第一部分　药物分析实验

需要全本请访问 www.ertongbook.com

第一章　绪　论

一、药物分析实验课的目的意义

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，是根据药物理化性质及其结构，研究药物及其各种制剂的组成、真伪鉴别、纯度检查、有效成分含量测定的一门综合性应用学科。药品是用于诊断、预防、治疗疾病，增强体质的一种特殊商品，药品质量的好坏直接关系到用药的安全、有效，关系到人民的健康与生命安全。为了确保用药的安全、合理、有效，必须从药品的研制、生产、供应和临床使用等过程全面控制药品质量，药物分析在药品的质量控制中担负着重要任务。通过对药物成品的检验，判断药品是否符合药品质量标准的要求，只有符合药品质量标准的药品才能销售和供临床使用。同时在药品的生产过程中需进行中间体、半成品的质量控制，在贮存过程中需对药物的稳定性进行考察。随着药学事业的发展，药物分析学科还需配合临床医疗需要，进行治疗药物浓度监测和体内内源性物质的测定；配合临床药理学、遗传药理学进行药物动力学、代谢分型等研究；配合药剂学的剂型研究进行生物利用度以及相应的新剂型的质量标准的研究与制定；配合药物化学的化学合成和生产工艺流程的优化等进行质量监控；而天然药物或中药的活性成分的化学结构确定、中成药质量的综合评价、生化药物和基因工程药物的质量分析均需要现代化的分离分析技术，新药研究过程中的各个阶段更离不开药物分析这双‘眼睛”。因此，可以说‘哪里有药物，哪里就有药物分析”。

同时，药物分析又是一门实践性很强的方法学科，从事药物分析的专业人员不仅要掌握药物分析的基本理论、基本知识，还要有扎实的操作技能和实事求是的科学态度，才能精确地分析研究药物的质量，并对被分析的药物作出合理、公正和客观的评价。所以，药物分析实验课是药物分析课程教学中不可缺少的组成部分，是整个教学过程中的一个重要环节。通过药物分析实验课教学，旨在培养学生熟练的分析操作技能，理论联系实际的学风，严谨、科学的工作作风和对事业的高度责任心。通过基本操作训练，获得较强的从事药品质量控制工作的能力，正确掌握药物常用法定方法及规范化操作技术，通过设计性实验的训练，模拟科学研究的整个过程，培养学生独立思考和独立工作的能力，以及运用药物分析理论及有关基础与专业知识去解决实际问题的能力，为今后从事药品检验、新药研究和开展临床药物分析工作打下基础。

二、药物分析的“三基”

药物分析课程是在学习了无机化学、有机化学、分析化学、药物化学、天然药物化学、药剂学以及其他有关课程的基础上进行教学的一门综合性的应用学科。通过本课程的学习，使学生树立起比较完整的药品质量观念，掌握常用的鉴别、杂质检查和含量测定的基本原理与方法，能够理解药物的化学结构、理化特性、存在状况与分析方法选择之间的关系，并能综合运用所

学知识，解决药品质量问题和制定药品质量标准，具备初步的科学研究能力，了解体内药物分析、生化药物分析和中药制剂分析的特点。要完成本门课程的学习，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的相互关系，理化特性、存在状态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，一般鉴别试验、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，具备了这些基本知识后,就有‘举一反三”‘触类旁通”之效。

3.基本操作熟练地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术，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、色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与解释。

以上三者是相辅相成的，光有理论知识而不会实际操作，只能是“纸上谈兵”；而只会按照本本操作，不懂理论知识，就会在出现异常情况时束手无策。因此，要完成药物分析这门课程的学习，应该将理论课程的学习与实验操作课的实践并重。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，如熟悉药品检验中常用专业术语、药典的正确使用与规范化操作，以及如何根据药物结构、实验室条件等选择合理、可行的分离、分析方法等。

在学习过程中应围绕药物的质量评价问题，即药物的鉴别、检查和含量测定来学习，而药物的鉴别、检查和含量测定则是根据药物的结构、理化性质，选用合适的技术与分析方法来进行的，所以要掌握药物分析课程的内容，必须抓住“药物的结构、理化特性与分析方法的关系”这一主线，将各类药物的结构特征、鉴别试验、杂质检查、含量测定方法的原理、条件、结果与计算作为学习的重点。并重视实验技能的训练，打好基础，加强理论与实际的联系，课前做好预习，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。

三、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。如果因操作技术问题，将合格产品检验成“不合格”品，势必给生产厂家造成不必要的损失；若将不合格产品检验成“合格”产品，则会使劣质药品进人流通领域，危害人民的健康。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

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。每次实验课应有准备地接受指导教师的提问。

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用钢笔记录于记录本上，决不允许记于小纸条上或实验讲义上甚至手掌上。原始记录是实验报告的组成部分，尊重实验原始记录是必要的科学作风，绝不允许将记录本内任何数据擅自涂改，如系笔误，仅能以钢笔将写错处划去（但要求能看清原来数据），再重写一次。

实验完毕，应写出实验报告，并根据检验结果作出明确的结论。

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，两次测定结果应相符，容量分析间差不大于 0.4%（间差 $=\frac{\text{含量高的值}-\text{含量低的值}}{\text{平均值}}\times 100\%$）。绝不允许伪造或估计一个数据，两次结果不能做依据时，应重新测定一次。

5.实验课不得随便旷课，或相互调课，实验期间不得擅自离开实验室，有急事须经指导老师同意后方可离开。实验报告必须按规定时间上交教师批改。

6.实验时应避免试剂污染、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，应以负责的态度及时处理。

7.爱护公物，移物归位，节约水电，公用药品试剂或仪器用后应及时归位，仪器用后应洗净，破损仪器要及时登记。

8.实验期间确保安全，经常注意防火、防爆。

9.实验完毕做好各自实验台的清洁工作，值日生应做好实验室的卫生清洁工作和检查水、电、门、窗等安全事宜。

10.实验记录与报告格式可参考以下两个例子。

[例 1] 实验一、葡萄糖分析　　年　　月　　日

原始记录

一、鉴别

本品 0.2g＋水 5mL→溶解，缓缓滴加到温热的碱性酒石酸铜 TS 中→砖红色↓

二、检查

1.酸度 取本品 2.0g＋水 20mL→溶解后＋酚酞 3 滴＋0.20mL NaOH 滴定液（0.02mol/L）→显粉红色

2.氯化物检查：

甲管：本品 0.6g $\xrightarrow{\text{水}}$ 25mL，溶解＋稀 HNO_3 10mL
乙管：标准 NaCl 溶液 6.0mL＋稀 HNO_3 10mL
$\xrightarrow{\text{分别加水}}$ 40mL（置 50mL 纳氏比色管中）

＋$AgNO_3$ 试液 1.0mL $\xrightarrow{\text{水}}$ 50mL，摇匀，暗处放置 5min，同置黑色背景上，从比色管上方向下观察、比较，甲管浑浊度浅于乙管。

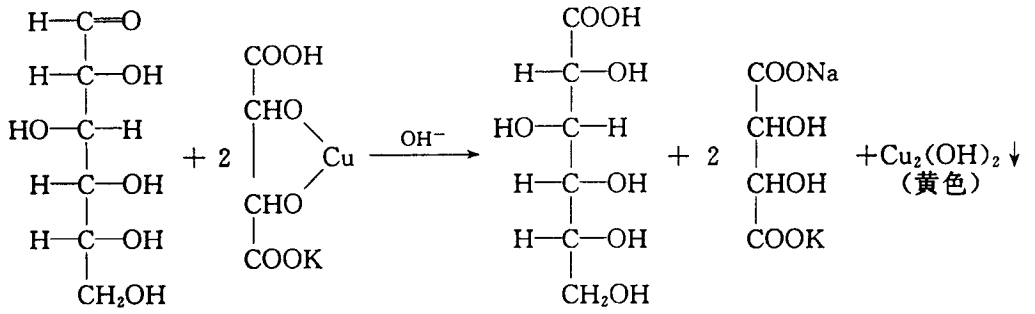
需要全本请访问 www.ertongbook.com

实验报告　　年　月　日

检品名称：　　批号：　　规格：

一、鉴别

原理：



$$Cu_2(OH)_2 \xrightarrow[\triangle]{} Cu_2O\downarrow + H_2O$$
（红色）

实验现象：砖红色沉淀。

结论：呈阳性反应，符合规定。

二、检查

1. 酸度

原理：检品中酸性杂质被碱中和，过量的碱使酚欲显粉红色。

实验现象：显粉红色。

结论：符合规定。

2. 氯化物检查

原理：$Cl^- + Ag^+ \xrightarrow{HNO_3} AgCl\downarrow$（白色）

实验现家：样品管浑浊度浅于标准管。

结论：符合规定（＜0.01%）。

讨论：对实验中出现的问题、解决的办法，注意率项，实验成败关健等进行讨论。

[例 2]　　年　月　日

原始记录

20 片重＋瓶	14.2345	片粉	① 14.0378	② 13.8046
瓶	11.9122		13.8046	13.5698
	2.3223g		0.2332g	0.2348g

方法：取 20 片，称重，研细，称取片粉适量，里 100mL 童瓶中＋水→振摇 $\xrightarrow{水}$ 至刻度，摇匀，用干燥滤纸滤过→取续滤液 25.00mL＋水 50mL＋盐酸 20mL＋ 甲基橙指示荆 1 滴→用

滴定体积 ① 14.90 − 0.00 = 14.90mL　② 15.06 − 0.00 = 15.06mL

计算：① $\frac{14.90\times3.429\times0.995}{0.2332\times1000\times25/100}\times\frac{2.3223/20}{0.1}\times100\%=101.3\%$

② $\frac{15.06\times3.429\times0.995}{0.2348\times1000\times25/100}\times\frac{2.3223/20}{0.1}\times100\%=101.6\%$

平均% $\frac{101.6+101.3}{2}=101.4(\%)$

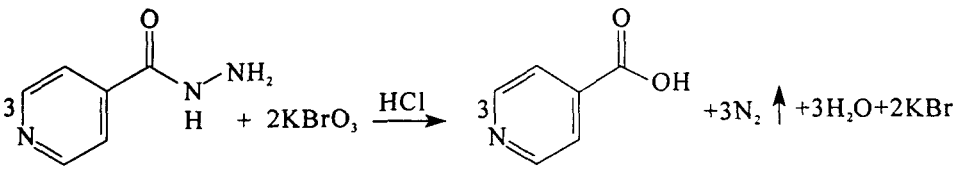
间差 $\frac{101.6-101.3}{101.4}\times100\%=0.3\%$

实验报告

年　月　日

检品名称：　　批号：　　规格：

原理：



结果：测得本品含量为标示量的 101.4%，间差＜0.4%。

结论：符合规定(95.0%～105.0%)。

讨论：对实验中出现的问题、解决的办法，注意事项，实验成败关键等进行讨论。

四、药物分析的专业术语与规定*

1. 药典收载的原料药及制剂，均应按规定的方法进行检验；如采用其他方法，应将该方法与规定的方法做比较试验，根据试验结果掌握使用，但在仲裁时仍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（装）量差异，系包括上限和下限两个数值本身及中间数值。规定的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位。

试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数值比较，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，以国际标准品进行标定；对照品除另有规定外，均按干燥品（或无水物）进行计算后使用。

4. 试验时的温度，未注明者，系指在室温下进行；温度高低对试验结果有显著影响者，除另有规定外，应以 (25± 2)℃为准。

* 摘自 2000 年版中国药典凡例

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

6. 酸碱性试验时，如未指明用何种指示剂，均系指石蕊试纸。

7. 乙醇未指明浓度时，均系指 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)，1mol/L 盐酸溶液。

(2) 温度以摄氏度（℃）表示，见表 1-1。

表 1-1 温度术语

术语	温度(℃)
水浴	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；但溶夜的百分比，系指溶液 100mL 中含有溶质若干克；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，系在 20℃时，以 1.0mL 水为 20 滴进行换算。

(5)溶液后记示的“(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，均系指水溶液；两种或两种以上液体的混合物，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)比例。

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) 外观性状是对药品的色泽和外表感观的规定。遇有对药品的晶型、细度或溶液的颜色需作严格控制时，应在检查项下另作具体规定。

(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。

试验法：称取研成细粉的供试品或量取液体供试品，置于（25±2)℃一定容量的溶剂中，每隔 5min 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)物理常数包括相对密度、馏程、熔点、凝点、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具有鉴别意义，也反映药品的纯度，是评价药品质量的主要指标之一。

表 1-2　药品溶解度表示方法

溶解度表示方法	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

11.药典鉴别项下规定的试验方法，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.药典检查项下包括有效性、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)原料药和制剂在生产过程中，如使用有害的有机溶剂，应按药典有机溶剂残留量测定法检查，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炽灼后的重量差异在 0.3mg 以下的重量；干燥至恒重的第二次及以后各次称重均应在规定条件下继续干燥 1h 后进行；炽灼至恒重的第二次称重应在继续炽灼 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测定时可能达到的数值，它为药典规定的限度或允许偏差，并非真实含有量；如未规定上限时，系指不超过 101.0%。

(2) 制剂的含量限度范围，系根据主药含量的多少、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 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）内含量能符合规定。

(3)试验中供试品与试药等“称重”或“量取”的量，均以阿拉伯数码表示，其精确度可根据数值的有效数位来确定，如称取“0.1g”，系指称取重量可为 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至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位选用量具。取用量为“约”若干

时，系指取用量不得超过规定量的±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）的供试品进行试验，并将计算中的取用量按检查项下测得的干燥失重(或水分,或溶剂)扣除。

(5)试验中的“空白试验”，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试验校正”，系指按供试品所耗滴定液的体积(mL）与空白试验中所耗滴定液体积（mL）之差进行计算。

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；

熔封或严封系指将容器熔封或用适宜的材料严封，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℃。

五、常用标准溶液的配制与标定

1.盐酸滴定液(1mol/L,0.5mol/L,0.2mol/L 或 0.1mol/L)　　HCl = 36.46

[配制] 盐酸滴定液(1mol/L) 取盐酸 90mL，加水适量使成 1000mL，摇匀。盐酸滴定液(0.5mol/L,0.2mol/L 或 0.1mol/L) 照上法配制，但盐酸的取用量分别为 45mL、18mL 或 9.0mL。

[标定] 盐酸滴定液(1mol/L) 取在 270～300 ℃干燥至恒重的基准无水碳酸钠约 1.5g，精密称定，加水 50mL 使溶解，加甲基红-溴甲酚绿混合指示液 10 滴，用本液滴定至溶液由绿色转变为紫红色时，煮沸 2min，冷却至室温，继续滴定至溶液由绿色变为暗紫色。每 1mL 盐酸滴定液(1mol/L)相当于 53.00mg 的无水碳酸钠。根据本液的消耗量与无水碳酸钠的取用量，算出本液的浓度，即得。

盐酸滴定液(0.5mol/L) 照上法标定，但基准无水碳酸钠的取用量改为约 0.8g。每 1mL 盐酸滴定液(0.5mol/L)相当于 26.50mg 的无水碳酸钠。

盐酸滴定液(0.2mol/L) 照上法标定，但在准无水碳酸钠的取用量改为约 0.3g。每 1mL 盐酸滴定液(0.2mol/L)相当于 10.60mg 的无水碳酸钠。

盐酸滴定液(0.1mol/L) 照上法标定，但基准无水碳酸钠的取用量改为约 0.15g。每 1mL盐酸滴定液(0.1mol/L)相当于 5.30mg 的无水碳酸钠。

如需用盐酸滴定液（0.05mol/L,0.02mol/L 或 0.01mol/L）时，可取盐酸滴定液(1mol/L 或 0.1mol/L ）加水稀释制成。必要时标定浓度。

2.硫酸滴定液(0.5mol/L,0.25mol/L,0.1mol/L 或 0.05mol/L)　　H_2SO_4 = 98.08

[配制] 硫酸滴定液(0.5mol/L) 取硫酸 30mL，缓缓注入适量水中，冷却至室温，加水

稀释至 1000mL，摇匀。

硫酸滴定液（0.25mol/L，0.1mol/L 或 0.05mol/L）照上法配制，但硫酸的取用量分别为 15mL、6.0mL 或 3.0mL。

［标定］ 照盐酸滴定液（1mol/L，0.5mol/L，0.2mol/L 或 0.1mol/L）项下的方法标定，即得。

如需用硫酸滴定液（0.01mol/L）时，可取硫酸滴定液（0.5mol/L，0.1mol/L 或 0.05mol/L）加水稀释制成，必要时标定浓度。

3. 氢氧化钠滴定液（1mol/L，0.5mol/L 或 0.1mol/L） NaOH = 40.00

［配制］ 取氢氧化钠适量，加水振摇使溶解成饱和溶液，冷却后，置聚乙烯塑料瓶中，静置数日，澄清后备用。

氢氧化钠滴定液（1mol/L，0.5mol/L，0.1mol/L）分别取澄清的氢氧化钠饱和溶液 56mL，28mL，5.6mL 加新沸过的冷水使成 1000mL，摇匀。

［标定］ 氢氧化钠滴定液（1mol/L） 取在 105℃干燥至恒重的基准邻苯二甲酸氢钾约 6g，精密称定，加新沸过的冷水 50mL，振摇，使其尽量溶解；加酚酞指示液 2 滴，用本液滴定；在接近终点时，应使邻苯二甲酸氢钾完全溶解，滴定至溶液显粉红色。每 1mL 氢氧化钠滴定液（1mol/L）相当于 204.2mg 的邻苯二甲酸氢钾。根据本液的消耗量与邻苯二甲酸氢钾的取用量，算出本液的浓度，即得。

氢氧化钠滴定液（0.5mol/L，0.1mol/L）分别取在 105℃干燥至恒重的基准邻苯二甲酸氢钾约 3g，0.6g，照上法标定。每 1mL 氢氧化钠滴定液（0.5mol/L，0.1mol/L）相当于 102.1mg，20.42mg 的邻苯二甲酸氢钾。

如需用氢氧化钠滴定液（0.05mol/L，0.02mol/L 或 0.01mol/L）时，可取氢氧化钠滴定液（0.1mol/L）加新沸过的冷水稀释制成。必要时，可用盐酸滴定液（0.05mol/L、0.02mol/L 或 0.01mol/L）标定浓度。

［贮藏］ 置聚乙烯塑料瓶中，密封保存；塞中有 2 孔，孔内各插入玻璃管 1 支，1 管与钠石灰管相连，1 管供吸出本液使用。

4. 高氯酸滴定液（0.1mol/L） $HClO_4 = 100.46$

［配制］ 取无水冰醋酸（按含水量计算，每 1g 水加醋酐 5.22mL）750mL，加入高氯酸（70%～72%）8.5mL，摇匀，在室温下缓缓滴加醋酐 23mL，边加边摇，加完后再振摇均匀，放冷，加无水冰醋酸适量使成 1000mL，摇匀，放置 24h。若所测供试品易乙酰化，则须用水分测定法测定本液的含水量，再用水和醋酐调节至本液的含水量为 0.01%～0.2%。

［标定］ 取在 105℃干燥至恒重的基准邻苯二甲酸氢钾约 0.16g，精密称定，加无水冰醋酸 20mL 使溶解，加结晶紫指示液 1 滴，用本液缓缓滴定至蓝色，并将滴定的结果用空白试验校正。每 1mL 高氯酸滴定液（0.1mol/L）相当于 20.42mg 的邻苯二甲酸氢钾。根据本液的消耗量与邻苯二甲酸氢钾的取用量，算出本液的浓度，即得。

如需用高氯酸滴定液（0.05mol/L 或 0.02mol/L）时，可取高氯酸滴定液（0.1mol/L）用无水冰醋酸稀释制成，并标定浓度。

［贮藏］ 置棕色玻瓶内密闭保存。

5. 硫代硫酸钠滴定液（0.1mol/L） $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O = 248.19$

［配制］ 取硫代硫酸钠 26g 与无水碳酸钠 0.20g，加新沸过的冷水适量使溶解成 1000mL，摇匀，放置 1 个月后滤过。

需要全本请访问 www.ertongbook.com

〔标定〕取在120℃干燥至恒重的基准重铬酸钾。1.5g，精密称定，置碘瓶中，加水50mL使溶解，加碘化钾2.0g，轻轻振摇使溶解，加稀硫酸40mL，摇匀，密塞，在暗处放置10min后，加水250mL稀释，用本液滴定至近终点时，加淀粉指示液3mL，继续滴定至蓝色消失而显亮绿色，并将滴定的结果用空白试验校正。每1mL硫代硫酸钠滴定液(0.1mol/L)相当于4.903mg的重铬酸钾。根据本液的消耗量与重铬酸钾的取用量，算出本液的浓度，即得。

室温在25℃以上时，应将反应液及稀释用水降温至约20℃。

如需用硫代硫酸钠滴定液（0.01mol/L或0.005mol/L）时，可取硫代硫酸钠滴定液(0.1mol/L)在临用前加新沸过的冷水稀释制成。

6.碘滴定液(0.1mol/L)　　I=126.90

〔配制〕取碘13.0g，加碘化钾36g与水50mL溶解后，加盐酸3滴与水适量使成1000mL，摇匀，用垂熔玻璃滤器滤过。

〔标定〕取在105℃干燥至恒重的基准三氧化二砷约0.15g，精密称定，加氢氧化钠滴定液(1mol/L)10mL，微热使溶解，加水20mL与甲基橙指示液1滴，加硫酸滴定液（0.5mol/L）适量使黄色转变为粉红色，再加碳酸氢钠2g、水50mL与淀粉指示液2mL，用本液滴定至溶液显浅蓝紫色。每1mL碘滴定液(0.1mol/L)相当于4.946mg的三氧化二砷。根据本液的消耗量与三氧化二砷的取用量，算出本液的浓度，即得。

如需用碘滴定液（0.05mol/L）时，可取碘滴定液(0.1mol/L)加水稀释制成。

〔贮藏〕置玻璃塞的棕色玻瓶中，密闭，在凉处保存。

7.溴酸钾滴定液（0.016 67mol/L）　　$KBrO_3$=167.00

〔配制〕取溴酸钾2.8g，加水适量使溶解成1000mL，摇匀。

〔标定〕精密量取本液25mL，置碘瓶中，加碘化钾2.0g与稀硫酸5mL，密塞，摇匀，在暗处放置5min后，加水100mL稀释，用硫代硫酸钠滴定液（0.1mol/L）滴定至近终点时，加淀粉指示液2mL，继续滴定至蓝色消失。根据硫代硫酸钠滴定液（0.1mol/L）的消耗量，算出本液的浓度，即得。

室温在25℃以上时，应将反应液及稀释用水降温至约20℃。

8.溴滴定液(0.1mol/L)　　Br=79.90

〔配制〕取溴酸钾3.0g与溴化钾15g，加水适量使溶解成1000mL，摇匀。

〔标定〕精密量取本液25mL，置碘瓶中，加水100mL与碘化钾2.0g，振摇使溶解，加盐酸5mL，密塞，振摇，在暗处放置5min，用硫代硫酸钠滴定液（0.1mol/L)滴定至近终点时，加淀粉指示液2mL，继续滴定至蓝色消失。根据硫代硫酸钠滴定液（0.1mol/L）的消耗量，算出本液的浓度，即得。

室温在25℃以上时，应将反应液降温至约20℃。本液每次临用前均应标定浓度。

如需用溴滴定液（0.01mol/L）时，可取溴滴定液(0.1mol/L）加水稀释制成，并标定浓度。

〔贮藏〕置玻璃塞的棕色玻瓶中，密闭，在凉处保存。

9.亚硝酸钠滴定液（0.1mol/L）　　$NaNO_2$=69.00

〔配制〕取亚硝酸钠7.2g，加无水碳酸钠（Na_2CO_3)0.10g，加水适量使溶解成1000mL，摇匀。

〔标定〕取在120℃干燥至恒重的基准对氨基苯磺酸约0.5g，精密称定，加水30mL与浓氨试液3mL，溶解后，加盐酸(1→2)20mL，搅拌，在30℃以下用本液迅速滴定，滴定时将滴定管尖端插入液面下约2/3处，随滴随搅拌；至近终点时，将滴定管尖端提出液面，用少量水洗涤

尖端，洗液并入溶液中，继续缓缓滴定，用永停法指示终点。每 1mL 亚硝酸钠滴定液(0.1mol/L)相当于 17.32mg 的对氨基苯磺酸。根据本液的消耗量与对氨基苯磺酸的取用量，算出本液浓度，即得。

如需用亚硝酸钠滴定液（0.05mol/L）时，可取亚硝酸钠滴定液(0.1mol/L）加水稀释制成。必要时标定浓度。

[贮藏] 置玻璃塞的棕色玻瓶中，密闭保存。

10. 草酸滴定液（0.05mol/L） $C_2H_2O_4 \cdot 2H_2O = 126.07$

[配制] 取草酸 6.4g，加水适量使溶解成 1000mL，摇匀。

[标定] 精密量取本液 25mL，加水 200mL 与硫酸 10mL，用高锰酸钾滴定液(0.02mol/L）滴定，至近终点时，加热至 65℃，继续滴定至溶液显微红色，并保持 30s 不褪；当滴定终了时，溶液温度应不低于 55℃。根据高锰酸钾滴定液(0.02mol/L）的消耗量，算出本液的浓度，即得。

如需用草酸滴定液(0.25mol/L)时，可取草酸约 32g，照上法配制与标定，但改用高锰酸钾滴定液(0.1mol/L）滴定。

[贮藏] 置玻璃塞的棕色玻瓶中，密闭保存。

11. 高锰酸钾滴定液（0.02mol/L） $KMnO_4 = 158.03$

[配制] 取高锰酸钾 3.2g，加水 1000mL，煮沸 15min，密塞，静置 2 日以上，用垂熔玻璃滤器滤过，摇匀。

[标定] 取在 105℃干燥至恒重的基准草酸钠约 0.2g，精密称定，加新沸过的冷水 250mL 与硫酸 10mL，搅拌使溶解，自滴定管中迅速加入本液约 25mL，待褪色后，加热至 65℃，继续滴定至溶液显微红色并保持 30s 不褪；当滴定终了时，溶液温度应不低于 55℃，每 1mL 高锰酸钾滴定液(0.02mol/L)相当于 6.70mg 的草酸钠。根据本液的消耗量与草酸钠的取用量，算出本液的浓度，即得。

如需用高锰酸钾滴定液（0.002mol/L）时，可取高锰酸钾滴定液(0.02mol/L)加水稀释，煮沸，放冷，必要时滤过，再标定其浓度。

[贮藏] 置玻璃塞的棕色玻瓶中，密闭保存。

12. 硝酸银滴定液（0.1mol/L） $AgNO_3 = 169.87$

[配制] 取硝酸银 17.5g，加水适量使溶解成 1000mL，摇匀。

[标定] 取在 110℃干燥至恒重的基准氯化钠约 0.2g，精密称定，加水 50mL 使溶解，再加糊精溶液(1→50)5mL、碳酸钙 0.1g 与荧光黄指示液 8 滴，用本液滴定至浑浊液由黄绿色变为微红色。每 1mL 硝酸银滴定液(0.1mol/L)相当于 5.844mg 的氯化钠。根据本液的消耗量与氯化钠的取用量，算出本液的浓度，即得。

如需用硝酸银滴定液（0.01mol/L）时，可取硝酸银滴定液(0.1mol/L）在临用前加水稀释制成。

[贮藏]置玻璃塞的棕色玻瓶中，密闭保存。

13. 硫氰酸铵滴定液（0.1mol/L） $NH_4SCN = 76.12$

[配制] 取硫氰酸铵 8.0g，加水使溶解成 1000mL，摇匀。

[标定]精密量取硝酸银滴定液（0.1mol/L)25mL，加水 50mL、硝酸 2mL 与硫酸铁铵指示液 2mL，用本液滴定至溶液微显淡棕红色；经剧烈振摇后仍不褪色，即为终点。根据本液的消耗量算出本液的浓度，即得。

硫氰酸钠滴定液(0.1mol/L）或硫氰酸钾滴定液(0.1mol/L）均可作为本液的代用品。

14. 乙二胺四醋酸二钠滴定液(0.05mol/L)　　$C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O = 372.24$

[配制] 取乙二胺四醋酸二钠 19g，加适量的水使溶解成 1000mL，摇匀。

[标定] 取于约 800℃灼烧至恒重的基准氧化锌 0.12g，精密称定，加稀盐酸 3mL 使溶解，加水 25mL，加 0.025%甲基红的乙醇溶液 1 滴，滴加氨试液至溶液显微黄色，加水 25mL 与氨-氯化铵缓冲液（pH10.0）10mL，再加铬黑 T 指示剂少量，用本液滴定至溶液由紫色变为纯蓝色，并将滴定结果用空白试验校正。每 1mL 乙二胺四醋酸二钠滴定液(0.05mol/L)相当于 4.069mg 的氧化锌。根据本液的消耗量与氧化锌的取用量，算出本液的浓度，即得。

[贮藏] 置玻璃塞瓶中，避免与橡皮塞、橡皮管等接触。

15. 硫酸铈滴定液（0.1mol/L）　　$Ce(SO_4)_2 \cdot 4H_2O = 404.30$

[配制] 取硫酸铈 42g（或硫酸铈铵 70g），加含有硫酸 28mL 的水 500mL，加热溶解后放冷，加水适量使成 1000mL，摇匀。

[标定] 取在 105℃干燥至恒重的基准三氧化二砷 0.15g，精密称定，加氢氧化钠滴定液(1mol/L)10mL，微热使溶解，加水 50mL、盐酸 25mL、一氯化碘试液 5mL 与邻二氮菲指示液 2 滴，用本液滴定至近终点时，加热至 50℃，继续滴定至溶液由浅红色转变为淡绿色。每 1mL 硫酸铈滴定液(0.1mol/L)相当于 4.946mg 的三氧化二砷。根据本液的消耗量与三氧化二砷的取用量，算出本液的浓度，即得。

如需用硫酸铈滴定液（0.01mol/L）时，可精密量取硫酸铈滴定液（0.1mol/L），用每 100mL 中含硫酸 2.8mL 的水定量稀释制成。

六、药品质量标准分析方法验证*

药品质量标准的分析方法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。中国药典规定的需验证的分析项目有：鉴别试验，杂质定量或限度检查，原料药或制剂中有效成分含量测定，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、检测限、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（%）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或样品进行测定，或用本法所得结果与已建立准确度的另一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，或与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。应明确证明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范围内，制备高、中、低 3个不同浓度的样品，各测定 3 次，用 9 次测定结果进行评价。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精密度称为重复性；在同一个实验室，不同时间由不同分析人员用不同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 3个不同浓度的样品，各测定 3 次，用 9 次测定结果进行评价，或把被测物浓度当作 100 ，用至少测定 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，应进行中间精密度试验。变动因素为不同日期、不同分析人员、不同设备。

3.重现性当分析方法将被法定标准采用时，应进行重现性试验。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物的特性。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，对于药物的含量测定，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。对于药物中杂质的测定，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，与另一个经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，试验出能被可靠地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，算出能被可靠地检测出的最低浓度或量。一般以信噪比为 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，其测定结果应具一定准确度和精密度。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。一般以信噪比为 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，范围应为限度的士 20%；如规定限度范围，则应为下限的一20%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 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一 20%至含量限度（或上限）的＋20%。

(八)耐用性

耐用性系指在测定条件有小的变动时，测定结果不受影响的承受程度，为常规检验提供依据。典型的变动因素有：被测溶液的稳定性，样品提取次数、时间等。液相色谱法中典型的变动因素有：流动相的组成和 pH 值，不同厂牌或不同批号的同类型色谱柱，柱温，流速等。气相色谱法变动因素有：不同厂牌或批号的色谱柱、固定相，不同类型的担体、柱温，进样口和检测器温度等。经试验，应说明小的变动能否通过设计的系统适用性试验，以确保方法有效。如果测试条件要求苛刻，则应在方法中写明。

表 1-3 列出了分析项目和相应的验证内容。

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	—	+①
专属性②	+	+	+	+
检测限	—	—③	+	—
定量限	—	+	—	—
线性	—	+	—	+
范围	—	+	—	+
耐用性	+	+	+	+

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。

第二章　实　验

一、验证性实验

实验一　药物的杂质检查

一、目的要求

1. 掌握药物的一般杂质检查原理与实验方法。

2. 掌握杂质限度试验的概念及计算方法。

3. 熟悉一般杂质检查项目与意义。

二、主要仪器与药品

50mL 纳氏比色管，100mL 测砷瓶，药物天平，刻度吸管。葡萄糖、氯化钠原料药。

三、实验方法

（一）葡萄糖（Glucose）

酸度　取本品 2.0g，加水 20mL 溶解后，加酚酞指示液 3 滴与氢氧化钠滴定液（0.02mol/L）0.20mL，应显粉红色。

溶液的澄清度与颜色　取本品 5g，加热水溶解后，放冷，用水稀释至 10mL，溶液应澄清无色；如显浑浊，与 1 号浊度标准液（附录 A）比较，不得更浓；如显色，与对照液（取比色用氯化钴液 3mL 比色用重铬酸钾液 3mL 与比色用硫酸铜液 6mL，加水稀释成 50mL）1.0mL 加水稀释至 10mL 比较，不得更深。

乙醇溶液的澄清度　取本品 1.0g，加 90%乙醇 30mL，置水浴上加热回流约 10min，溶液应澄清。

氯化物　取本品 0.6g，加水溶解使成 25mL，再加稀硝酸 10mL 溶液如不澄清，应滤过，置 50mL 纳氏比色管中，加水使成约 40mL，摇匀，即得供试溶液。另取标准氯化钠溶液 6.0mL，置 50mL 纳氏比色管中，加稀硝酸 10mL，加水使成 40mL，摇匀，即得对照溶液。于供试溶液与对照溶液中，分别加入硝酸银试液 1.0mL，用水稀释，使成 50mL，摇匀，在暗处放置 5min，同置黑色背景上，从比色管上方向下观察、比较（附录 B）。供试溶液所显浑浊度不得较对照液更浓（0.01%）。

硫酸盐　取本品 2.0g，加水溶解使成约 40mL 溶液如不澄清，应滤过，置 50mL 纳氏比色管中，加稀盐酸 2mL，摇匀，即得供试溶液。另取标准硫酸钾溶液 2.0mL，置 50mL 纳氏比色管中，加水使成约 40mL，加稀盐酸 2mL，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 5mL，用水稀释至 50mL，充分摇匀，放置 10min，同置黑色背景上，从比色管上方向下观察、比较（附录 C）。供试溶液所显浑浊度不得较对照液更浓（0.01%）。

需要全本请访问 www.ertongbook.com