



隨身課堂

《药物分析》

第十章 巴比妥及苯二氮草类镇静催眠药物的分析

药学系 药学教研室 刘燕老师



学习目标

- 1.掌握本类药物主要结构和理化性质。
- 2.掌握本类药物的鉴别试验。
- 3.掌握本类药物含量测定的银量法、溴量法、非水溶液滴定法、紫外分光光度法，熟悉本类药物的其他含量测定方法。
- 4.熟悉本类药物的特殊杂质检查方法。
- 5.了解本类药物的体内药物分析方法。

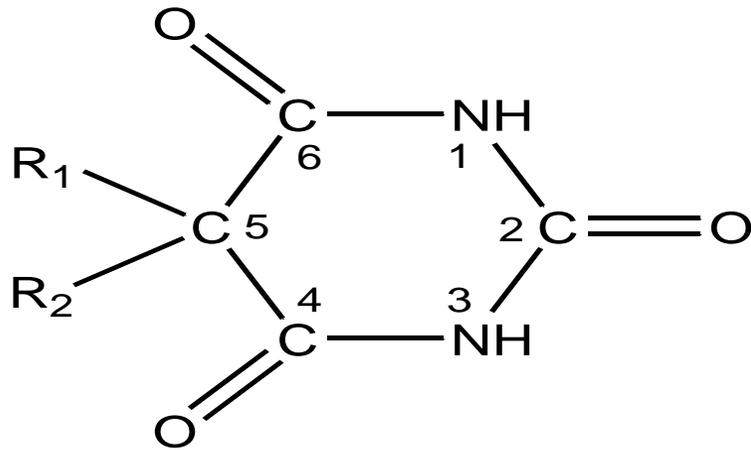


教学内容

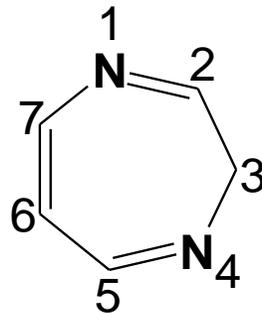
1. 典型巴比妥类药物的**结构特点**。
2. 巴比妥类药物的主要理化性质（**弱酸性**、水解反应、**与重金属离子的反应**、与香草醛反应、**紫外吸收光谱**、色谱行为、显微结晶）。
3. 巴比妥类药物的化学鉴别试验（**母核鉴别反应**、**特征取代基鉴别反应**）。
4. 巴比妥类药物的特殊杂质检查（苯巴比妥的特殊杂质检查、司可巴比妥钠的特殊杂质检查）。
5. 巴比妥类药物的含量测定的**银量法**、**溴量法**、酸碱滴定法、紫外分光光度法、高效液相色谱法。
6. 典型苯并二氮杂草类药物的**结构特点**及主要理化性质。
7. **苯并二氮杂草类药物**的化学鉴别试验、紫外和红外特征吸收光谱、色谱法。
8. 苯并二氮杂草类药物（氯氮草、三唑仑）的特殊杂质检查方法。
9. 苯并二氮杂草类药物的**非水溶液滴定法**、紫外分光光度法、高效液相色谱法。



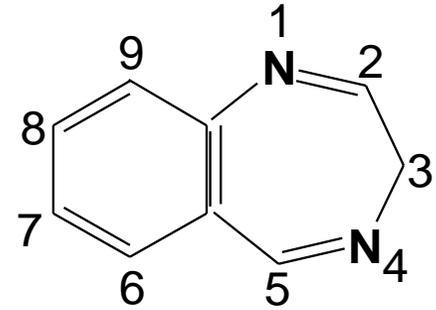
- **巴比妥类** 和 **苯二氮草类** 药物均为临床上广泛应用的镇静催眠药
- **结构独特，分析具有代表性**



巴比妥



1,4-二氮杂草



1,4-苯二氮杂草

- **易被滥用须监测，临床也多见抢救，常常需要快速鉴别与分析**



第一节

巴比妥类药物的分析



一
巴比妥类药物的结
构与性质

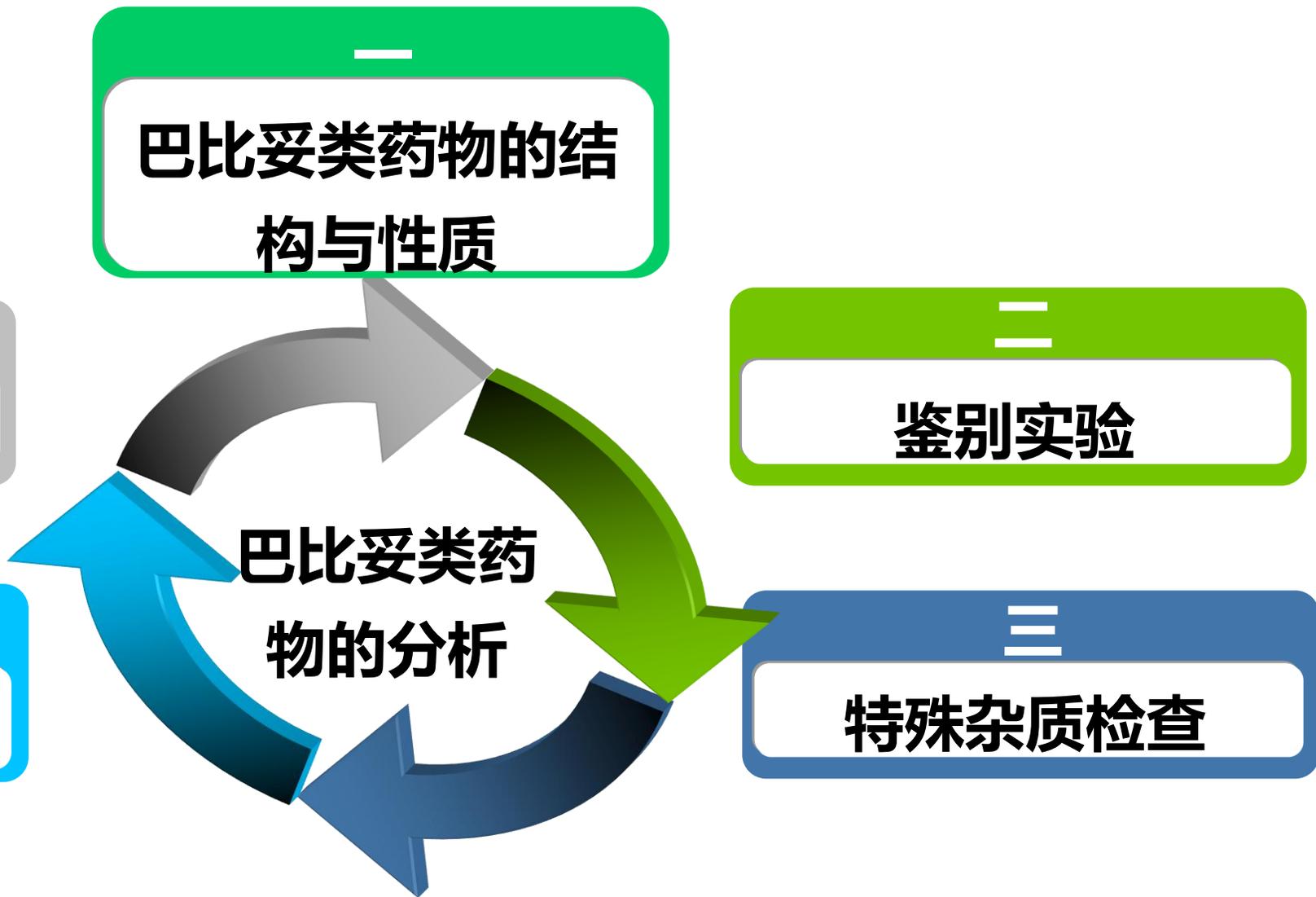
二
鉴别实验

三
特殊杂质检查

巴比妥类药
物的分析

四
含量测定

五
体内药物分析



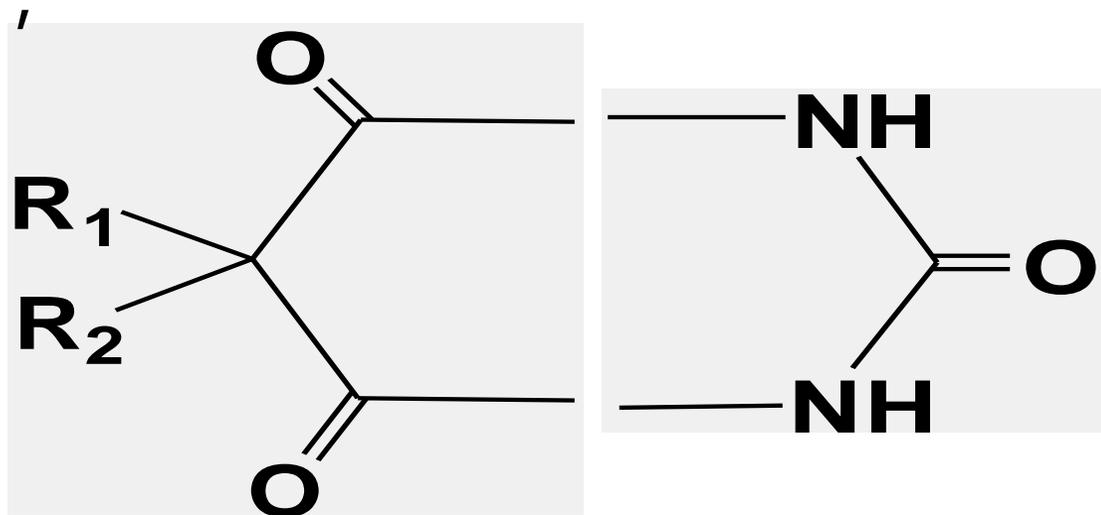
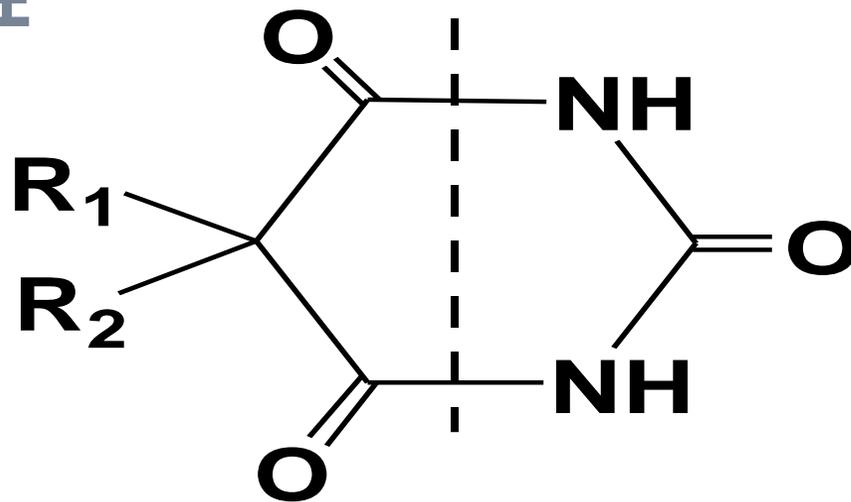
一、结构与性质

巴比妥类药物的基本结构通式和通性

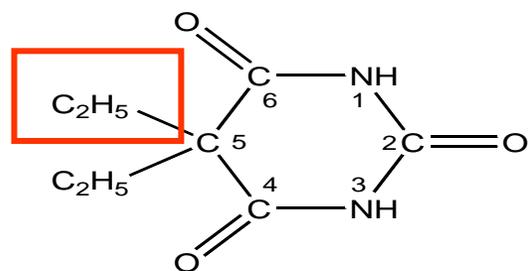
是**丙二酰脲**的衍生物，为环状酰脲的结构。

环状丙二酰脲的性质

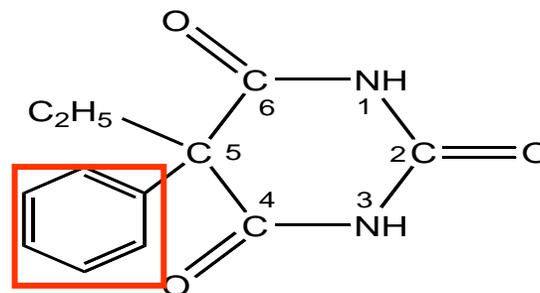
1. 弱酸性
(-CONHCO-)互变为烯醇型
2. 水解性→氨气↑
3. 与重金属离子的沉淀反应
4. 紫外吸收
5. 红外吸收



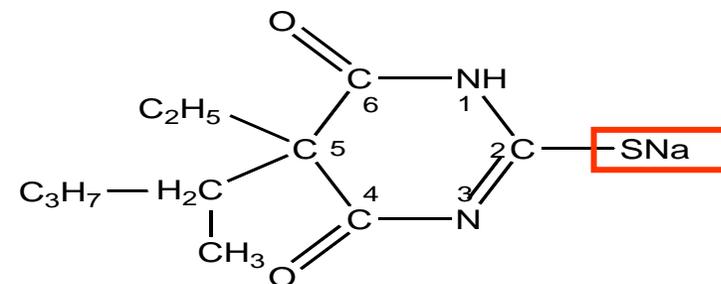
5,5-取代的巴比妥类药物 (表10-1)



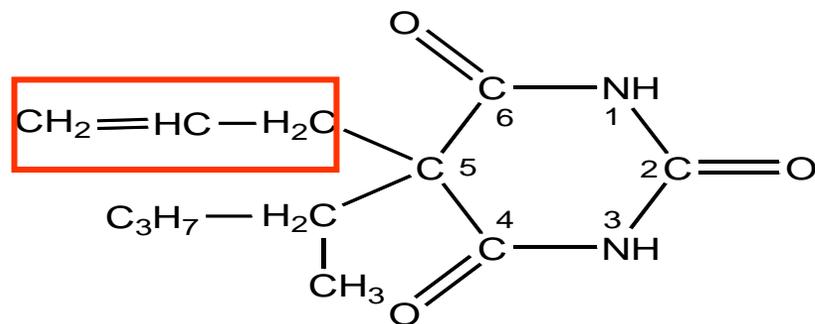
巴比妥



苯巴比妥



硫喷妥钠



司可巴比妥



巴比妥类药物的主要理化性质

巴比妥类药物通常为白色结晶或结晶性粉末，具有一定的熔点在空气中稳定，加热多能升华

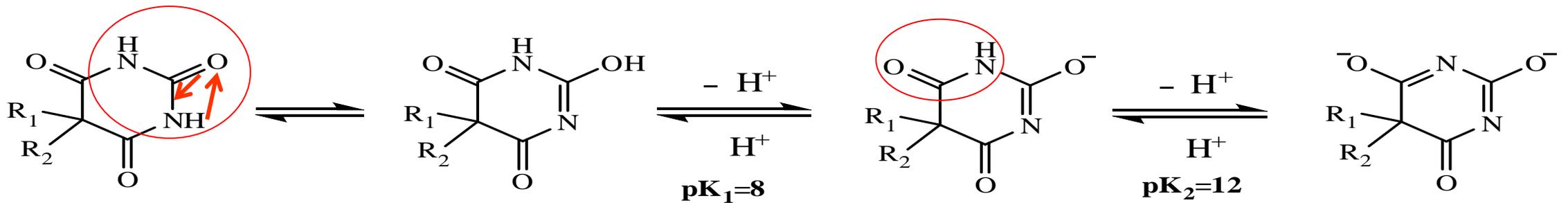
该类药物一般微溶或极微溶于水，易溶于乙醇等有机溶剂；其**钠盐**则易溶于水，而难溶于有机溶剂

六元环结构比较稳定，遇酸、氧化剂、还原剂时，一般情况下环不会破裂，但**与碱液共沸**时则**水解开环**，并产生氨气

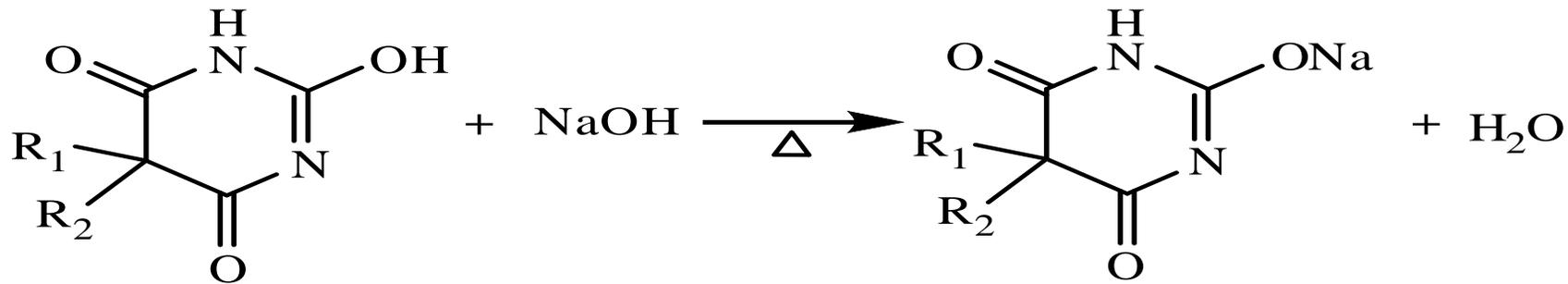


1.弱酸性

- 巴比妥类药物分子结构中都有**1,3-丙二酰脲**（二酰亚胺： $-\text{CONHCO}-$ ）基团，能发生**酮式**和**烯醇式**的互变异构，在水溶液中可以发生二级电离。

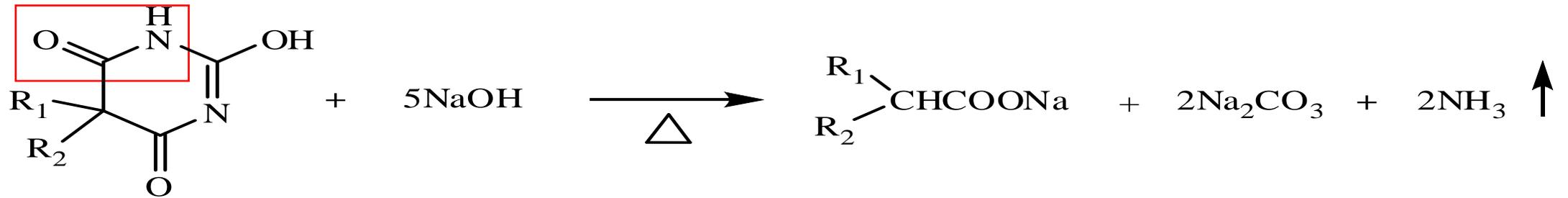


- 由于本类药物具有弱酸性 ($pK_a 7.3 \sim 8.4$)，故可与强碱反应生成水溶性的盐类，一般为钠盐



2. 水解反应

巴比妥类药物的分子结构中含有丙二酰脲结构，与碱液共沸即水解，释放出**氨气**，可使红色石蕊试纸变蓝。

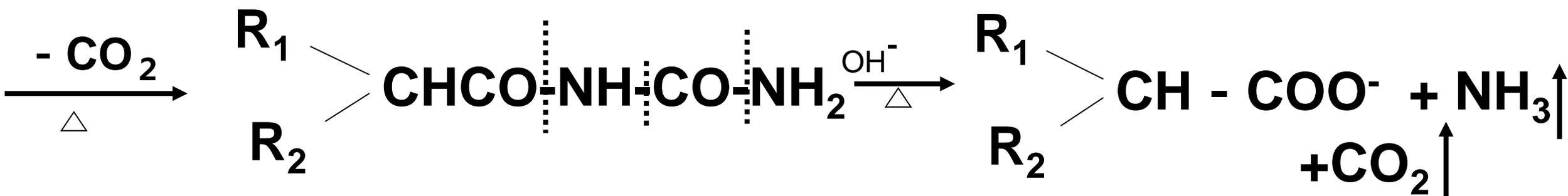
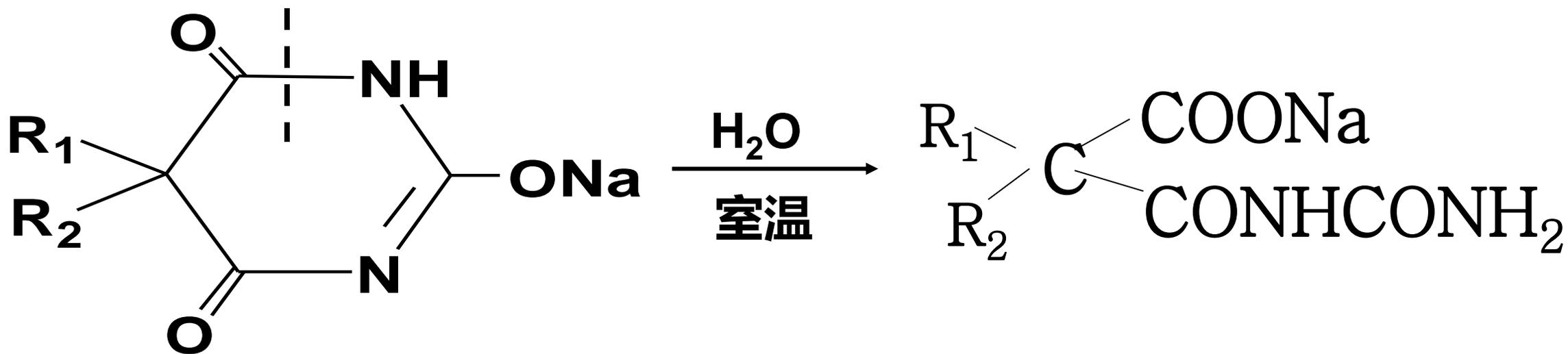


- 此反应被用于鉴别异戊巴比妥和巴比妥

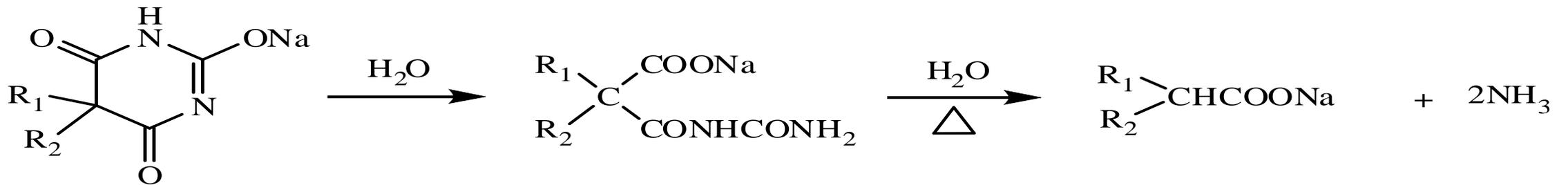
➤ **示例 JP15 巴比妥的鉴别：取巴比妥0.2g，加氢氧化钠试液10ml，加热煮沸，则产生具氨臭的气体，可使红色石蕊试纸变蓝。**



水解过程



- 本类药物的钠盐，在吸湿的情况下也能发生水解。一般情况下，在室温和pH10以下水解较慢；pH11以上随着碱度的增加水解速度加快。



3.与金属离子的反应

- 巴比妥类药物分子结构中含有丙二酰脲（ $-\text{CONHCONHCO}-$ ）基团，在合适pH的溶液中，可与某些重金属离子，如 Ag^+ 、 Cu^{2+} 、 Co^{2+} 、 Hg^{2+} 等反应呈色或产生有色沉淀

(1) 与银盐的反应

(2) 与铜盐的反应

(3) 与钴盐的反应

(4) 与汞盐的反应

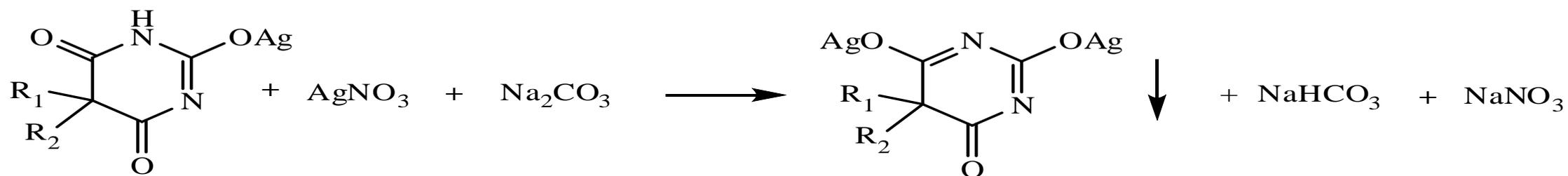
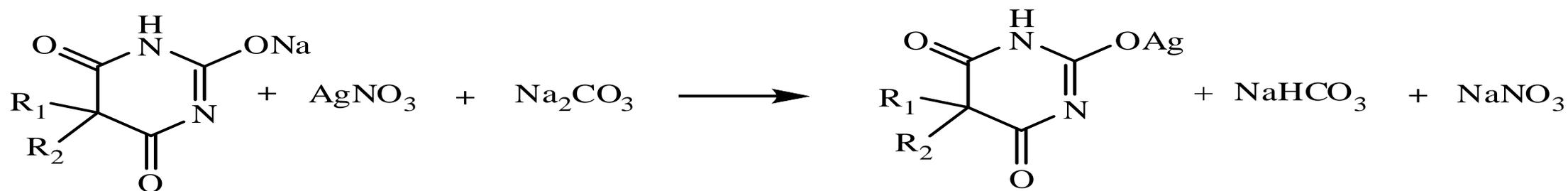


(1) 与银盐的反应

丙二酰脲类的反应

- 在碳酸钠溶液中，生成钠盐而溶解，
- 再与硝酸银溶液反应，首先生成**可溶性的一银盐**，加入过量的硝酸银溶液，则生成**难溶性的二银盐**白色沉淀。





• 此反应可用于本类药物的鉴别和含量测定

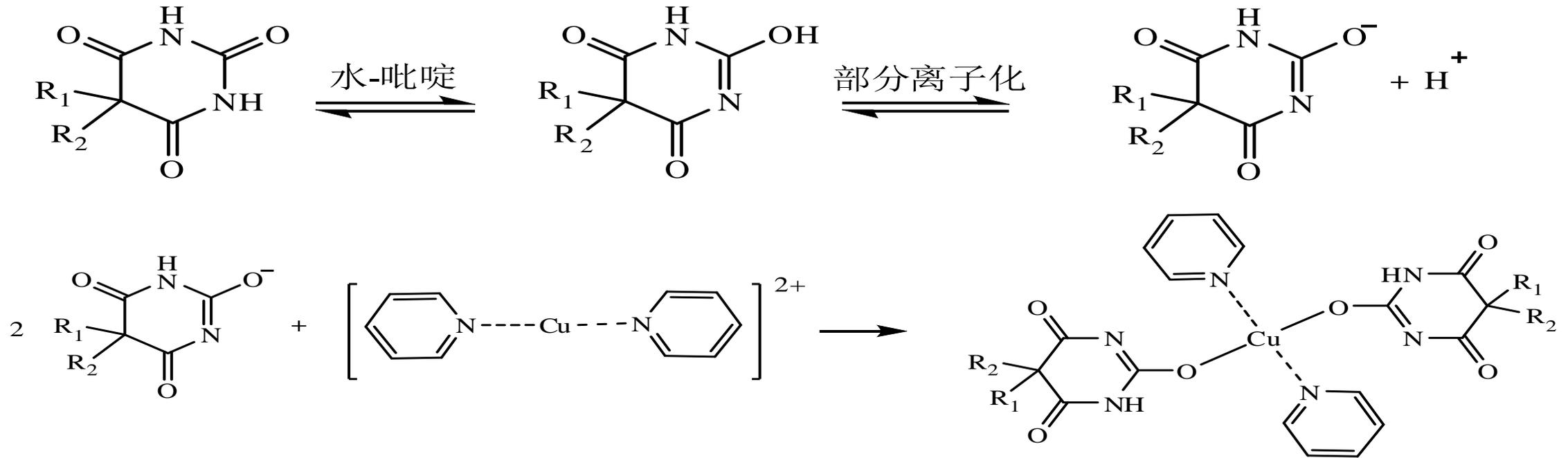


(2) 与铜盐的反应

丙二酰脲类的反应

- 在吡啶溶液中生成的烯醇式异构体
- 与铜吡啶试液反应，形成稳定的**配位化合物**，即：产生类似双缩脲的呈色反应



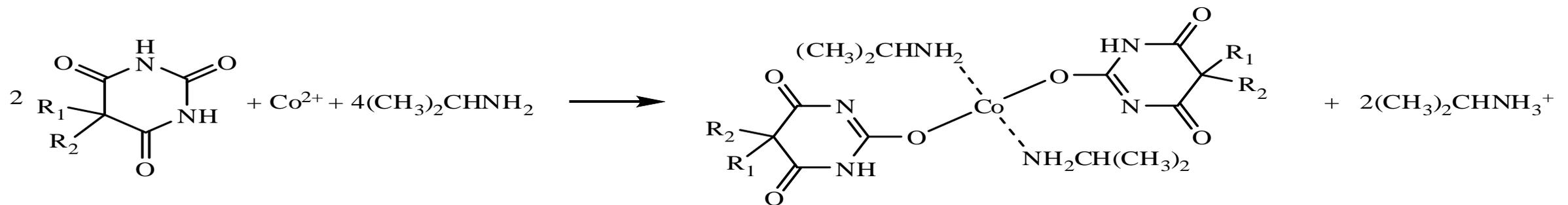


- 巴比妥类药物 呈 **紫堇色** 或 生成紫色沉淀
- 含硫巴比妥类药物则呈现**绿色沉淀**
- 可以用来区别巴比妥类和硫代巴比妥类药物。



(3) 与钴盐的反应 (与铜盐类同)

- 巴比妥类药物在碱性溶液中可与钴盐反应，生成紫堇色配位化合物

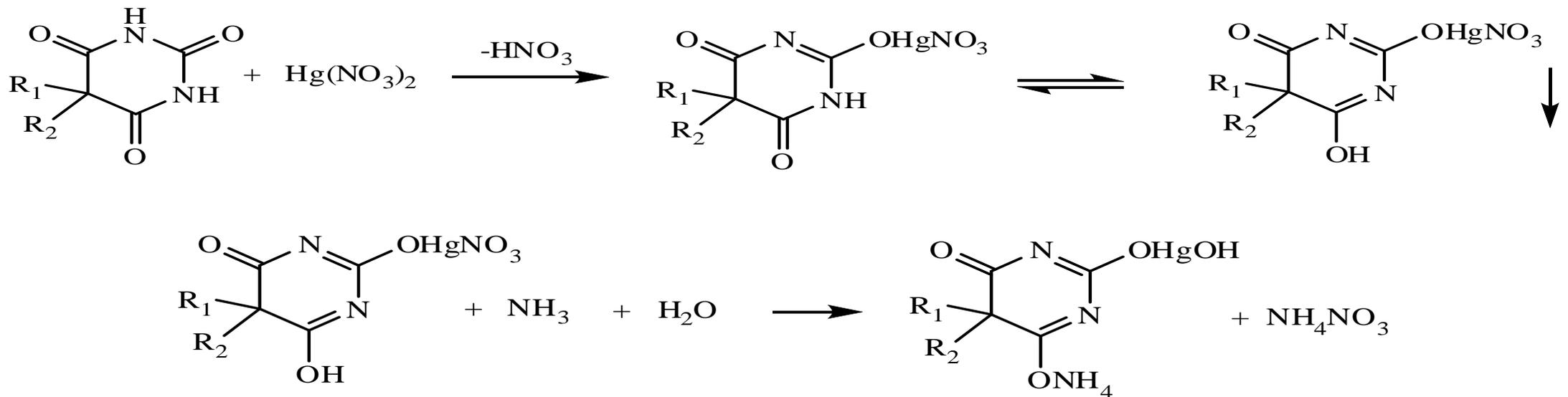


- 注意事项：反应在无水条件下比较灵敏，生成的有色产物也较稳定，因此，所用试剂应不含水分。



(4) 与汞盐的反应 (与银盐类同)

- 巴比妥类药物与硝酸汞或氯化汞溶液反应，可生成**白色**汞盐沉淀，此沉淀能在**氨试液**中**溶解**



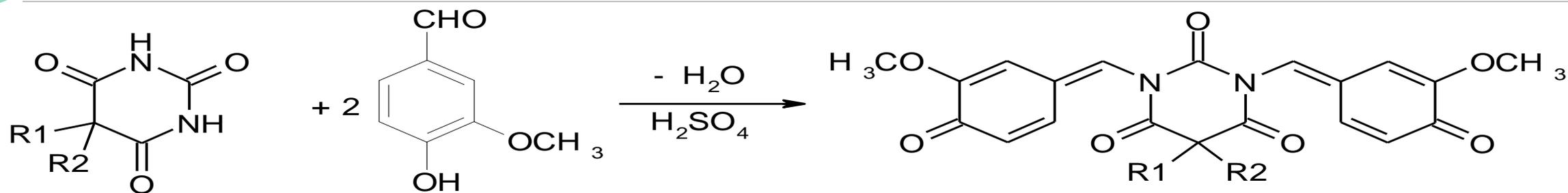
4.与香草醛 (Vanillin)的反应

- 巴比妥类药物分子结构中，丙二酰脲基团中的氢比较活泼，可与香草醛在**浓硫酸**存在下发生缩合反应，生成棕红色产物

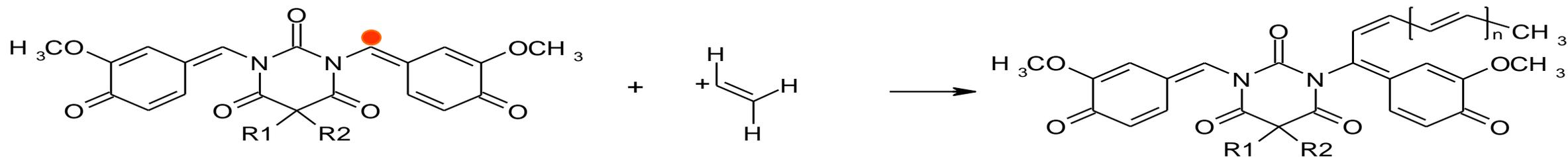
示例 BP2009戊巴比妥的鉴别：

- 取戊巴比妥10mg，加香草醛10mg，再加硫酸2ml，混合后，水浴加热2分钟，显棕红色。放冷，小心加入**乙醇**5ml，颜色先变为紫色，再变为蓝色。





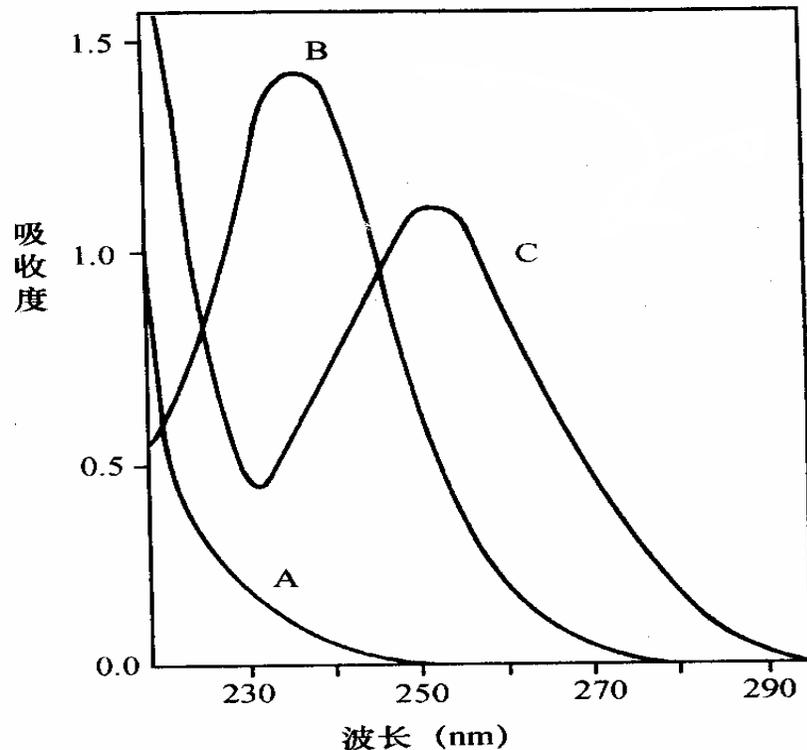
加入**乙醇**后，其反应产物可转变为：



乙醇分子内脱水为乙烯



5. 紫外吸收光谱特征

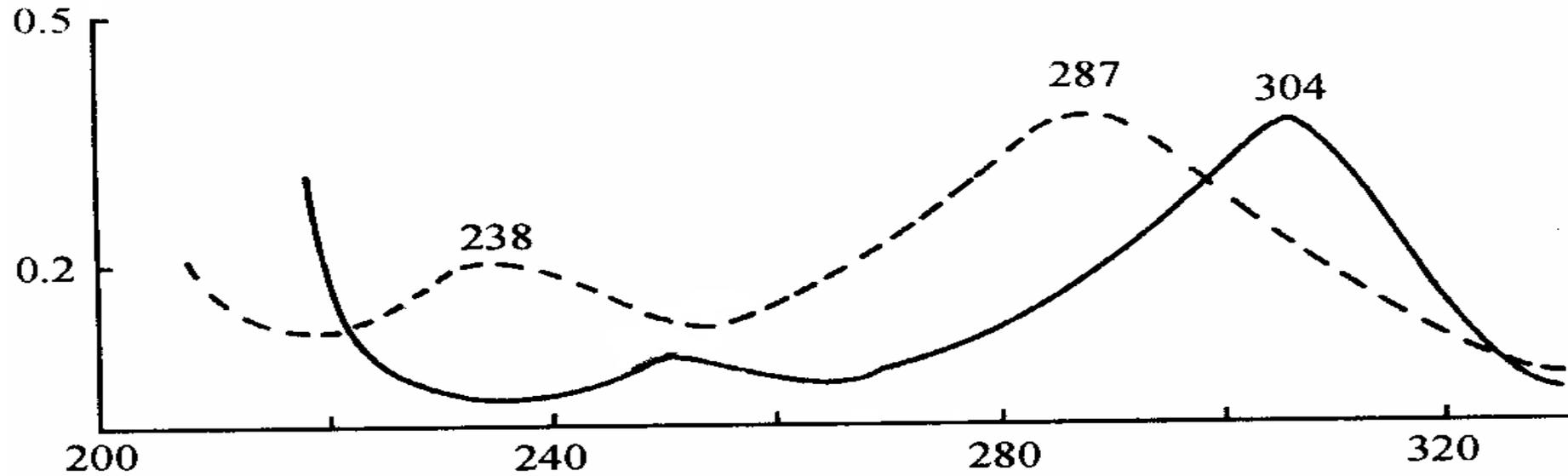


A. 0.05 mol/L H_2SO_4 溶液（未电离）；
 B. pH 9.9 缓冲溶液（一级电离）；
 C. 0.1 mol/L NaOH 溶液（二级电离）

巴比妥类药物的紫外吸收光谱
 (2.5 mg/100ml)

- 紫外吸收光谱特征和其电离的程度有关





磺噴妥的紫外吸收光谱

---:0.1mol/L HCl溶液；

—:0.1mol/L NaOH溶液



6. 薄层色谱行为特征

- 巴比妥类药物具有不同的分子结构，则其色谱行为亦不同，可用于鉴别，常用方法主要为**薄层色谱法**。

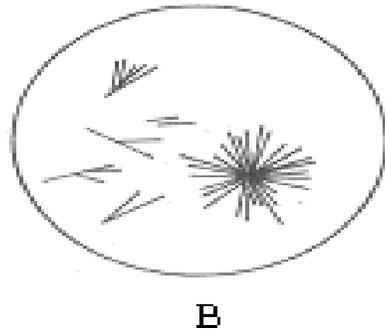
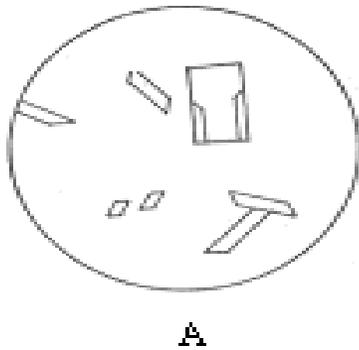
示例 BP2010中苯巴比妥的TLC鉴别：

取苯巴比妥供试品和对照品各适量，分别加乙醇制成每1ml中约含1mg的溶液作为供试品和对照品溶液，各量取10 μ l，分别点于同一硅胶GF₂₅₄薄层板上，以三氯甲烷-乙醇-浓氨水（80：15：5）混合液的下层溶液为展开剂，展开后，晾干，立即于254nm紫外光下检测。供试品溶液的主斑点位置和大小与对照品溶液的均一致。



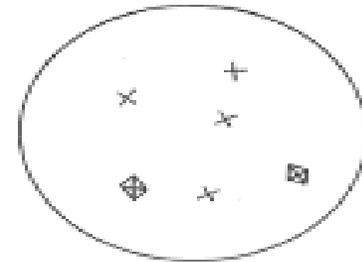
7. 显微结晶

- 巴比妥类药物可根据其本身或与某种试剂的反应产物的特殊晶型，进行同类或不同类药物的鉴别



巴比妥与苯巴比妥的显微结晶示意图

A. 巴比妥结晶(长方形)； B. 苯巴比妥结晶(花瓣状)



巴比妥铜吡啶结晶示意图

(十字形，菱形)



二、鉴别试验

(一) 丙二酰脲反应

- 巴比妥类药物**母核**的反应



银盐反
应



铜盐反
应



(二) 特征基团反应

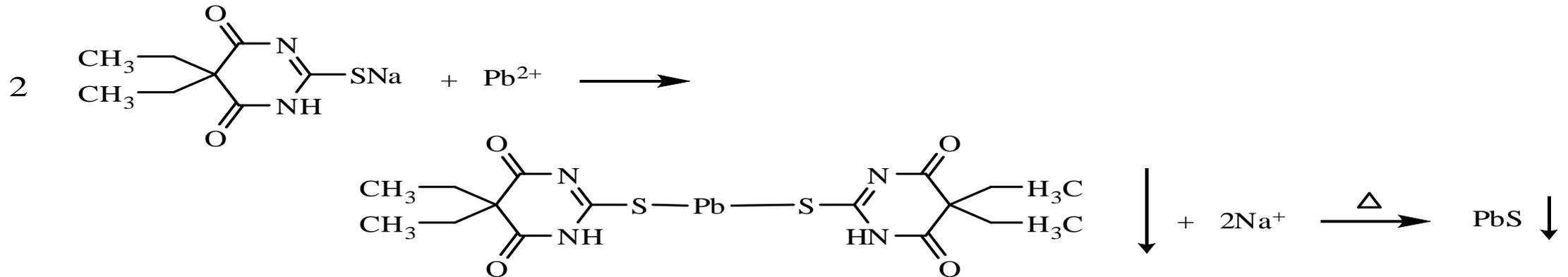
1. 硫元素的鉴别试验

- 硫代巴比妥类分子中含有硫元素，可在氢氧化钠溶液中与铅离子反应生成白色沉淀；加热后，沉淀转变为硫化铅。本试验可供硫代巴比妥类与巴比妥类的区别。

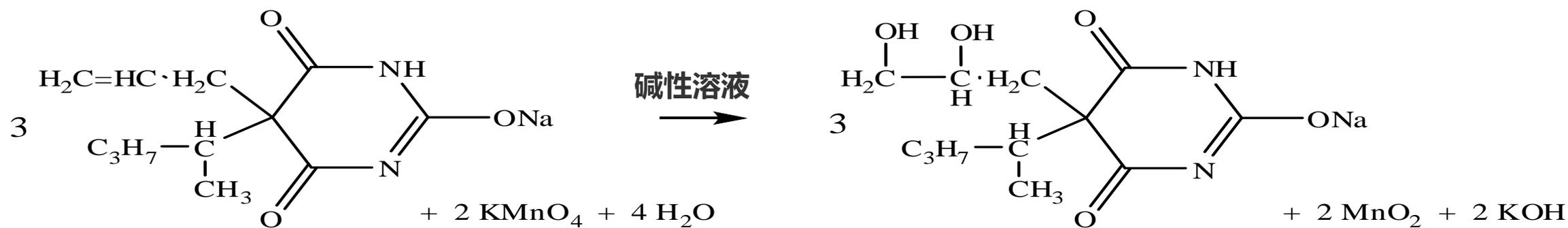


示例 ChP2020 注射用硫喷妥钠的鉴别

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



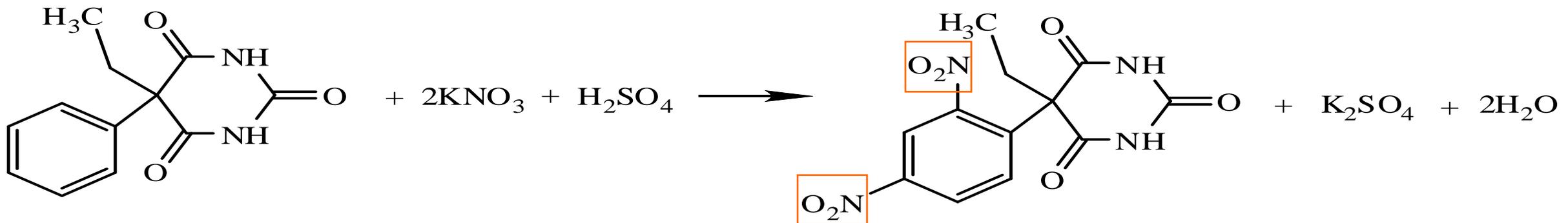
(2) 与高锰酸钾的反应



3. 苯巴比妥 (芳环) 的鉴别试验 (大部分是属于芳环的显色反应)

(1) 硝化反应

- 苯巴比妥：与硝酸钾及硫酸共热，可发生硝基化反应，生成黄色硝基化合物



(2) 与硫酸-亚硝酸钠的反应

- **苯巴比妥**：与硫酸-亚硝酸钠反应，生成橙黄色产物，并随即变为橙红色。
- 可区别 **苯巴比妥**和其他不含芳环巴比妥

示例 ChP2020中苯巴比妥的鉴别

- 取本品约10mg，加硫酸2滴与亚硝酸钠约5mg，混合，即显橙黄色，随即转橙红色。



(3) 与甲醛-硫酸的反应

- 苯巴比妥与甲醛-硫酸反应，生成玫瑰红色产物。巴比妥和其他无芳环取代的巴比妥类药物无此反应，可供区别

示例6 ChP2020中苯巴比妥的鉴别（2）

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



(三) 特征熔点

巴比妥类药物本身可直接用药典方法（通则0612）测定熔点；

其钠盐可利用它易溶于水，酸化后析出相应的游离巴比妥母体，将沉淀过滤干燥后，测定熔点；

也可以将本类药物制备成衍生物后，再测定衍生物的熔点。



示例 ChP2020中司可巴比妥钠的熔点鉴别法

取本品1 g, 加水100ml 溶解后, 加稀醋酸5ml 强力搅拌, 再加水200ml, 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(通则0612 第一法), 熔点约为97°C。



(四) 吸收光谱特征

- 标准图谱对照法：
- 比较样品与对照品的红外光谱图是否一致
- ChP2020收载的巴比妥类药物，几乎都采用本法作为鉴别方法。



苯巴比妥的**药典鉴别方法**（2020年版）

- （1）取本品约10mg,加**硫酸**2滴与**亚硝酸钠**约5mg,混合，即显橙黄色，随即转橙红色。
- （2）取本品约50mg，置试管中，加**甲醛**试液1ml，加热煮沸，冷却，沿管壁缓缓加**硫酸**0.5ml，使成两液层，置水浴中加热，**交界面**显**玫瑰红色**。
- （3）本品的红外光吸收图谱应与对照的图谱（光谱集227图）一致。
- （4）本品显丙二酰脲类的鉴别反应（**通则 0301**）。



丙二酰脲类鉴别方法：

(1) 取供试品约0.1g，加碳酸钠试液1ml与水10ml，振摇2分钟，滤过，滤液中逐滴加**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。

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



鉴别反应小结

(一) 丙二酰脲反应 (丙二酰脲母核) : 银盐反应、铜吡啶试液反应

(二) 特征基团反应

1. 硫元素的鉴别试验

+ 醋酸铅试液 → 白色沉淀 → 加热后 → 黑色

2. 司可巴比妥 (不饱和取代基) 的鉴别试验

+ 碘、溴或高锰酸钾褪色 (氧化或加成)

3. 苯巴比妥 (芳环) 的鉴别试验 (大部分是属于芳环的显色反应

(1) + 硝酸钾及硫酸 → 黄色硝基化合物

(2) + 甲醛 - 硫酸 → 玫瑰红色环

(3) + 亚硝酸钠 - 硫酸 → 橙黄色的亚硝基化合物 → 橙红色

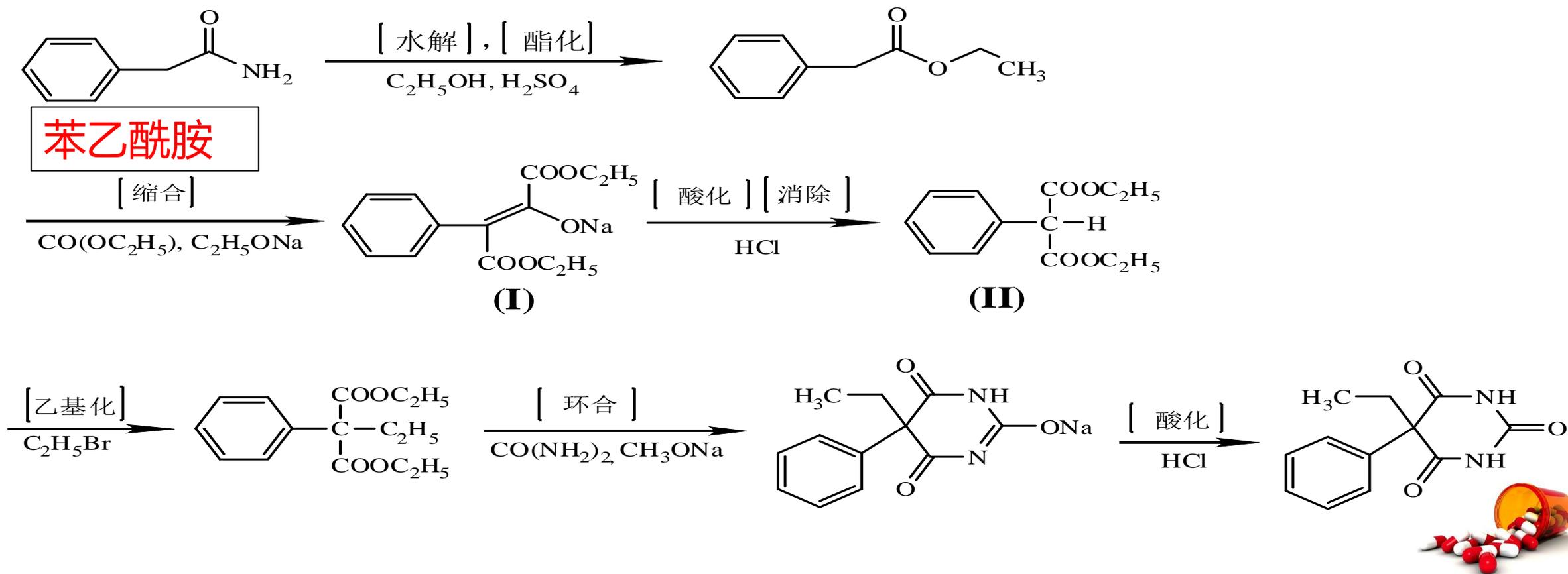
(三) 测熔点 (四) 红外、紫外



三、特殊杂质检查

(一) 苯巴比妥的特殊杂质检查

苯巴比妥的合成工艺



(一) 苯巴比妥的特殊杂质检查

1. 酸度

- 控制副产物苯基丙二酰脲
- 在一定量供试品水溶液中，加入甲基橙指示剂不得显红色

2. 乙醇溶液的澄清度

- 控制中间体 I 杂质的量
- 利用杂质在乙醇溶液中溶解度小

4. 有关物质

- HPLC法

3. 中性或碱性物质

- 控制杂质中间体 I 的副产物2-苯基丁酰胺、2-苯基顶酰脲或分解产物
- 杂质不溶于氢氧化钠试液但溶于乙醚，而苯巴比妥溶于氢氧化钠试液



【检查】酸度 取本品0.20g, 加水10ml, 煮沸搅拌1 分钟, 放冷, 滤过, 取滤液5ml, 加甲基橙指示液1 滴, 不得显红色。

乙醇溶液的澄清度 取本品1.0, 加乙醇5ml, 加热回流3 分钟, 溶液应澄清。

有关物质 照高效液相色谱法 (通则0512) 测定。

供试品溶液 取本品, 加流动相溶解并稀释制成每1ml中约含1mg 的溶液。

对照溶液 精密量取供试品溶液1ml, 置200ml 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀。

色谱条件 用辛基硅烷键合硅胶为填充剂; 以乙腈 - 水(25 : 75) 为流动相; 检测波长为220nm; 进样体积5 μ l 。

系统适用性要求 理论板数按苯巴比妥峰计算不低于2500, 苯巴比妥峰与相邻杂质峰之间的分离度应符合要求。

测定法 精密量取供试品溶液与对照溶液, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图至主成分峰保留时间的3 倍。

限度 供试品溶液色谱图中如有杂质峰, 单个杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积(0.5%), 各杂质峰面积的和不得大于对照溶液主峰面积的2倍 (1.0%) 。

【检查】

中性或碱性物质 取本品1.0g, 置分液漏斗中, 加氢氧化钠试液10ml 溶解后, 加水5ml 与乙醚25ml, 振摇1分钟, 分取**醚层**, 用水振摇洗涤3次, 每次5ml, 取醚液经干燥滤纸滤过, 滤液置105°C 恒重的蒸发皿中, **蒸干**, 在105°C干燥1小时, **遗留残渣**不得过3mg。

干燥失重 取本品, 在105°C干燥至恒重, 减失重量不得过1.0% (通则0831)。

炽灼残渣不得过0.1%(通则0841)。



(二) 司可巴比妥钠的特殊杂质检查

1. 溶液的澄清度

检查水不溶性杂质

2. 中性或碱性物质(原理同苯巴比妥)

控制合成过程中的副产物，如酰脲、酰胺类物质

杂质不溶于氢氧化钠，而溶于乙醚



四、含量測定

(一) 銀量法

- 滴定剂：硝酸银（1：1反应）
- 溶剂：甲醇+3%无水碳酸钠
- 终点指示：电位法指示（Ag电极为指示电极，玻璃电极为参比电极）



示例 ChP2020中异戊巴比妥的银量测定法

取本品约0.2g，精密称定，加甲醇40ml使溶解，再加新鲜配制的3%无水碳酸钠溶液15ml，照电位滴定法，用硝酸银滴定液（0.1mol/L）滴定，即得。每1ml硝酸银滴定液（0.1mol/L）相当于22.63mg的 $C_{11}H_{18}N_2O_3$ 。

注意事项

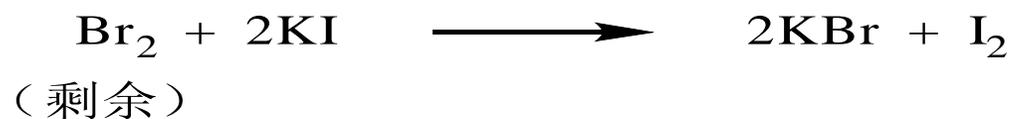
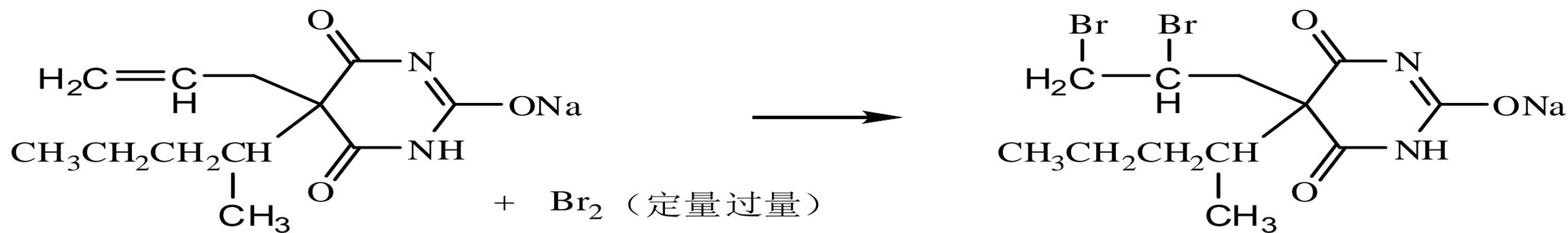
- ① 无水碳酸钠应新鲜配制；
- ② $AgNO_3$ 滴定液应新鲜配制；
- ③ 银电极使用前应进行处理



(二) 溴量法

**5位取代基中含有不饱和双键的巴比妥类药物，其不饱和键可与溴定量地发生加成反应，可采用溴量法进行含量测定
可用于司可巴比妥钠原料药及其胶囊的测定**





示例 ChP2020中司可巴比妥钠的溴量测定法

取本品约0.1g，精密称定，置250ml碘瓶中，加水10ml，振摇使溶解，精密加入溴滴定液（0.05mol/L）25ml，再加盐酸5ml，立即密塞并振摇1分钟，在暗处静置15分钟后，注意微开瓶塞，加入碘化钾试液10ml，立即密塞，摇匀后，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，继续滴定至蓝色消失，并将滴定结果用空白试验校正，即得。每1ml溴滴定液（0.05mol/L）相当于13.01mg $C_{12}H_{17}N_2NaO_3$ 。

公式？

$$\text{含量}\% = \frac{(V - V_0)FT}{W} \times 100\%$$



(三) 酸碱滴定法 (略)

- 巴比妥类药物呈弱酸性 ($pK_a 7.3 \sim 8.4$)，可作为一元酸以标准碱液直接滴定，在以下**三种介质**中进行。

1. 在水-乙醇混合溶剂中的滴定

- 溶剂：水-乙醇
- 滴定剂：NaOH
- 指示剂：麝香草酚酞

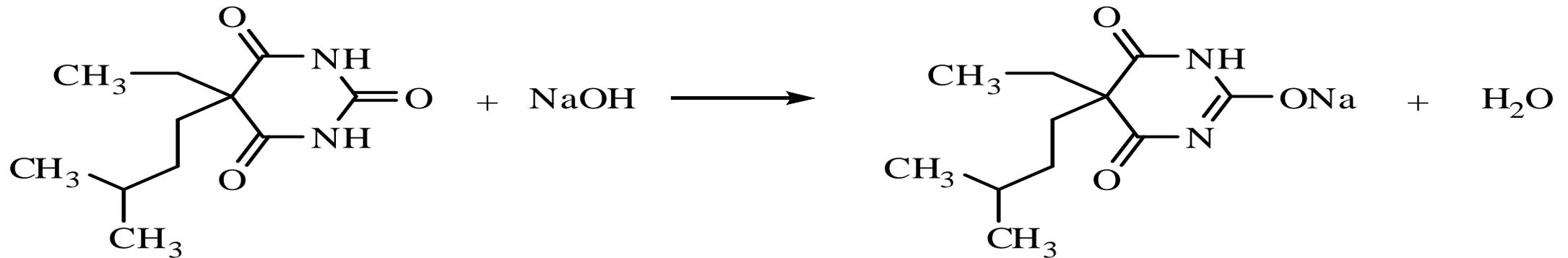


➤ 此法终点判断较困难



示例 异戊巴比妥 醇溶液的滴定测定法

- 取本品约0.5g，精密称定，加乙醇20ml溶解后，加麝香草酚酞指示剂6滴，用氢氧化钠滴定液（0.1mol/L）滴定，并将滴定结果用空白试验校正，即得。每1ml氢氧化钠滴定液（0.1mol/L）相当于22.63mg的 $C_{11}H_{18}N_2O_3$ 。



可采用电位法指示终点



2. 在胶束水溶液中的滴定

- 在有机表面活性剂的胶束水溶液进行滴定，用指示剂或电位法指示终点
- 表面活性剂能改变巴比妥类药物的离解平衡，使滴定终点变化明显
- 溶剂：表面活性剂（溴化十六烷基三甲基苄胺或氯化四癸基二甲基苄胺）水溶液
- 滴定剂：NaOH滴定液
- 指示剂：麝香草酚酞



3. 在非水溶液中的滴定（非水酸量法）

- 巴比妥类药物在非水溶剂中的**酸性**增强，用碱性标准溶液滴定时，终点较为明显
 - **溶剂**：二甲基甲酰胺、甲醇、丙酮、三氯甲烷、无水乙醇、苯、吡啶、甲醇-苯（15：85）、乙醇-三氯甲烷（1：10）等
 - **滴定剂**：甲醇钾（钠）的甲醇或乙醇溶液、氢氧化四丁基胺的氯苯溶液等
 - **指示剂**：麝香草酚蓝，也可用玻璃-甘汞电极以电位法指示终点



(四) 紫外分光光度法 (略)

- 在酸性介质中几乎不电离，无明显的紫外吸收
- 在碱性介质中电离为具有紫外吸收特征的结构

药物	λ_{\max} (nm)	$E_{1cm}^{1\%}$	溶剂
巴比妥	240	538	pH9.4硼酸盐缓冲液
苯巴比妥	253	320	NaOH液 (0.1mol/L)
戊巴比妥	240	310	pH9.4硼酸盐缓冲液
异戊巴比妥	238	440	pH9.4硼酸盐缓冲液
司可巴比妥	240	330	pH9.4硼酸盐缓冲液
硫喷妥	305	930	pH9.4硼酸盐缓冲液



1. 直接测定的紫外分光光度法

- 将供试品溶解后，直接测定对照品溶液和供试品溶液的吸光度（ λ_{\max} 处），再计算药物的含量



示例 ChP2020注射用硫喷妥钠的含量测定

取装量差异项下的内容物，混合均匀，精密称取适量（约相当于硫喷妥钠0.25g），置500 ml量瓶中，加水使硫喷妥钠溶解并稀释至刻度，摇匀，精密量取适量，用0.4%氢氧化钠溶液定量稀释制成每1ml中约含有5 μ g的溶液，照紫外-可见分光光度法，在304 nm波长处测定吸光度；另取硫喷妥钠对照品，精密称定，加0.4%氢氧化钠溶液并定量稀释制成每1ml中约含有5 μ g的溶液，同法测定。根据每支的平均装量计算。每1mg硫喷妥相当于**1.091 (P281)**mg的C₁₁H₁₇N₂NaS。



2. 提取分离后的紫外分光光度法

- 巴比妥类药物具有弱酸性，在三氯甲烷等有机溶剂中易溶，而其钠盐在水中易溶



(五) 高效液相色谱法

- 适用于复方制剂中巴比妥类药物的分析

示例 ChP2020苯巴比妥片的含量采用HPLC测定

- **色谱条件与系统适用性实验 用辛烷基硅烷建和硅胶为填充剂；以乙腈-水（30：70）为流动相；检测波长为220nm。理论塔板数按苯巴比妥峰计算不低于2000，苯巴比妥与相邻色谱峰的分度应符合要求。**



測定法

取本品20片，精密稱定，研細，精密稱取適量（約相當於苯巴比妥30mg），置50ml容量瓶中，加流動相適量，超聲處理20分鐘使苯巴比妥溶解，放冷，用流動相稀釋至刻度，搖勻，濾過，精密量取濾液1ml，置10ml量瓶中，用流動相稀釋至刻度，搖勻，精密量取10 μ l，注入液相色譜儀，記錄色譜圖。另取苯巴比妥對照品，精密稱定，加流動相溶解並定量稀釋製成每1ml中約含苯巴比妥60 μ g的溶液，同法測定，按**外標法**以峰面積計算，即得。

公式？

$$\text{標示量}\% = \frac{C_R \times \frac{A_X}{A_R} \times D \times \text{平均片重}}{\text{標示量}} \times 100\%$$



含量測定方法小結

(一) 銀量法(異戊巴比妥)

(二) 溴量法(司可巴比妥)

(三) 酸鹼滴定法(三種介質中)

(四) 紫外分光光度法

1. 直接紫外分光光度法(對照品比較法, 硫噴妥鈉P281)

2. 提取分離後的紫外分光光度法

(五) 高效液相色譜法(苯巴比妥片---外標法)



五、巴比妥类药物的体内药物分析(略)

(1) RPLC

(2) HPCE

(3) GC-MS

(4) LC-MS



第二节

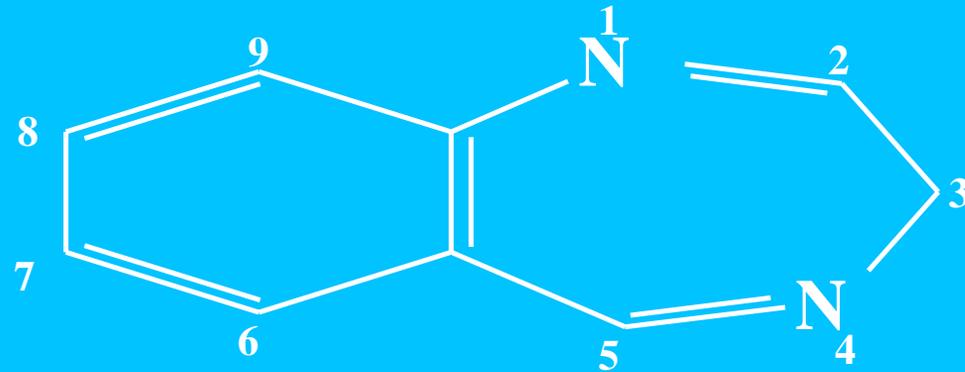
苯二氮草类药物的分析



一、苯二氮草类药物的结构与性质

(一) 典型药物

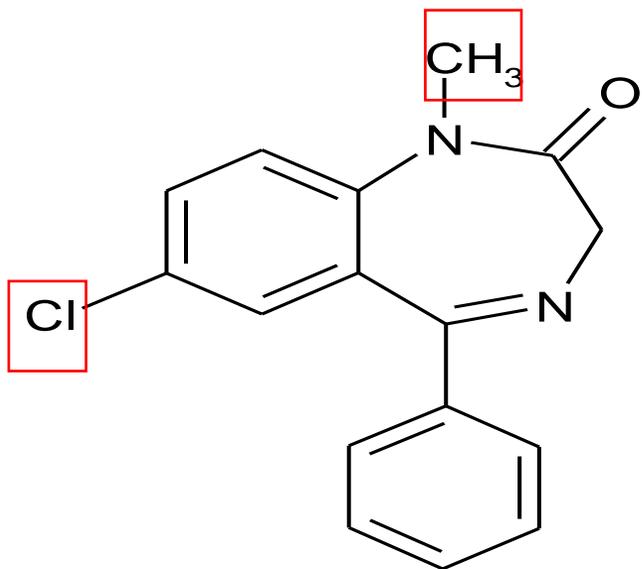
- 苯环与七元含氮杂环稠合而成的有机药物



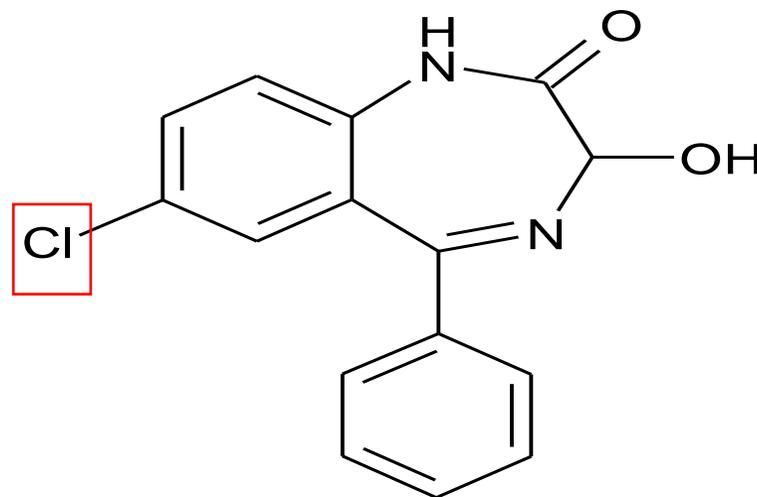
1,4-苯二氮草



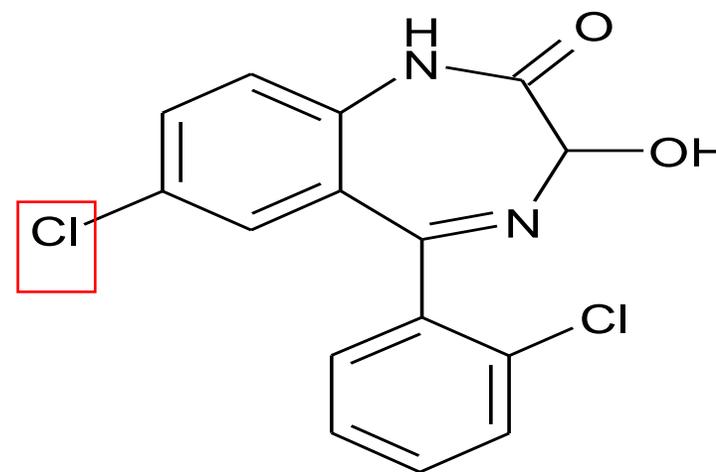
典型藥物：表10-3



地西洋

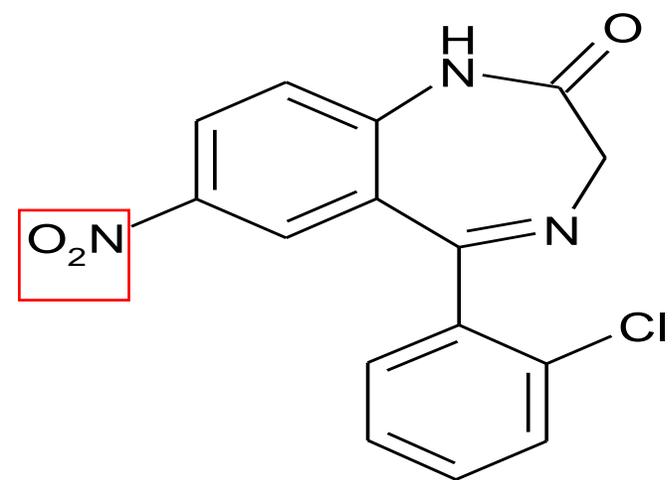


奧沙西洋

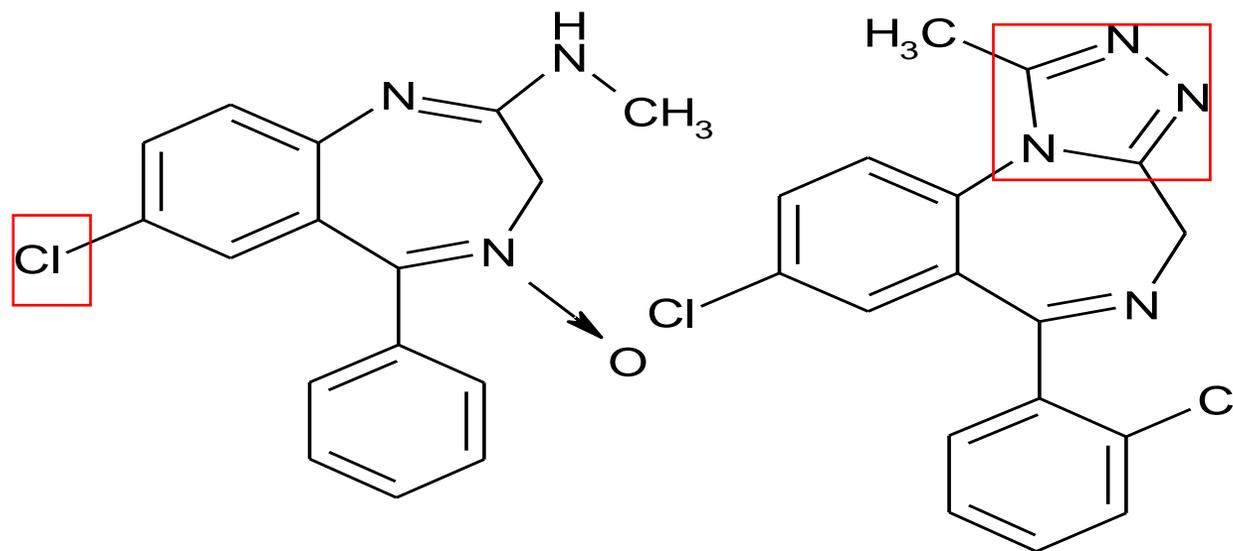


勞拉西洋



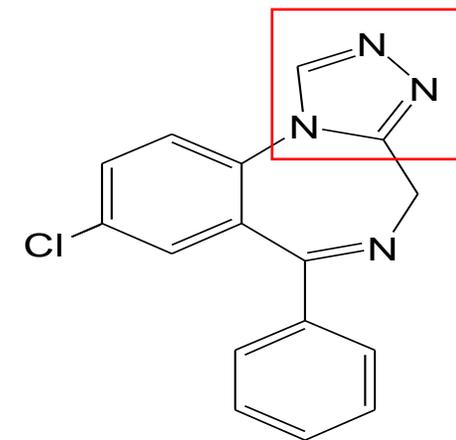


氯硝西泮



氯氮草

三唑仑



艾司唑仑(舒乐安定)



(二) 主要理化性质

苯二氮草类 药物通常为白色或微黄色结晶或结晶性粉末；具有一定的熔点

该类药物一般不溶或极微溶于水，溶于丙酮或三氯甲烷等有机溶剂



1. 弱碱性

药物结构中**二氮草环**为七元环，环上的**氮**原子具有碱性，苯基的取代使碱性降低

药物的 **pK_a** 值与其在**不同pH**时主要是以何种分子形式（质子化分子 H_2A^+ ；中性分子 HA ；去质子化分子 A^- ）存在有关



2.水解性

在强酸性溶液中，本类药物可水解，形成相应的二苯甲酮衍生物（主要有关物质）

3.UV吸收特性

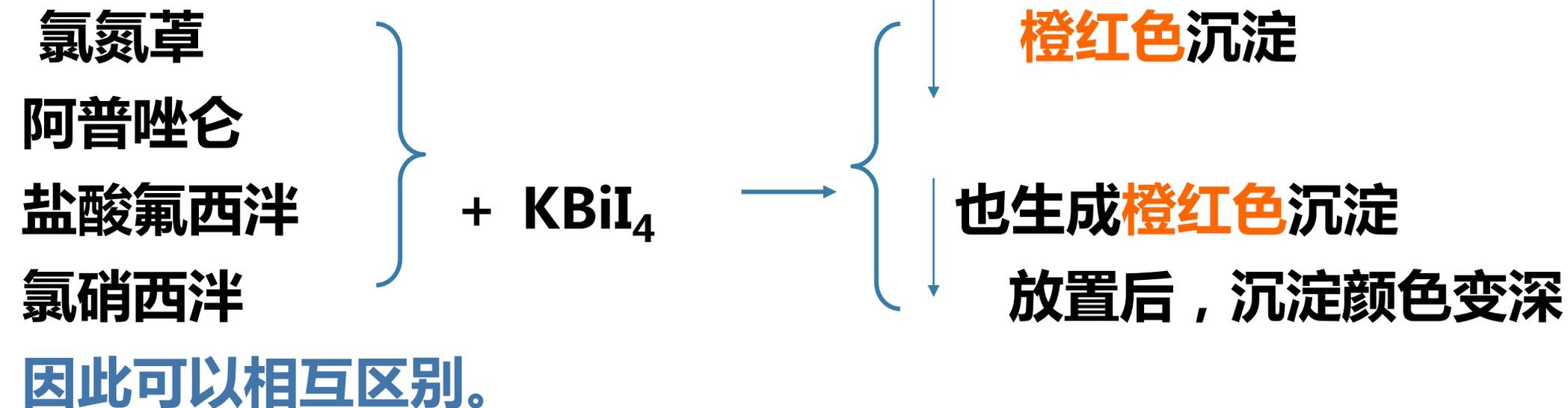
本类药物均含有较大共轭体系，其常见药物的紫外光谱数据见书表10-3。



二、鉴别试验

(一) 化学鉴别反应

1. 沉淀反应



- 阿普唑仑 + 硅钨酸 → 白色沉淀，药典中也用于鉴别。



2. 硫酸荧光反应

- 本类药物溶于硫酸后，在紫外光（365nm）下，显不同颜色的荧光

地西洋
 氯氮草
 艾司唑仑
 硝西泮
 奥沙西泮

+ H₂SO₄ →

黄绿色
 黄色
 亮绿色
 淡蓝色

+ 稀硫酸 →

黄色
 紫色
 天蓝色
 蓝绿色
 淡黄绿色



示例14 地西洋的硫酸-荧光反应鉴别

- 取地西洋约10mg，加硫酸3ml，振摇使溶解，在紫外光灯（365nm）下检视，显黄绿色荧光



(二) 特征基团反应

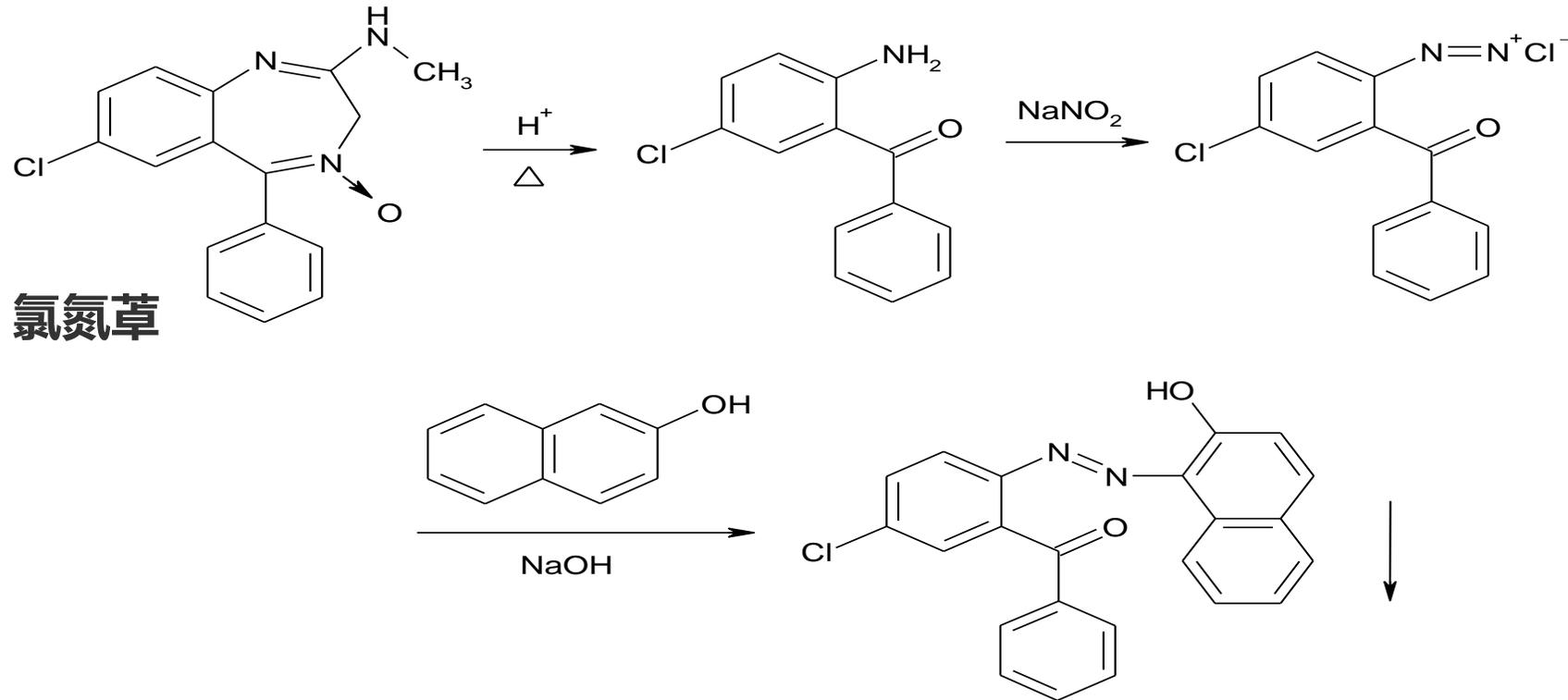
1. 氯化物的鉴别反应

本类药物大多为有机氯化物，用**氧瓶燃烧法**破坏，生成氯化氢，以5%氢氧化钠溶液吸收，加稀硝酸酸化，并缓缓煮沸2分钟，**显氯化物反应**



2. 芳伯胺的反应

本类药物如N₁位上未取代者，与盐酸共热水解后，生成芳伯胺，可发生重氮化-偶合反应显色



奥沙西洋、劳拉西洋、硝西洋、艾司唑仑及其片剂等均可用些法鉴别



(三) 吸收光谱特征

利用紫外最大吸收波长，以及最大吸收波长处的吸光度或吸光度比值进行鉴别

红外吸收光谱用于大多数1,4-苯二氮草类药物的指纹鉴别

(四) 色谱法

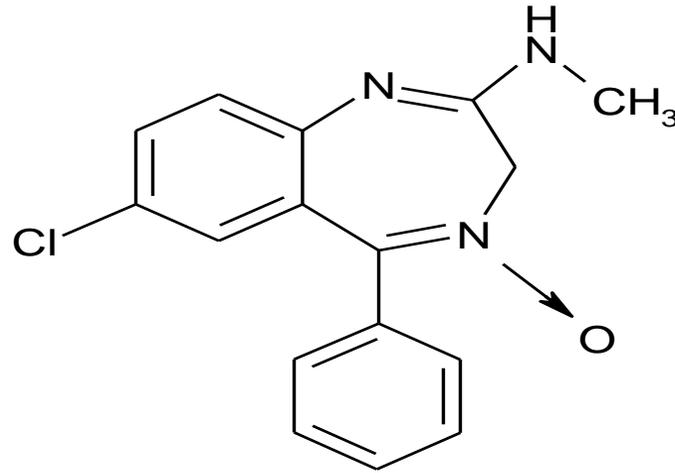
用于本类药物原料和制剂的专属鉴别



三、有关杂质检查（了解）

（一）氯氮草

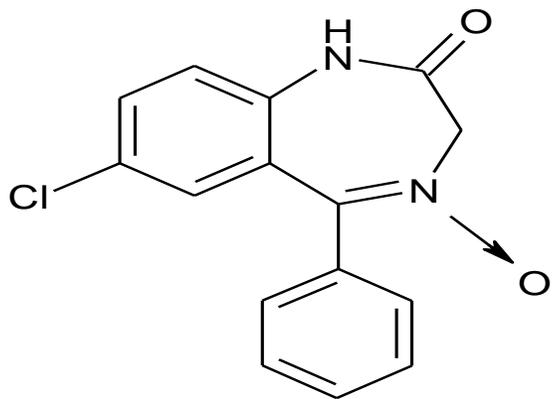
- 主要有关物质：



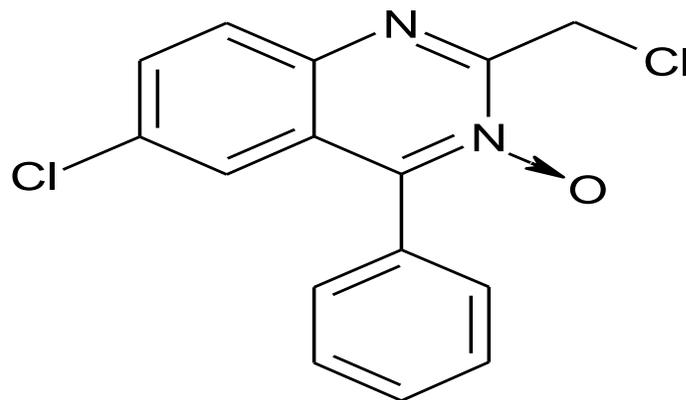
TLC检查-BP、USP

HPLC检查-ChP

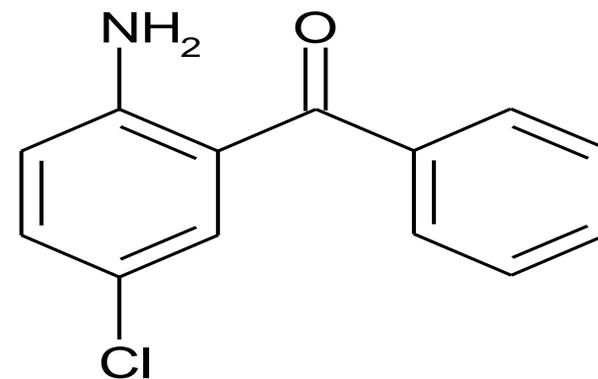




4-氧化-7-氯-5-苯基-1,3-二氢
-2H-1,4-苯二氮草-2-酮



3-氧化-6-氯-2-
(氯甲基)-4-苯
基喹啉

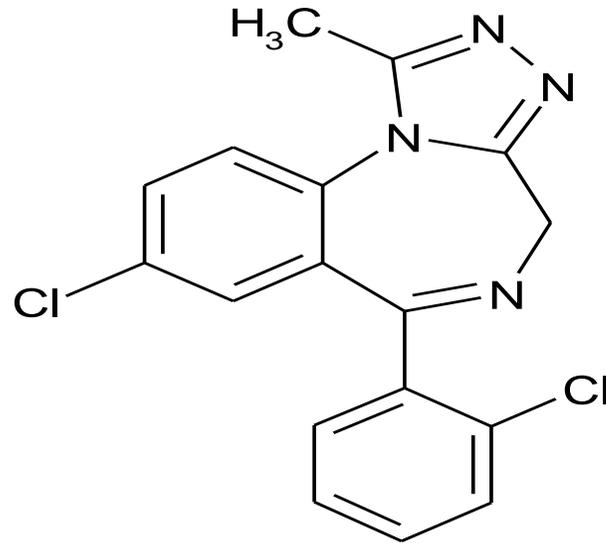


(2-氨基-5-氯苯基)苯甲
酮



(二) 三唑仑

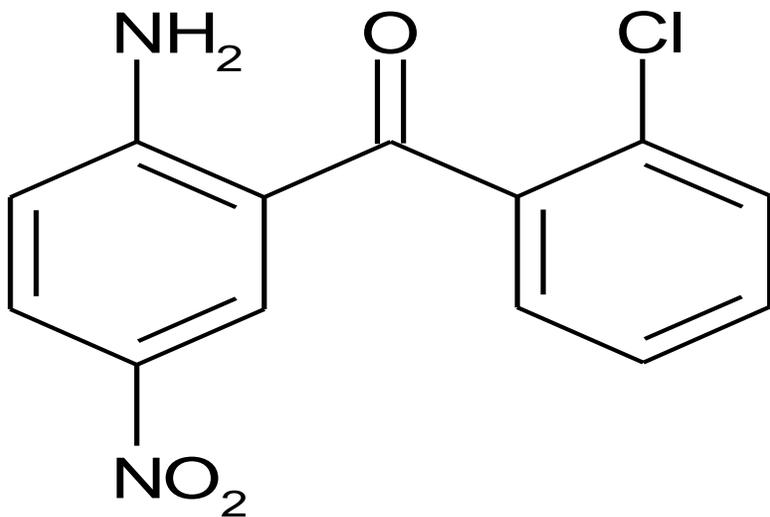
- 主要有关物质：



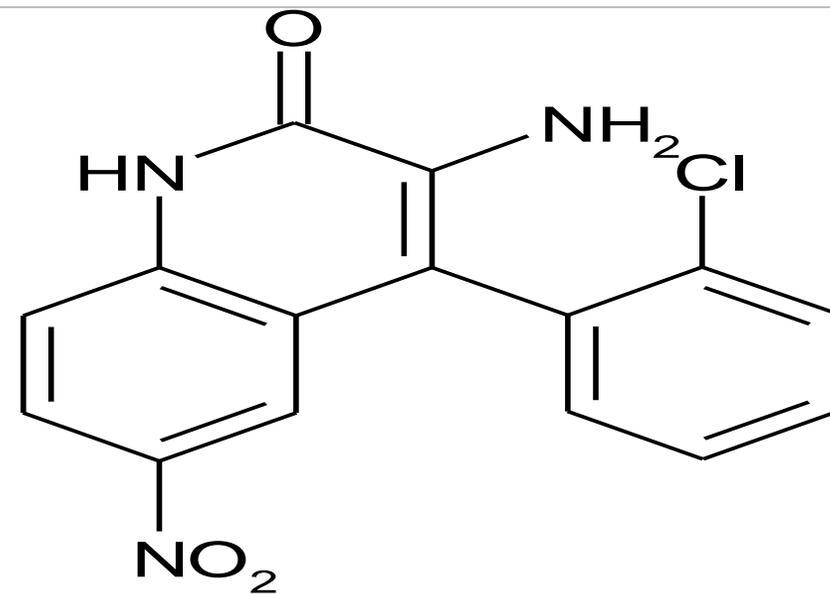
GC检查-USP

HPLC检查-ChP





(2-氨基-5-硝基苯基)(2-氯苯基)
甲酮



3-氨基-4-(2-氯苯基)-6-硝基
喹啉-2(1H)-酮



四、含量測定

(一) 非水溶液滴定法

1. 非水碱量法

- 在水中碱性较弱，不能顺利地进行中和滴定。
- 在非水酸性溶剂中（如HAc中），则能显示出较强的碱性，高氯酸滴定液，滴定突跃增大，可以顺利地进行中和滴定。

药物碱性	非水酸性溶剂
pK_b 8~10	冰醋酸
pK_b 10~12	冰醋酸与醋酐的混合液
$pK_b > 12$	醋酐



2. 非水酸量法

奥沙西洋及劳拉西洋能在碱性介质中去质子化，具有一定的酸性，因此对这两种药物可采用氢氧化四丁基铵滴定液（ 0.1mol/L ）非水酸量法进行含量测定。（P288表10-6）



(二) 紫外分光光度法

苯二氮草类药物中有多种药物的片剂和胶囊剂均采用本法测定含量；而本类药物的原料药仅奥沙西洋采用本法测定。



1. 对照品比较法

$$C_X = (A_X / A_R) C_R$$

C_X 和 C_R 分别为供试品溶液和对照品溶液的浓度， A_X 和 A_R 分别为供试品和对照品溶液的吸光度

2. 吸收系数法

$$C = \frac{A}{E_{1cm}^{1\%} \cdot L}$$

$E_{1cm}^{1\%}$ 为百分吸收系数， L 为吸收池厚度



(三) 高效液相色谱法

大多采用反相高效液相色谱法，以不同配比的甲醇-水或甲醇（乙腈）-缓冲液等为流动相，进行测定

示例 - 10P289



苯并二氮杂草类含量测定小结

- 1.非水溶液滴定法 原料（地西洋、氯氮草、阿普唑仑）
- 2.紫外分光光度法 片剂（氯氮草片、奥沙西洋及片剂）
- 3.高效液相色谱、注射剂，片剂（阿普唑仑片、地西洋片、地西洋注射液）



五、苯二氮草类药物的体内药物分析(略)

(1) HPLC

(2) LC-MS/MS





隨身課堂

《药物分析》

巴比妥及苯二氮草类镇静催眠药物的分析

敬请关注下一节内容

吩噻嗪类抗精神病药物的分析

