

药物分析：常用定量分析法与应用理化法 PDF转换可能丢失图片或格式，建议阅读原文

https://www.100test.com/kao_ti2020/18/2021_2022__E8_8D_AF_E7_89_A9_E5_88_86_E6_c23_18236.htm

(一) 重量法 根据样品中分离出的单质或化合物的重量测定所含成分的含量。根据被测组分分离方法的不同，可分为提取法、挥发法、沉淀法。

1. 提取法用适宜的溶剂提取出样品中的某种成分，再蒸去溶剂进行测定。例如胰酶中脂肪含量测定是用乙醚提取后挥发乙醚，残渣在105℃干燥2hr称重并计算。2. 挥发法是利用被测组分具有挥发性，或将它转化为挥发性物质来进行含量测定的方法。“灼灼残渣”为直接挥发法的一种特殊方式

：“干燥失重”为间接挥发法。3. 沉淀法是利用沉淀反应，将被测组分转化成难溶物，以沉淀形式从溶液中分离出来，然后经过滤、洗涤、烘干或灼灼，最后称重并计算其含量的方法。根据样品中某些成分与标准溶液能定量地发生酸碱中和、氧化还原或络合反应等进行测定。如胰酶的淀粉酶测定是利用氧化还原反应，以淀粉为底物，经淀粉酶水解后产生还原糖，在碱性溶液中还原糖又将斐林试剂中的 Cu^{2+} 还原成 Cu^+ ，多余的 Cu^+ 在酸性溶液中与KI作用析出碘，然后用硫代硫酸钠滴定所析出的碘，来推算糖的含量，进而标定淀粉酶的效价。又如L-盐酸精氨酸是用电位滴定法测定含量的。

(三) 比色法 样品与显色剂可发生颜色反应，依颜色反应的强度测定含量。如蛋白质的含量测定，可利用蛋白质与双缩脲试剂发生颜色反应，而进行定量测定。硫酸软骨素的含量也是用比色法测定的，具体介绍如下。本品系自猪的喉骨、鼻中骨、气管等软骨组织提取制得的酸性粘多糖。按干燥

品计算，含氨基己糖以氨基葡萄糖计算，应不得少于24.0%。本品采用Elson-Morgan色法测定含量，其基本原理为样品先用盐酸水解生成氨基己糖，然后在碱性条件下与乙酰丙酮反应，生成色原物质，再与对二甲氨基苯甲醛反应产生红色，以盐酸氨基葡萄糖为对照品，用比色法测定。对照品溶液的制备精密称取经105℃干燥至恒重的盐酸氨基葡萄糖0.1g，置100ml量瓶中，加水溶解并稀释至刻度，摇匀；精密量取10ml，置100ml量瓶中，加水至刻度，摇匀。每1ml中含盐酸氨基葡萄糖0.1mg。供试品溶液的制备取本品约0.15g，精密称定，置50ml量瓶中，加6mol/L盐酸液使溶解，并稀释至刻度，摇匀；精密量取5ml置50ml量瓶中，密塞，置水浴中水解2h，取出放冷，用氢氧化钠溶液（1:5）中和至中性，加水至刻度，摇匀，用干燥滤纸滤过，弃取初滤液，保留续滤液备用。测定法精密量取对照品与供试品溶液各1ml，各取2份，分别置4支具塞试管中，各加水至5ml；另取具塞试管一支，加水5ml作为空白，各加乙酰丙酮试液1ml，摇匀，置水浴中（1ml后密塞），准确加热25min，取出，用冰水迅速冷却后，加无醛乙醇3ml，在60℃水浴中保温10min后，再加对二甲氨基苯甲醛试液1ml，强力振摇，并继续在60℃水浴中保温1h，立即用冷水冷却至室温，照分光光度法，在525nm的波长处分别测定对照品溶液与供试品溶液的吸收度，以两份的平均值，按下式计算：（计算公式）式中 \bar{A}_s 为对照品溶液吸收度的平均值， \bar{A} 为供试品溶液吸收度的平均值， W_s 为对照品溶液每1ml中含盐酸氨基葡萄糖的量（mg）， W 为供试品重量（mg），0.8309为氨基葡萄糖与盐酸氨基葡萄糖分子量的比值。本法专属性强，操作简便、结果稳定。值得注意的是

实验中所用乙醇必须是无醛乙醇。否则，将影响测定结果的准确性。（四）紫外分光光度法 样品或转化后的产物在某一波长处有最大吸收，在一定的浓度范围内，其浓度与吸收度成正比，则可进行定量测定。如蛋白质在280nm左右有最大吸收，胰蛋白酶与底物N - 乙酰 - L酪氨酸乙酯作用后的产物在237nm处有最大吸收，根据其吸收度可进行定量。（五）高效液相色谱法 高效液相色谱法（HPLC）法的种类很多，应用也十分广泛，现将生化药物中常用的方法概述如下。1 . 反相高效液相色谱法（RP - HPLC）以（C4、C8、C18）烷基硅烷键合相为柱填料，以甲醇-水、乙腈-水或甲醇、乙腈与缓冲液构成的溶液为流动相，以紫外、荧光或电化学检测器为检测手段，这种色谱体系在生化药物（例如肽类、氨基酸、蛋白质、多糖等）定量分析中应用广泛。例如：生白能（leucomax）的含量测定就是采用RP - HPLC法。本品系基因工程药物。它的活性成分为重组人粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子（HUGMCSF），是一种调节造血和白细胞功能所必须的蛋白质。含量测定方法如下。磷酸缓冲液的配制：称取 Na_2HPO_4 3.55g，加水400ml，溶解后用稀磷酸调pH至7.0，加水至500ml，摇匀。供试品及对照晶溶液的配制：精密称取供试品或对照品适量，用上述磷酸盐缓冲液配制成 $300\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 的溶液即可。100Test 下载频道开通，各类考试题目直接下载。详细请访问 www.100test.com