



隨身課堂

《药物分析》

第十七章 合成抗菌药物的分析

药学系 药学教研室 刘燕老师



学习目标

- 1.掌握喹诺酮类和磺胺类药物的**结构、性质和分析测定方法**
- 2.熟悉喹诺酮类和磺胺类药物**有关物质**的检查方法。
- 3.了解喹诺酮类和磺胺类药物的体内分析方法。



教学内容

(一) 喹诺酮类药物

1. 化学结构和理化性质：**4-吡啶酮-3-羧酸**，
2. 鉴别实验：**叔胺基团与丙二酸和醋酐共热显色**
3. 检查：高效液相色谱法
4. 含量测定：非水溶液滴定法、紫外分光光度法和高效液相色谱法

(二) 磺胺类药物

1. 化学结构和理化性质：对氨基苯磺酰胺，酸碱两性、**芳伯氨基**、铜盐反应
2. 鉴别实验：**金属离子的取代反应、芳香第一胺反应**
3. 检查：一般采用薄层色谱法。
4. 含量测定：**亚硝酸钠滴定法。**



第一节

喹诺酮类药物的分析



母核结构：

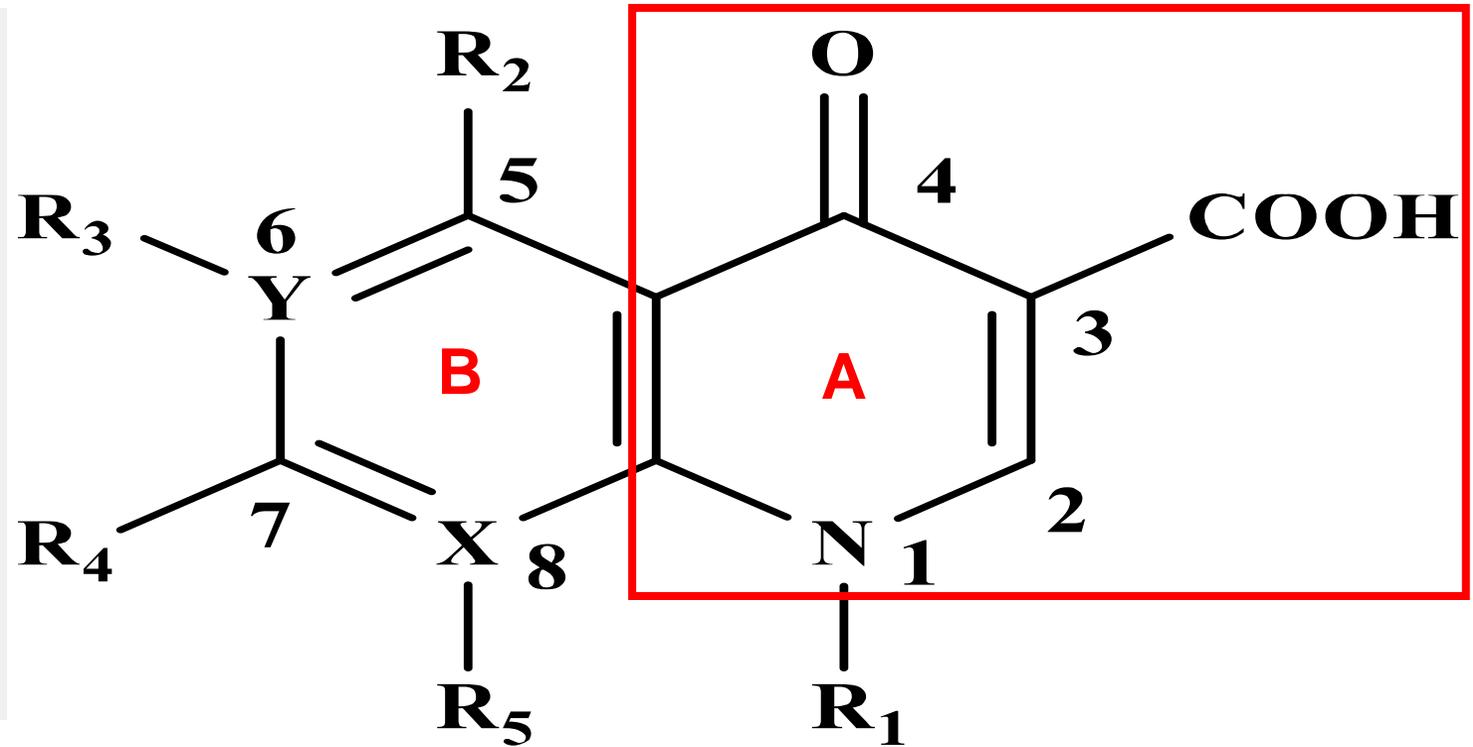
由A、B环组成

A环：

4-吡啶酮-3-羧酸

B环：

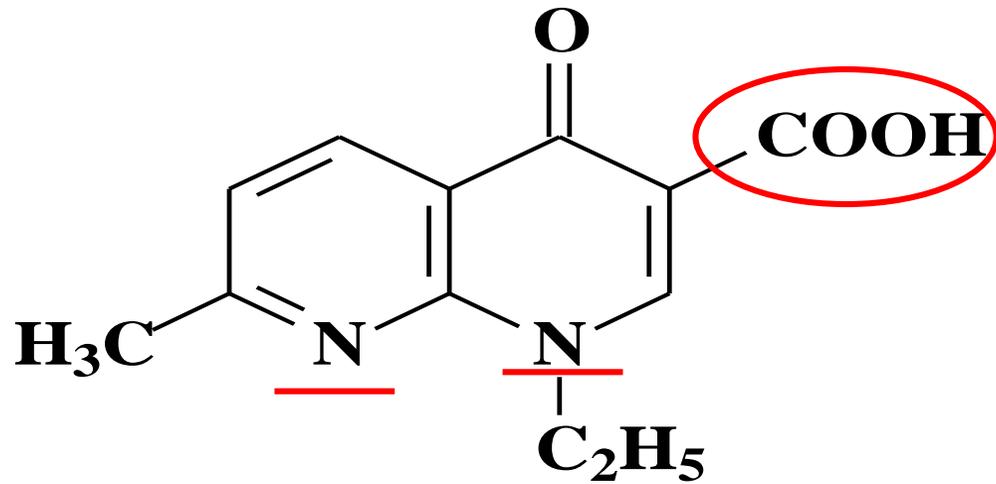
苯环、吡啶环、嘧啶环



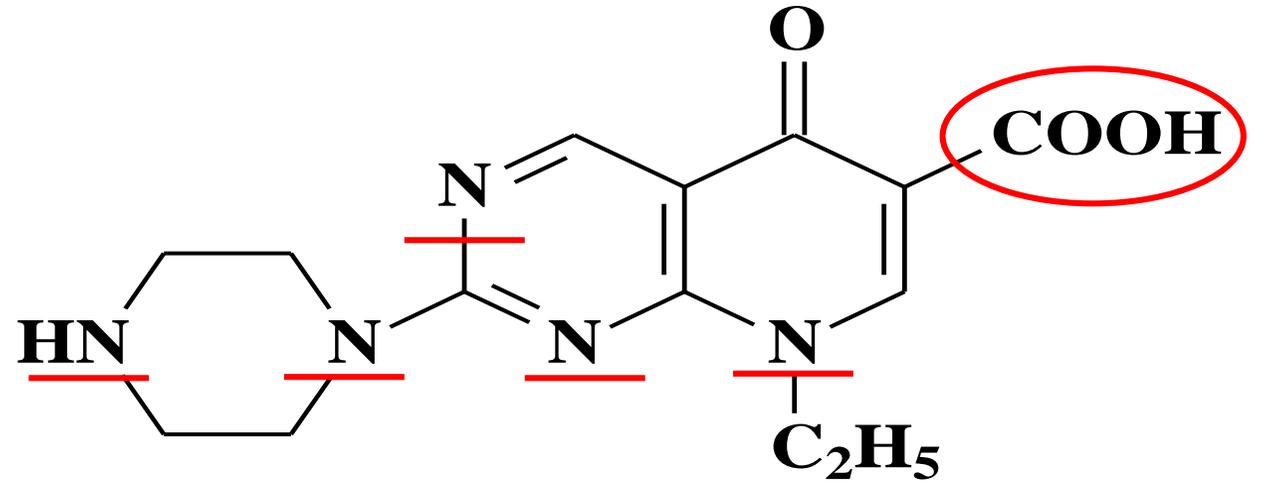
结构通式



一、典型代表药物的结构

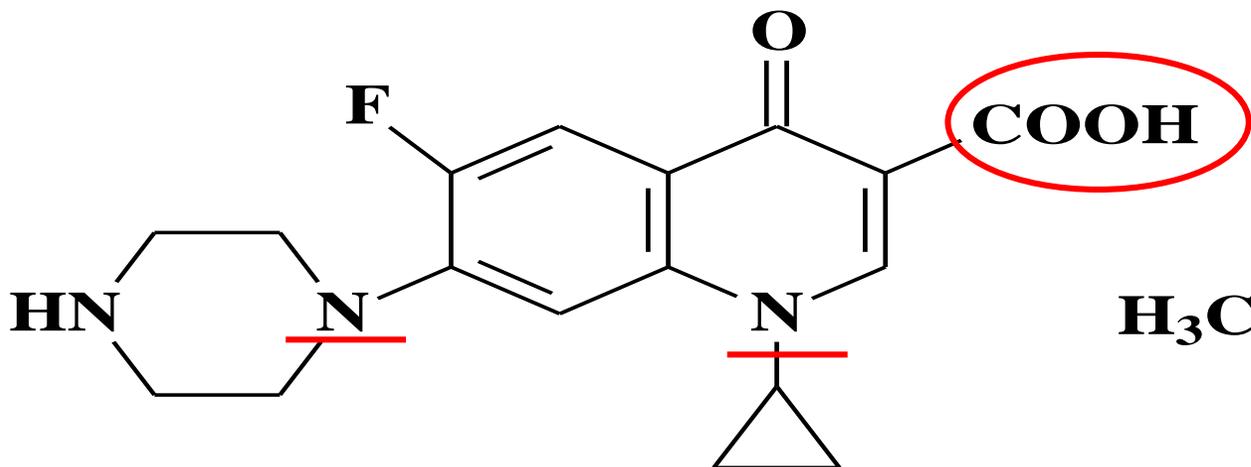


萘啶酸
Nalidixic Acid

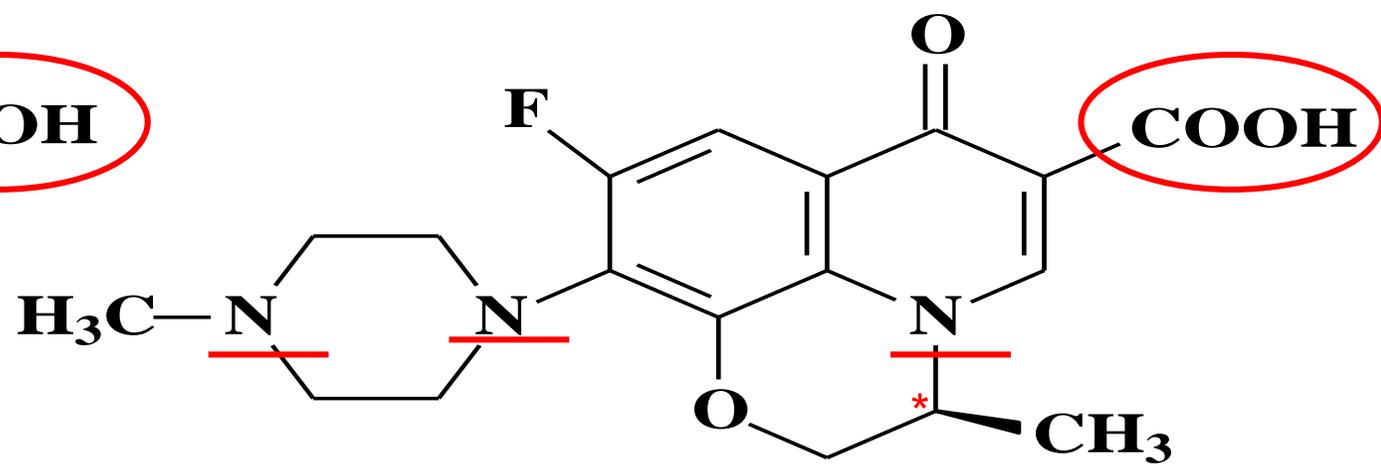


吡哌酸
Pipemidic Acid



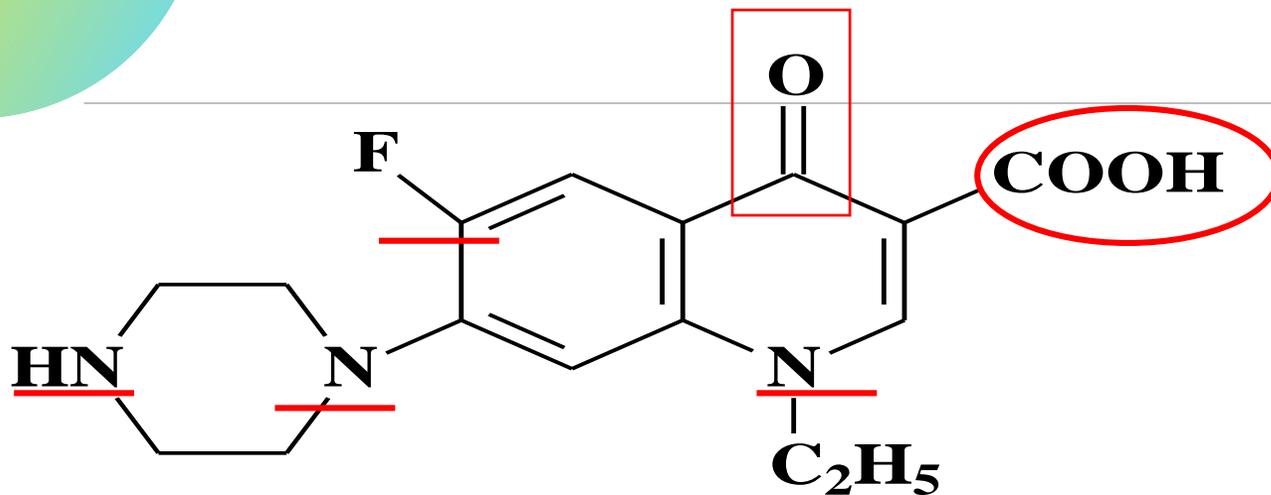


环丙沙星
Ciprofloxacin



左氧氟沙星
Levofloxacin

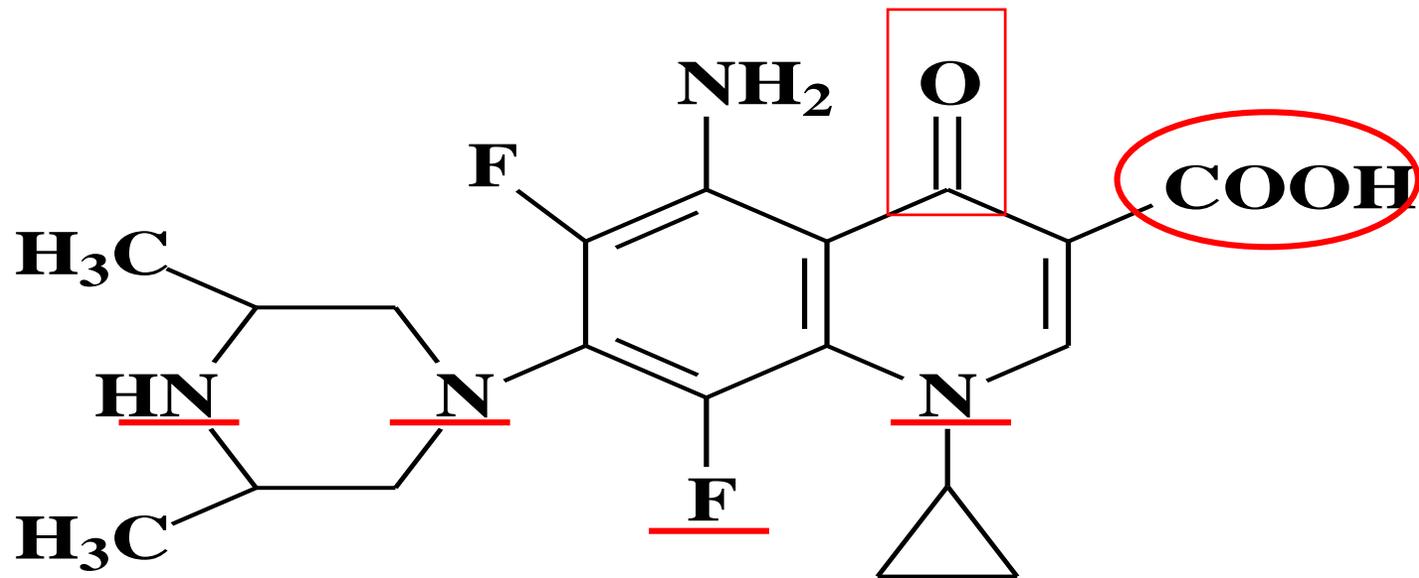




诺氟沙星
Norfloxacin

结构特点：

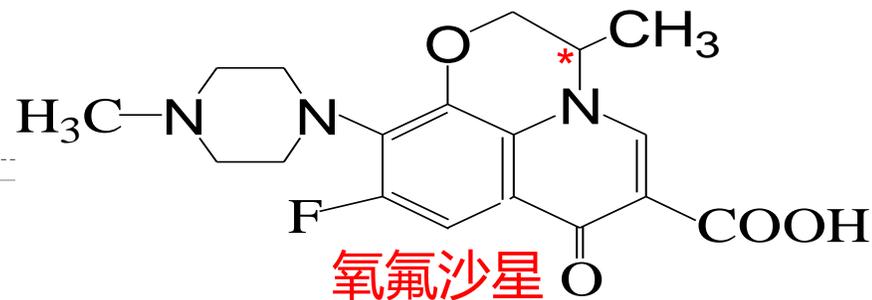
- 1位乙基(或环丙基)
- 3位羧基、4位酮基
- 7位哌嗪基
- 6位氟原子



司帕沙星
Sparfloxacin

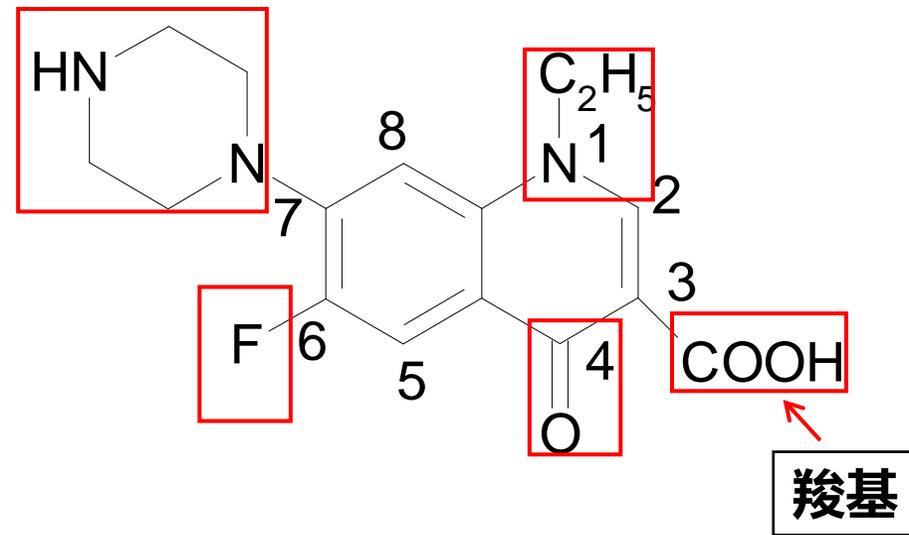


二、主要理化性质 以诺氟沙星为例



1. 酸碱两性

在冰醋酸或氢氧化钠试液中**易溶** 哌嗪 →



2. 紫外吸收 有共轭体系

3. 旋光性 氧氟沙星具有旋光性

4. 易与金属离子（钙、镁、铁、锌）等形成螯合物，

5. 与丙二酸和醋酐作用显红棕色（叔胺的反应）

6. 显氟化物的反应



三、鉴别试验

1.与丙二酸的反应

和醋酐作用显红棕色（叔胺的反应）

2.紫外-可见分光光度法

3.薄层色谱法（TLC）

4.高效液相色谱法（HPLC）

5.红外光谱法



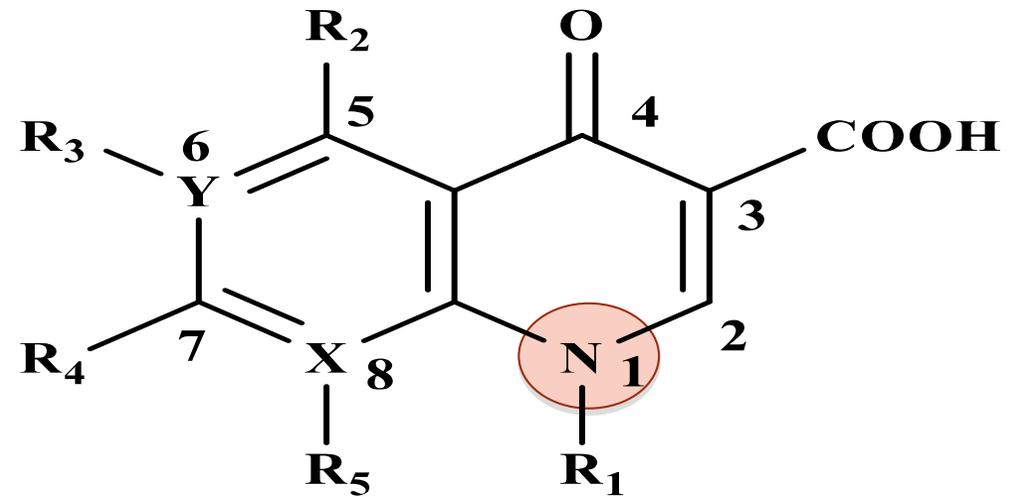
示例

- ChP2020采用与丙二酸反应对诺氟沙星软膏和乳膏进行鉴别。

诺氟沙星乳膏

【鉴别】

- 取含量测定项下的供试品溶液5ml，置水浴上蒸干，残渣中加丙二酸约50mg与醋酐1ml，在水浴中加热10分钟，溶液显红棕色。



药典诺氟沙星的**鉴别**方法

(1) 取本品与诺氟沙星对照品适量，加三氯甲烷-甲醇(1:1)制成每1ml中含2.5mg的溶液，照**薄层色谱法**试验，吸取上述两种溶液各10 μ l，分别点于同一硅胶G薄层板上，以三氯甲烷-甲醇-浓氨溶液(15:10:3)为展开剂，展开，晾干，置紫外光灯(365nm)下检视。供试品溶液所显主加斑点的位置与荧光应与对照品溶液主斑点的位置与荧光相同。

(2) 在**含量测定项**下记录的色谱图中，供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致。

以上(1)，(2)两项可选做一项。



药典左氧氟沙星的鉴别方法

丙酸氯倍他索乳膏

丙酸睾酮

丙酸睾酮注射液

丙磺舒

丙磺舒片

左炔诺孕酮

左炔诺孕酮片

左炔诺孕酮炔雌醇(三相)片

左炔诺孕酮炔雌醚片

左氧氟沙星

左氧氟沙星片

左氧氟沙星滴眼液

左旋多巴

左旋多巴片

左旋多巴注射液

【鉴别】 (1)取本品与氧氟沙星对照品适量,分别加右氧氟沙星项下的流动相溶解并稀释制成每1ml中含0.01mg与0.02mg的溶液,作为供试品溶液与对照品溶液。照右氧氟沙星项下的方法试验,供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰中左氧氟沙星峰(后)的保留时间一致。

(2)取本品适量,加0.1mol/L盐酸溶液溶解并稀释制成每1ml中约含5 μ g的溶液,照紫外-可见分光光度法(通则0401)测定,在226nm与294nm的波长处有最大吸收,在263nm的波长处有最小吸收。

(3)本品的红外光吸收图谱应与对照的图谱(光谱集1128图)一致。

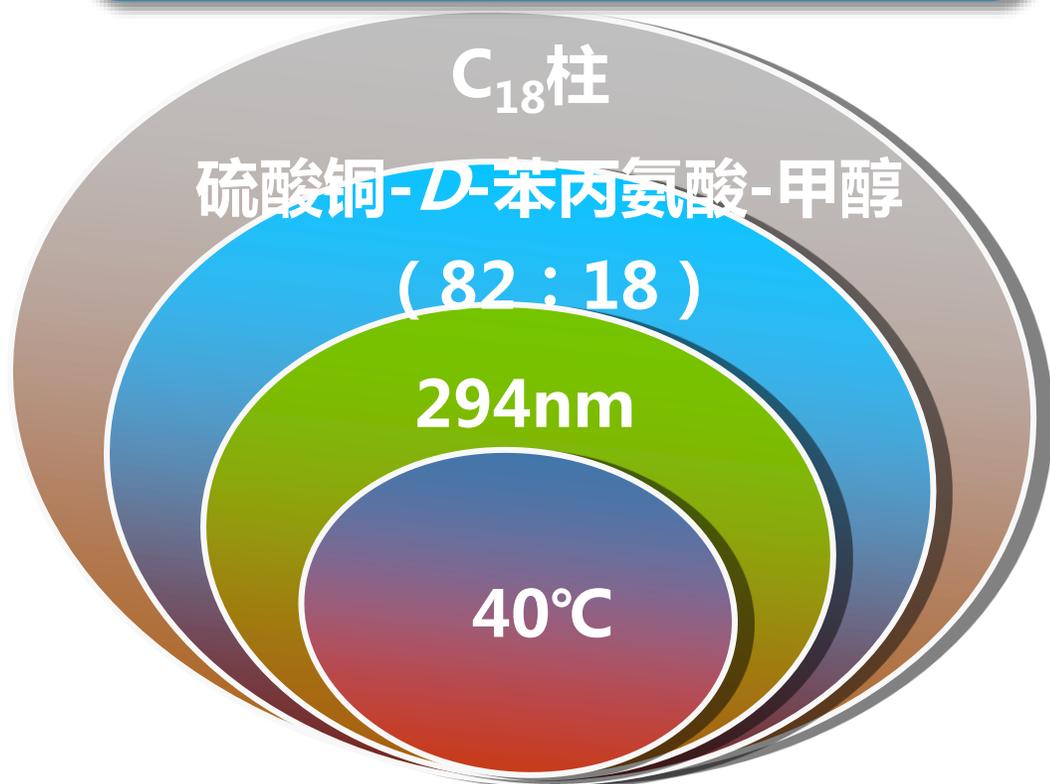
四、有关物质检查

左氧氟沙星光学杂质（右氧氟沙星）（P418）

环丙沙星中有关物质的HPLC检查（P419）

例：配合交换手性流动相法（HPLC）左氧氟沙星光学杂质检查

色谱条件



1.0mg/ml

←供试品溶液

10μg/ml

←对照品溶液

20μg ~ 1mg

←氧氟沙星-左氧对照品

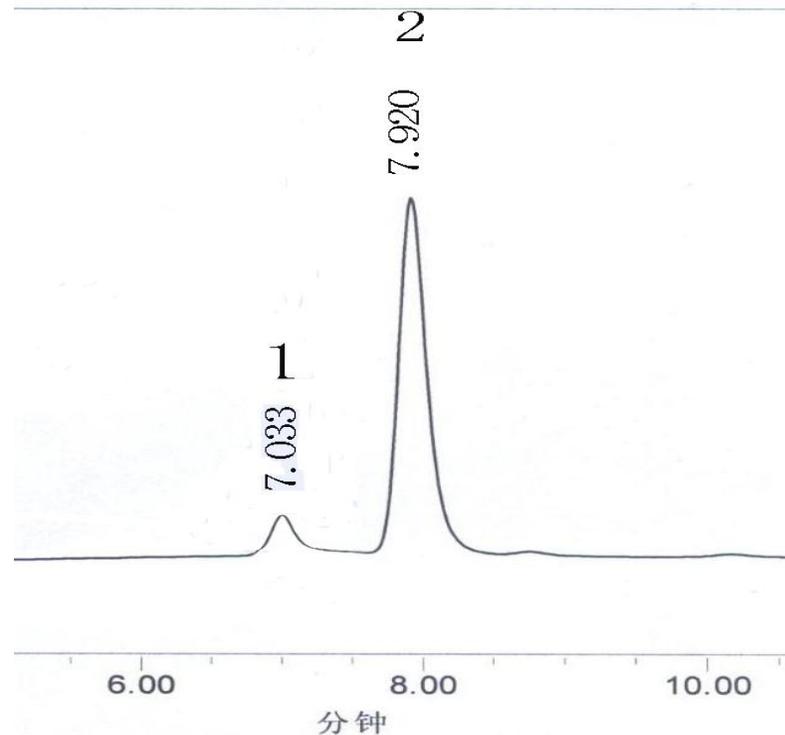
各20μl

←进样



- **判断：**

供试品溶液色谱图中右氧氟沙星峰面积不得大于对照溶液主峰面积（1.0%）。



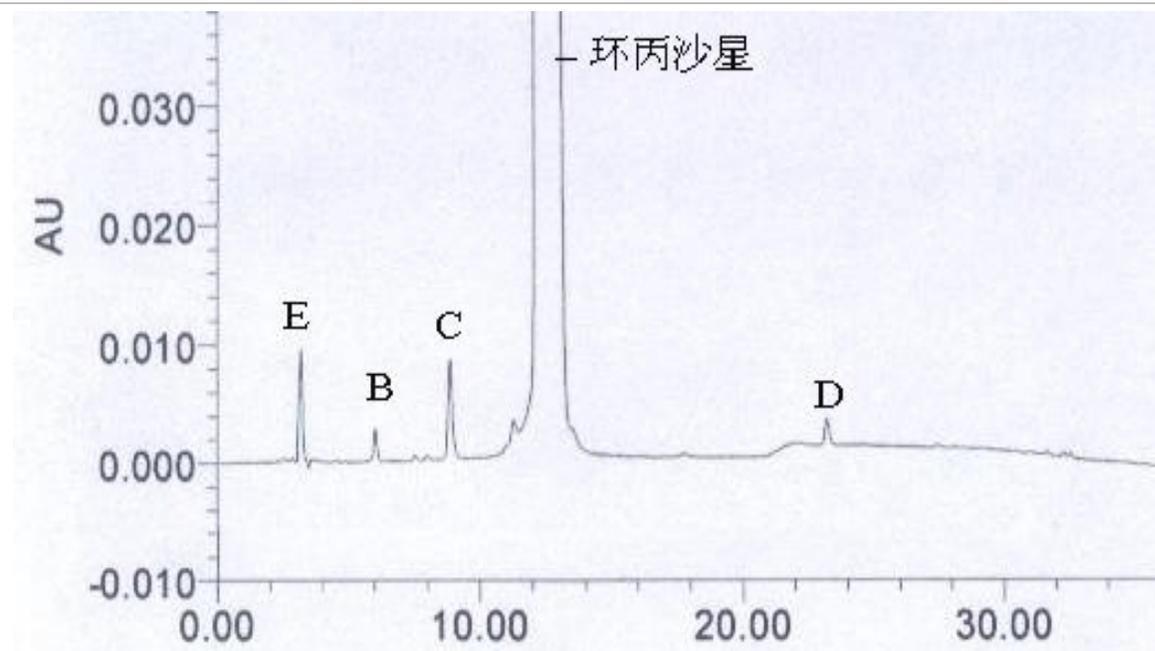
左氧氟沙星中的光学异构体分离图谱

1.右氧氟沙星；2.左氧氟沙星



例：环丙沙星中有关物质检查P419

| 时间 (min) | 流动相 A (%) | 流动相 B (%) |
|-------------|--------------|--------------|
| 0 | 100 | 0 |
| 16 | 100 | 0 |
| 53 | 40 | 60 |
| 54 | 100 | 0 |
| 65 | 100 | 0 |



环丙沙星中有关物质的分离图谱
主峰为环丙沙星峰；
B、C、D和E为有关物质峰

判断：供试品溶液色谱图中如有杂质峰，杂质A（262nm检测）按外标法以峰面积计算，不得超过0.3%；杂质B、C、D和E（278nm检测）按校正后的峰面积计算（分别乘以校正因子0.7、0.6、1.4和6.7），均不得大于对照溶液主峰面积（0.2%）；其他单个杂质（278nm检测）峰面积不得大于对照溶液主峰面积（0.2%），各杂质（278nm检测）校正后峰面积的和不得大于对照溶液主峰面积的2.5倍（0.5%）。



五、含量測定

1. 非水溶液滴定法（吡哌酸原料）
2. 紫外分光光度法（吡哌酸制剂）
3. 高效液相色谱法（喹诺酮类药物的原料和制剂（吡哌酸除外））



例 诺氟沙星胶囊的含量测定

取[装量差异]项下的内容物，混合均匀，精密称取细粉适量（约相当于诺氟沙星125mg），置500ml量瓶中，加0.1mol/L盐酸溶液10 ml使溶解后，用水稀释至刻度，摇匀，滤过，精密量取续滤液5 ml，置50ml量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀，精密量取20 μ l，照诺氟沙星含量测定项下的方法测定。



原料药

$$\text{含量}\% = \frac{C_R \times \frac{A_X}{A_R} \times D \times V_X}{m_S} \times 100\%$$

片剂和胶囊剂

$$\text{标示量}\% = \frac{C_R \times \frac{A_X}{A_R} \times V_X \times D \times \text{平均片(囊)重}}{m_S \times \text{标示量}} \times 100\%$$



例：诺氟沙星胶囊 (规格：0.1g)

取本品**20粒**，分别精密称定重量后，倾出内容物，用小刷子拭净胶囊壳，再分别精密称定囊壳重量，求出**平均装量为0.4528g**，再取装量差异项下的内容物，混合均匀，精密称取细粉**0.5645g**（约相当于诺氟沙星125 mg），置**500ml**量瓶中，加0.1mol/L盐酸溶液10ml使溶解后，用水稀释至刻度，摇匀，滤过，精密量取续滤液**5ml**，置**50ml**量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀，精密量取20 μl注入液相色谱仪，记录色谱图，得峰面积为**903**；另取诺氟沙星对照品**0.0124g**置**50ml**量瓶中，加0.1 mol/L盐酸溶液10ml使溶解后，用水稀释至刻度，摇匀，再精密量**5ml**，置**50ml**量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀，同法测定，记录峰面积为**848**，按外标法以峰面积计算供试品中 $C_{16}H_{18}FN_3O_3$ 的含量。

$$C_R = \frac{0.0124}{50} \times \frac{5}{50}$$

$$\text{标示量}\% = \frac{C_R \times \frac{A_X}{A_R} \times V_X \times D \times \text{平均囊重}}{m_S \times \text{标示量}} \times 100\%$$



解：依据：

$$\text{标示量}\% = \frac{C_R \times \frac{A_X}{A_R} \times V_X \times D \times \text{平均囊重}}{m_S \times \text{标示量}} \times 100\%$$

$$= \frac{\frac{0.0124}{50} \times \frac{5}{50} \times \frac{903}{848} \times 500 \times \frac{50}{5} \times 0.4528}{0.5645 \times 0.1} \times 100\%$$

$$= 105.9\%$$

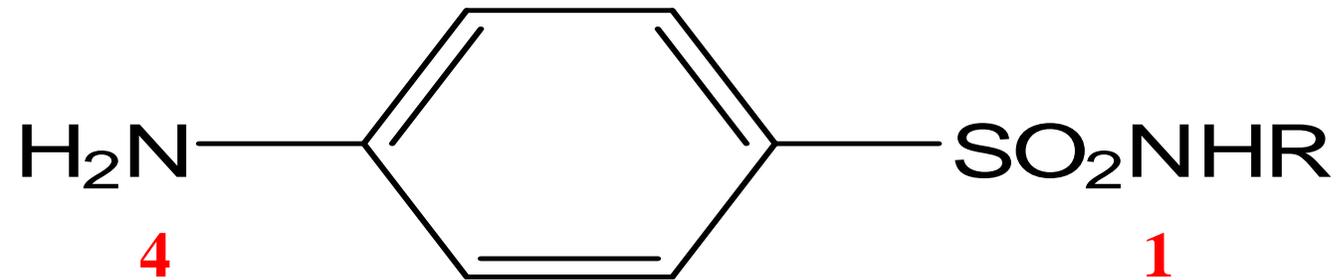
答： ...



第二节

磺胺类药物的分析



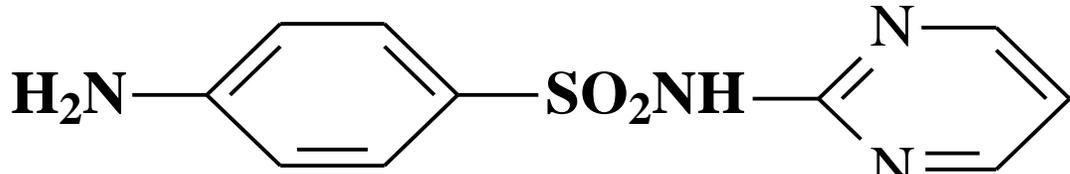


磺胺类药物的结构通式

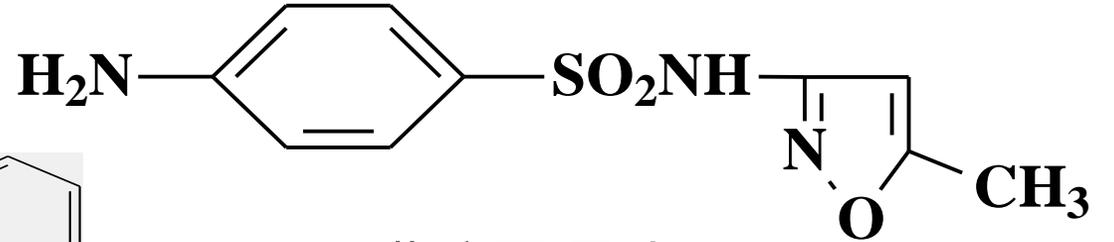
对氨基苯磺酸酰胺



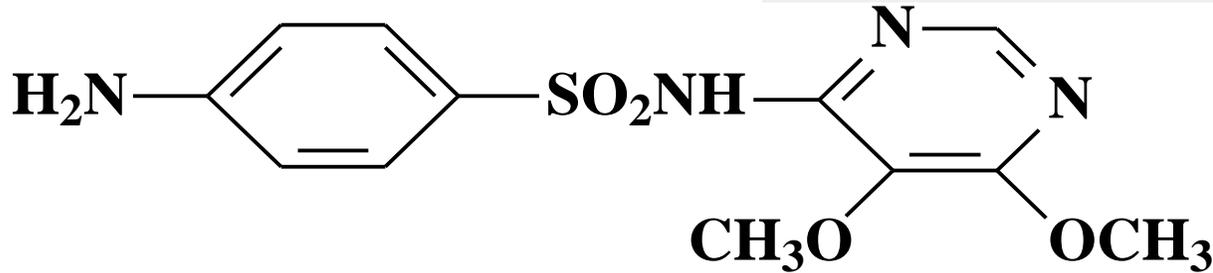
一、代表药物的化学结构



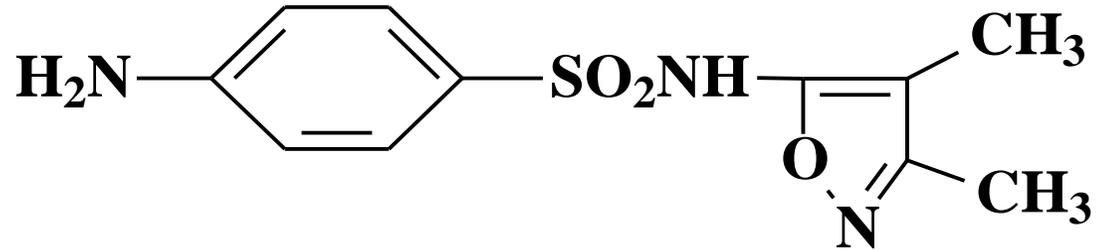
磺胺嘧啶
Sulfadiazine



磺胺甲噁唑
Sulfamethoxazole



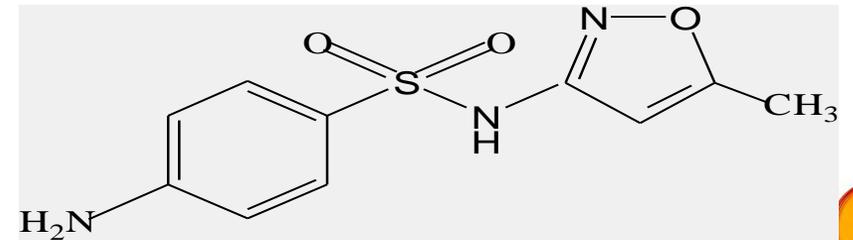
磺胺多辛
Sulfadoxine



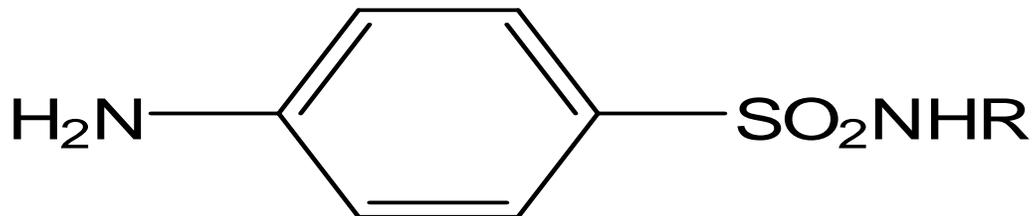
磺胺异噁唑
Sulfafurazole

基本母核：对氨基苯磺酰胺

结构特点：芳伯氨基、磺酰氨基



二、理化性质



取代基的反应

- 性状
- 酸碱两性
- 芳伯氨基反应
- 磺酰氨基反应

注：

- 白色或类白色结晶性粉末。
- 水不溶，溶于稀盐酸或氢氧化钠溶液，略溶乙醇、丙酮
- 磺酰氨基上的氢较活跃，可被金属离子取代，生成不同颜色的金属盐沉淀



三、鉴别试验

(一) 金属离子的取代反应

(二) 芳香第一胺反应

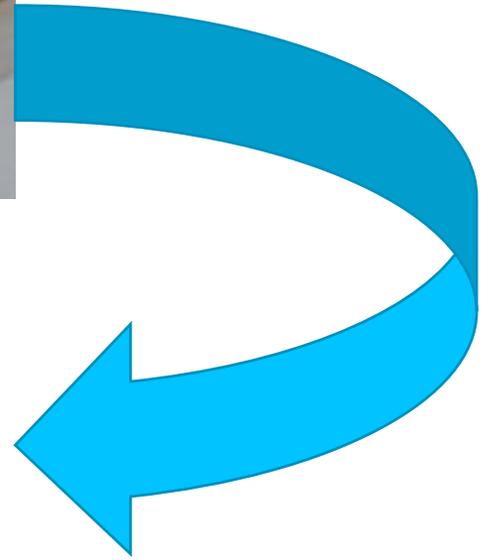
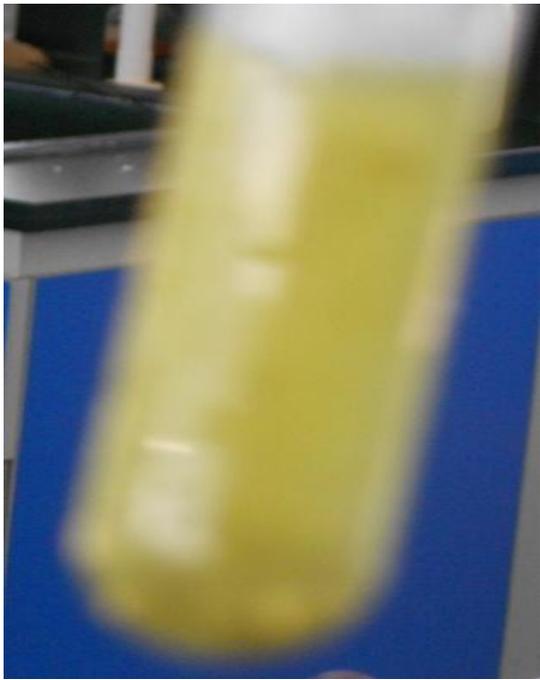
(磺胺嘧啶、磺胺异噁唑、磺胺甲噁唑和磺胺多辛均具有芳伯氨基)

(三) 钠盐反应

(四) 高效液相色谱法

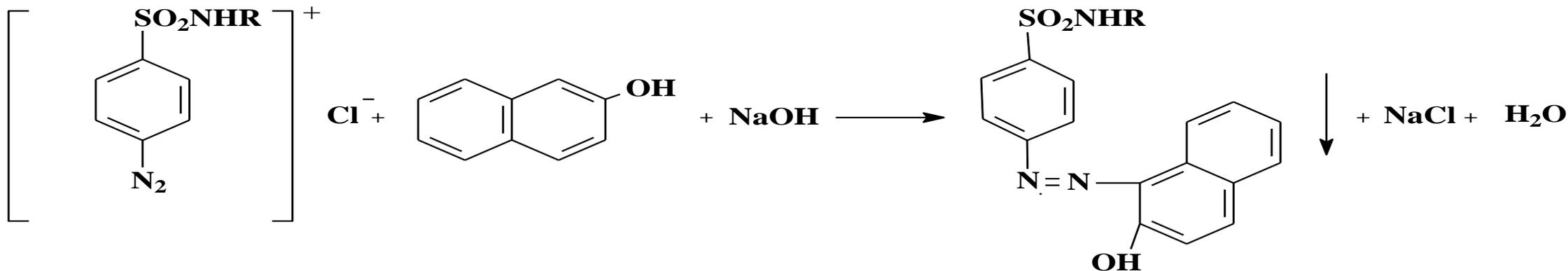
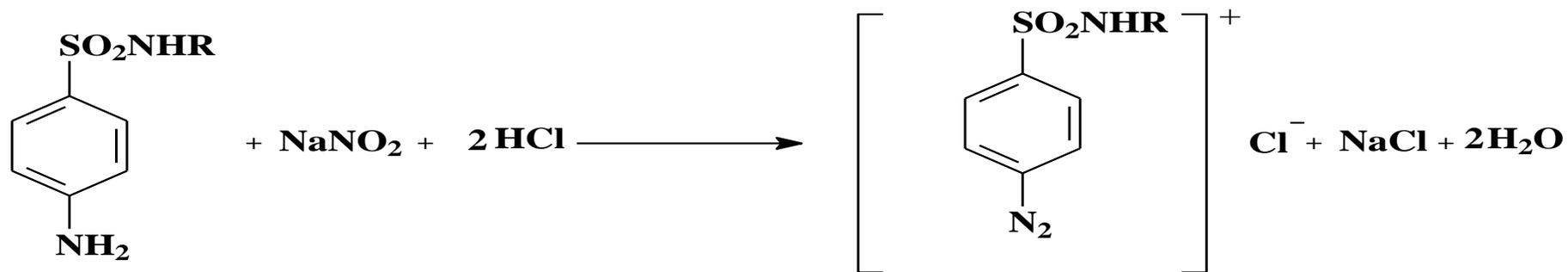
(五) 红外分光光度法





磺胺嘧啶

(二) 芳香第一胺反应



三、有关物质检查

磺胺甲噁唑

- (1) 酸度 (pH值测定法)
- (2) 碱性溶液的澄清度与颜色
- (3) 有关物质 (薄层色谱法)

供试品自身对照法 (高低浓度对比法)



四、含量测定

(一) 高效液相色谱法 (外标法) (磺胺嘧啶片)

(二) 亚硝酸钠滴定法或叫永停滴定法 (原料及制剂)

1.原理 2.条件 3.指示终点的方法

(三) 非水溶液滴定法

(四) 沉淀滴定法

(五) 紫外-可见分光光度法



例 实训五 磺胺嘧啶的含量测定（同普鲁卡因）

操作方法：

取本品约0.5g，精密称定，置烧杯中，加水40ml与盐酸溶液（1 → 2）15ml，照永停滴定法（通则0701），用亚硝酸钠滴定液（0.1mol/L）滴定。每1ml亚硝酸钠滴定液（0.1mol/L）相当于25.03mg的 $C_{10}H_{10}N_4O_2S$ 。

虚拟实验



永停滴定法测定磺胺嘧啶含量记录表格

隨身課堂

| 实验次数 | 1 | 2 | 3 |
|-----------------|--------------|--------|--------|
| 取样量 m_s (mg) | 0.5004 | 0.5004 | 0.5008 |
| V滴定体积(ml) | 19.95 | 19.92 | 20.06 |
| 磺胺嘧啶含量(%) | 99.79 | 99.64 | 100.26 |
| 磺胺嘧啶平均含量 (%) | 99.90 | | |
| 相对平均偏差 (%) | 0.24 | | |
| 磺胺嘧啶标示量限度 (%) | 95.0%-105.0% | | |
| 结论 | 符合要求 | | |

提交分析报告

$$A\% = \frac{T \times V \times F}{m_s} \times 100\%$$

F=1

$$\text{相对平均偏差}\% = \frac{|X_1 - \bar{X}| + |X_2 - \bar{X}| + |X_3 - \bar{X}|}{3 \times \bar{X}} \times 100\%$$



示例（非水溶液滴定法）

磺胺异噁唑片

【含量测定】

- 取磺胺异噁唑片20片，精密称定，研细，精密称取细粉适量（约相当于磺胺异噁唑0.5g），加二甲基甲酰胺40ml使溶解，加偶氮紫指示液3滴，用甲醇钠滴定液（0.1mol/L）滴定至溶液恰显蓝色，并将滴定的结果用空白试验校正。每1ml甲醇钠滴定液（0.1mol/L）相当于26.73mg的 $C_{11}H_{13}N_3O_3S$ 。

$$\text{标示量}\% = \frac{T \times (V - V_0) \times F \times \text{平均片重}}{\text{样品量} \times \text{标示量}} \times 100\%$$



本章小结—喹诺酮类药物

- **结构**：由吡啶酮酸并联苯环、吡啶环或嘧啶环等组成。 (4-吡啶酮-3-羧酸)
- **性质**：酸碱两性，具有紫外吸收特征，遇光照易分解。
- **鉴别**：叔胺基团与丙二酸的呈色反应；UV、TLC、HPLC和IR鉴别。
- **检查**：喹诺酮类药物有关物质主要采用HPLC。
- **含量测定**：《中国药典》主要采用非水溶液滴定法、UV和HPLC等测定其含量。



本章小结—磺胺类药物

- 结构：具有**对氨基苯磺酰胺**结构。
- 性质：显酸碱两性；含有芳伯氨基，可发生重氮化-偶合反应；磺酰氨基的氢原子，可被金属离子取代，生成**不同颜色的金属盐沉淀**。
- 鉴别：金属离子的取代反应、芳香第一胺反应、IR和HPLC法。
- 检查：特殊杂质检查，多采用TLC。
- 含量测定：ChP 2020主要采用**HPLC**、滴定法（**亚硝酸钠**滴定法、**非水**溶液滴定法和沉淀滴定法）等。





隨身課堂

《药物分析》

合成抗菌药物的分析

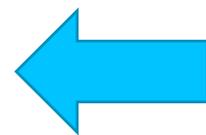
敬请关注下一节内容

药物制剂分析概论



磺胺甲噁唑的有关物质【供试品自身对照法（**高低浓度对比法**）】

取本品，加乙醇-浓氨溶液（9：1）制成**每1ml中约含10mg**的溶液，作为供试品溶液；精密量取适量，用乙醇-浓氨溶液（9：1）稀释制成**每1ml中约含50 μ g**的溶液，作为对照溶液。照薄层色谱法（通则0502）试验，吸取上述两种溶液各10 μ l，分别点于同一以0.1%羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶H薄层板上，以三氯甲烷-甲醇-N，N-二甲基甲酰胺（20：2：1）为展开剂，展开，晾干，喷以乙醇制**对二甲氨基苯甲醛**试液使显色。供试品溶液如显杂质斑点，与对照溶液的主斑点比较，不得更深。



与茜素氟蓝反应：氧瓶燃烧 \longrightarrow F^- +

茜素氟蓝 $\xrightarrow[\text{硝酸亚铈}]{\text{pH=4.3醋酸-醋酸钠缓冲液}}$ 蓝紫色螯合物



亚硝酸钠法：**滴定条件：**

- (1) 适量溴化钾作催化剂
- (2) 过量的盐酸
- (3) 室温条件下滴定 10~30°C
- (4) 滴定速度：先快后慢

指示终点的方法：

- (1) 永停滴定法：**中国药典**采用
- (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
(紫红→纯蓝色为终点)

