



隨身課堂

《药物分析》

第十五章 甾体激素类药物分析

药学系 药学教研室 刘燕老师



学习目标

- 1.掌握甾体激素类药物的分类、**结构特征与分析方法之间的关系**；**化学鉴别法**、有关物质的色谱检查法。
- 2.熟悉甾体激素类药物的光谱鉴别法、比色法测定含量的原理。
- 3.了解甾体激素类药物的体内分析与应用。



学习内容

1.甾体激素类药物基本结构与分类；肾上腺皮质激素、雄性激素、孕激素及雌性激素**结构特点与代表药物**

2.甾体激素类药物的鉴别试验：化学鉴别法（**与强酸的呈色反应、官能团的呈色反应**）；制备衍生物熔点；紫外分光光度法、红外分光光度法、薄层色谱法、高效液相色谱法。

3.特殊杂质的检查

（1）**其它甾体的检查**：薄层色谱法、高效液相色谱法

（2）特殊杂质检查：游离磷酸、甲醇和丙酮、雌酮、硒。

4.甾体激素类药物的含量测定

高效液相色谱法、紫外分光光度法、比色法（异烟肼比色法、四氮唑比色法、Kober反应比色法）。

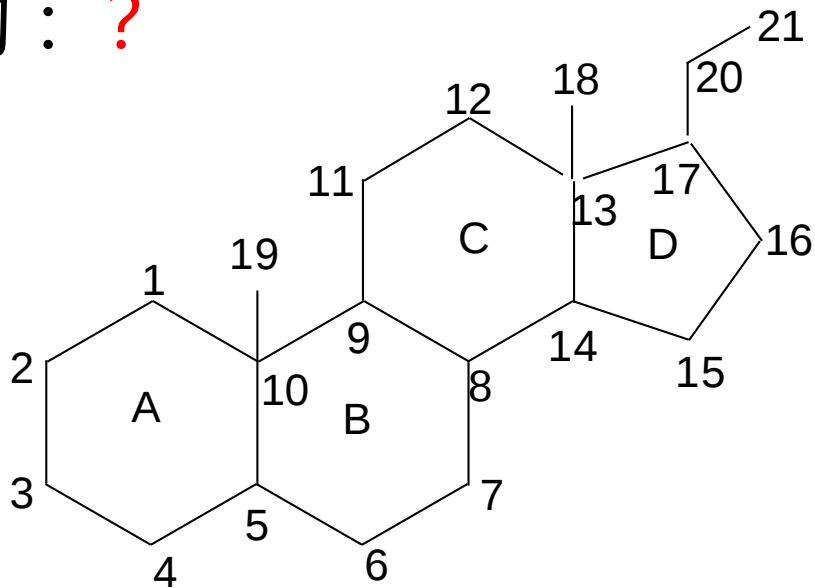


第一节 结构与分类



一、基本结构

基本结构：？

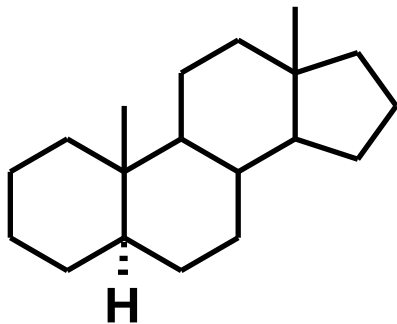
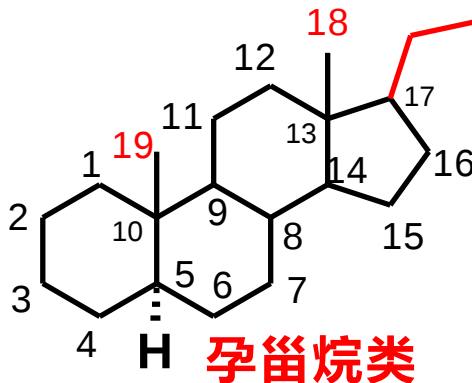


环戊烷骈多氢菲母核

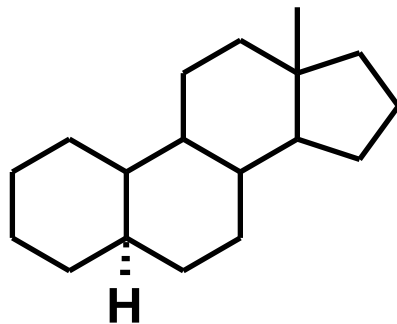


二、分类

- 1.按结构分？
- 雌甾烷类
- 雄甾烷类
- 孕甾烷类



雄甾烷类

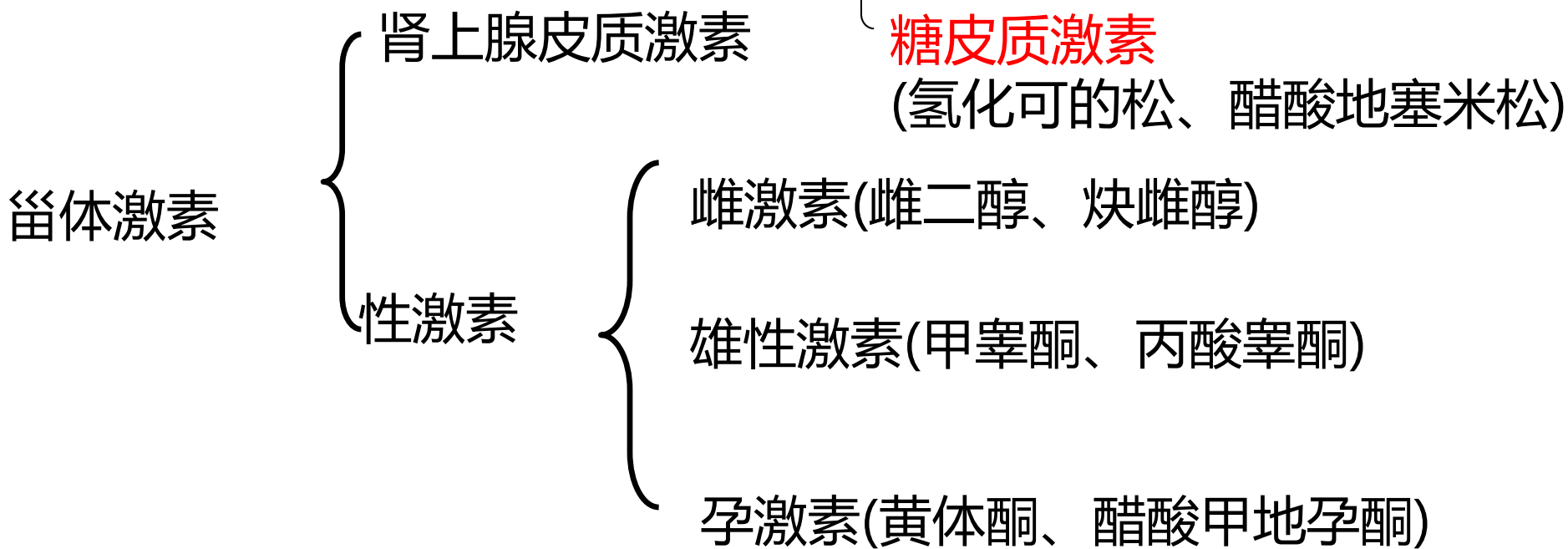


雌甾烷类



二、分类

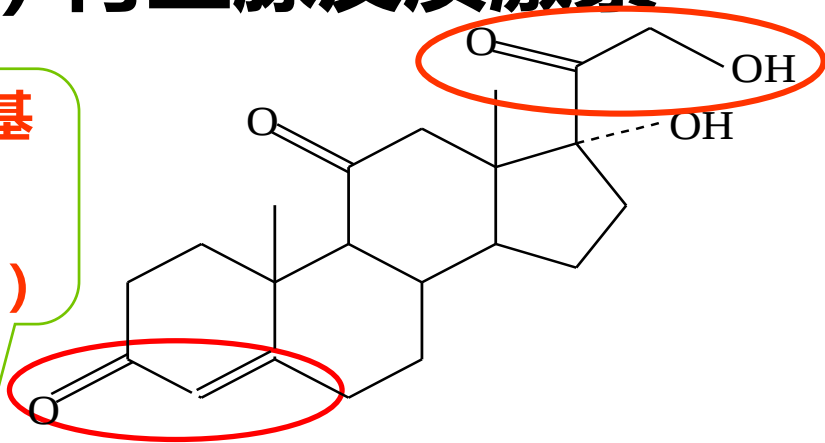
2.按药理作用分



三、结构特点与性质

(一) 肾上腺皮质激素

1. Δ^4 -3-酮基
(4-烯-3酮)
(紫外吸收)



2. $C_{17} \alpha$ -醇酮基 (还原性)

结构特点

1. 母核？孕甾烷
2. Δ^4 -3-酮基；
3. 17β - α -醇酮基；
4. 11-羟基或羰基；
5. 多有17- α -羟基；
6. 部分有卤素（氟）。

代表药物：氢化可的松、醋酸地塞米松、地塞米松磷酸钠

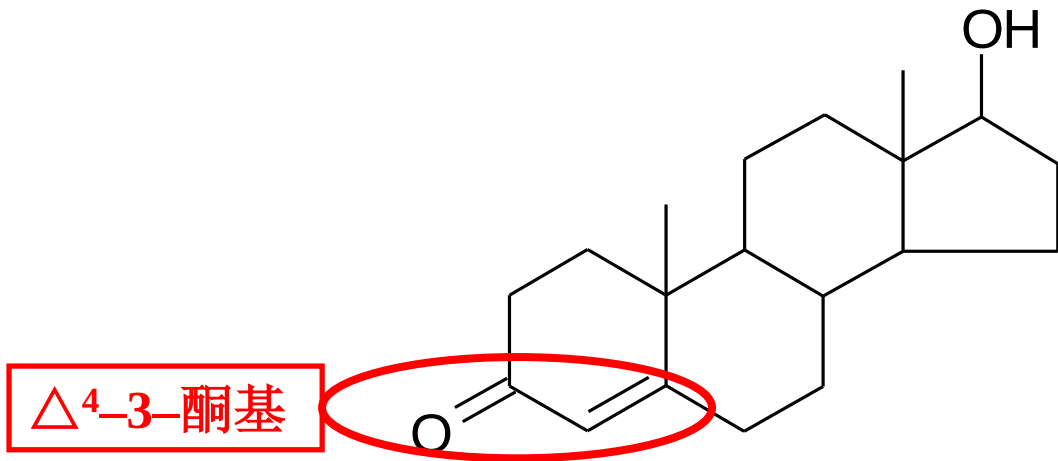


三、结构特点与性质

(二) 雄性激素

结构特点

- 1.母核多为 ? 雄甾烷
2. Δ^4 -3-酮基 ;
- 3.17 β -羟基。



代表药物：甲睾酮、丙酸睾酮

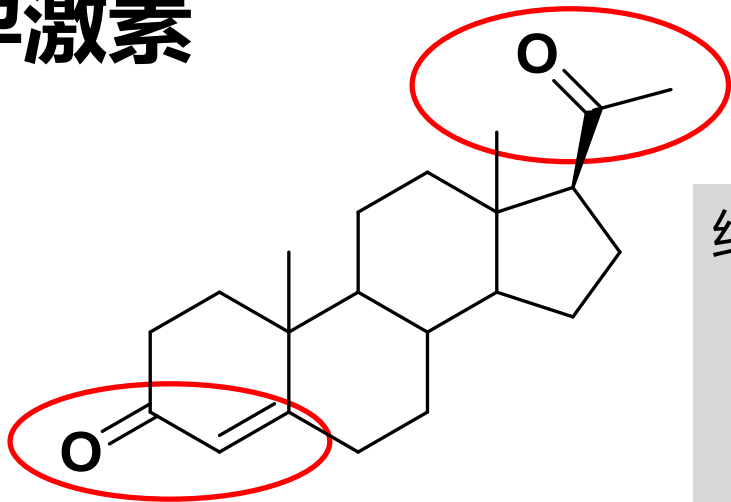


三、结构特点与性质

(三) 孕激素

C_{17} -甲酮基

Δ^4 -3-酮基



结构特点：

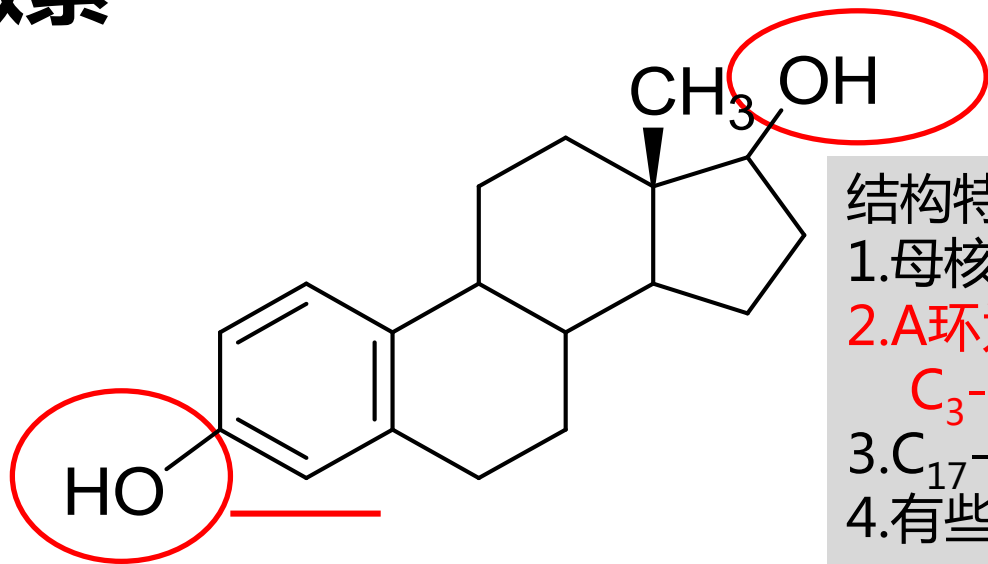
- (1) 母核多为？孕甾烷
- (2) Δ^4 -3-酮基，
- (3) C_{17} 位上有甲酮基。

代表药物：黄体酮、醋酸甲地孕酮、炔诺酮



三、结构特点与性质

(四) 雌激素



结构特点：

- 1.母核？雌甾烷
- 2.A环为苯环，
C₃-酚羟基；
- 3.C₁₇-羟基或酮基；
- 4.有些有乙炔基。

代表药物：雌二醇、炔雌醇



三、结构特点与性质

	Δ^4 -3-酮基	C_{17} - α -醇酮基	C_{17} - β -羟基	C_{17} -甲酮基	A环为3-OH苯环
肾上腺皮质激素	+	+			
雄性激素	+		+		
雌性激素			+		+
孕激素	+			+	
鉴别反应	UV、羰基试剂、氨基脲反应	还原性(碱性酒石酸酮、氨制硝酸银)	可成酯	与亚硝基铁氰化钠、间二硝基酚反应(蓝紫色)	UV、与三氯化铁、重氮苯磺酸盐反应



第二节 理化性质与鉴别试验



一、物理常数的测定

1.熔点

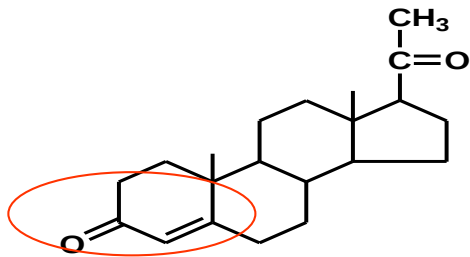
- 鉴定反应药物的纯度
 - 醋酸地塞米松 223 ~ 233°C 熔融同时分解

2.比旋度

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{100 \alpha}{C L}$$



3.吸收系数

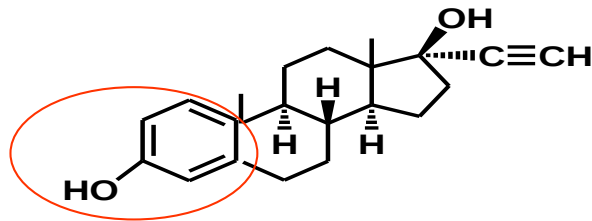


黄体酮

$\Delta^4 - 3 - \text{酮}$

$\lambda_{\text{max}} = 240\text{nm}$

$E_{1\%}^{1\text{cm}}$



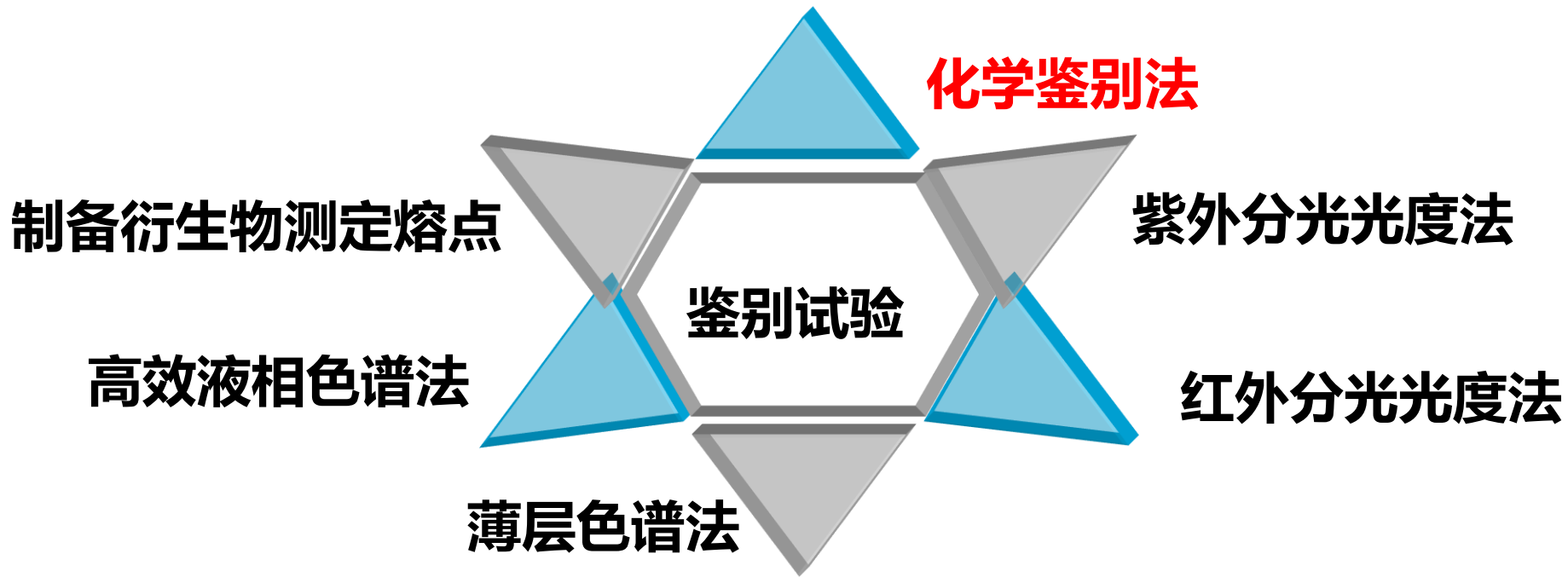
炔雌醇

A环苯环、酚羟基

$\lambda_{\text{max}} = 280\text{nm}$



二、鉴别试验(P367)

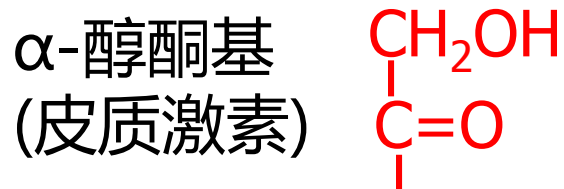


官能团 (药物)

羰基



除雌激素外



甲酮基- COCH_3
(孕激素)

酚羟基(雌)

乙炔基($-\text{C}\equiv\text{C}$)

《药物分析》

试剂

羰基试剂

(2, 4-二硝基苯肼、
硫酸苯肼、异烟肼

氧化剂(斐林试剂、
四氮唑盐)

亚硝基铁氰化钠
(碳酸钠+醋酸铵)

铁酚试剂

(醇+三氯化铁)

硝酸银



现象

黄色
(脎)

砖红
深红

蓝紫色

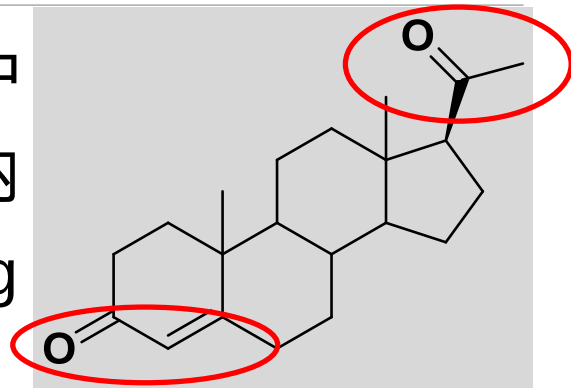
蓝绿色

白色沉淀



例：黄体酮 - 鉴别试验

【鉴别】（1）取本品约5mg，置小试管中，加甲醇0.2ml溶解后，加亚硝基铁氰化钠的细粉约3mg、碳酸钠及醋酸铵各约50mg，摇匀，放置10-30分钟，应显**蓝紫色**。



（2）取本品约0.5mg，置小试管中，加异烟肼约1mg与甲醇1ml溶解后，加稀盐酸1滴，即显**黄色**。

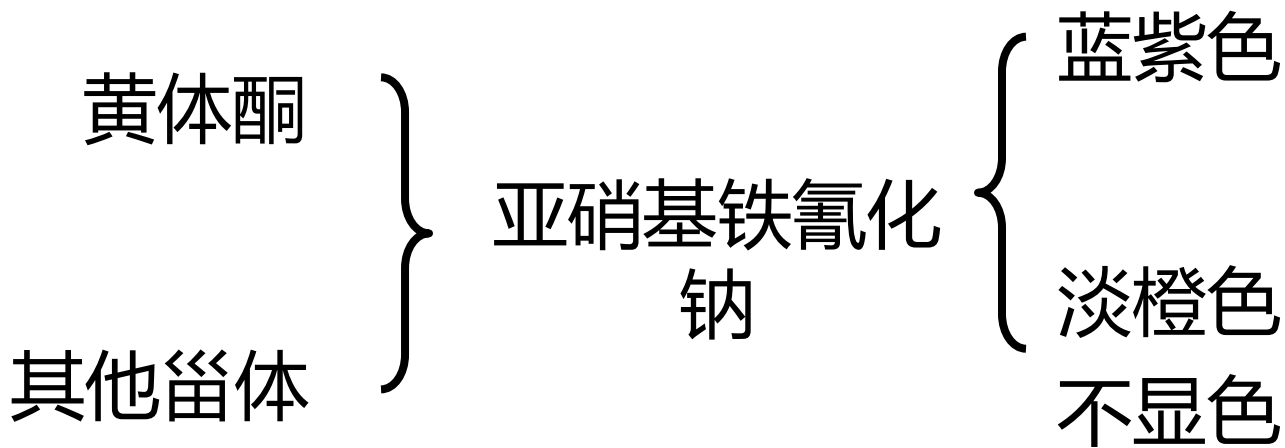
（3）本品的**红外**光吸收图谱应与对照的图谱（光谱集434图）一致。



(1) 甲酮基的呈色反应

适用：具有**甲酮基**或**活泼亚甲基**的甾体激素类药物。

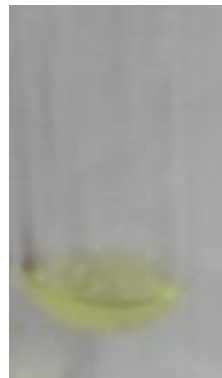
能与亚硝基铁氰化钠、间二硝基酚、芳香醛反应呈色。



(2) 官能团的呈色反应

【 C_3 -酮基和 C_{20} -酮基】

(1) 与羰基试剂2,4-二硝基苯肼、异烟肼、硫酸苯肼反应生成**黄色**腙。



(2) 与羟胺或氨基脲分别生成具有一定熔点的**肟**或**缩氨基脲**。



(3) 红外光谱法

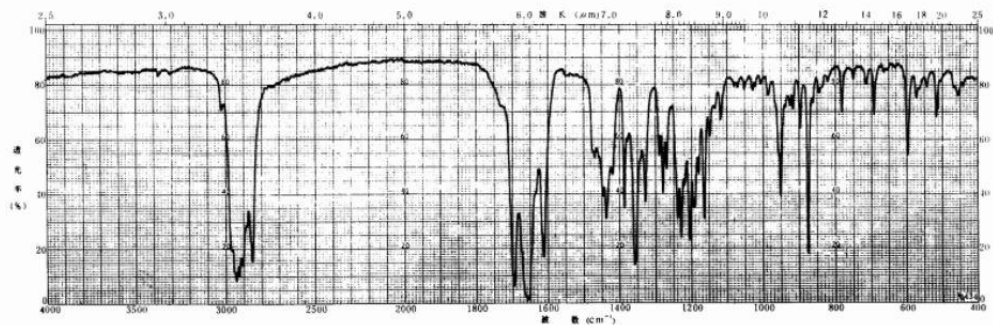
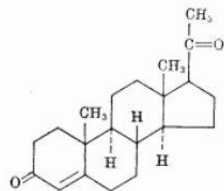
与对照的图谱
(光谱集434图)
一致。

中文名: 黄体酮

英文名: Progesterone

分子式: $C_{21}H_{30}O_2$

试样制备: KBr 压片法



光谱号 434

检测---单选

1.甾体激素类药物共有的化学结构是

A. C_{17} - α -醇酮基

B. 乙炔基

C. 环戊烷骈多氢菲

D. Δ^4 -3-酮基

E. 苯环

C



检测---单选

2.肾上腺皮质激素结构区别于其他甾体激素类药物的显著标志是

A

A. C_{17} - α -醇酮基

B. 环戊烷骈多氢菲母核

C. 乙炔基

D. Δ^4 -3-酮基

E. 苯环



检测---单选

3.取某甾体激素类药物10ml，加甲醇1ml，微温使溶解，加热的碱性酒石酸铜试液1ml,即生成红色沉淀，该药物是

A

A.醋酸地塞米松

B.黄体酮

C.炔雌醇

D.甲睾酮

E.地高辛



配伍题

- A.甾体母核 B.A环， Δ^4 -3-酮基
C.C₁₇上甲酮基 D.C₁₇上乙炔基
E.C₁₇上- α 醇酮基

- 1.与硝酸银试液反应产生白色沉淀 D
- 2.与氨制硝酸银试液反应生成黑色沉淀 E
- 3.肾上腺皮质激素、雌性激素等有紫外吸收 B
- 4.黄体酮与亚硝基铁氰化钠反应显蓝紫色 C
- 5.与硫酸的呈色反应 A



配伍题

A. 异烟肼

B. 四氮唑盐

C. 亚硝基铁氰化钠

D. 茜素氟蓝及硝酸亚铈

E. 重氮苯磺酸

6. α -醇酮基的呈色反应

B

7. 羰基的呈色反应

A

8. 有机氟化物的呈色反应

D

9. 甲酮基的呈色反应

C

10. 酚羟基的呈色反应

E



第三节 有关物质与检查



一、有关物质（其他甾体）

1.定义

与标示药物结构不同的甾体化合物都称为“其他甾体”（大部分甾体药物都含有）

2. 来源

原料、中间体、异构体、降解产物

3.特点

（1）可能存在多个甾体杂质（2）结构类似



一、有关物质（其他甾体）

4.方法（具有一定分离能力）

TLC法（高低浓度对比法或叫自身稀释对照法）

HPLC法（类似高低浓度对比法）例：黄体酮



例 黄体酮注射液有关物质检查

供试品溶液 用内容量移液管精密量取本品适量（约相当于黄体酮50mg），置50ml量瓶中，用乙醚分数次洗涤移液管内壁，洗液并入量瓶中，用乙醚稀释至刻度，摇匀；精密量取25ml，置具塞离心管中，在温水浴内使乙醚挥散；用甲醇振摇提取4次（第1～3次各5ml，第4次3ml），每次振摇10分钟后离心15分钟，并将甲醇液移置25ml量瓶中，合并提取液，用甲醇稀释至刻度，摇匀，经0.45 μ m滤膜滤过，取续滤液。

对照溶液 精密量取1ml，置100ml量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀。

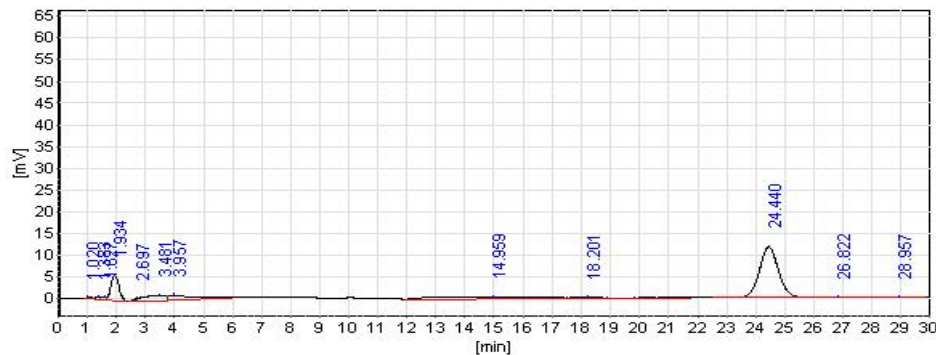


...照黄体酮含量测定项下的色谱条件，（以甲醇—乙腈—水（25：35：40）为**流动相**，**检测波长**为241nm）取对照溶液10 μ l注入液相色谱仪，调节检测灵敏度，使主成分色谱峰的峰高为满量程的20%~30%；再精密量取**供试品溶液**与**对照溶液**各10 μ l，分别注入液相色谱仪，供试品溶液色谱图记录至主成分峰保留时间的2倍。

限度 供试品溶液色谱图中如有杂质峰，扣除相对保留时间0.1之前的辅料峰，**单一杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积的1/2**，**各杂质峰面积的和不得大于对照溶液主峰面积的2倍**。（供试品溶液中任何小于对照溶液主峰面积0.05倍的色谱峰可忽略不计）。



黄体酮有关物质检查图谱



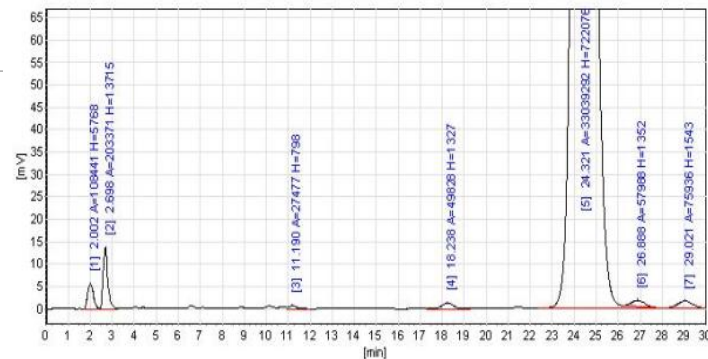
峰号	保留时间	峰高	峰面积
1	24.440	11769	542746

$$542746 \times 0.5 = 271373$$

$$542746 \times 2 = 1085492$$

$$108441 + 203371 + 27477 + 49828$$

$$+ 57988 + 75936 = 523041$$



峰号	保留时间	峰高	峰面积
1	2.002	5768	108441
2	2.698	13715	203371
3	11.190	798	27477
4	18.238	1327	49828
5	24.321	722076	33039292
6	26.888	1352	57988
7	29.021	1543	75936

单一杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积的1/2，各杂质峰面积的和不得大于对照溶液主峰面积的2倍。（供试品溶液中任何小于对照溶液主峰面积0.05倍的色谱峰可忽略不计）。

二、其他杂质

(二) 硒的检查 (略)

按硒检查法检查

(三) 游离磷酸盐的检查 (略)

对照法中，用分光光度法

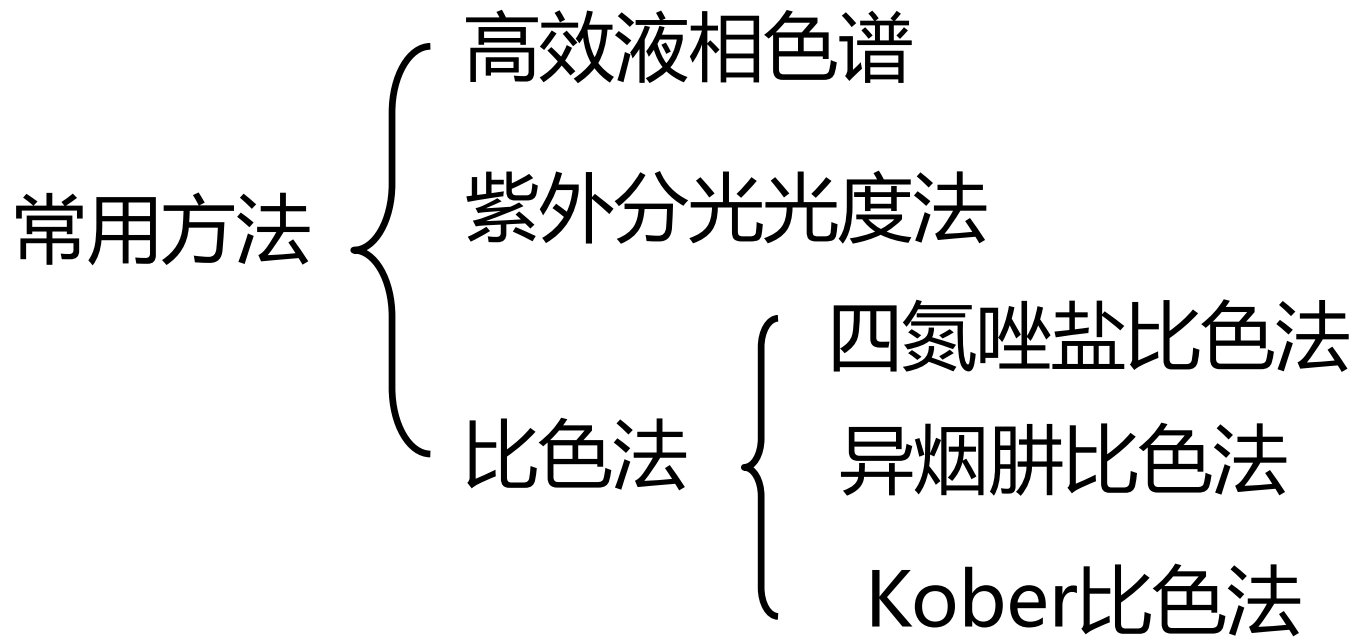
(四) 有机溶剂残留量的检查 (略)

对照法中，用气相色谱法



第四节 含量测定





一、HPLC法

测定对象：甾体激素类药物的原料和制剂。

方法：RP - HPLC (反相高效液相色谱法) **外标法**

例：黄体酮的含量测定

色谱条件：固定相 ODS，检测波长254nm

流动相 甲醇-水 (65:35)

系统适用性试验： $n > 1000$ ， $R > 4.0$ 。

计算公式

?

$$\text{样品}\% = \frac{m}{m_s} \times 100\% = \frac{C_X \times V_X \times D}{m_s} \times 100\% = \frac{C_R \times \frac{A_X}{A_R} \times V_X \times D}{m_s} \times 100\%$$



二、紫外分光光度法

测定对象：具有以下结构的药物原料和制剂。

1. Δ^4 -3-酮 240nm ($\pm$)

肾上腺皮质激素

雄性激素

孕激素

2. 苯环 280nm ($\pm$) 雌激素



例：炔孕酮的含量测定

按干燥品计算，含 $C_{21}H_{28}O_2$ 应为**97.0%-103.0%**。

取本品，精密称定为0.0103g，置100ml量瓶中，加无水乙醇溶解并稀释至刻度，精密量取5ml置50ml量瓶中，加无水乙醇稀释至刻度，取此溶液照**紫外-可见分光光度法**（通则0401），在240nm的波长处测得其吸光度为0.548，按 $C_{21}H_{28}O_2$ ，的吸收系数（ $E_{1cm}^{1\%}$ ）为520计算，求其含量。

解：依据

$$\text{含量}\% = \frac{m}{m_s} \times 100\% = \frac{C \times V \times D}{m_s} \times 100\%$$

$$C = \frac{A}{EL}$$

$$C = \frac{A}{EL} \times \frac{1}{100}$$

$$\text{含量}\% = \frac{m}{m_s} \times 100\% = \frac{C \times V \times D}{m_s} \times 100\% = \frac{\frac{A}{EL} \times \frac{1}{100} \times V \times D}{m_s} \times 100\%$$

注：**V**表示供试品
初次配制的体积；
D表示供试品的**稀**
释倍数（与高效同）



解：依据

$$\text{含量}\% = \frac{\frac{A}{EL} \times \frac{1}{100} \times V \times D}{m_s} \times 100\%$$

$$\text{含量}\% = \frac{\frac{0.548}{520 \times 1} \times \frac{1}{100} \times 100 \times \frac{50}{5}}{0.0103} \times 100\%$$

$$= 102.32\%$$

$$= 102.3\%$$

标准规定：按干燥品计算，含
 $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_2$ 应为 **97.0%-103.0%**。

答：炔孕酮的含量为**102.3%**，结果符合规定。

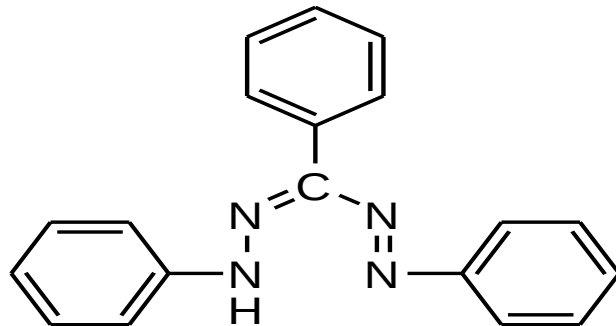
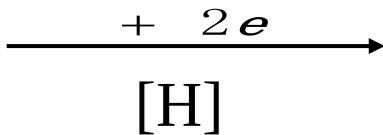
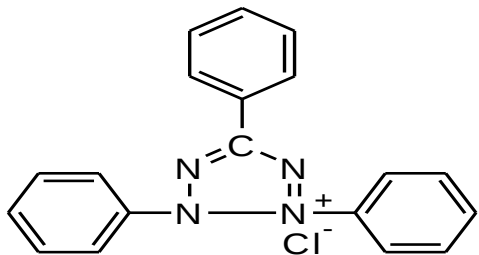


三、比色法

1. 四氮唑盐比色法

(1) 原理：肾上腺皮质激素类 $C_{17}-\alpha$ -醇酮基强还原性。

四氮唑盐 $\xrightarrow[\text{OH}^-]{C_{17}-\alpha \text{ 醇酮基}}$ 有色甲瓚



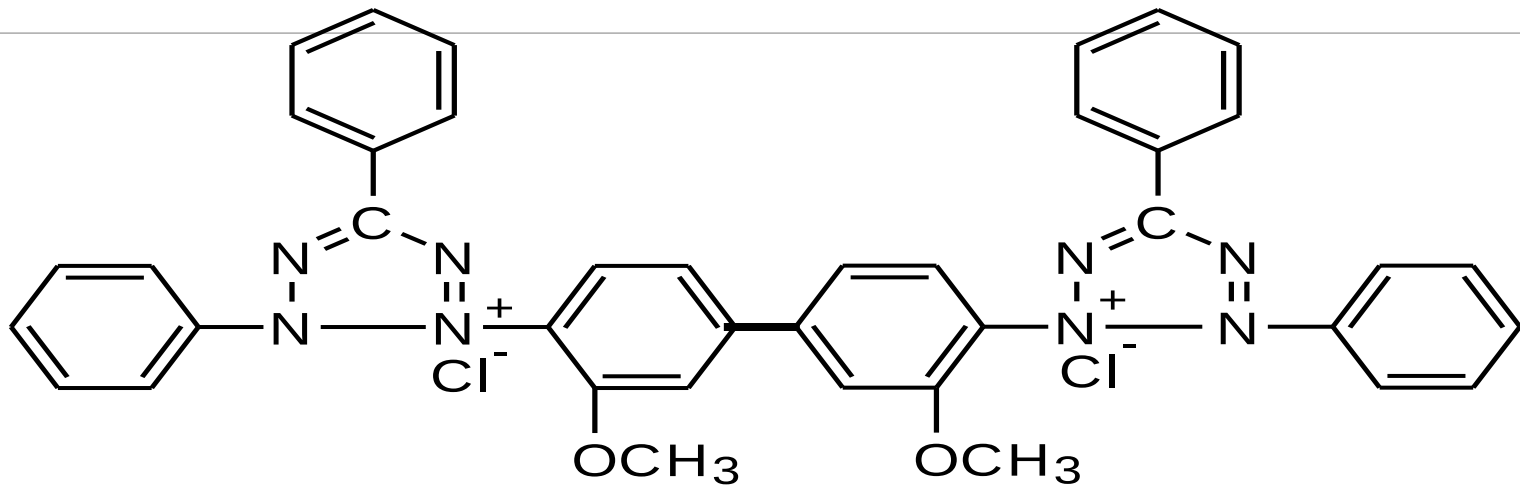
氯化三苯四氮唑 (TTC)

简称：红四氮唑

三苯甲瓚↓深红

$\lambda_{\max} = 480 \sim 490 \text{ nm}$





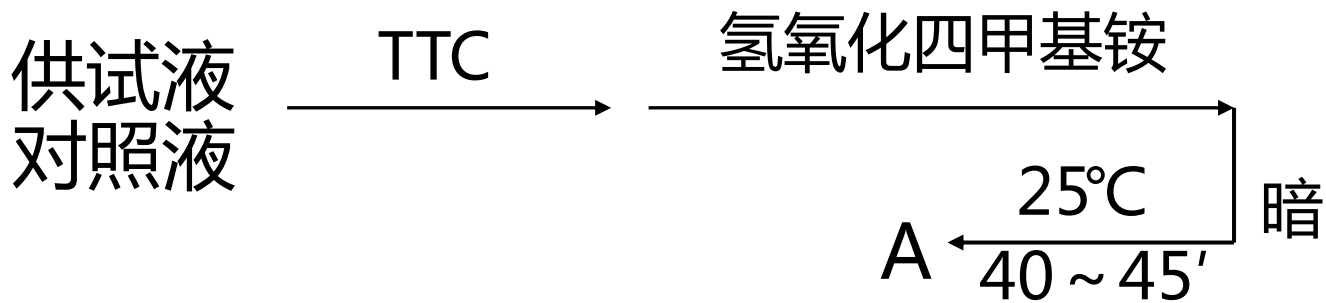
蓝四氮唑 (BT)

简称：蓝四氮唑

暗蓝色的双甲瓚
525nm

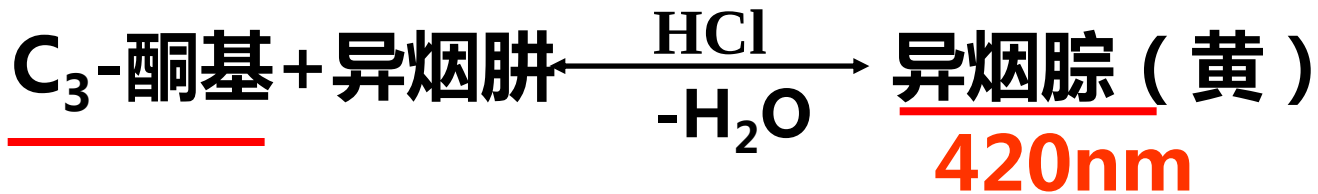


(2) 方法：对照品法



2. 异烟肼比色法

(1) 原理

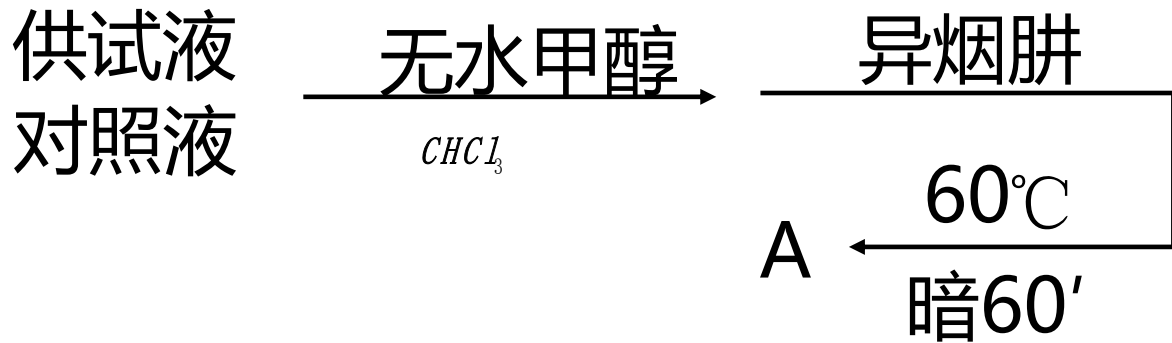


肾上腺皮质激素
雄性激素
孕激素





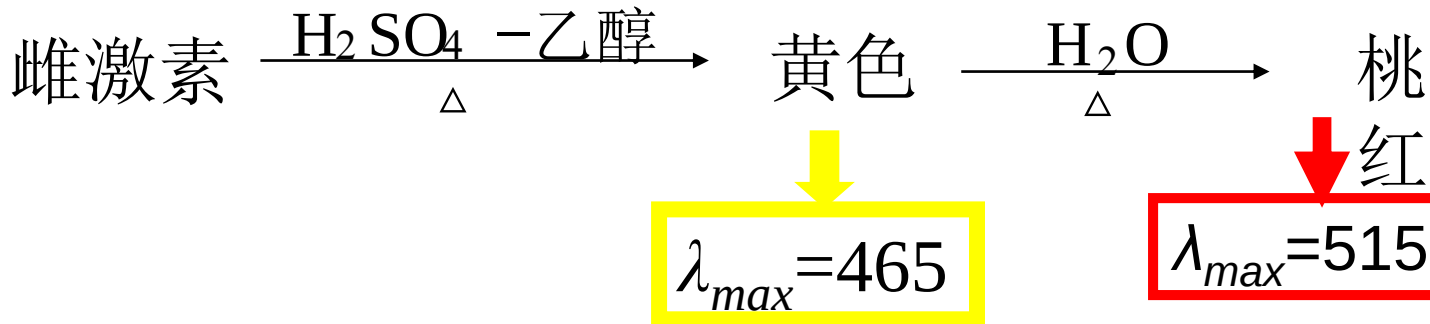
(2) 方法：对照品法



3.Kober反应比色法

(1) 原理

是指**雌激素**与硫酸-乙醇共热呈色，用水或稀硫酸稀释后重新加热发生颜色改变，并在515nm附近有最大吸收。



检测---单选

1. 可以发生Kober(柯柏)反应的药物是

A. 雌激素

A

B. 孕激素

C. 雄性激素

D. 肾上腺皮质激素

E. 蛋白同化激素



检测---单选

2. 各类甾体激素类药物几乎都要检查的杂质是

A. 游离磷酸盐

B

B. 有关物质

C. 甲醇和丙酮

D. 硒

E. 乙炔基



多项选择题

1.需要检查“有关物质”的药物有

ABCD

A. 醋酸地塞米松

B. 黄体酮

C. 雌二醇

D. 丙酸睾酮

E. 葡萄糖



2.可用于甾体激素类药物的含量测定的方法有

A.高效液相色谱法

ABCDE

B.四氮唑盐法

C.紫外分光光度法

D.异烟肼比色法

E.Kober反应比色法



3. 《中国药典》2020年版对甾体激素类药物中有关物质的检查，主要采用

CE

- A. 紫外分光光度法
- B. 红外分光光度法
- C. 薄层色谱法
- D. 气相色谱法
- E. 高效液相色谱法



小结

- 1.甾体激素类药物基本结构；肾上腺皮质激素、雄性激素、孕激素及雌性激素**结构特点与代表药物**
2. 鉴别试验：化学鉴别法（**与强酸的呈色反应、官能团的呈色反应**）；制备衍生物熔点；紫外分光光度法、红外分光光度法、薄层色谱法、高效液相色谱法。
3. 杂质的检查
有关物质：薄层色谱法、高效液相色谱法
- 4.甾体激素类药物的含量测定
高效液相色谱法、紫外分光光度法、比色法（异烟肼比色法、四氮唑比色法、Kober反应比色法）。





隨身課堂

《药物分析》

甾体激素类药物的分析

敬请关注下一节内容

抗生素类药物的分析

