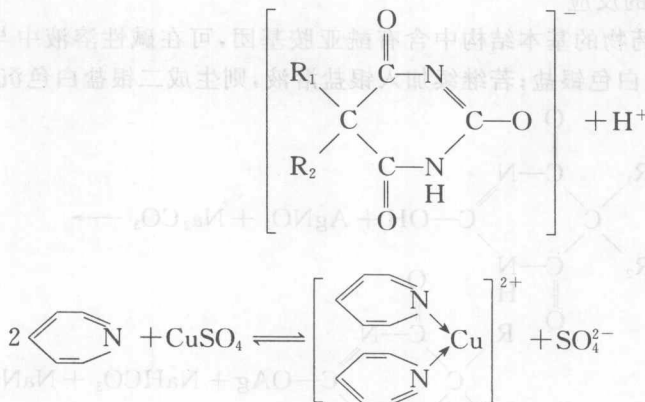


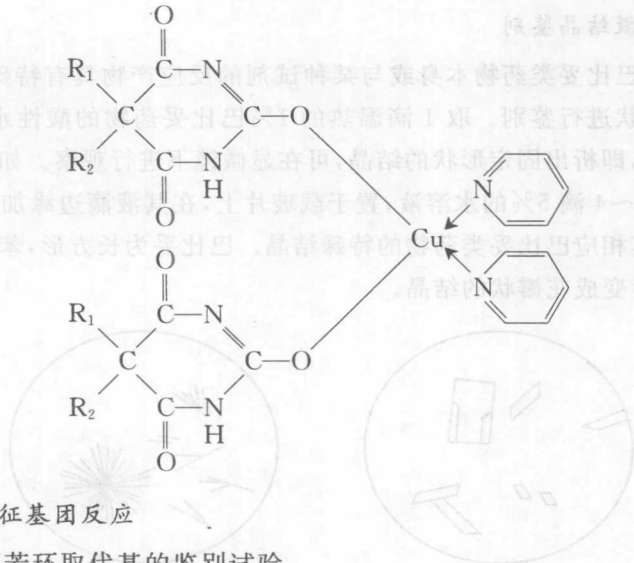
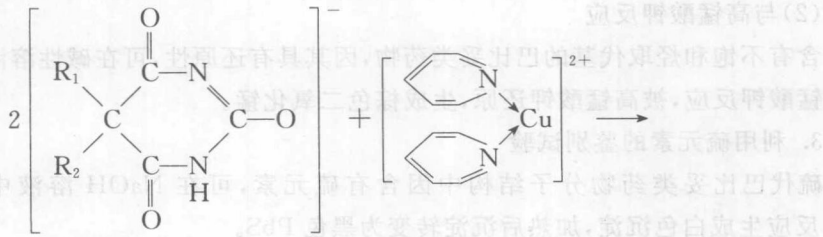
2. 与铜盐的反应

本类药物于吡啶溶液中可与铜盐反应，生成紫堇色配合物或难溶性紫色物质，含硫比妥类药物显绿色。因此可用这一反应区别或鉴别巴比妥类药物和硫代巴比妥药物，铜盐一般用硫酸铜。



部分离子化





(二)特征基团反应

1. 利用芳环取代基的鉴别试验

(1)硝化反应

含芳环取代基的巴比妥类药物(如苯巴比妥)与硝酸钾—硫酸共热,可发生硝化反应,生成黄色的硝基化合物。

(2)与硫酸—亚硝酸钠的反应

苯巴比妥含有苯环取代基,可与之反应,生成橙黄色产物,并随即变为橙红色。本法对巴比妥不显色,因此,可利用本鉴别试验区别苯巴比妥和其他不含芳环取代基的巴比妥类药物。

2. 含不饱和烃取代基反应

司可巴比妥(烯丙基的反应)可用下法进行鉴别。

(1)与碘或溴试液的反应

司可巴比妥钠结构中含有丙烯取代基,可与碘试液发生加成反应,使碘试液棕色消失;同理,司可巴比妥可使溴试液褪色。

(2)与高锰酸钾反应

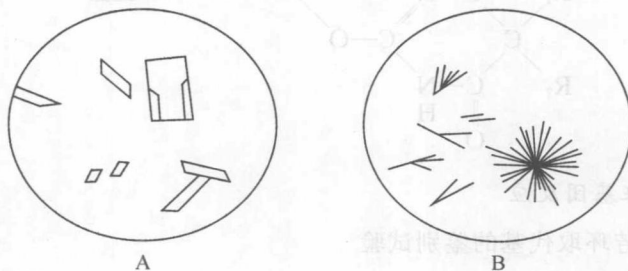
含有不饱和烃取代基的巴比妥类药物,因其具有还原性,可在碱性溶液中与高锰酸钾反应,被高锰酸钾还原,生成棕色二氧化锰。

3. 利用硫元素的鉴别试验

硫代巴比妥类药物分子结构中因含有硫元素,可在 NaOH 溶液中与 Pb^{2+} 反应生成白色沉淀,加热后沉淀转变为黑色 PbS 。

(三)显微结晶鉴别

大部分巴比妥类药物本身或与某种试剂的反应产物具有特殊的晶型,因此可根据形状进行鉴别。取 1 滴温热的 1% 巴比妥药物的酸性水溶液,放置在载玻片上,即析出固定形状的结晶,可在显微镜下进行观察。如供试药物为钠盐,可取 3~4 滴 5% 的水溶液,置于载玻片上,在其液滴边缘加上 1 滴稀硫酸,即生成其相应巴比妥类药物的特殊结晶。巴比妥为长方形,苯巴比妥开始时为球形,后变成花瓣状的结晶。



A. 巴比妥结晶 B. 苯巴比妥结晶

三、仪器与试药

苯巴比妥原料药,司可巴比妥钠原料药,注射用硫喷妥钠,硫酸,10% 氢氧化钠溶液等。

亚硝酸钠试液:取亚硝酸钠 1 g,加水使溶解成 100 mL。

甲醛试液:可取用“甲醛溶液”。

碳酸钠试液:取一水合碳酸钠 12.5 g 或无水碳酸钠 10.5 g,加水使溶解成 100 mL。

硝酸银试液:可取用硝酸银滴定液 (0.1 mol/L),即取硝酸银 1.75 g,加水溶解并稀释至 100 mL。

铜吡啶试液:取硫酸铜 4 g,加水 90 mL 溶解后,加吡啶 30 mL。本液应临用新制。

稀硫酸:取硫酸 57 mL,加水稀释至 1000 mL,本液含 H_2SO_4 应为 9.5%~10.5%。

稀醋酸:取冰醋酸 60 mL,加水稀释至 1000 mL。

碘试液:可取用碘滴定液(0.05 mol/L),即取碘 13.0 g,加碘化钾 36 g 与水 50 mL 溶解后,加盐酸 3 滴与水适量使成 1000 mL,摇匀,用垂熔玻璃滤器滤过。

稀盐酸:取盐酸 234 mL,加水稀释至 1000 mL,本液含 HCl 应为 9.5%~10.5%。

氢氧化钠试液:取氢氧化钠 4.3 g,加水使溶解成 100 mL。

醋酸铅试液:取醋酸铅 10 g,加新沸过的冷水溶解后,滴加醋酸使溶液澄清,再加新沸过的冷水使成 100 mL。

电子天平,载玻片,显微镜,水浴锅等。

四、实验内容

(一) 苯巴比妥的鉴别及微晶反应

1. 鉴别

(1)取本品约 10 mg,加硫酸 2 滴与亚硝酸钠约 5 mg,混合,即显橙黄色,随即转变为橙红色。

(2)取本品约 50 mg,置试管中,加甲醛试液 1 mL,加热煮沸,冷却,沿管壁缓缓加硫酸 0.5 mL,使成两液层,置水浴中加热,接界面显玫瑰红色。

(3)取供试品约 0.1 g,加碳酸钠试液 1 mL 与水 10 mL,振摇 2 min,滤过(如不浑浊可不必滤过)。滤液中逐滴加入硝酸银试液,即生成白色沉淀,振摇沉淀即溶解,继续滴加过量的硝酸银试液,沉淀不再溶解。

(4)取供试品约 50 mg,加吡啶溶液(1→10)5 mL,溶解后,加铜吡啶试液 1 mL,即显紫色或生成紫色沉淀。

2. 微晶反应

取 3%~5%的苯巴比妥钠的水溶液 1 滴,滴于载玻片上,在其边缘上加 1 滴稀硫酸,立即用显微镜观察。苯巴比妥在开始结晶时呈现球状,后变成花瓣状的结晶。

(二) 司可巴比妥钠的鉴别

1. 取本品 1 g,加水 100 mL 溶解后,加稀醋酸 5 mL,强力搅拌,再加水

200 mL,加热煮沸使溶解成澄清溶液(液面无油状物),放冷,静置。待析出结晶,滤过,结晶在 70 °C 干燥后,依法测定,熔点约为 97 °C。

2. 取本品 0.1 g,加水 10 mL 溶解后,加碘试液 2 mL,所显棕黄色在 5 min 内消失。

3. 取供试品约 0.1 g,加碳酸钠试液 1 mL 与水 10 mL,振摇 2 min,滤过(如不浑浊可不必滤过)。滤液中逐滴加入硝酸银试液,即生成白色沉淀,振摇沉淀即溶解,继续滴加过量的硝酸银试液,沉淀不再溶解。

4. 取供试品约 50 mg,加吡啶溶液(1→10)5 mL,溶解后,加铜吡啶试液 1 mL,即显紫色或生成紫色沉淀。

(三)注射用硫喷妥钠的鉴别

1. 取本品约 0.5 g,加水 10 mL 溶解后,加过量的稀盐酸,即生成白色沉淀;滤过,沉淀用水洗净,在 105 °C 干燥后,依法测定,熔点为 157~161 °C。

2. 取本品约 0.1 g,加吡啶溶液(1→10)10 mL 溶解后,加铜吡啶试液 1 mL,振摇,放置 1 min,即生成绿色沉淀。

3. 取本品约 0.2 g,加氢氧化钠试液 5 mL 与醋酸铅试液 2 mL,生成白色沉淀;加热后,沉淀变为黑色。

4. 取本品,炽灼后,显钠盐的焰色反应。

五、注意事项

1. 巴比妥的银盐反应需注意碳酸钠的加入量,过多的碱与硝酸银生成沉淀,本试验以溶液中有少量未溶的巴比妥来控制碳酸钠的量。

2. 银盐反应中硝酸银试液应逐滴加入,仔细观察沉淀形成、溶解、再沉淀的过程。

3. 铜吡啶试液有恶臭,注意取用后立即盖紧试剂瓶塞。

4. 微晶反应注意事项:

(1)显微镜镜头和载玻片在使用前用绸布擦净。

(2)观察显微结晶时,显微镜应置于光线充足的地方。

(3)做显微结晶时,不可用玻棒去搅拌液滴,而应用手轻轻摆动载玻片使样品液滴和稀硫酸液滴自然汇合,待放置 1~2 min 后出现自然生长的结晶时,再用显微镜观察。

六、思考题

1. 简述上述药物鉴别反应的原理及操作注意事项。
2. 银盐鉴别反应时,为什么不应加过多的 Na_2CO_3 试液?
3. 如何用化学方法鉴别巴比妥、苯巴比妥、司可巴比妥、异戊巴比妥和含硫巴比妥?

实验二 葡萄糖的分析

一、实验目的

1. 掌握葡萄糖中一般杂质检查的项目和限量计算方法;
2. 掌握葡萄糖中氯化物、硫酸盐、铁盐、重金属、砷盐、炽灼残渣限量检查的基本原理和方法;
3. 了解药物中一般杂质检查的目的和意义。

二、实验原理

(一) 鉴别试验

葡萄糖分子中的醛基有还原性,可还原碱性酒石酸铜中的铜离子,生成氧化亚铜沉淀。无水葡萄糖、葡萄糖注射液、葡萄糖氯化钠注射液均用此法鉴别。

(二) 检查

1. 氯化物检查法

氯化物在硝酸溶液中与硝酸银作用,生成氯化银微粒而显白色浑浊,与一定量的标准氯化钠溶液和硝酸银在同样条件下用同法处理生成的氯化银浑浊程度相比较,判断供试品中氯化物的限量。

2. 硫酸盐检查法

药物中微量硫酸盐与氯化钡在酸性溶液中作用,生成硫酸钡微粒而显白色浑浊,同一定量标准硫酸钾溶液与氯化钡在同样条件下用同法处理生成的浑浊比较,判断药物中硫酸盐的限量。

3. 铁盐检查法

三价铁盐在硝酸酸性溶液中与硫氰酸盐生成红色可溶性的硫氰酸铁络离子,与一定量标准铁溶液用同法处理后进行比色。加硝酸处理,可将 Fe^{2+} 氧化成 Fe^{3+} ,剩余的硝酸可煮沸除去。

4. 重金属检查法

重金属是指在弱酸性($\text{pH } 3\sim 3.5$)溶液中,能与硫代乙酰胺或硫化钠作用生成硫化物的金属杂质。在药品生产中遇到铅的机会比较多,铅又易积蓄中毒,故检查时以铅为代表。同上法,硫代乙酰胺分别和样品、标准品生成硫化物的浑浊液,再比较判断样品中的重金属限量。

5. 砷盐检查法

中国药典主要用古蔡法检查砷盐。其原理是:五价砷在酸性溶液中能被金属锌还原为砷化氢,但生成砷化氢的速度较三价砷慢,故在反应液中加入碘化钾及酸性氯化亚锡将五价砷还原为三价砷。

6. 炽灼残渣检查法

有机药物经炽灼炭化,再加硫酸湿润,低温加热至硫酸蒸气除尽,于高温($700\sim 800\text{ }^\circ\text{C}$)炽灼至完全灰化,使有机物破坏分解变为挥发性物质逸出,残留的非挥发性无机杂质(多为金属的氧化物或无机盐类)成为硫酸盐,称为炽灼残渣。如炽灼残渣需留做重金属检查,应控制炽灼温度在 $500\sim 600\text{ }^\circ\text{C}$,否则,将使重金属检查结果偏低。

本品除了检查上述一般杂质外,还需检查溶液酸度(控制 pH 值)、溶液的澄清度与颜色(目的是检查水不溶性或有色杂质)、乙醇溶液的澄清度(目的是检查醇不溶性杂质,如糊精、蛋白质等)、亚硫酸盐与可溶性淀粉(制备时使用的酸可能带有亚硫酸盐,而可溶性淀粉为引入的中间体)等。

三、仪器与试剂

葡萄糖,锌粒,乙醇,硝酸,盐酸,磺基水杨酸溶液(1 \rightarrow 5),硫氰酸铵溶液,稀焦糖溶液等。

碱性酒石酸铜试液:(1)取硫酸铜结晶 6.93 g,加水使溶解成 100 mL。(2)取酒石酸钾钠结晶 34.6 g 与氢氧化钠 10 g,加水使溶解成 100 mL。用时将两液等量混合。

酚酞指示液:取酚酞 1 g,加乙醇 100 mL 使溶解。

比色用氯化钴液:取氯化钴约 32.5 g,加适量的盐酸溶液(1 \rightarrow 40)使溶解

成 500 mL。精密量取 2 mL, 置锥形瓶中, 加水 200 mL, 摇匀, 加氨试液至溶液由浅红色转变至绿色后, 加醋酸-醋酸钠缓冲液 (pH 6.0) 10 mL, 加热至 60 °C, 再加二甲酚橙指示液 5 滴, 用乙二胺四醋酸二钠滴定液 (0.05 mol/L) 滴定至溶液显黄色。每 1 mL 乙二胺四醋酸二钠滴定液 (0.05 mol/L) 相当于 11.90 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 。根据上述测定结果, 在剩余的原溶液中加入适量的盐酸溶液 (1→40), 使每 1 mL 溶液中含 59.5 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 。

比色用重铬酸钾液: 精密称取在 120 °C 干燥至恒重的基准重铬酸钾 0.4000 g, 置 500 mL 量瓶中, 加适量水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。每 1 mL 溶液中含 0.800 mg $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 。

比色用硫酸铜液: 取硫酸铜约 32.5 g, 加适量的盐酸溶液 (1→40) 使溶解成 500 mL, 精密量取 10 mL, 置碘量瓶中, 加水 50 mL、醋酸 4 mL 与碘化钾 2 g, 用硫代硫酸钠滴定液 (0.1 mol/L) 滴定, 至近终点时, 加淀粉指示液 2 mL, 继续滴定至蓝色消失。每 1 mL 硫代硫酸钠滴定液 (0.1 mol/L) 相当于 24.97 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 。根据上述测定结果, 在剩余的原溶液中加入适量的盐酸溶液 (1→40), 使每 1 mL 溶液中含 62.4 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 。

硝酸银试液: 可取用硝酸银滴定液 (0.1 mol/L), 即取硝酸银 17.5 g, 加水适量使成 1000 mL, 摇匀。

碘试液: 可取用碘滴定液 (0.05 mol/L), 即取碘 13.0 g, 加碘化钾 36 g 与水 50 mL 溶解后, 加盐酸 3 滴与水适量使成 1000 mL, 摇匀, 用垂熔玻璃滤器滤过。

醋酸盐缓冲液 (pH 3.5): 取醋酸铵 25 g, 加水 25 mL 溶解后, 加 7 mol/L 盐酸溶液 38 mL, 用 2 mol/L 盐酸溶液或 5 mol/L 氨溶液准确调节 pH 值至 3.5 (电位法指示), 用水稀释至 100 mL。

硫代乙酰胺试液: 取硫代乙酰胺 4 g, 加水使溶解成 100 mL, 置冰箱中保存。临用前取混合液 (由 1 mol/L 氢氧化钠溶液 15 mL、水 5.0 mL 及甘油 20 mL 组成) 5.0 mL, 加上上述硫代乙酰胺溶液 1.0 mL, 置水浴上加热 20 秒钟, 冷却, 立即使用。

碘化钾试液: 取碘化钾 16.5 g, 加水使溶解成 100 mL, 本液应临用新制。

酸性氯化亚锡试液: 取氯化亚锡 20 g, 加盐酸使溶解成 50 mL, 滤过。本液配成后 3 个月即不适用。

乙醇制溴化汞试液: 取溴化汞 2.5 g, 加乙醇 50 mL, 微热使溶解。本液应置玻璃塞瓶内, 在暗处保存。