

药物分析

第六章

芳酸类非甾体抗炎药物的分析



人民卫生出版社

PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

“各论”——12类药物的分析



4

含量测定

3

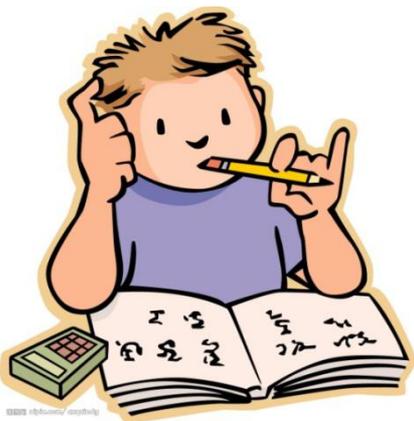
有关物质与检查

2

鉴别试验

1

结构与性质



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

“各论”学习要求

- 各类药物的结构-性质-分析方法
 - ① 结构 → 性质
 - ② 性质 → 分析方法
- 典型药物的分析方法-质量标准
 - ① 鉴别试验
 - ② 有关物质（特殊杂质）检查
 - ③ 含量测定
- 典型药物 → 各类药物分析 → 药品质量标准



“总论”知识回顾

- 性状
 - 主观感知的物理特性？
- 鉴别
 - 本质与方法？
- 检查
 - 内容与方法？
- 含量测定
 - 方法特点与应用？



鉴别 (Identification)

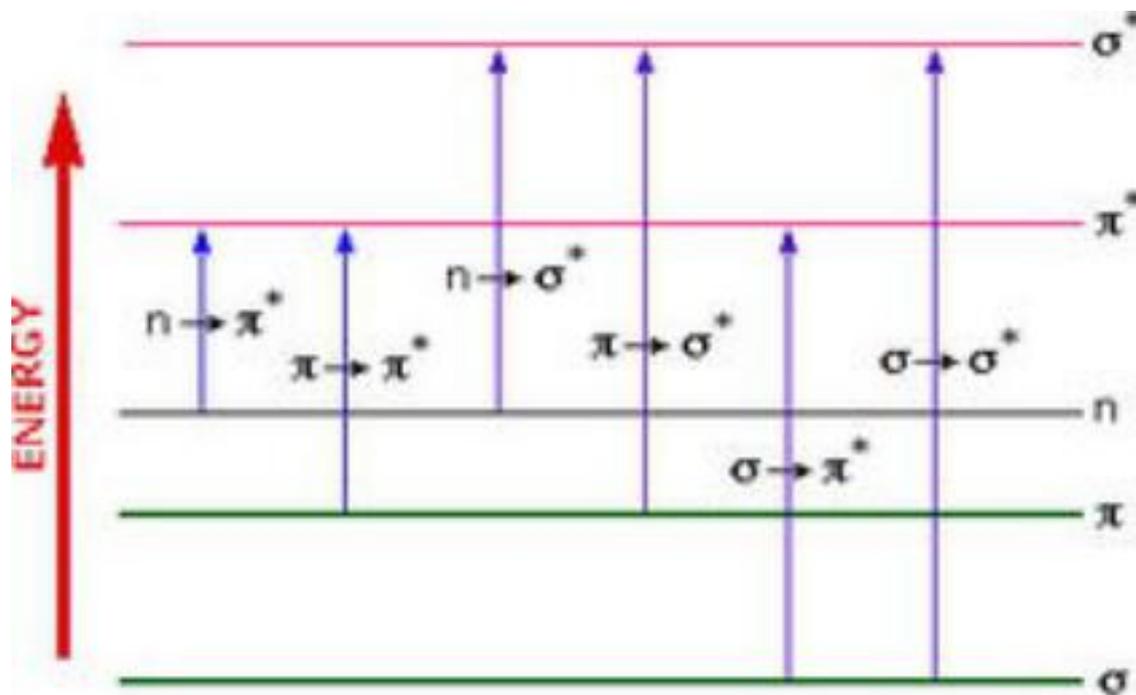
- **本质：** 样品与记载名称一致性的验证
- **方法：**
 - **化学法 (主成分-定性)**
 - ✓ 颜色改变
 - ✓ 状态改变： 液体→固体 (沉淀)； →气体



➤ 光谱法 (IR、UV-Vis)

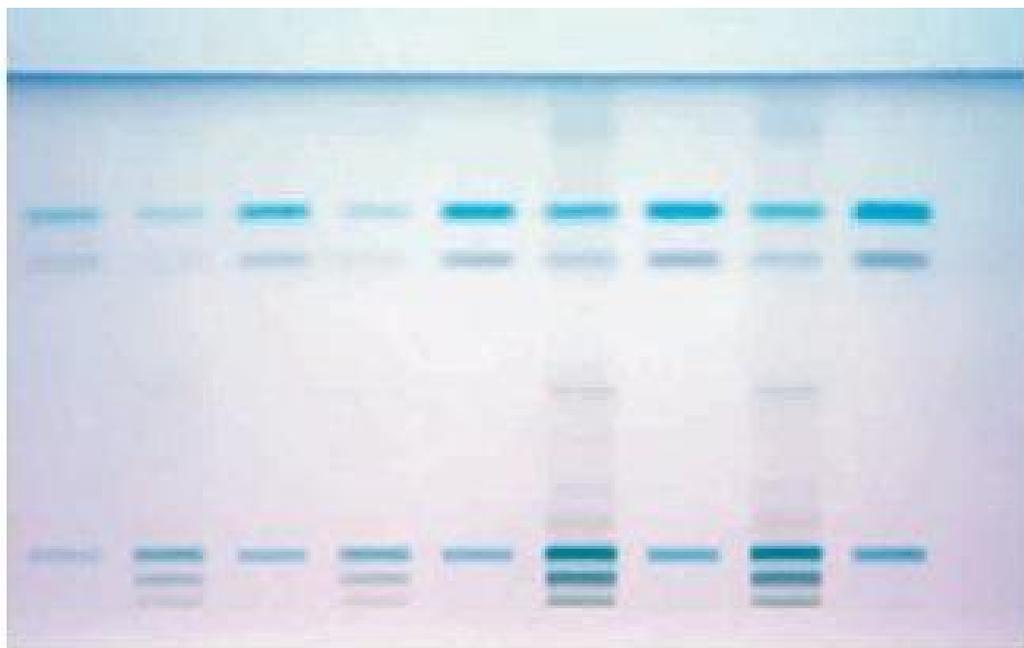
✓ 最大吸收波长/最小吸收波长

✓ 吸收系数/比值； 吸光度/比值



➤ 色谱法 (TLC、HPLC)

✓ 比移值与颜色； 保留时间一致



检查 (Test)

- 安全、有效、均一、纯度

纯度检查

- 化学法
 - 颜色改变
 - 状态改变：液体→固体（沉淀）； →气体
- 光谱法
 - IR：吸光度比值
 - UV-Vis：吸光度限制； AA：标准加入法
- 色谱法
 - TLC（斑点大小/颜色）、HPLC、GC（峰面积）



含量测定 (Assay)

滴定法 (化学法) —— 原料药

- 酸碱滴定法 (非水溶液滴定法)
- 氧化还原滴定法
- 氧瓶燃烧法、凯氏定氮法

光谱法——单方制剂含量、溶出度、含量均匀度

- 吸收系数法
- 标准对照法
- 标准曲线法/计算光谱法

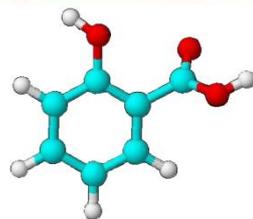
色谱法——制剂含量测定

- HPLC、GC



概述

非甾体抗炎药——阿司匹林



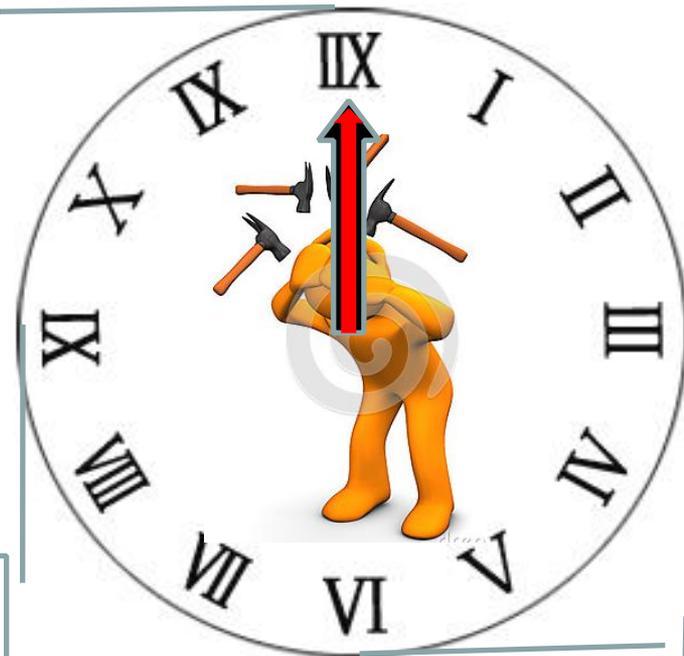
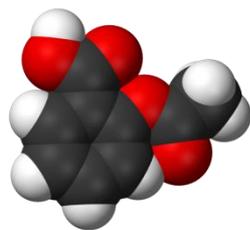
1900年德国拜尔:

- 生产阿司匹林



1898年德国化学家霍夫曼:

- 水杨酸合成乙酰水杨酸



中国古代:

- 咀嚼柳树皮退烧和止痛



欧洲19世纪:

- 柳树皮的药效成分为水杨酸



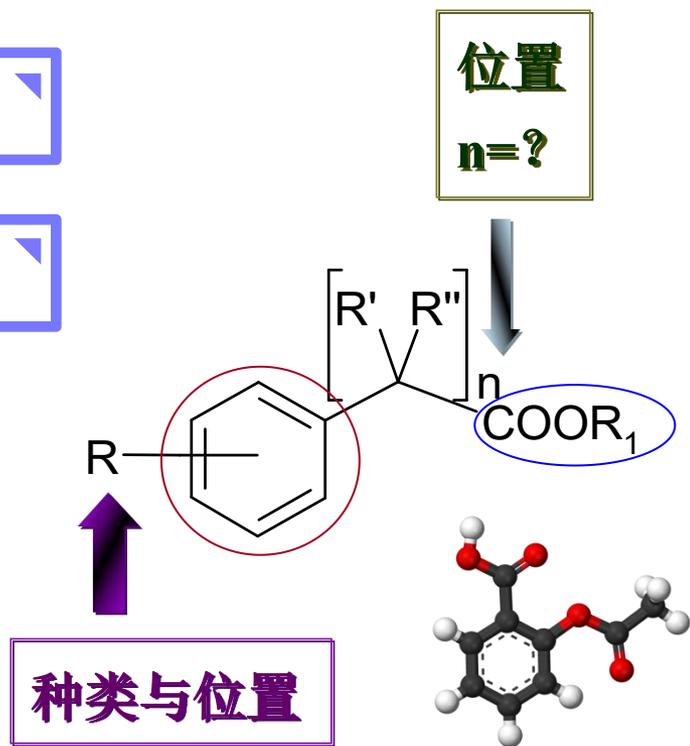
- 非甾体抗炎药（NSAIDs）：一类不含有甾体骨架的抗炎药，目前临床使用最多的药物种类之一
- 芳酸类NSAIDs：芳香环上连接有羧酸

水杨酸 ($n=0$; $R=-OH/-OCOCH_3$)

邻氨基苯甲酸 ($n=1$; $R=-NH-R_2$)

邻氨基苯乙酸 (...; $R'=-CH_3$)

苯并噻嗪甲酸/吲哚乙酸 ($R?$)



本章学习要求

掌握

- 芳酸类药物的结构-性质-分析方法的关系
- 典型药物的鉴别和含量测定的原理与方法要点

熟悉

- 典型药物特殊杂质的结构与检查方法

了解

- 其他药物的分析方法



第一节

结构与性质



一、典型药物结构特点 → 主要性质

二、主要性质 → 分析方法



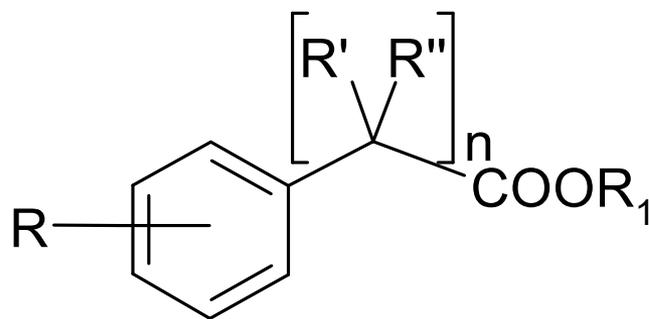
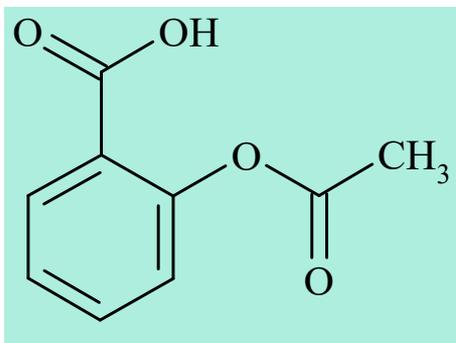
分类与典型药物（表6-1）

芳香甲酸（羧酸与芳香环直接相连， $n=0$ ）

- 邻-羟基苯甲酸

- 水杨酸（游离）、二氟尼柳（游离，5-（2，4-二氟）苯基）

- 阿司匹林（乙酰化）、双水杨酸酯（水杨酰化）



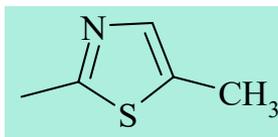
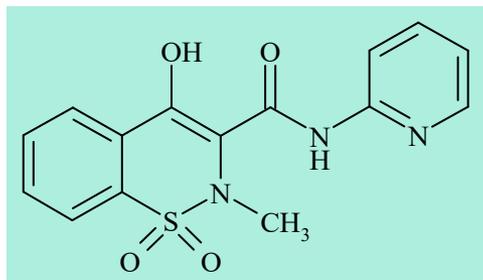
- 邻-氨基苯甲酸

- 甲芬那酸（2, 3-二甲基苯胺）

- 苯丙噻嗪甲酸

- 吡罗昔康——酰胺（吡啶-2-氨基）、烯醇式羟基、磺酰基

- 美洛昔康——酰胺（噻唑-2-氨基）、烯醇式羟基、磺酰基

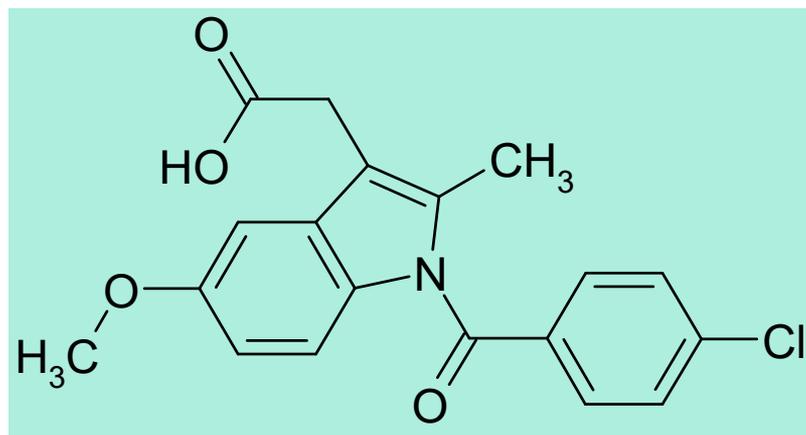


吡罗/美洛昔康



芳香乙酸 ($n=1$)

- 邻-氨基苯乙酸
 - 双氯芬酸钠 (2, 6-二氯苯胺)
- 吲哚乙酸
 - 吲哚美辛 (4-氯-苯甲酰胺)

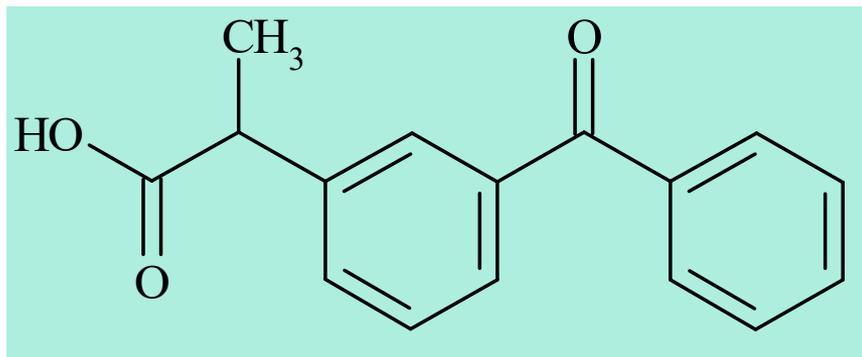


吲哚美辛



芳香丙酸（甲基取代， $n=1$ ）

- 2-苯基丙酸
 - 布洛芬（4-烷基） / 酮洛芬（2-苯甲酰基）
- 2-萘基-2-丙酸
 - 萘普生（6-甲氧基）



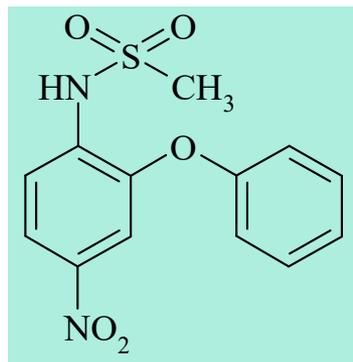
酮洛芬



其他

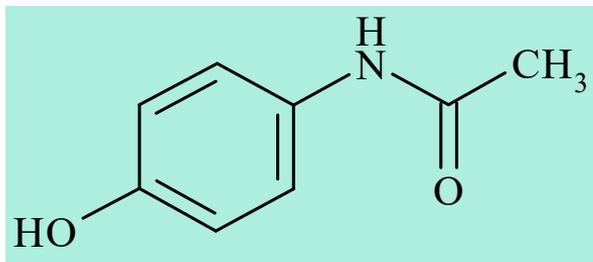
- 磺酰苯胺

- 尼美舒利 (4-硝基)



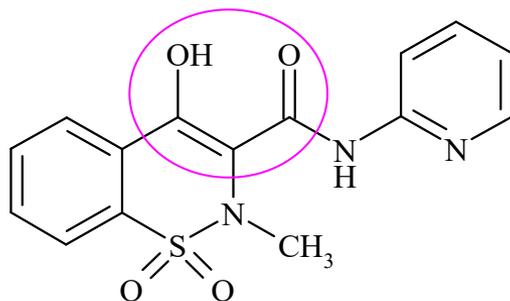
- 乙酰苯胺

- 对乙酰氨基酚 (4-酚羟基)



一、结构特点→主要性质

- 羧基 → 酸性
- 取代芳香环 → 特征光谱 (UV、IR、HPLC)
 - 特征结构：
 - 酯 (双氯芬酸钠/双水杨酯)
 - 酰胺 (吡罗昔康/美洛昔康)
 - 杂环 (吲哚美辛/吡罗昔康/美洛昔康)



吡罗昔康



- 特征基团：
 - 酚羟基（水杨酸/阿司匹林/双水杨酯/二氟尼柳）
 - 烯醇羟基（吡罗昔康/美洛昔康）
 - 二苯甲酮基（酮洛芬）
 - ☆芳伯氨基（尼美舒利/对乙酰氨基酚）
- 特征元素：
 - 硫/氯/氟（美洛昔康/双氯芬酸钠/二氟尼柳）



二、主要性质→分析方法

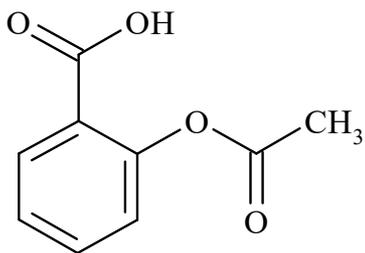
(一) 酸性

- 甲酸 ($pK_a=3.75$)

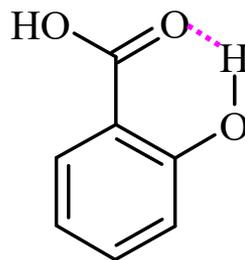
- 酸性较强 → 乙醇等（水溶性有机溶剂）中，氢氧化钠滴定

- 乙酸 ($pK_a=4.76$)

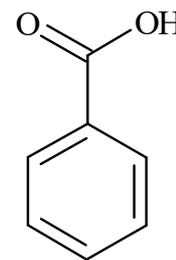
- 双氯芬酸、吲哚美辛、布洛芬、酮洛芬、萘普生
- 酸性较弱 → 但亦可同法滴定



pK_a : 3.49



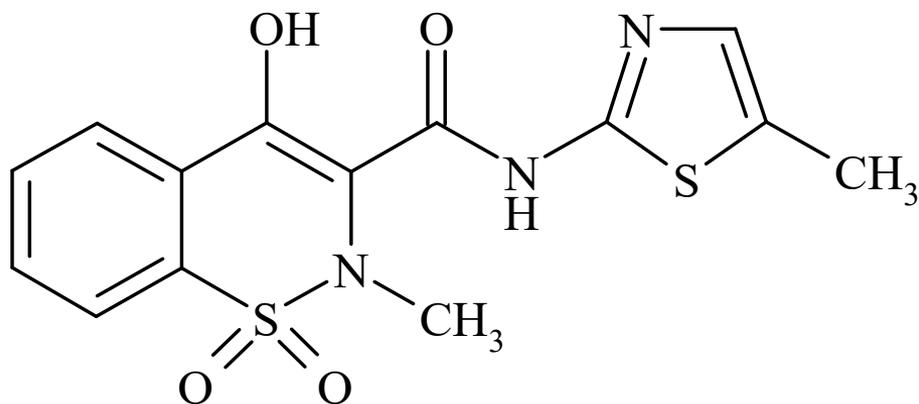
pK_a : 2.95



4.26

• 酰胺

- 吡罗昔康、美洛昔康、尼美舒利、对乙酰氨基酚
- 无明显酸性；但烯醇式结构具有酸性
- 醇-水难溶→碱溶，酸回滴



美洛昔康



（三）吸收光谱特性

紫外特征光谱

- 最大吸收波长/吸收系数 → 鉴别
- 吸收系数 → 定量检查（含量均匀度、溶出度/释放度）

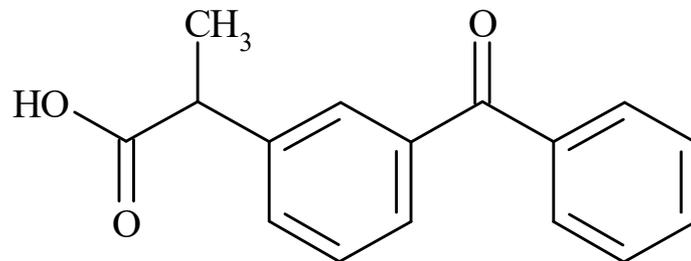
红外特征光谱

- 特征峰位（波数） → 鉴别



(四) 基团/元素特性

- 酚/烯醇羟基：阿司匹林、对乙酰氨基酚、吡罗/美洛昔康
 - 与 Fe^{3+} 显色 → 鉴别
- 二苯甲酮：酮洛芬
 - 与苯肼缩合 → 鉴别
- 元素(S)：美洛昔康
 - 有机破坏(热) → 鉴别



第二节 鉴别试验

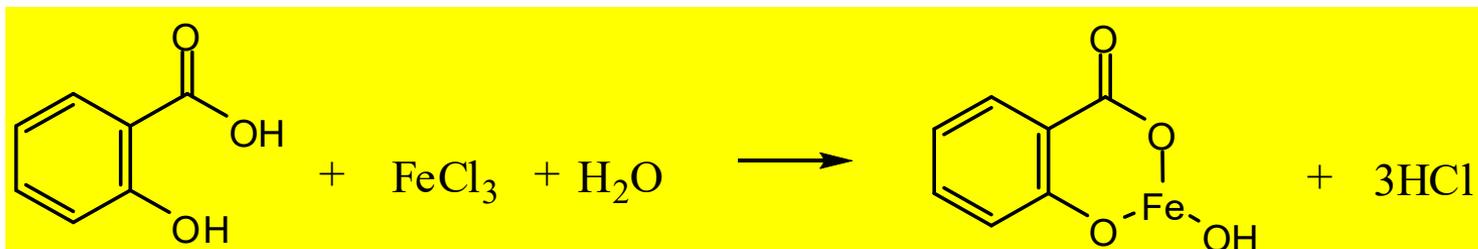


- 酚/烯醇羟基：三氯化铁反应
- 二苯甲酮：缩合反应
- 酯键：水解反应
- 芳酰伯胺：水解→重氮化-偶合反应
- 卤素/硫：特征元素反应
- 取代芳环：光谱法（IR/UV-Vis）、色谱法



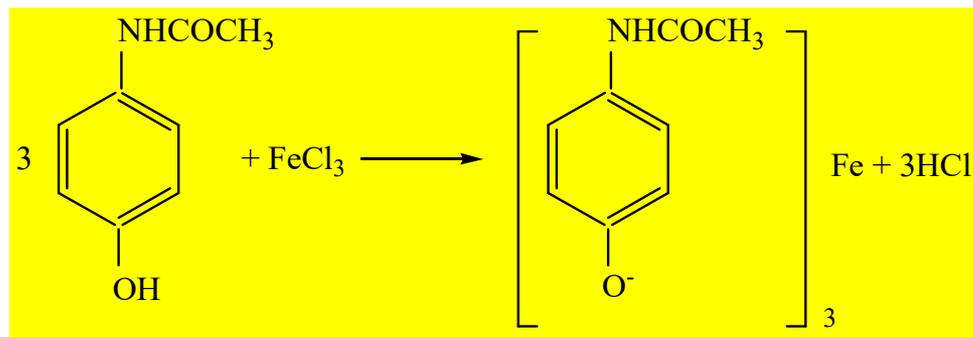
一、三氯化铁反应

1. 水杨酸反应——紫堇色



- 条件：中性或弱酸性（pH4~6）
- 方法：
 - 阿司匹林：水煮沸
 - 双水杨酯：氢氧化钠试液中煮沸
 - 二氟尼柳：乙醇中与三氯化铁试液呈深紫色

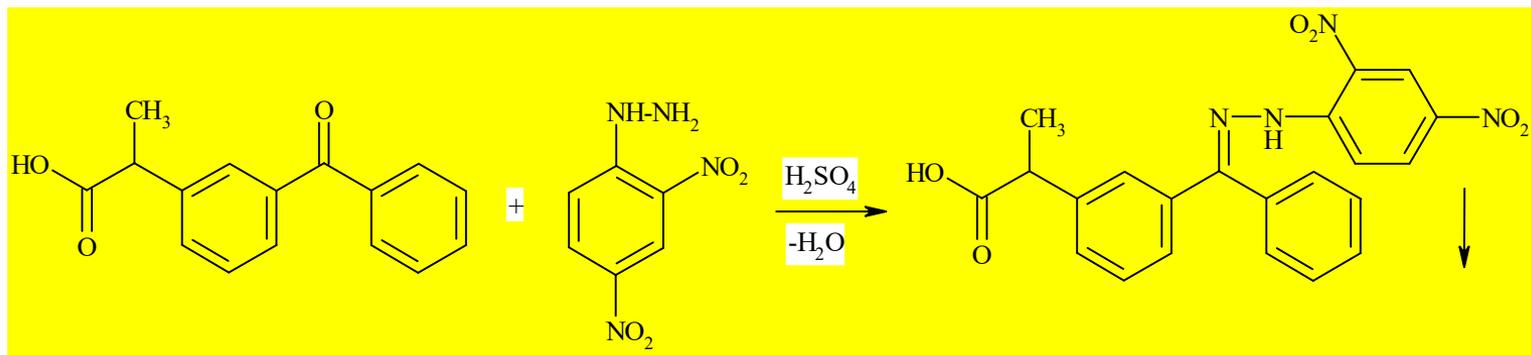
2. 酚羟基反应



- 对乙酰氨基酚：蓝紫色（水溶液）
- 烯醇式羟基：红色配位化合物（三氯甲烷）
 - 吡罗昔康：玫瑰红色
 - 美洛昔康：淡紫红色



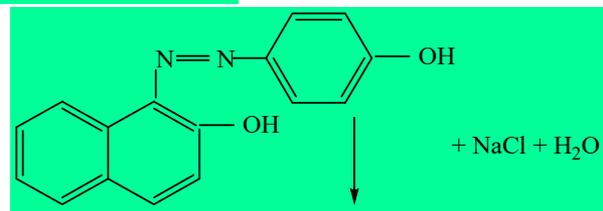
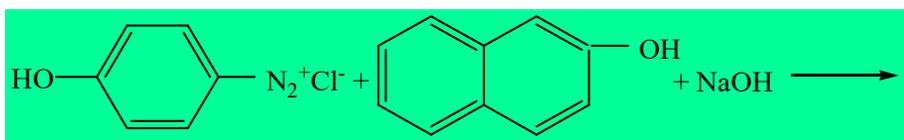
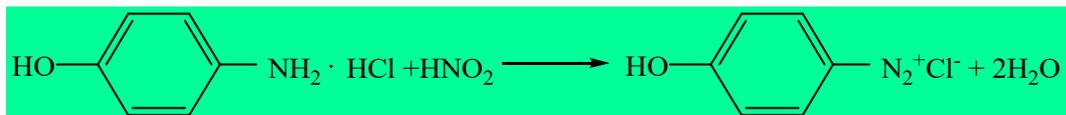
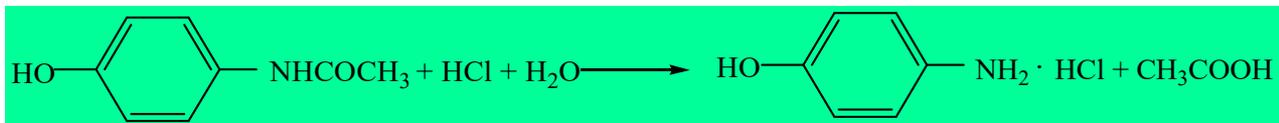
二、缩合反应



酮洛芬

- 二苯甲酮与二硝基苯肼（酸性） \rightarrow 橙色偶氮化合物

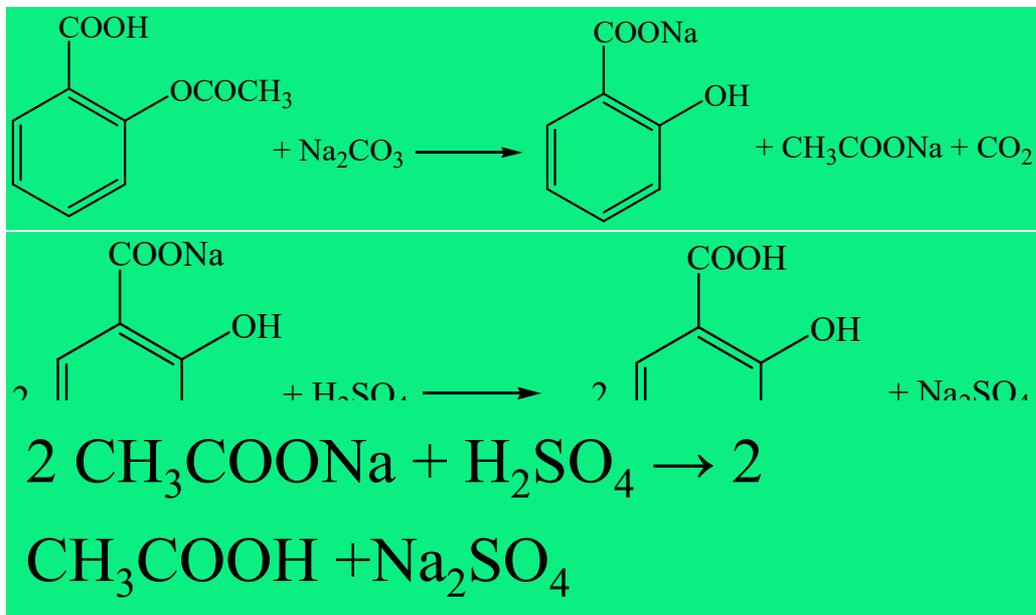
三、重氮化-偶合反应



- 对乙酰氨基酚 → 对氨基酚
游离芳伯氨基 → 重氮盐 → 红色偶氮化合物

四、其他反应

(一) 水解反应



- 阿司匹林 → 水杨酸钠与醋酸钠
→ 水杨酸沉淀；醋酸臭气
- 双水杨酯 → 水杨酸沉淀



(二) 特征元素的反应

- 氯的鉴别——与碱共热→氯化物→鉴别

- 双氯芬酸钠:

碳酸钠炽灼→水煮沸→滤液显氯化物鉴别反应

- 硫的鉴别——高温分解→硫化氢气体→鉴别

- 美洛昔康:

试管中炽灼→气体使湿润的醋酸铅试纸显黑色



五、光谱法

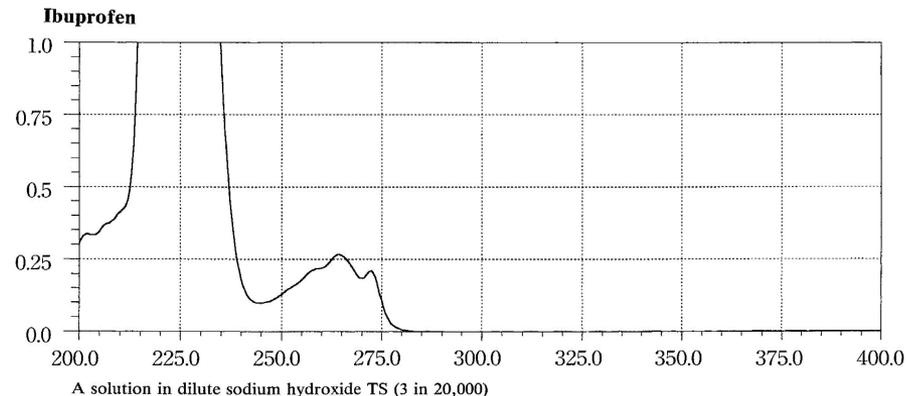
(一) 紫外-可见分光光度法

最大吸收波长法

- 双氯芬酸钠溶液：276nm有最大吸收
- 吡罗昔康片，含量测定溶液：243与334nm最大吸收

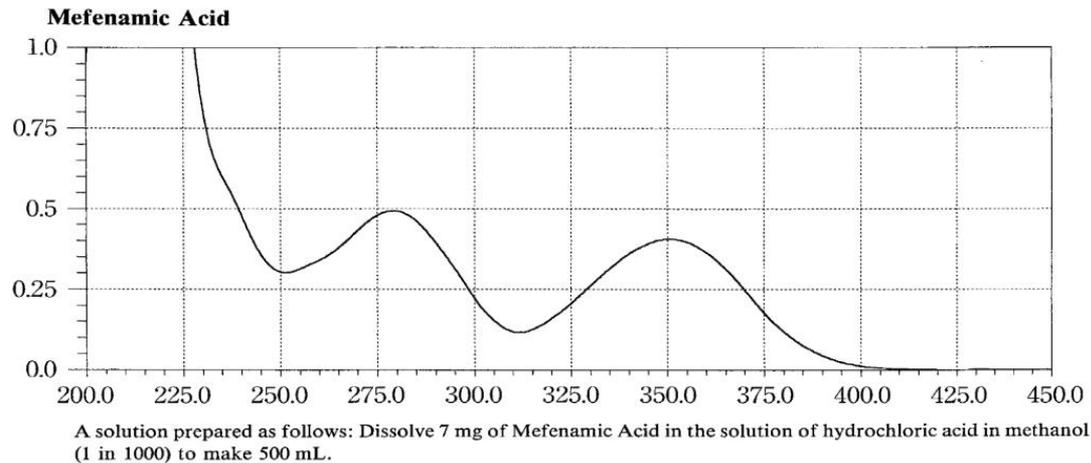
最大与最小吸收波长法

- 布洛芬及制剂氢氧化钠溶液：265、273nm最大吸收
245、271nm最小吸收
259nm肩峰



吸光度法

- 甲芬那酸盐酸-甲醇溶液：279与350nm最大吸收
- 吸光度（20 $\mu\text{g/ml}$ ）分别：0.69~0.74与0.56~0.60



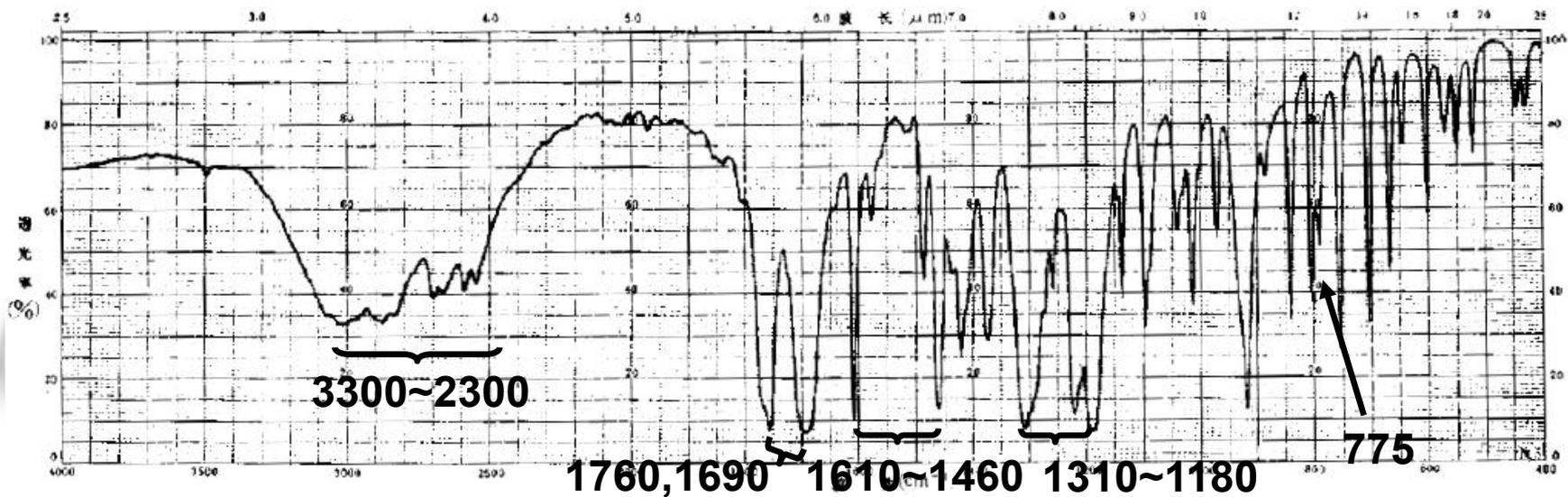
吸光度比值法

- 二氟尼柳盐酸-乙醇溶液：251与315nm最大吸收
- 吸光度比值应为4.2~4.6

(二) 红外分光光度法

- **制剂：** 布洛芬片
丙酮提取后IR鉴别
- **原料药：** 阿司匹林

峰位 (cm ⁻¹)	归属
3300~2300	$\nu_{\text{O-H}}$ (羧基)
1760; 1690	$\nu_{\text{C=O}}$ (羧酸酯和羧酸)
1610; 1570 1480; 1460	$\nu_{\text{C=C}}$ (苯环)
1310; 1230 1180	$\nu_{\text{C-O}}$ (羧酸酯和羧酸)
775	$\delta_{\text{Ar-H}}$ (邻位取代苯环)



六、色谱法

(一) 薄层色谱法

- 部分制剂：
 - **TLC鉴别：** 二氟尼柳、美洛昔康等



(二) 高效液相色谱法

- 制剂含量HPLC测定——阿司匹林等多种制剂；
 - TLC/HPLC均有收载时：
两者可任选其一：如，美洛昔康片的鉴别



第三节

有关物质与检查



药物名称

● 阿司匹林/双水杨酯

● 对乙酰氨基酚

有关物质

● 游离水杨酸 HPLC/ FeCl_3

● 有关物质

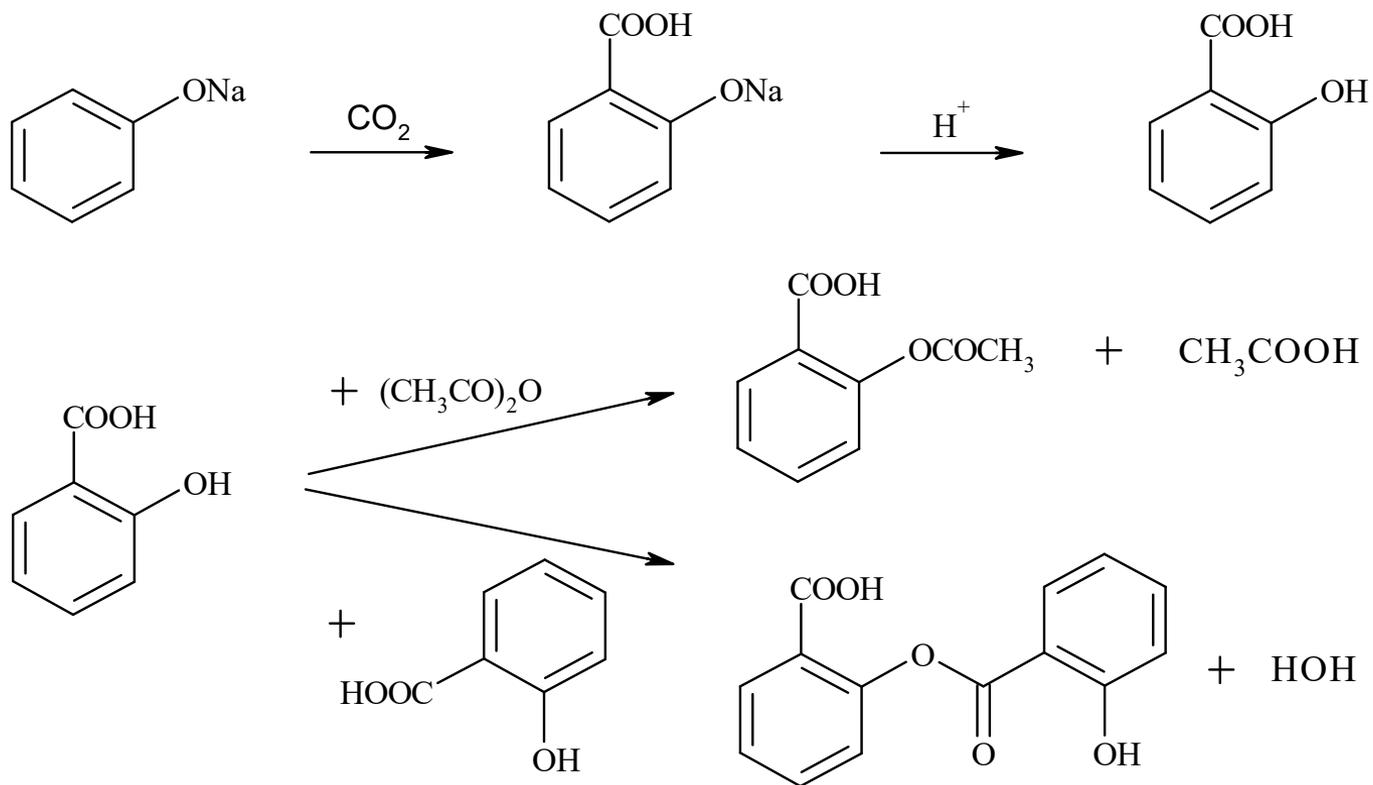
● 对氨基酚及有关物质

● 对氯苯乙酰胺



一、阿司匹林与双水杨酯

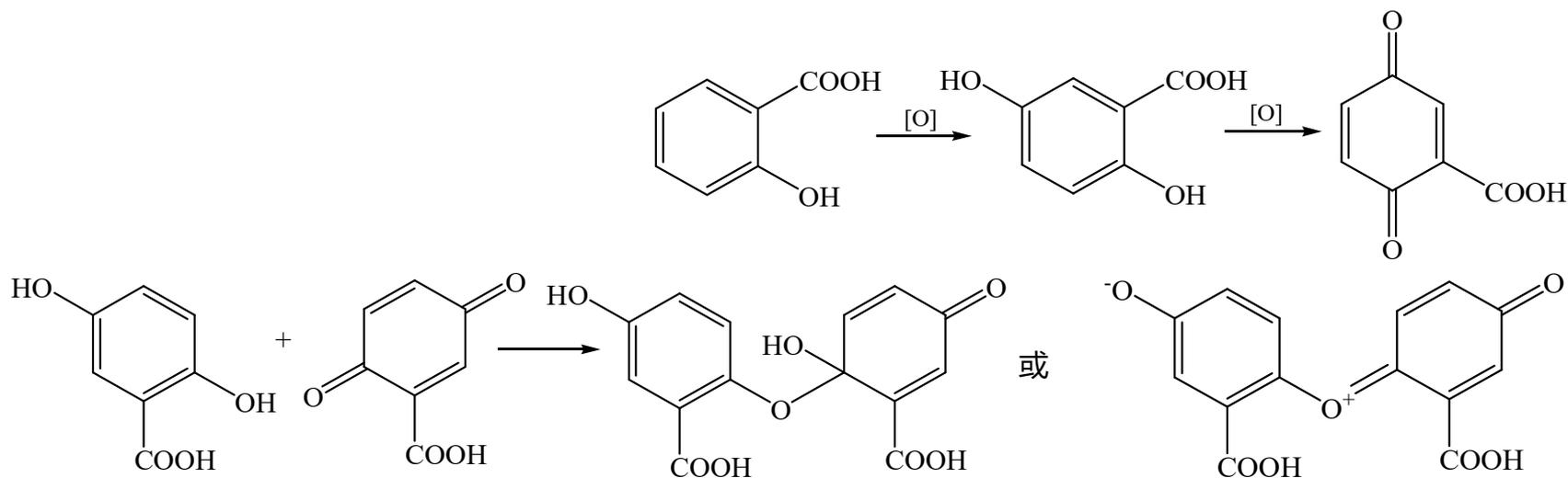
(一) 阿司匹林与双水杨酯的合成



(二) 阿司匹林中“游离水杨酸”与“有关物质”

1. 游离水杨酸

- 酚羟基易被空气（氧）逐渐氧化成有色醌型化合物



1. 游离水杨酸

- **ChP2005: 硫酸铁铵显色法**
 - 0.1g供试品溶于1ml乙醇，水稀释至50ml，稀硫酸铁铵溶液1ml显色
- **ChP2010: RP-HPLC**
 - 1%冰醋酸甲醇溶液制备供试品溶液
 - ODS柱
 - 乙腈-四氢呋喃-冰醋酸-水（20：5：5：70）
 - 303nm
 - 0.1%



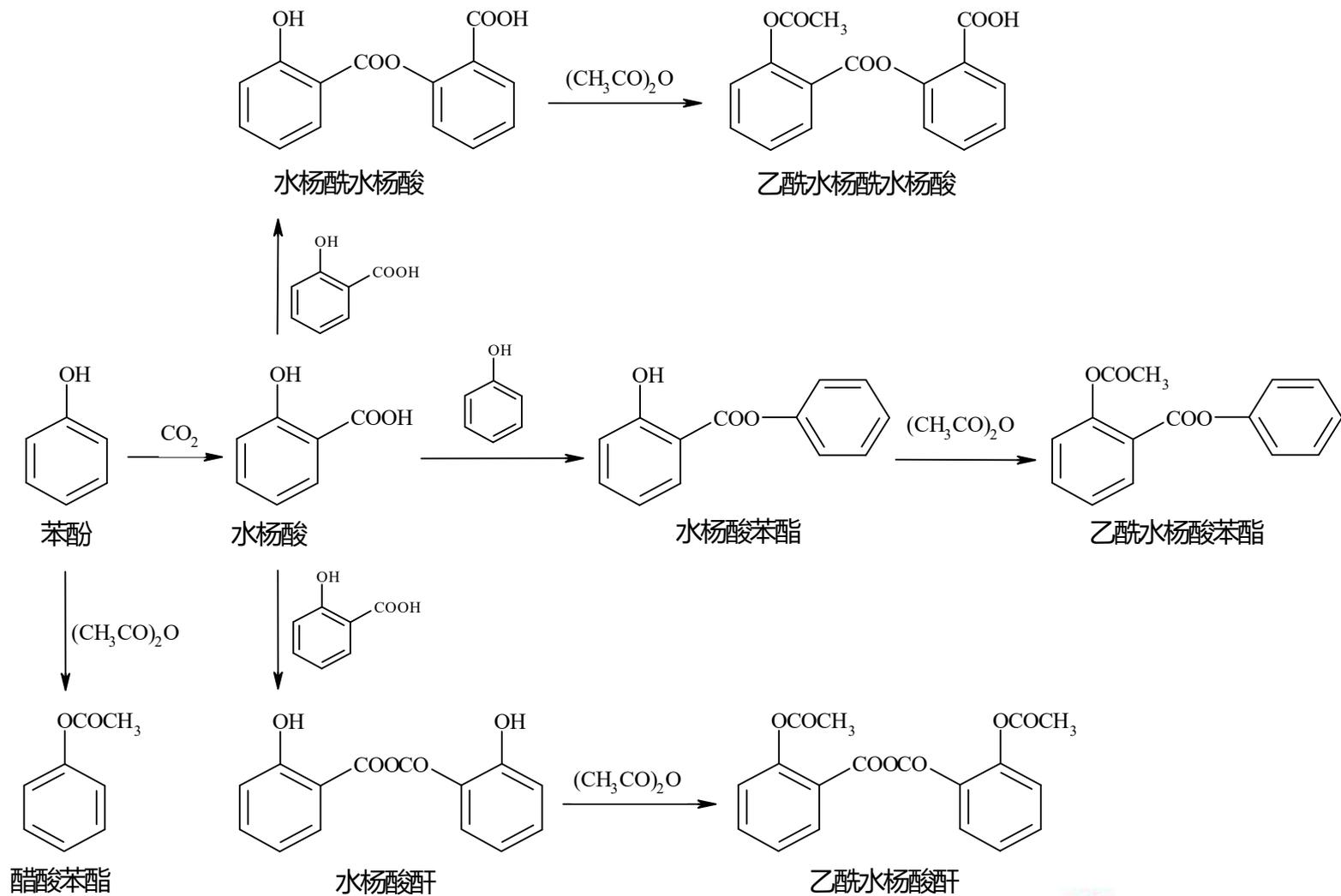
- **ChP2015: RP-HPLC**

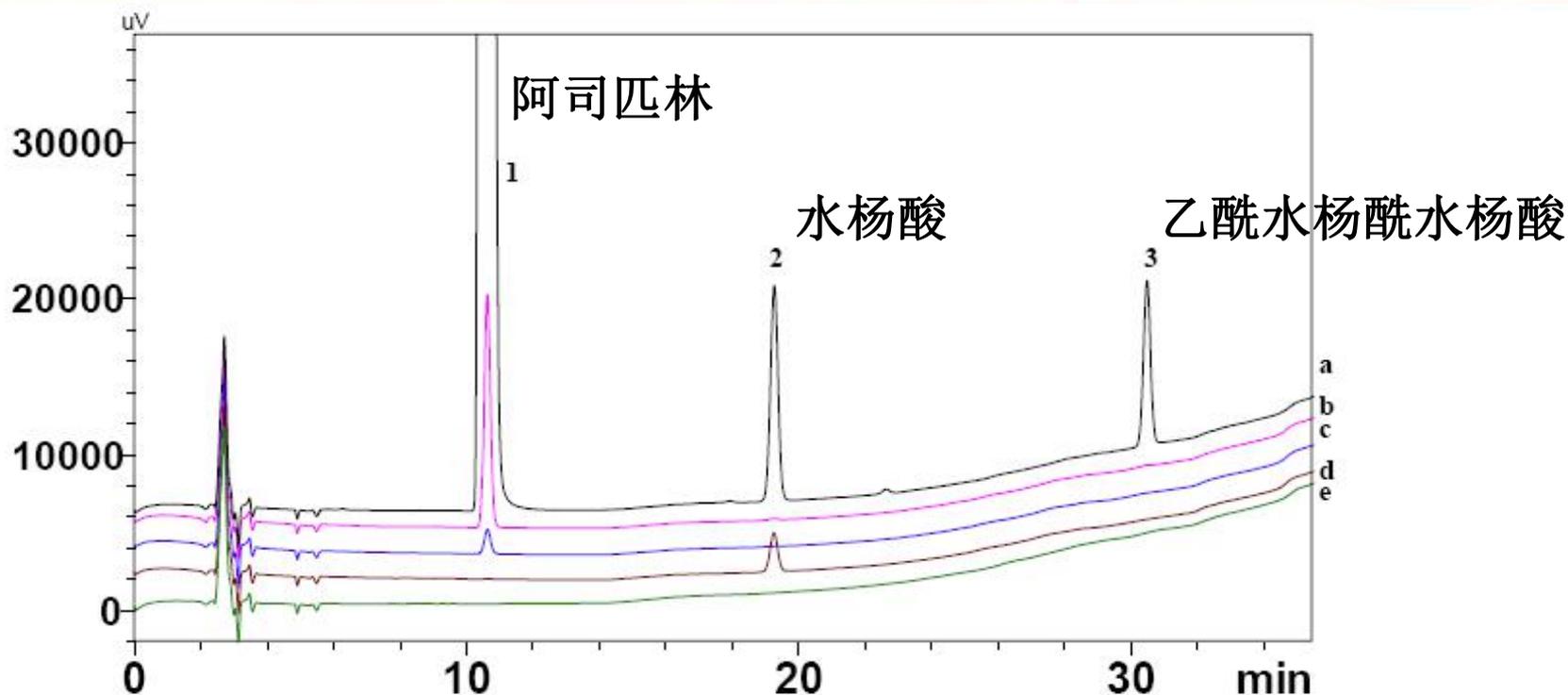
限量:

- **原料药** **0.1%**
- **片剂** **0.1%**
- **肠溶片** **1.5%**
- **肠溶胶囊** **1.0%**
- **泡腾片** **3.0%**
- **栓剂** **3.0%**



2. 有关物质





- 流动相 A: 同“游离水杨酸”
B: 乙腈
梯度洗脱
- 检测波长: 276nm
- 限度: 自身对照 (0.5%)
- a: 阿司匹林供试品 (10mg/ml)
- b: 0.5%自身对照 (50 μ g/ml)
- c: 0.05%自身对照 (灵敏度试验5 μ g/ml)
- d: 水杨酸对照 (10 μ g/ml)
- e: 空白

(三) 双水杨酯中“游离水杨酸”

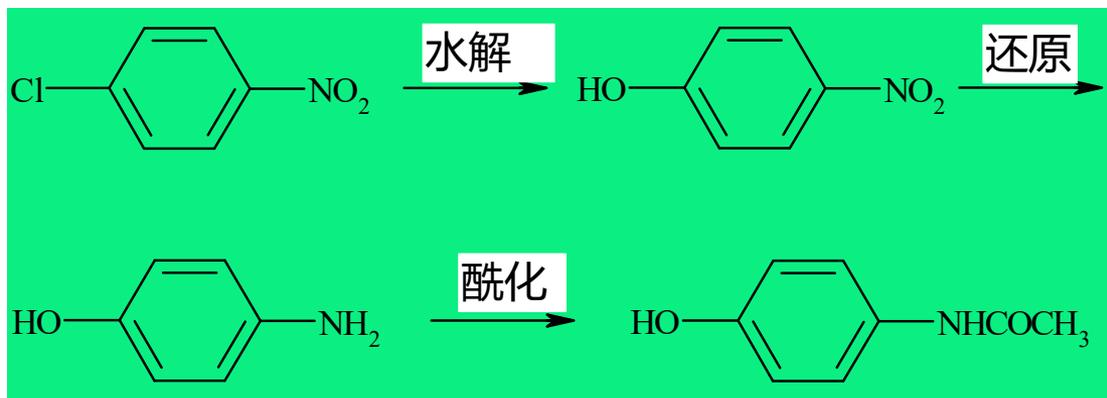
- 原理：水杨酸与三价铁生成有色配离子
- 供试溶液：50mg/ml（三氯甲烷）
- 对照溶液：0.25mg/ml（三氯甲烷）
- 显色剂：硝酸铁的0.1%硝酸溶液（1mg/ml）
- 检测：530nm测定吸光度
- 限度：0.5%（原料药）；1.5%（片剂）

† ChP2015 显色剂萃取4次→100ml，水相 A_{530nm}



二、对乙酰氨基酚

(一) 合成工艺



4-硝基酚

4-氨基酚 (对氨基酚)

1-(4-羟基苯基) 乙酮

N-(4-氯苯基) 乙酰胺

(对氯苯乙酰胺)

● 中间体 (杂质F)

● 中间体 (杂质K)

● 副产物 (杂质E)

● 副产物 (杂质J)



(二) 检查法

1. 对氨基酚及有关物质 —— HPLC (等度)

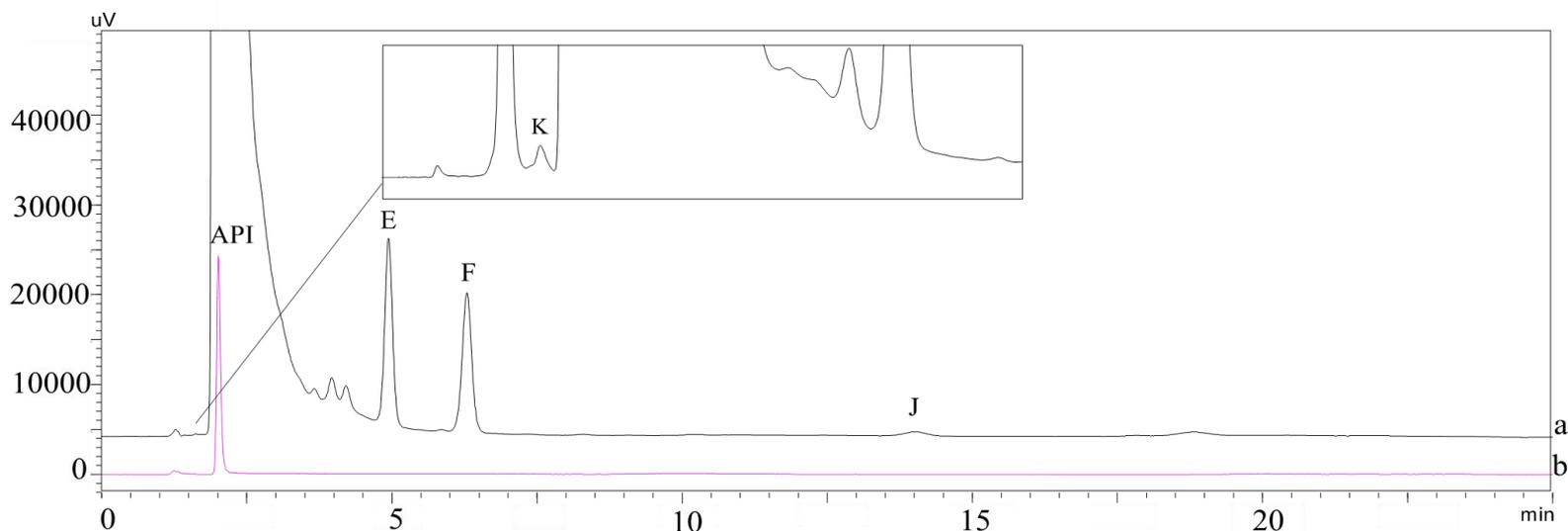
- 填充剂: 辛烷基硅烷键合硅胶 (C₈)
- 流动相: 1.2%四丁基氢氧化铵
 - 限量: 对氨基酚: 0.005% (杂质对照)
有关物质: 单杂: 0.1% (自身对照)
总杂: 0.5%

2. 对氯苯乙酰胺 —— HPLC (等度)

- 流动相: 甲醇10%→40% (极性较小)
 - 限量: 0.005% (杂质对照)



EP8.0检查法



对乙酰氨基酚有关物质检查HPLC色谱图（EP8.0）

a: 供试溶液（20mg/ml）； b: 0.01%自身对照溶液（2 μ g/ml）

API: 对乙酰氨基酚；

K: 4-氨基酚； E: 4-乙酰基酚； F: 4-硝基酚； J: 对氯苯乙酰胺

第四节 含量测定



原料药测定法

药物制剂分析法

1

直接滴定法

2

返滴定法

3

水解后剩余滴定法

4

紫外-可见分光光度法

5

反相高效液相色谱法



一、原料药测定法

水解-剩余量滴定法

阿司匹林——酯

- 氢氧化钠水解
- 酸滴定液回滴
- USP/BP/JP

返滴定法

美洛昔康——烯醇

- 水/醇难溶
- 定过量氢氧化钠滴定液
- 盐酸滴定液回滴定

酸碱
滴定法

直接滴定法

溶剂:

- 中性乙醇/甲醇/丙酮

指示剂:

- 酚酞/酚红/酚磺酞

滴定剂:

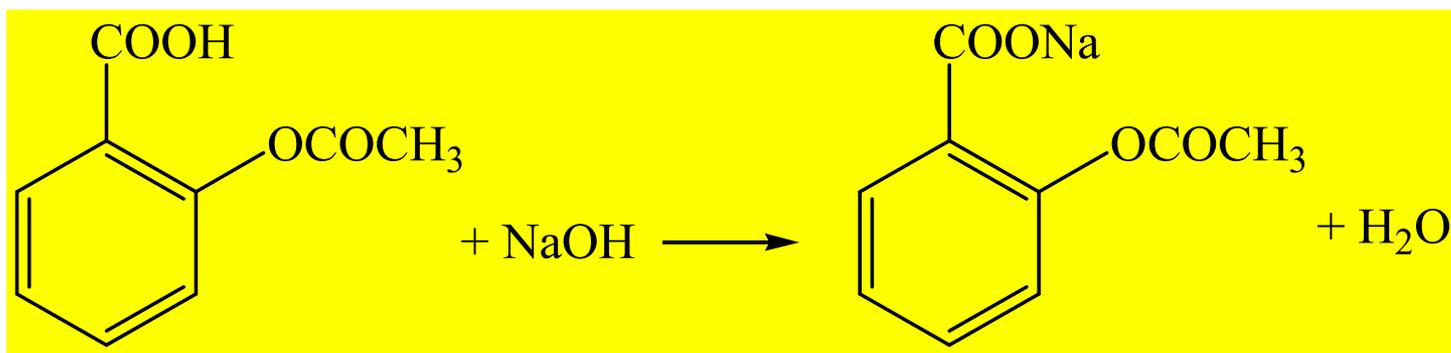
- 0.1mol/L氢氧化钠VS



(一) 直接滴定法

1. 测定法

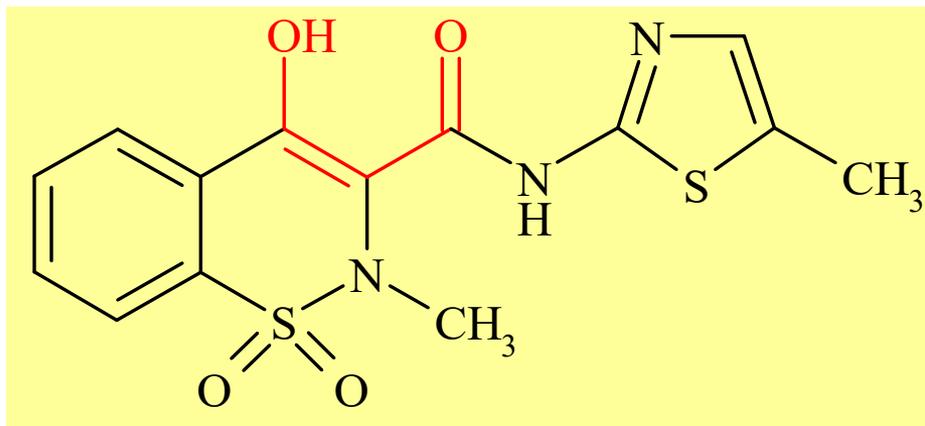
- 约0.4g，精密称定，加中性乙醇（对酚酞显中性）20ml溶解，加酚酞指示液3滴，用氢氧化钠滴定液（0.1mol/L）滴定 $T=18.02\text{mg}$



(二) 返滴定法

1. 原理

- 美洛昔康含有与羰基共轭的烯醇式羟基，具有羧酸性质，可用氢氧化钠滴定液滴定
- 本品甲醇、乙醇、丙酮及水中难溶，定量过量的氢氧化钠滴定液溶解后，用盐酸滴定液回滴定



2. 测定法

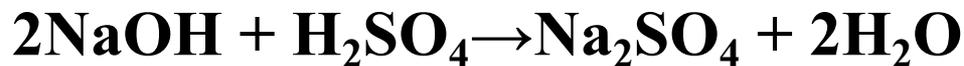
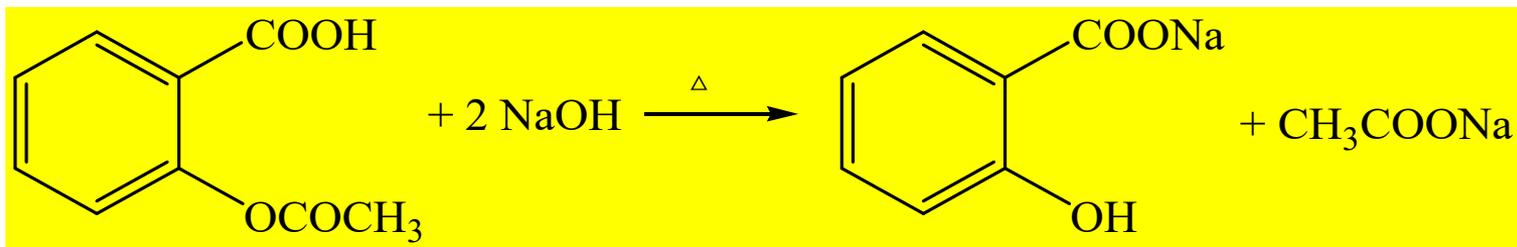
- 约0.4g，精密称定，精密加氢氧化钠滴定液（0.1mol/L）25ml，微温溶解，加中性乙醇（对溴麝香草酚蓝指示液显中性：pH6.0黄-7.6蓝）100ml与指示液10滴，用盐酸滴定液（0.1mol/L）滴定； $T=35.14\text{mg}$



(三) 水解后剩余量滴定法

1. 原理

- 阿司匹林酯结构在碱液中易水解，加入定量过量的氢氧化钠滴定液，加热使酯键水解后，再用硫酸滴定液回滴定剩余的氢氧化钠滴定液



2. 测定法 (USP36-NF31)

- 约1.5g, 精密称定, 加氢氧化钠滴定液 (0.5mol/L) 50ml, 煮沸10分钟, 放冷, 加酚酞指示液, 用硫酸滴定液 (0.25mol/L) 滴定; $T=45.40\text{mg}$

二、药物制剂分析法

(一) 紫外-可见分光光度法

(二) 反相高效液相色谱法



(一) 紫外-可见分光光度法

- **直接紫外法：**吡罗昔康/对乙酰氨基酚主要剂型；双氯芬酸钠/吲哚美辛/美洛昔康部分剂型；尼美舒利片及二氟尼柳胶囊



- 二氟尼柳胶囊含量测定:

- 装量差异项下内容物适量（二氟尼柳0.1g），置100ml量瓶，加0.1mol/L盐酸的乙醇液适量，超声溶解并稀释至刻度，滤过，续滤液5ml，置100ml量瓶，用溶剂稀释至刻度，315nm波长处测定吸光度
- 标准对照（50μg/ml）计算

□ 式中， $D=100 \times 100 / 5 = 2000$

$$\text{标示量}(\%) = \frac{A_S \times C_R \times D \times \bar{W}}{A_R \times W \times \text{标示量}} \times 100$$



- 柱色谱-紫外法：USP36-NF31采用柱色谱分离法消除阿司匹林丸剂、胶囊和栓剂干扰，阿司匹林胶囊：

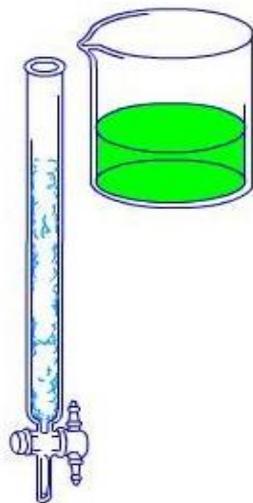
➤ 三氯甲烷为空白，280nm测定，标准对照法计算

上样：5ml三氯甲烷溶液(1mg/ml)

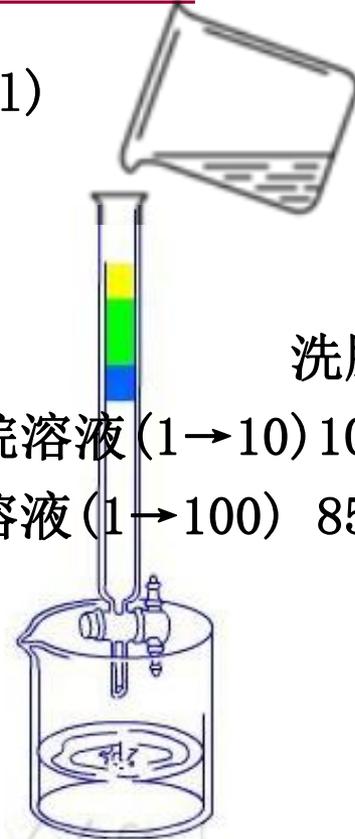
洗涤：三氯甲烷



玻璃柱(20cm×2.5cm)



洗脱：
冰醋酸三氯甲烷溶液(1→10) 10ml
冰醋酸三氯甲烷溶液(1→100) 85ml



(二) 反相高效液相色谱法

- 阿司匹林片的含量测定

——色谱条件:

填充剂 十八烷基硅烷键合硅胶

乙腈-四氢呋喃-冰醋酸-水
(20 : 5 : 5 : 70) 流动相

流速 1ml/min

276nm 检测
波长



阿司匹林片的含量测定——测定法：

- 片粉适量（阿司匹林0.1g），100ml量瓶，1%冰醋酸的甲醇溶液溶解并稀释至刻度，摇匀；10 μ l进样；外标法计算

$$\text{标示量}(\%) = \frac{C_R \times \frac{A_S}{A_R} \times D \times \bar{W}}{W \times \text{标示量}} \times 100$$

- 流动相中冰醋酸：抑制阿司匹林解离，消除色谱峰拖尾；抑制阿司匹林的水解
- **D=50 \times 100/5=1000ml**

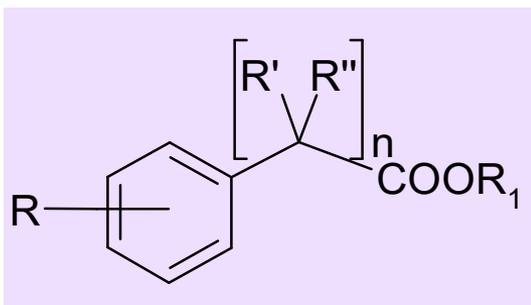


本章摘要

- 非甾体抗炎药（NSAIDs）是一类不含有甾体骨架的抗炎药，芳酸类非甾体抗炎药是目前临床使用最多的药物种类之一

基本结构

- 芳基取代羧酸



结构特点

- 羧基
 - 游离
 - 酯化
- 取代芳环



基本性质

- 酸性、水解性
- 光谱特性
- 基团（烯醇）特性
- 元素（硫）特性

分析方法

- Fe^{3+}
- UV/IR/LC
- 酸碱滴定
- UV/HPLC



Thank you very much!



人民卫生出版社

PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE