

药物分析

第八章

对氨基苯甲酸酯和酰胺苯胺 类局麻药物的分析



人民卫生出版社

PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

内容

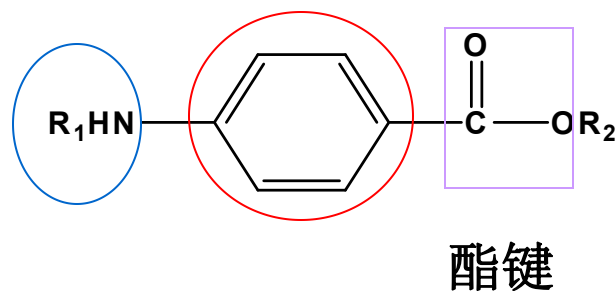
- 一、结构与性质
- 二、鉴别试验
- 三、特殊杂质与检查
- 四、含量测定



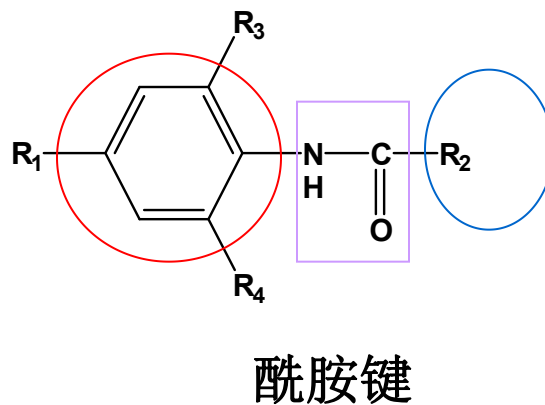
一、结构与性质

1. 结构

- 对氨基苯甲酸酯类局麻药物：



- 酰胺苯胺类局麻药物：



局麻药物的化学结构通常包括三个部分：

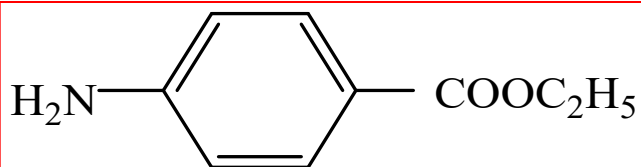
① 亲脂芳环

② 连接基团

③ 亲水性胺基



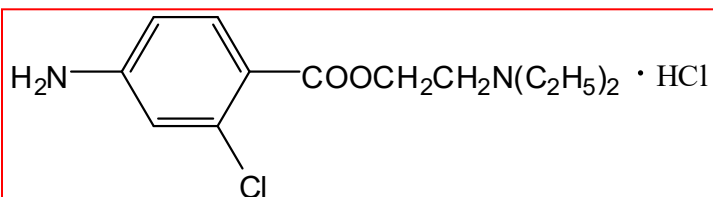
(1) 对氨基苯甲酸酯类



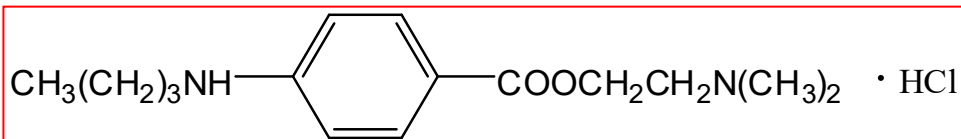
苯佐卡因 (Benzocaine)



盐酸普鲁卡因 (Procaine Hydrochloride)

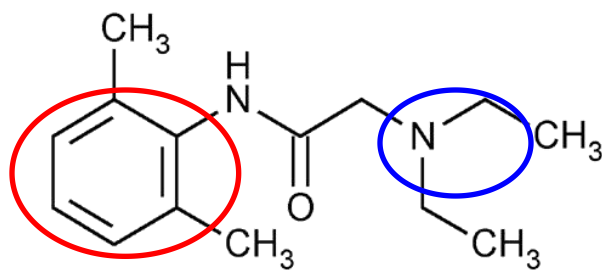


盐酸氯普鲁卡因 (Chlorprocaine Hydrochloride)



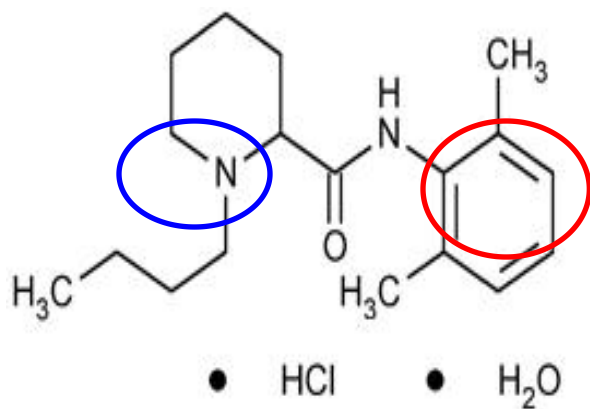
盐酸丁卡因 (Tetracaine Hydrochloride)

(2) 酰苯胺类



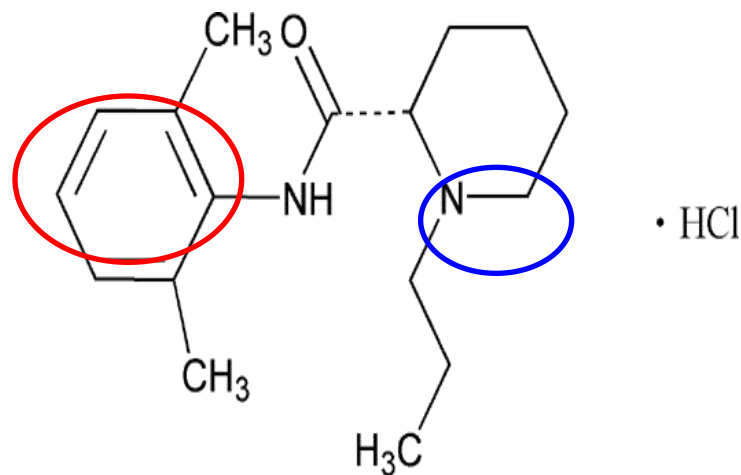
盐酸利多卡因

lidocaine hydrochloride



盐酸布比卡因

bupivacaine hydrochloride



盐酸罗哌卡因

ropivacaine hydrochloride



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

2.理化性质

1) 芳伯氨基特性

- 对氨基苯甲酸酯类药物

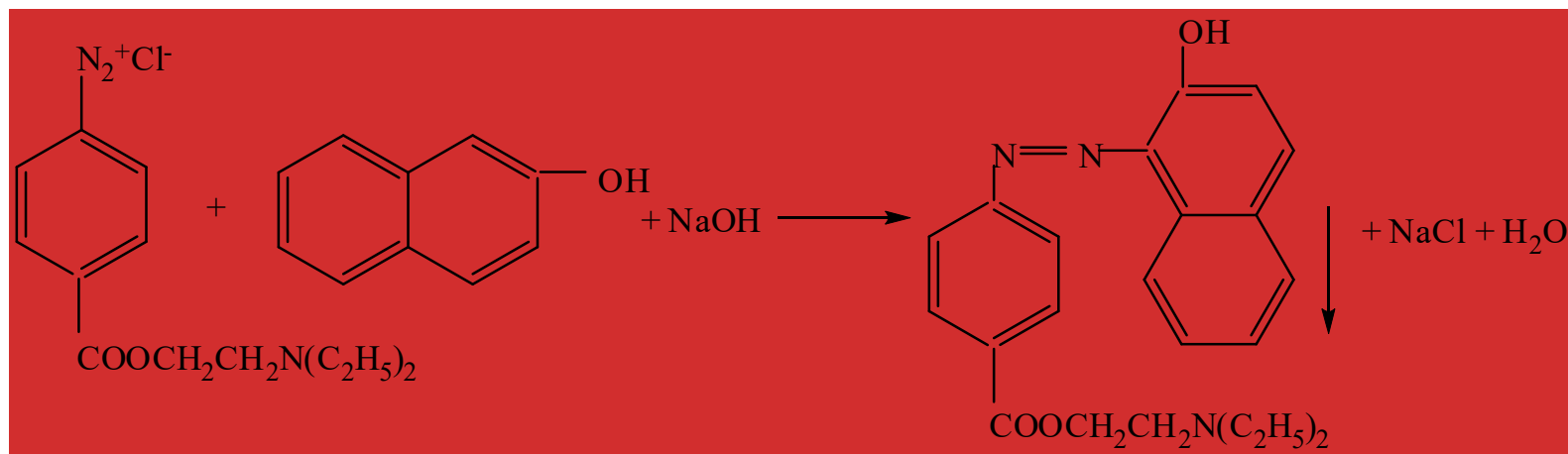
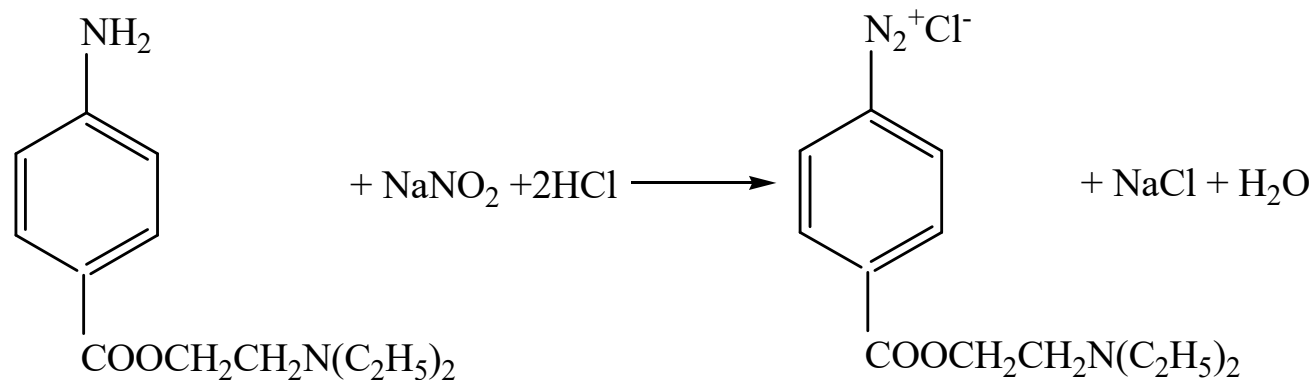
- 芳伯氨基：重氮化-偶合反应；“芳香第一胺类”
芳醛缩合成Schiff碱反应；
易氧化变色。

- 酰苯胺类药物：

- 不易水解，通常不显芳伯氨基特性反应。



盐酸普鲁卡因：

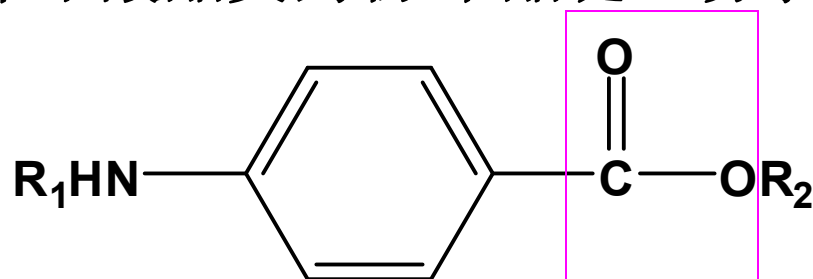


猩红色

苯佐卡因： → 橙红色

2) 水解特性

- 对氨基苯甲酸酯类药物 中酯键，易水解：



形成特殊杂质

- 影响药物水解的因素：光、热 或 碱性条件

苯佐卡因、盐酸普鲁卡因 $\longrightarrow$ 对氨基苯甲酸 (PABA)

盐酸氯普鲁卡因 $\longrightarrow$ 4-氨基-2-氯苯甲酸

盐酸丁卡因 $\longrightarrow$ 对丁氨基苯甲酸 (BABA)



3) 弱碱性

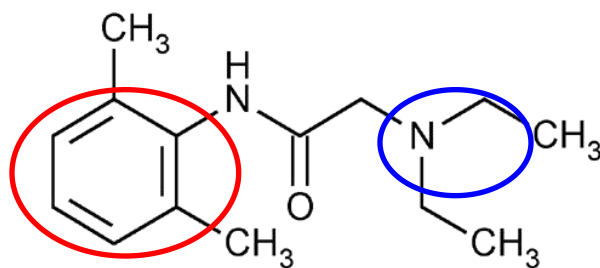
- 脂烃胺侧链 均为叔胺氮原子（除苯佐卡因外），具有：有机弱碱性
- 游离碱多为碱性油状液体或低熔点固体，难溶于水，可溶于有机溶剂；
- 存在形式： 盐酸盐  改善水溶性、稳定性



- 叔胺氮原子 + 生物沉淀剂 → 沉淀 能与生物碱沉淀剂发生沉淀反应



盐酸普鲁卡因 (Procaine Hydrochloride)



盐酸利多卡因 lidocaine hydrochloride

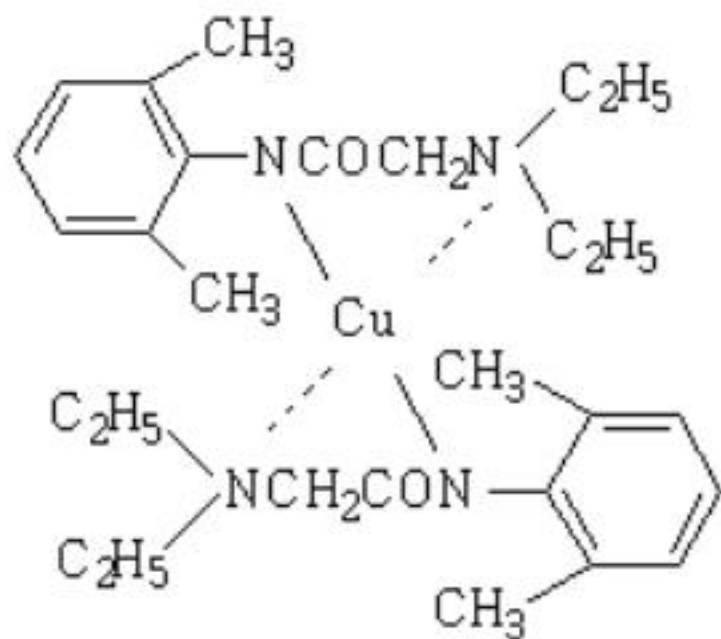
4) 与重金属离子反应特性

- 酰胺-烃胺氮原子与金属离子配位显色

酰苯胺类药物:

- 酰胺基上氢解离, 酰胺氮原子与过渡金属铜离子或钴离子配位, 生成有色的配位化合物沉淀, 可溶于三氯甲烷。





盐酸利多卡因

硫酸铜/碳酸钠试液

→ 蓝紫色配合物

→ 显黄色（溶于三氯甲烷）



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

5) 吸收光谱特性

- UV IR

6) 其他特性

- 基于对氨基苯甲酸酯和酰苯胺类药物分子结构特点，其游离碱多为碱性油状液体或低熔点固体，难溶于水，可溶于有机溶剂，其盐酸盐均系白色结晶性粉末，具有一定的熔点，易溶于水和乙醇，难溶于有机溶剂。



二、鉴别试验

(一) 重氮化-偶合反应 芳伯氨基和潜在芳伯氨基

芳伯氨基

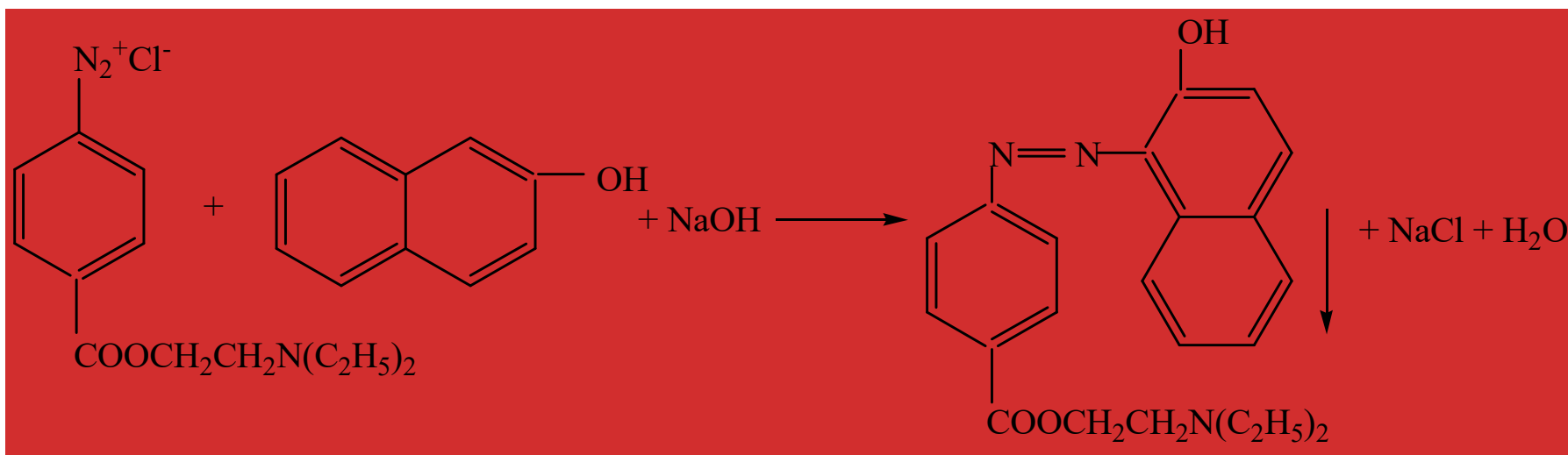
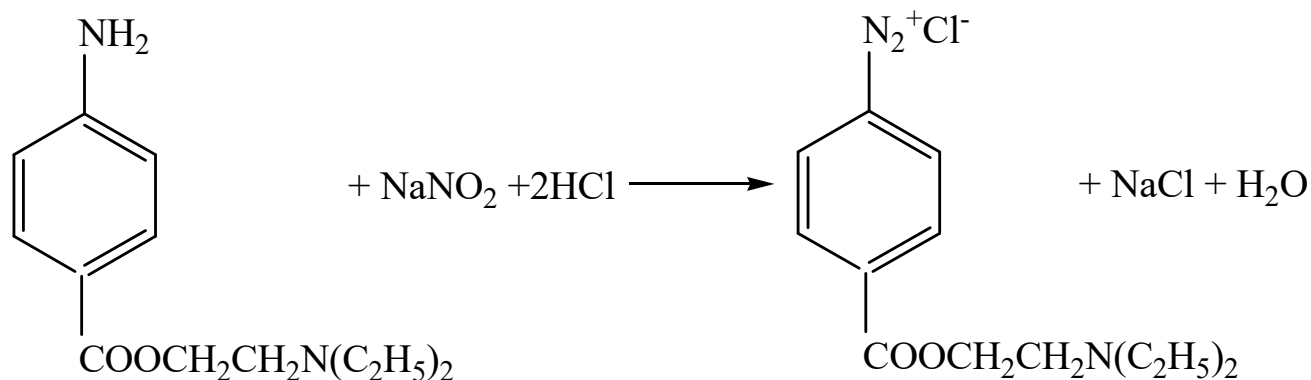
- 苯佐卡因、盐酸普鲁卡因、盐酸普鲁卡因胺
- 本品显 芳香第一胺类 的鉴别反应（附录III）
- NaNO_2/HCl 碱性 β -萘酚 有色偶氮染料（橙黄到猩红色）

芳香第一胺类鉴别试验

- 取供试品约50mg，加稀盐酸1ml，必要时缓缓煮沸使溶解，放冷，加0.1mol/L亚硝酸钠溶液数滴，滴加碱性 β -萘酚试液数滴，视供试品不同，生成由橙黄到猩红色沉淀。



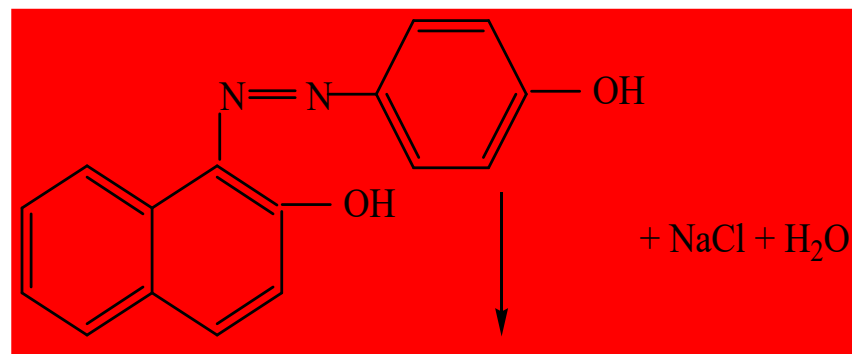
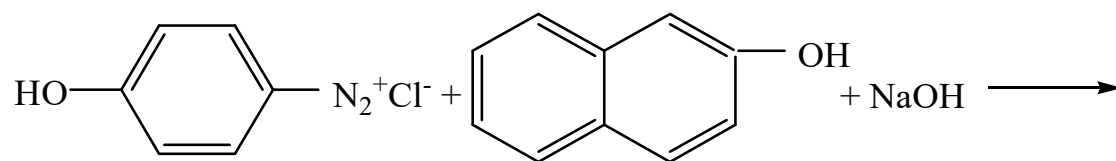
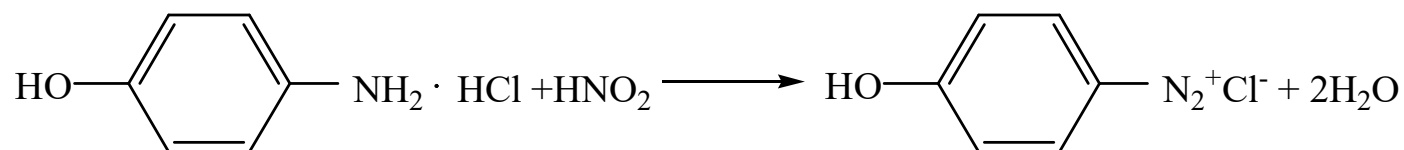
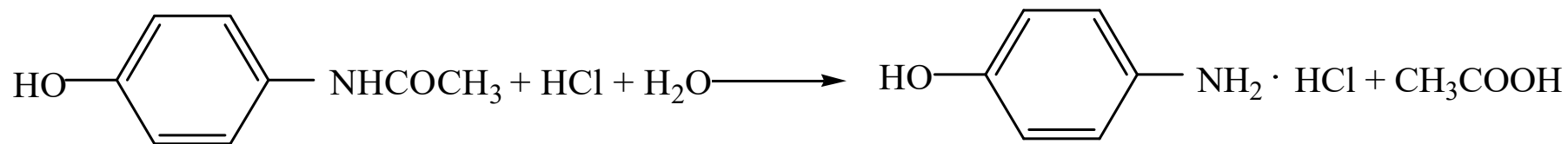
盐酸普鲁卡因



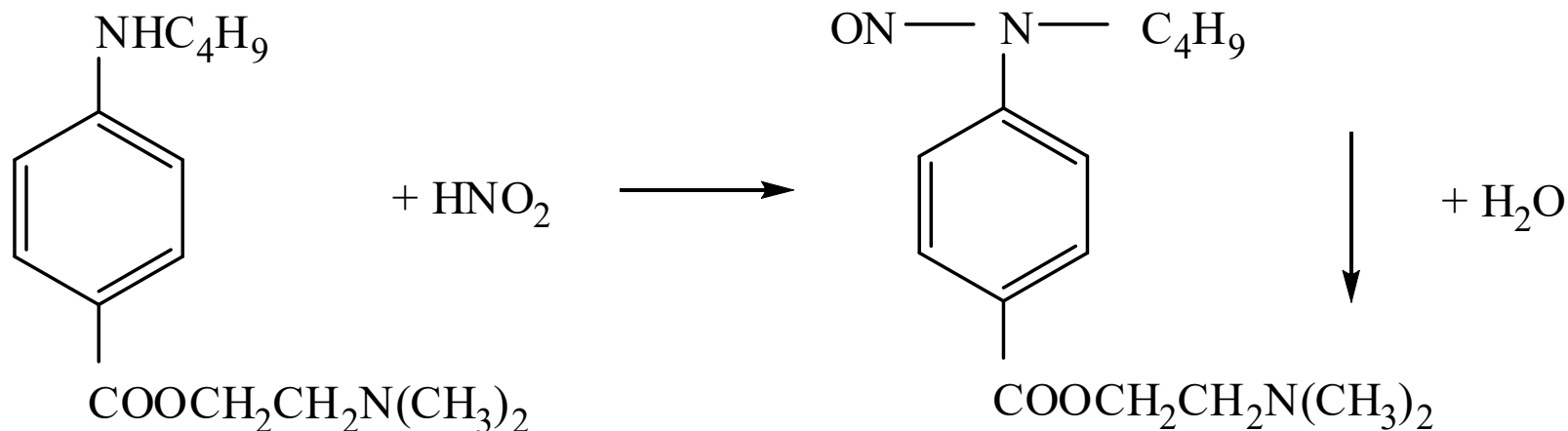
猩红色

- 潜在芳伯氨基:盐酸或硫酸加热水解 $\rightarrow \text{NaNO}_2/\text{HCl} \rightarrow$ 碱性 β -萘酚 $\rightarrow$ 有色偶氮染料 (红色)
- 对乙酰氨基酚: 取本品约0.1g, 加稀盐酸5ml, 置水浴中加热40分钟, 放冷; 取0.5ml, 滴加亚硝酸钠试液5滴, 摇匀, 用水3ml 稀释后, 加碱性 β -萘酚试液2ml, 振摇, 即显红色。





区别盐酸丁卡因



乳白色沉淀

与芳伯氨基药物区别



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

(二) 与金属离子反应

- 酰芳胺-烃胺氮原子与金属离子络合显色 盐酸利多卡因

1. 与铜和钴离子反应

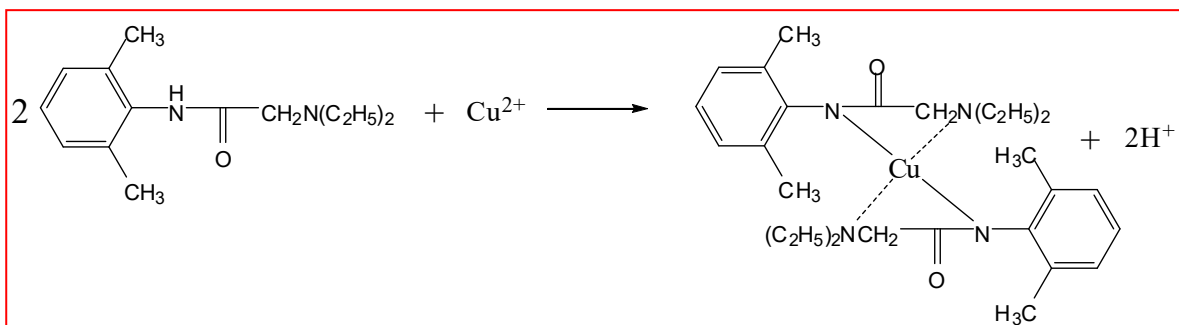
- 硫酸铜/碳酸钠试液→蓝紫色配合物→

显黄色（溶于
三氯甲烷）



盐酸利多卡因

- 取本品0.2g，加水20ml溶解后，取溶液2ml，加硫酸铜试液0.2ml与碳酸钠试液1ml，即显蓝紫色；加三氯甲烷2ml，振摇后放置，三氯甲烷层显黄色。

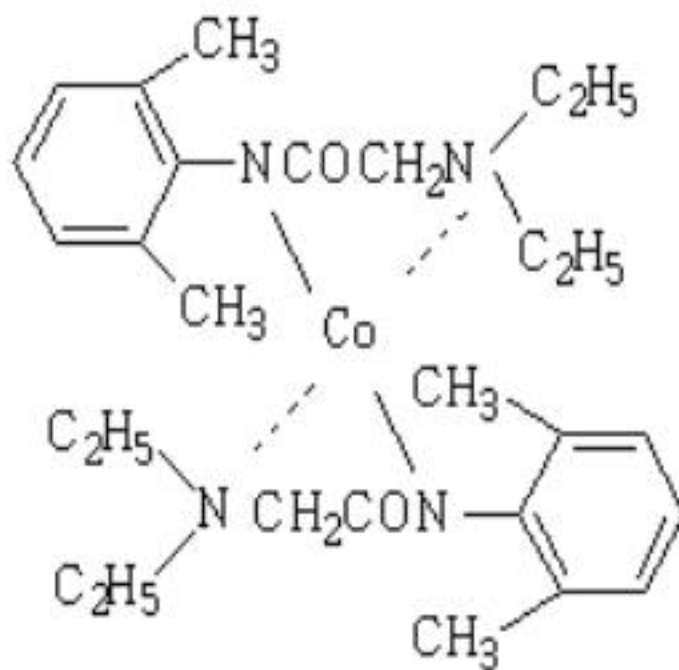


说明:

- 在同样条件下
氨基甲酸酯类
不发生此反应。



氯化钴/酸性溶液→亮绿色细小钴盐沉淀↓



2. 与汞离子反应

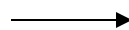
酰芳胺类：

- 盐酸利多卡因 硝酸汞/硝酸，煮沸



对氨基苯甲酸酯类：

- 苯佐卡因 硝酸汞/硝酸，煮沸



（三）水解产物反应

- 对氨基苯甲酸酯类药物分子中有些具有酯键结构，在碱性条件下可水解，利用其水解产物的特性或与某些试剂的反应可进行鉴别。



盐酸普鲁卡因 ChP (2015)

- 取本品约0.1g，加水2ml溶解后，加10%氢氧化钠溶液1ml，即生成白色沉淀；加热，变为油状物；继续加热，产生的蒸气，能使湿润的红色石蕊试纸变为蓝色；热至油状物消失后，放冷，加盐酸酸化，即析出白色沉淀。

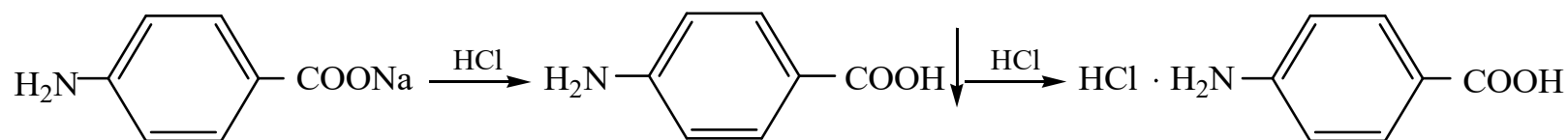
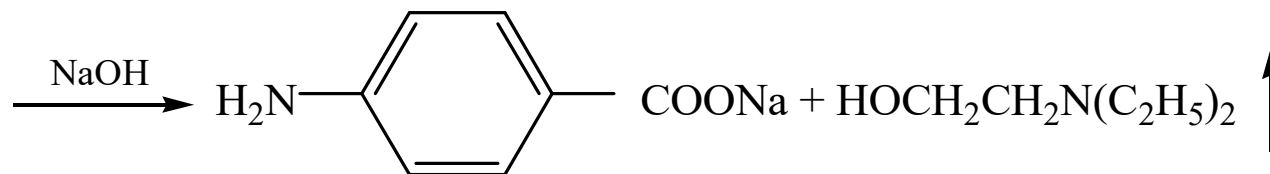
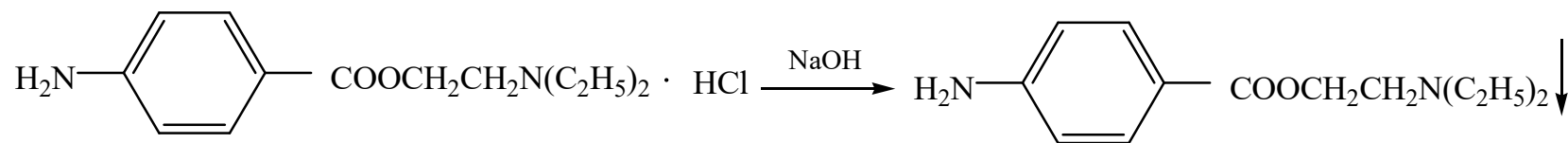
盐酸普鲁卡因 + NaOH

→ 普鲁卡因 $\xrightarrow{\Delta}$ 油状物

$\xrightarrow{\Delta}$ 对氨基苯甲酸钠 + 二乙氨基乙醇↑

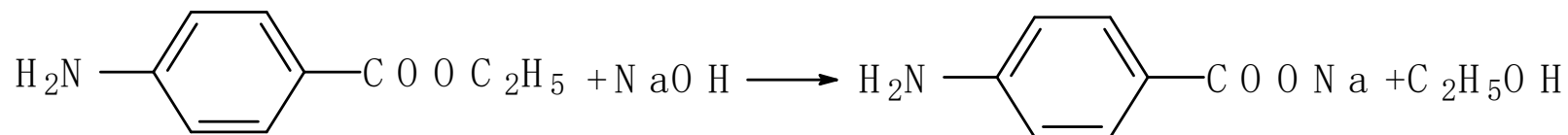
(使湿润的红色石蕊试纸变蓝色)





苯佐卡因 ChP (2015)

- 取本品约0.1g，加氢氧化钠试液5ml，煮沸，即有乙醇生成，加碘试液，加热，即生成黄色沉淀，并发生碘仿的臭气。



（四）制备衍生物测熔点-生物碱试验

1. 三硝基苯酚衍生物

- 盐酸利多卡因、盐酸布比卡因

三硝基苯酚利多卡因 mp. 228~232°C (dec)

取本品0.2g，加水20ml溶解后，取溶液10ml，加三硝基苯酚试液10ml，即生成沉淀；滤过，沉淀用水洗涤后，干燥，依法测定（附录VI C），熔点为228~232°C，熔融时同时分解。

三硝基苯酚布比卡因 mp. 194°C



硫氰酸铵 Ammonium Thiocyanate (NH_4SCH =76.12)

2. 硫氰酸盐 盐酸丁卡因

- 丁卡因硫氰酸盐 mp. 131°C
- 取本品约0.1g，加5%醋酸钠溶液10ml溶解后，加25%硫氰酸铵溶液1ml，即出白色结晶；滤过，结晶用水洗涤，在 80°C 干燥，依法测定（附录VI C），熔点约为 131°C 。

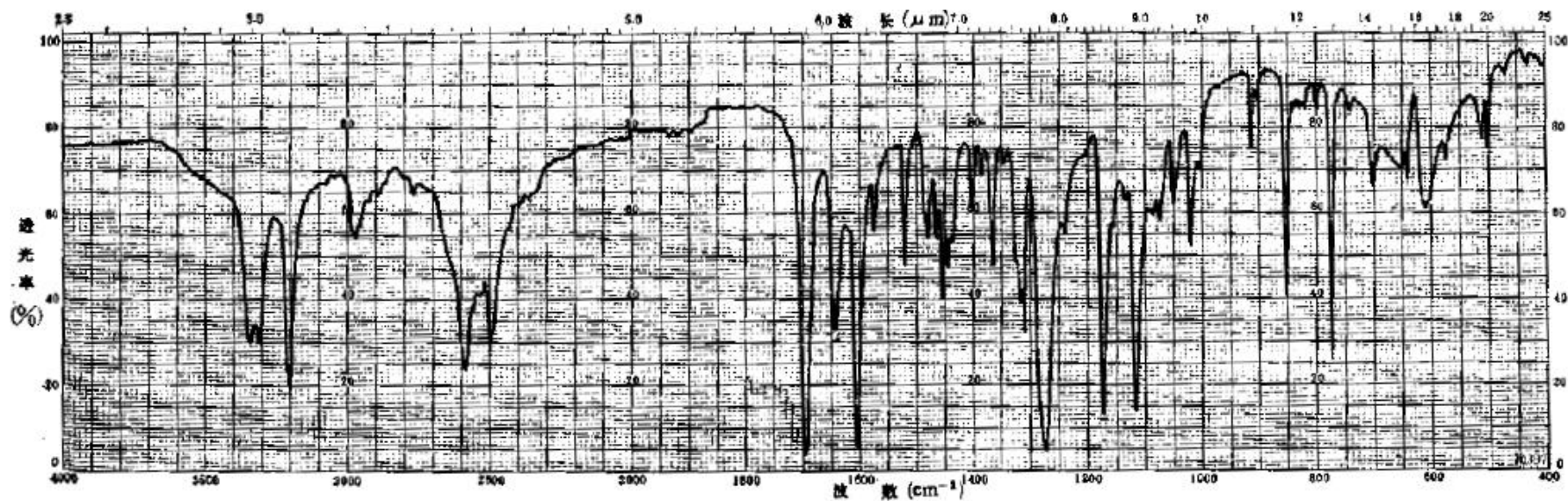


（五）吸收光谱特征

盐酸布比卡因 UV (ChP2015)

- 取本品，精密称定，按干燥品计算，加0.01 mol/L盐酸溶液溶解并定量稀释成 每1ml中约含0.40 mg的溶液，照紫外-可见分光光度法测定，在263 nm与271nm的波长处有最大吸收；其吸光度分别为0.53~0.58与0.43~0.48。





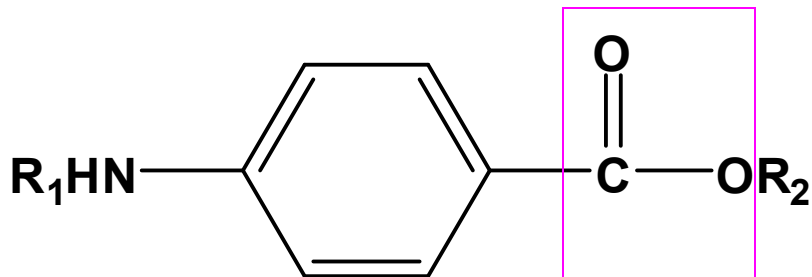
盐酸普鲁卡因 IR (氯化钾压片)

峰位 (cm ⁻¹)	归属
3315, 3200	ν_{NH_2} (伯胺)
2585	$\nu_{\text{N}^+-\text{H}}$ (胺基)
1692	$\nu_{\text{C=O}}$ (酯羰基)
1645	$\delta_{\text{N-H}}$ (胺基)
1604, 1520	$\nu_{\text{C=C}}$ (苯环)
1271, 1170, 1115	$\nu_{\text{C-O}}$ (酯基)

三、特殊杂质检查

水解特性

- 对氨基苯甲酸酯类药物 中 酯键，易水解：



形成特殊杂质

- 影响药物水解的因素：光、热 或 碱性条件

苯佐卡因、盐酸普鲁卡因 $\longrightarrow$ 对氨基苯甲酸 (PABA)

盐酸氯普鲁卡因 $\longrightarrow$ 4-氨基-2-氯苯甲酸

盐酸丁卡因 $\longrightarrow$ 对丁氨基苯甲酸 (BABA)



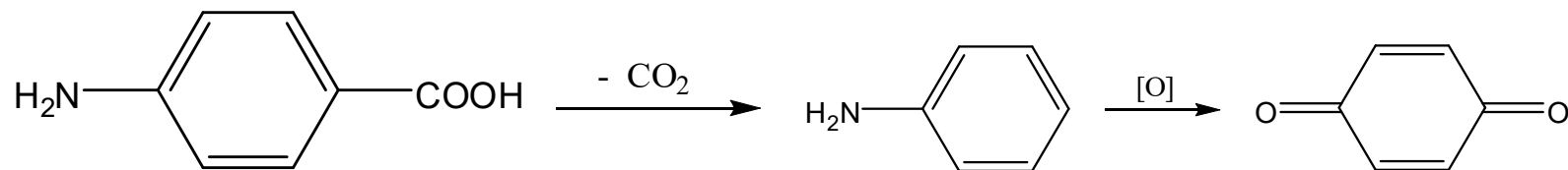
人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

(一) 盐酸普鲁卡因中对氨基苯甲酸的检查

杂质来源:

- 水解产生 对氨基苯甲酸和二乙氨基乙醇

对氨基苯甲酸的化学变化:



- 结果导致注射液变黄，疗效下降，毒性增加
 - 原料药及注射用灭菌粉末中杂质限量： $\leq 0.5\%$
 - 注射液中杂质限量： $\leq 1.2\%$



检查方法

- **HPLC 杂质对照品法**

- 固定相：十八烷基硅烷键合硅胶
- 流动相：0.1%庚烷磺酸钠的0.05mol/L磷酸二氢钾溶液（用磷酸调节pH至3.0）-甲醇（68：32）
- 检测波长：279 nm

系统适用性试验

- 理论板数按对氨基苯甲酸峰计算不低于2000
- 盐酸普鲁卡因峰和对氨基苯甲酸峰的分离度应大于2.0
- 外标法以峰面积计算

(二) 盐酸氯普鲁卡因注射液中有有关物质的检查

- 盐酸氯普鲁卡因 易 水解 生成：4-氨基-2-氯苯甲酸 降解产物

USP34-NF29:

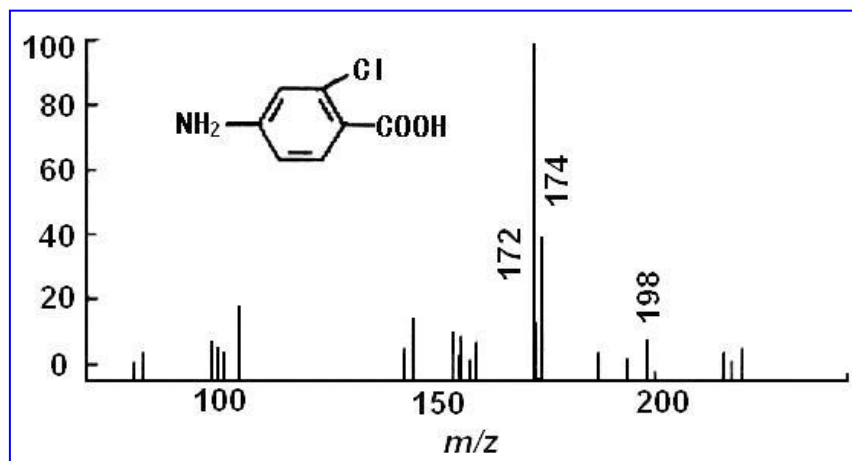
HPLC

原料药中杂质限量： $\leq 0.625\%$

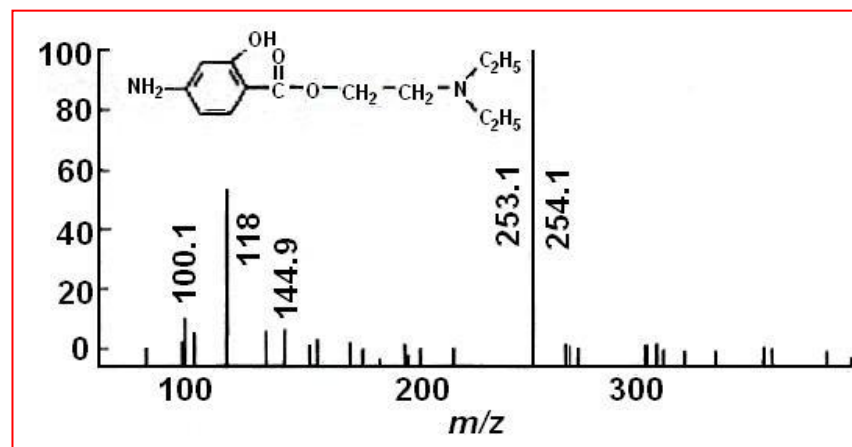
注射液中杂质限量： $\leq 3.0\%$



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE



盐酸氯普鲁卡因注射液中
光照前存在的杂质及其质谱图

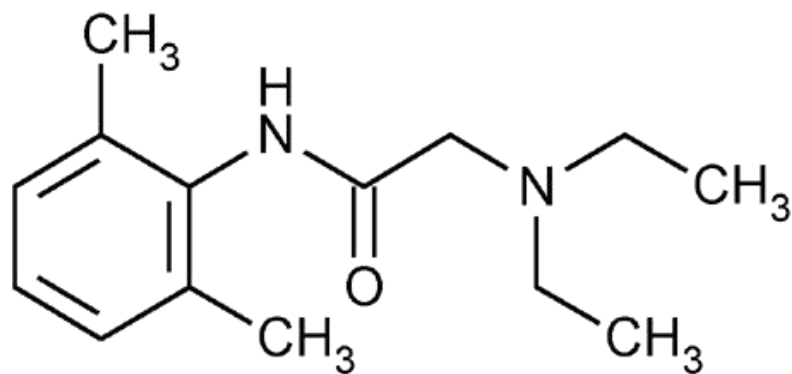


盐酸氯普鲁卡因注射液
经光照后产生的杂质及其质谱图

（三）盐酸利多卡因注射液中2,6-二甲基苯胺 及其他杂质的检查

杂质来源：水解产生

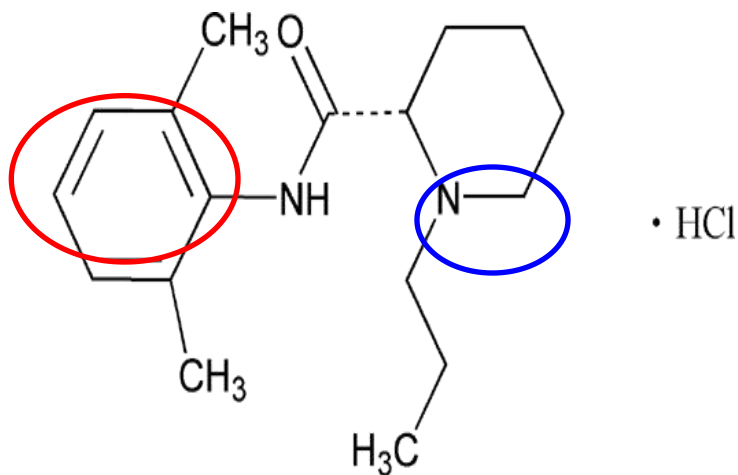
检查方法：HPLC 杂质对照品法



盐酸利多卡因 lidocaine hydrochloride



(四) 盐酸罗哌卡因的光学纯度检查



盐酸罗哌卡因

ropivacaine hydrochloride

- 长效酰胺类局麻药
- 术后镇痛
- *R*- 心脏毒性较大
- *S*-盐酸罗哌卡因对映体
临床应用



毛细管电泳方法：USP34-NF29

- 规定：供试品中*R*-盐酸罗哌卡因的限量不得超过0.5%

1.分析溶液配制

背景电解质溶液： H_3PO_4 (pH2.9~3.1)

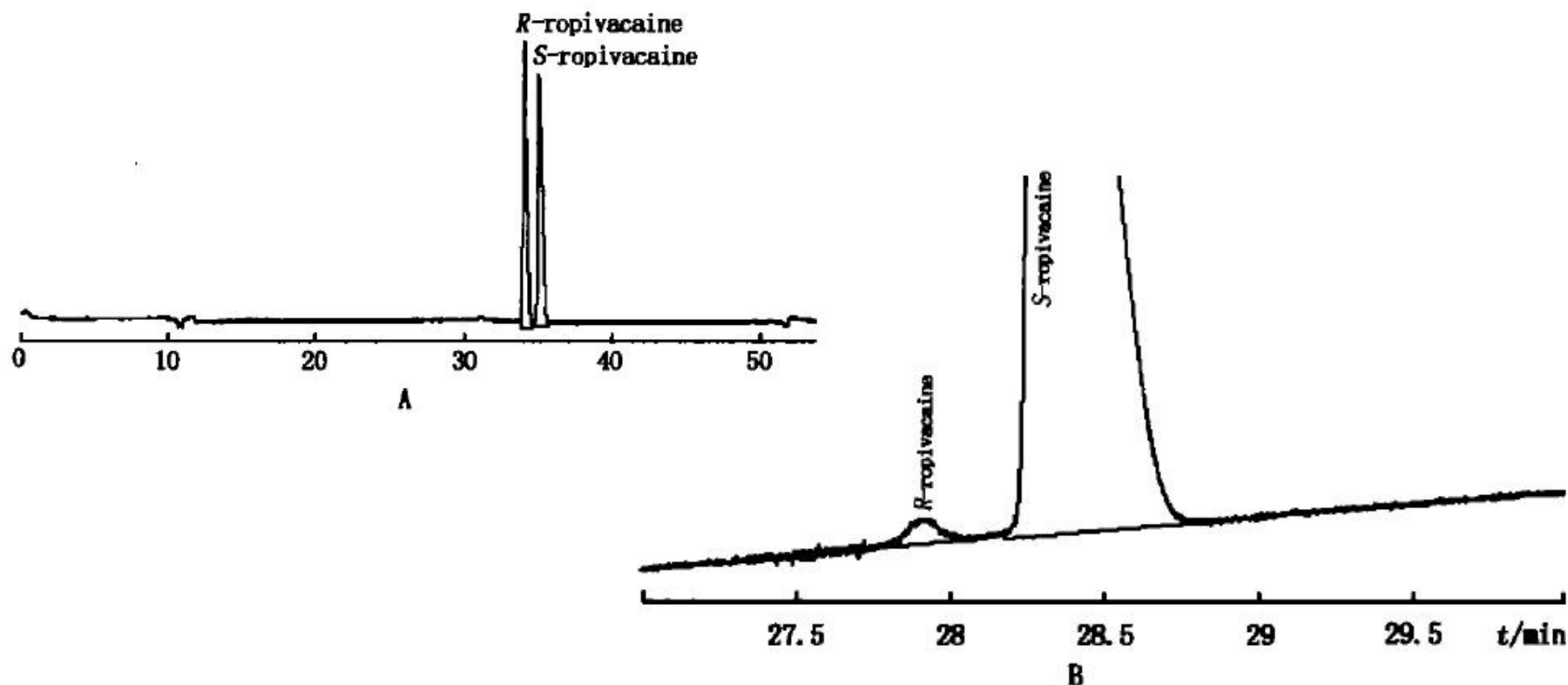
运行缓冲液：背景缓冲液 +2,6-二-*O*-甲基- β -环糊精

系统适用性溶液：*S*-盐酸罗哌卡因及*R*-盐酸罗哌卡因标准品

供试品溶液：*S*-盐酸罗哌卡因样品

供试品稀释溶液





盐酸罗哌卡因光学杂质的HPCE检查
A.光学异构体 RS 分离系统适用性测试图;
B.添加1.0% R 杂质的供试品检测图



电泳条件

石英毛细管柱： $50\mu\text{m} \times 72\text{cm}$

系统温度： 30°C

施加电压： 500V/s 的速度最后稳定至 375V/cm

电流： $40 \sim 45\mu\text{A}$

检测波长： 206 nm

供试品稀释溶液的电泳分析： 信噪比不小于10

系统适用性 试验

R -及 S -盐酸罗哌卡因的相对迁移时间分别约为0.96和1.0

分离度 (R) 不少于3.7

分析时间约为30分钟



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

四、含量测定

容量分析法

volumetric analysis

分光光度法

Spectro-photometry

非水溶液滴定法

non-aqueous titrimetry

色谱法

chromatography

亚硝酸钠滴定法

sodium nitrite method



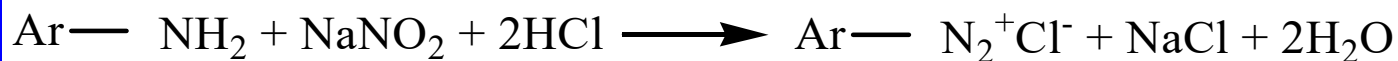
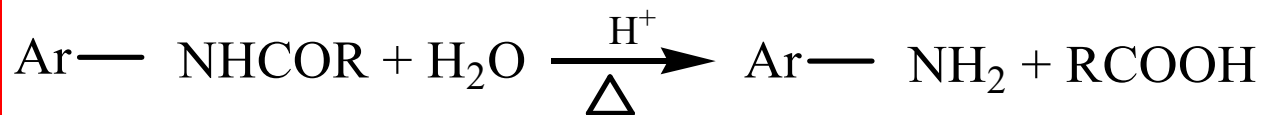
人民卫生出版社

PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

(一) 亚硝酸钠滴定法

1. 基本原理

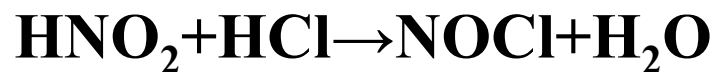
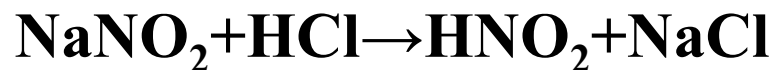
- 具芳伯氨基或水解后具有芳伯氨基的药物
- 芳伯氨基或水解后生成芳伯氨基的药物在酸性溶液中与亚硝酸钠定量发生重氮化反应，生成重氮盐，可用永停滴定法指示反应终点。

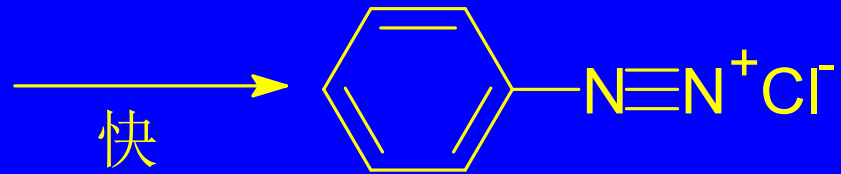
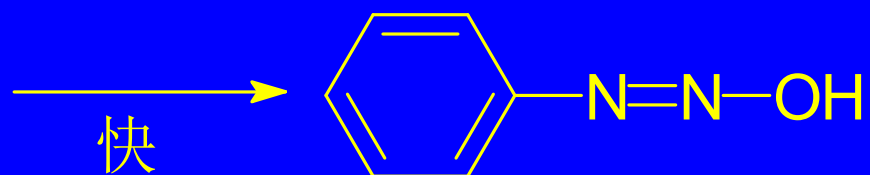


2.测定的主要条件=注意事项

(1) 加入适量KBr加速反应

- **KBr**为催化剂
- 在盐酸存在下，重氮化反应的机制为：







$$\therefore K_1 \approx 300 K_2$$

- 加入KBr，可增大被测溶液中 NO^+ 的浓度，所以能加快重氮化反应速度。



(2) 酸的种类及其浓度

- 在不同酸中重氮化反应的速度为：

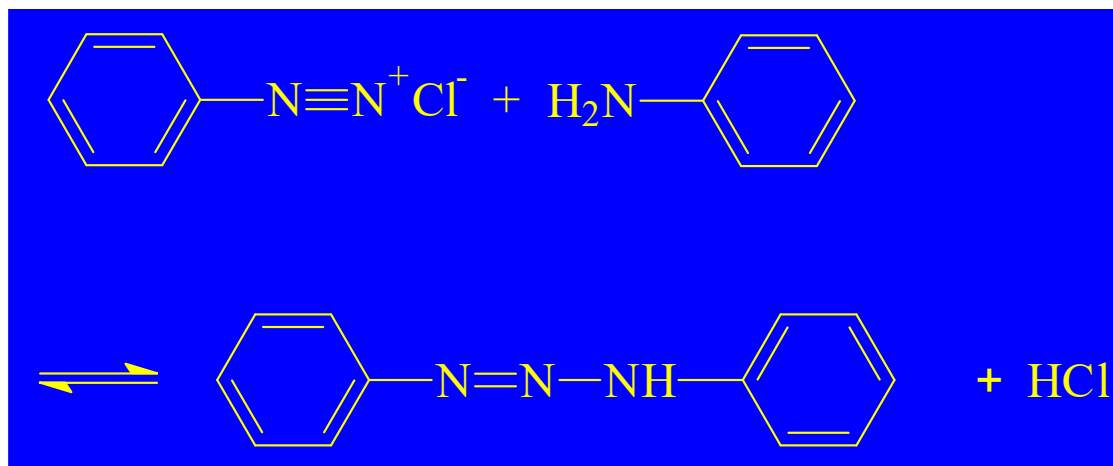


- 盐酸： 1 : 2.5~6

加入过量盐酸：

- 1) 重氮化反应速度加快；
- 2) 重氮盐在酸性溶液中稳定；
- 3) 防止生成偶氮氨基化合物，而影响测定结果



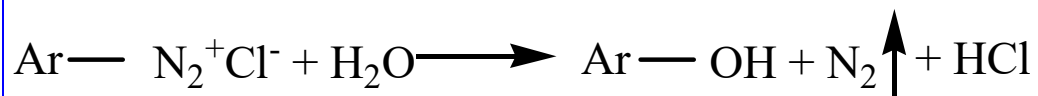


- 酸度加大，反应向左进行，故可防止偶氮氨基化合物的生成。若酸度过大，又可阻碍芳伯氨基的游离，反而影响重氮化反应速度。在太浓的盐酸中还可使亚硝酸分解。
- 芳胺类药物与酸的摩尔比为1：2.5~6。



(3) 反应温度

- 重氮化反应的速度与温度成正比，但是生成的重氮盐又随温度升高而加速分解。



- 一般地，温度每升高10℃，重氮化反应速度加快2.5倍，但同时重氮盐分解的速度亦相应地加速2倍；所以滴定一般在低温下进行。由于低温时反应太慢，经试验，可在室温（10~30℃）下进行，其中15℃以下结果较准确。



(4) 滴定速度

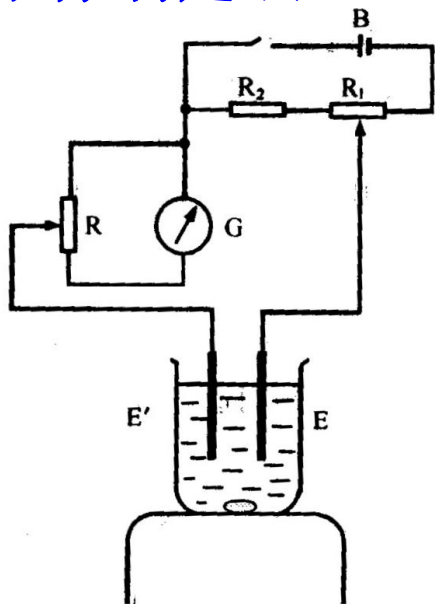
先快后慢

- 滴定管尖端插入液面下 $2/3$ 处，滴定液一次大部分放下，然后将滴定管尖端提出液面，用少量水淋洗尖端，再缓缓滴定。尤其是在近终点时，因尚未反应的芳伯氨基药物的浓度极稀，须在最后一滴加入后，搅拌1~5分钟，再确定终点是否真正到达。



3.指示终点的方法

(1) 永停滴定法 ChP (2015)



E和E'为两个惰性铂 (Pt) 电极, G 为电流计, R与电流计临界阻尼电阻值近似, R_1 为 $2\text{k}\Omega$ 可调电阻, R_2 电阻值为 $60\sim 70\Omega$, B为 1.5V 干电池

用作重氮化法的终点指示时, 先将电极插入供试品的盐酸溶液中, 调节 R_1 使加在电极上的电压约为 50mV 。滴定过程中, 观察滴定过程中电流计指针的变化。终点前, 溶液中无亚硝酸, 线路无电流通过, 电流计指针指零; 终点时溶液中有微量亚硝酸存在, 电极即起氧化还原反应, 线路中遂有电流通过, 此时电流计指针突然偏转, 并不再回复, 即为滴定终点。



(2) 电位法 **USP**

(3) 外指示剂法 **KI—淀粉糊剂或试纸**



(4) 内指示剂法 **中性红不可逆指示剂**



4.滴定法

盐酸普鲁卡因 ChP (2015)

- 取本品约0.6g，精密称定，照永停滴定法（附录VIA），在15~25℃，用亚硝酸钠滴定液（0.1 mol/L）滴定。每1ml亚硝酸钠滴定液（0.1mol/L）相当于27.28mg的 $C_{13}H_{20}N_2O_2 \cdot HCl$ 。



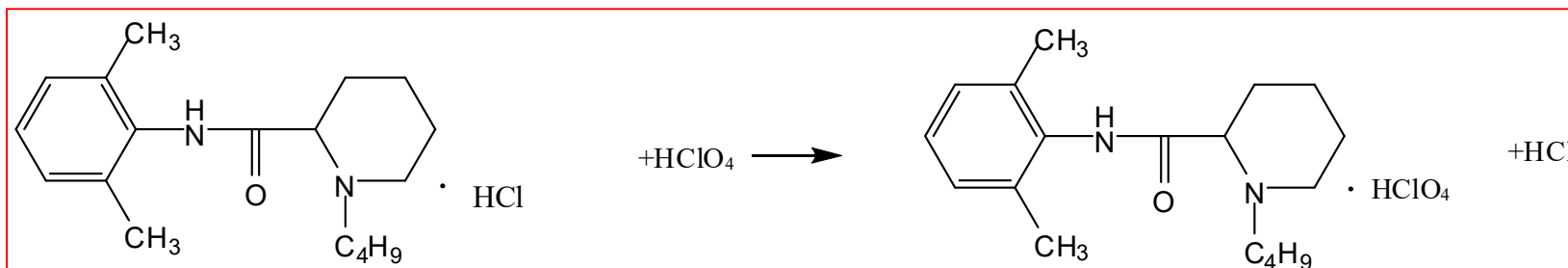
(二) 非水溶液滴定法

- 本类药物中的分子结构含有弱碱性氮原子，具弱碱性。
 - 溶 剂：冰醋酸与醋酐溶液
 - 滴定剂：高氯酸（0.1mol/L）
 - 指示滴定终点方法：电位法
- 加入适量醋酐的作用
 - 在冰醋酸与醋酐溶液中，醋酐解离生成的醋酐合乙酰氧离子比醋酐合质子的酸性还强，有利于布比卡因碱性的增强，使滴定突跃敏锐。



盐酸布比卡因的含量测定

- 取本品约0.2g，精密称定，加冰醋酸20ml与醋酐20ml溶解后，照电位滴定法，用高氯酸滴定液（0.1mol/L）滴定，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32.49mg的 $C_{18}H_{28}N_2O \cdot HCl$ 。
- 盐酸布比卡因非水滴定法反应过程如下：



盐酸丁卡因的含量测定

- **ChP2015**采用乙醇作为溶剂的非水溶液酸碱滴定法
- 取本品约0.25g，精密称定，加乙醇50ml振摇使溶解，加0.01 mol/L盐酸溶液5ml，摇匀，照电位滴定法，用氢氧化钠滴定液（0.1mol/L）滴定，两个突跃点体积的差作为滴定体积。每1ml氢氧化钠滴定液（0.1mol/L）相当于30.08mg的 $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2\cdot\text{HCl}$ 。



(三) 紫外分光光度法

紫外分光光度法测定注射用盐酸丁卡因的含量 (ChP2015)

- 取本品10瓶，分别加水溶解，并分别定量转移至250ml量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀，作为供试品溶液；另取盐酸丁卡因对照品，精密称定，加水溶解并定量稀释制成每1ml中约含0.2mg的溶液，作为对照品溶液。



- 精密量取供试品溶液与对照品溶液各3ml，分别置于100ml量瓶中，加盐酸溶液（1→200）5ml与磷酸盐缓冲液（pH 6.0）（取磷酸氢二钾20g与磷酸二氢钾80g，加水溶解并稀释至1000ml，用6mol/L磷酸溶液或10mol/L的氢氧化钾溶液调节pH至6.0）10ml，用水稀释至刻度，摇匀，照紫外-可见分光光度法，在310nm的波长处分别测定吸光度，计算每瓶的含量，求出平均含量，即得。



（四）高效液相色谱法

盐酸利多卡因注射液的含量测定（ChP2015）

色谱条件：

- 固定相：C₁₈
- 流动相：磷酸盐缓冲液（pH8.0）-乙腈（50：50）
- 检测波长：254nm

系统适用性试验：

- 理论板数按利多卡因峰计算不低于2000

测定法

- 精密量取本品适量（约相当于盐酸利多卡因100mg）置50ml量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀，精密量取20 μ l注入液相色谱仪，记录色谱图；另取利多卡因对照品约85mg，精密称定，置50ml量瓶中，加1mol/L盐酸溶液0.5ml使溶解，用流动相稀释至刻度，摇匀，同法测定。按外标法以峰面积计算，并乘以1.156，即得。



Thank you very much!



人民卫生出版社

PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE