



隨身課堂

《药物分析》

芳酸类非甾体抗炎药物的分析

药学系 药学教研室 刘燕老师



“各论”——12类药物的分析

- 1 结构与性质
- 2 鉴别试验
- 3 有关物质与检查
- 4 含量测定



“各论” 学习要求

• 各类药物的结构-性质-分析方法

① 结构 \longrightarrow 性质

② 性质 \longrightarrow 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 \longrightarrow 各类药物分析 \longrightarrow 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？



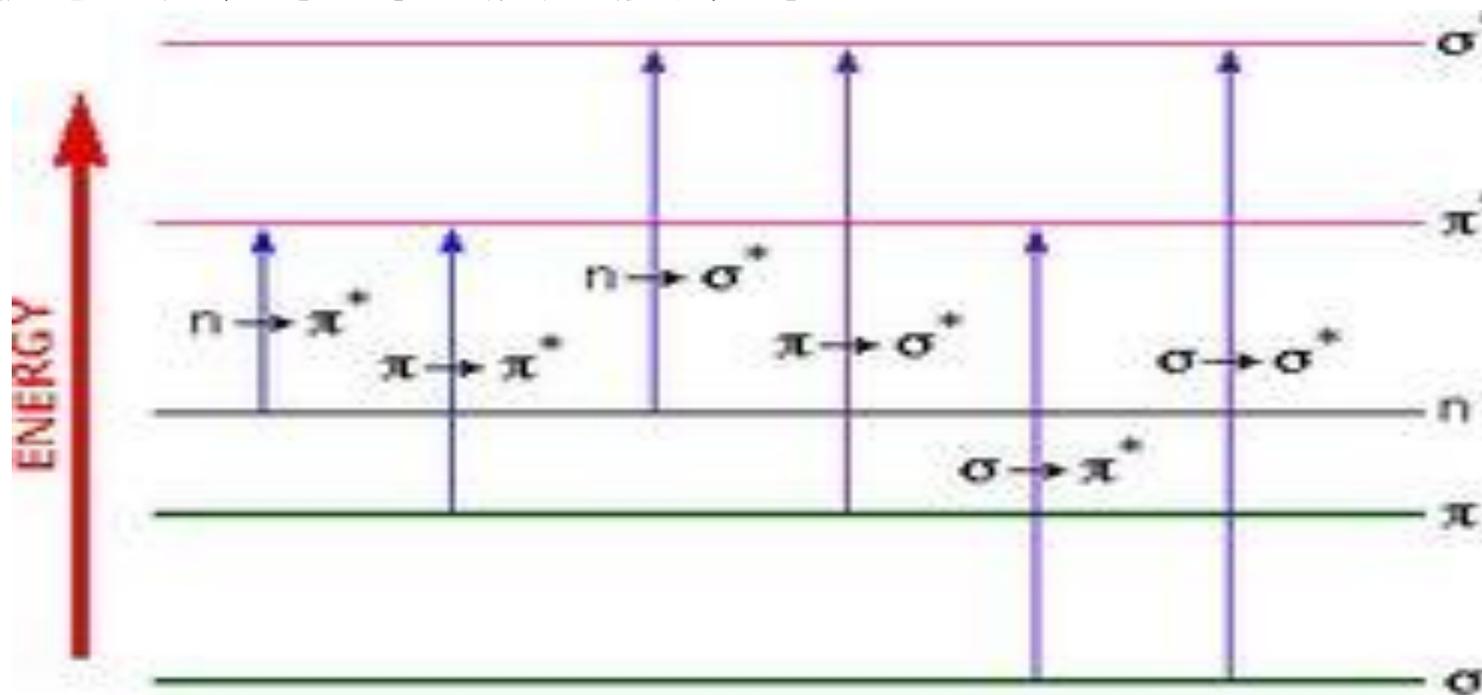
鉴别 (Identification) ---本质与方法

- **本质**：样品与记载名称一致性的验证 (真伪)
- **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



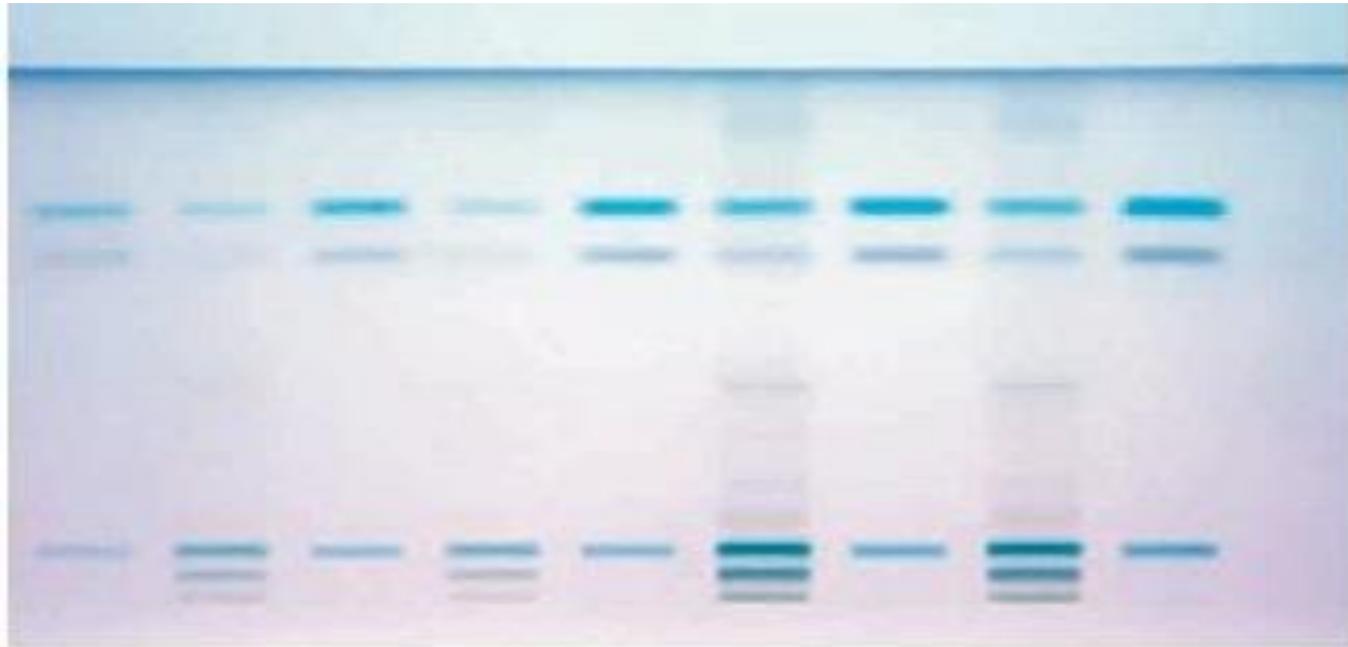
➤ 光谱法 (IR、UV-Vis)

- ✓ 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) --- 内容与方法

内容：安全、有效、均一、纯度

纯度检查方法

- **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) --- 方法特点与应用

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



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



芳酸类非甾体抗炎药物的分类

按结构分类：（表6-1）

分为水杨酸(邻羟基苯甲酸)、邻氨基苯甲酸、邻氨基苯乙酸、芳基丙酸、吲哚乙酸及苯并噻嗪甲酸等六类。

对乙酰氨基酚在结构上不属于芳酸类,但作为较常用的非甾体抗炎药将在本章一并介绍



第一节 结构与性质

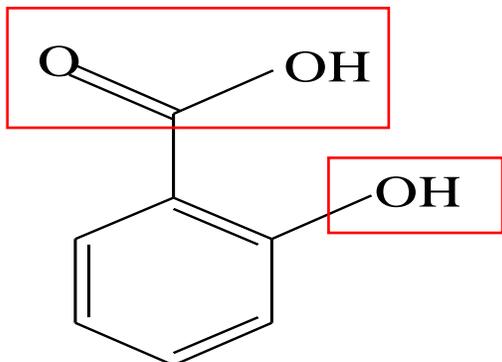


一、典型药物结构

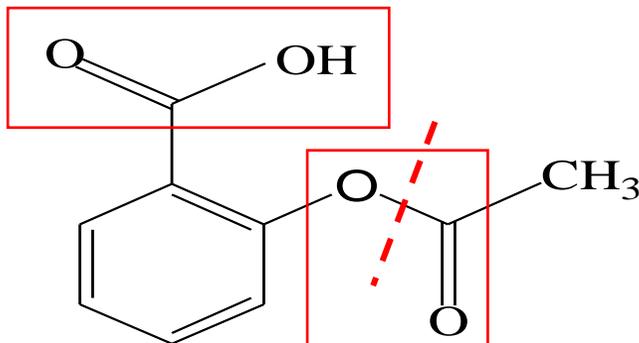
结构特征？

→性质？

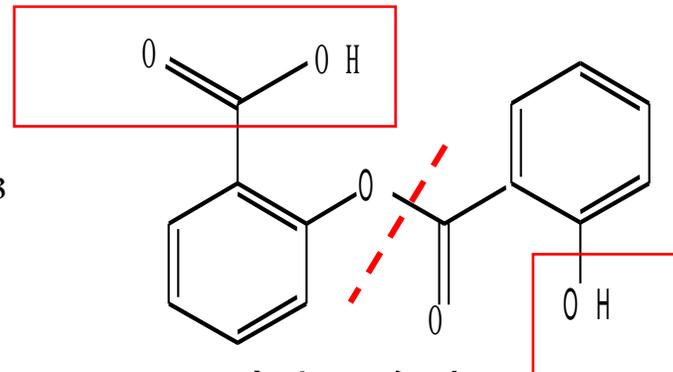
酸性，水解，和三氯化铁反应....



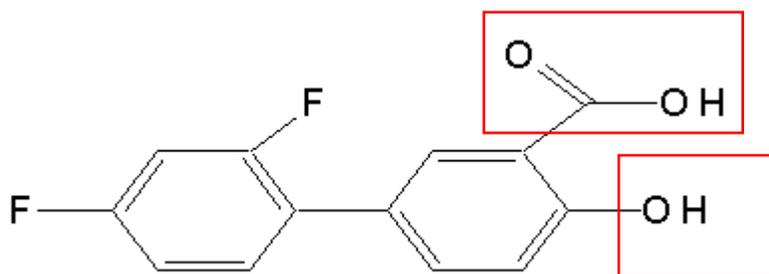
水杨酸



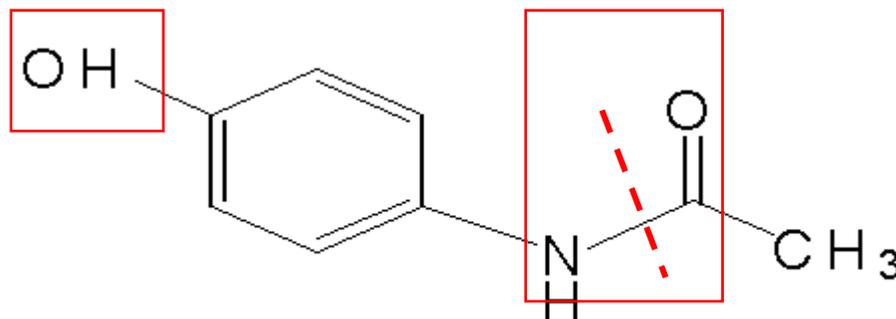
阿司匹林



双水杨酸酯



二氟尼柳



对乙酰氨基酚



第一节 结构与性质



二、性质 (→分析方法?)

(一) 酸性 (←羧基) 具有较强的酸性, 易溶于氢氧化钠溶液或碳酸钠溶液, 可用于鉴别和含量测定, 如水杨酸、阿司匹林含量测定用直接酸碱滴定法。



二、性质



(二) 水解性 (←酯、酰胺) 本类药物部分分子结构中具有酯、酰胺结构在一定条件下可水解。

1. 水解产物 → 特性反应 → 鉴别

如：对乙酰氨基酚 → 重氮化-偶合



2. 水解反应 → 含量测定 (水解-剩余碱量法)

如：美洛昔康 → 定过量的氢氧化钠水解

剩余氢氧化钠用盐酸回滴定



二、性质

(三) 吸收光谱特性

苯环和特征取代基：可产生紫外和红外吸收，可用于**鉴别**和**含量测定**。

1. 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）

2. 红外特征光谱

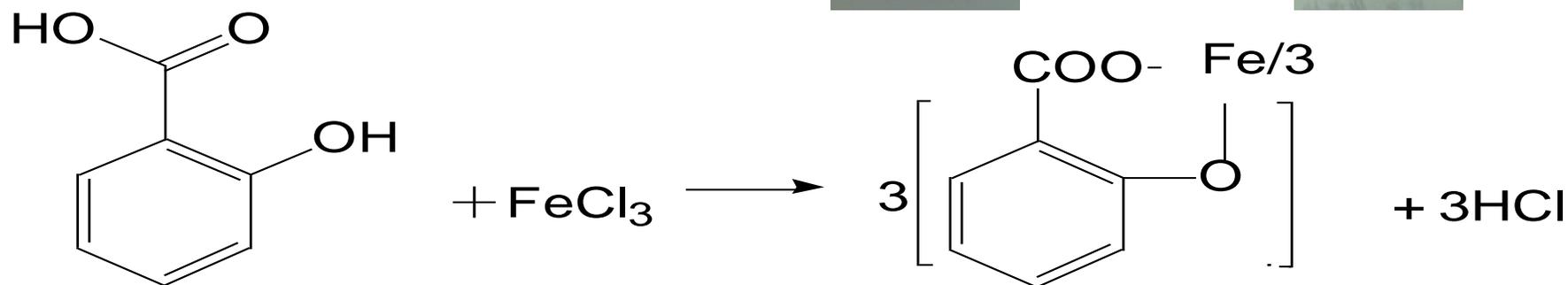
特征峰位（波数） → 鉴别



二、性质

(四) 基团/元素特性

如：**对乙酰氨基酚**的酚羟基或**阿司匹林**的潜在的酚羟基，可与三氯化铁试液作用，生成**蓝紫色**，**紫色**或**紫堇色**的配位化合物，可用于鉴别。



第二节 鉴别试验 (p221)

一、三氯化铁反应

二、缩合反应 (酮洛芬)

三、重氮化-偶合反应

四、其他反应

(一) 水解反应 (二) 元素反应 (氯、硫)

五、光谱法 (一) 紫外分光光度法 (二) 红外分光光度法

六、色谱法 (一) 薄层色谱法 (二) 高效液相色谱法

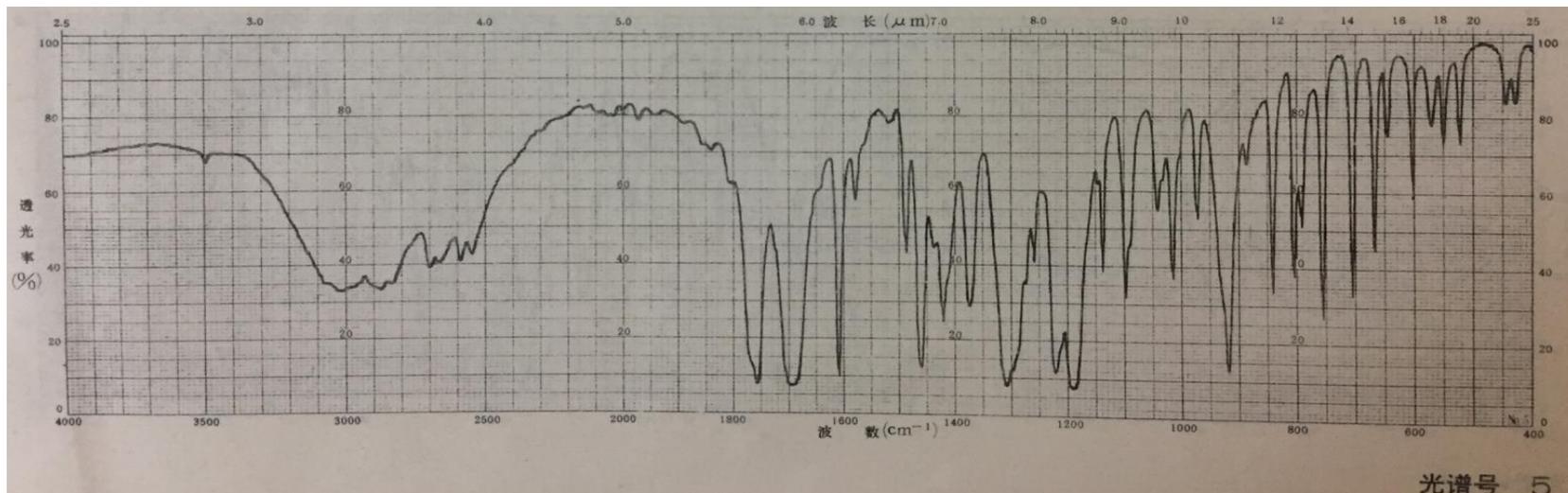


例：阿司匹林的鉴别《中国药典》（现行版）

1. 取本品约0.1g，加水10ml，煮沸，放冷，加三氯化铁试液1滴，即显**紫堇色**。

2. 取本品约0.5g，加碳酸钠试液10ml，煮沸2分钟后，放冷，加过量的稀硫酸，即析出**白色沉淀**，并发生醋酸的臭气

3. 本品的红外光吸收图谱应与对照的图谱（**光谱集5图**）一致。



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

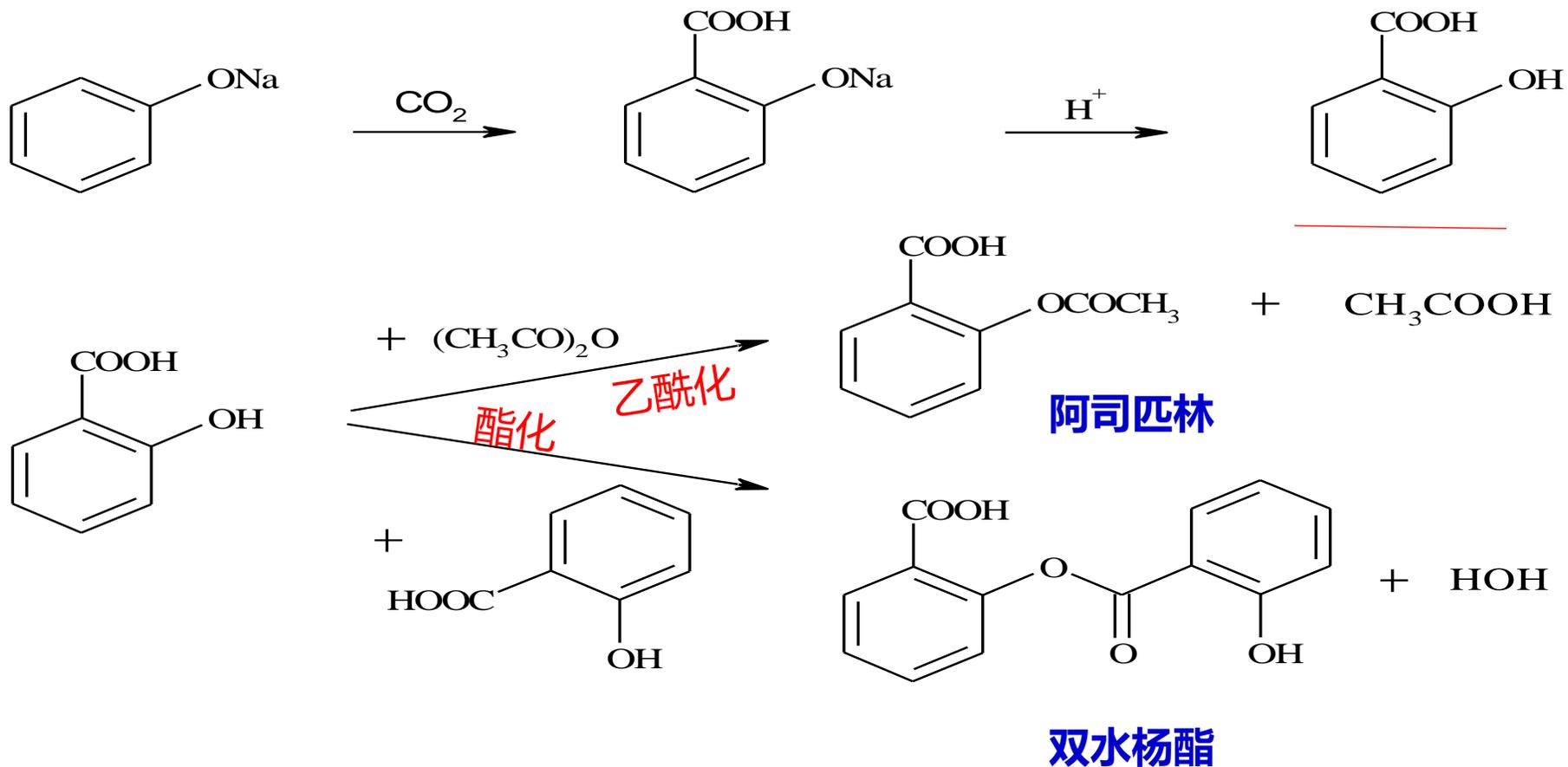
● 对氯苯乙酰胺





一、阿司匹林与双水杨酯中游离水杨酸与有关物质的检查

(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的检查

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

1.游离水杨酸 照高效液相色谱法（通则0512）测定。临用前新配

溶剂 1%冰醋酸的甲醇溶液

供试品溶液 取本品约0.1g，精密称定，置10ml量瓶中，加1%冰醋酸甲醇溶液适量，振摇使溶解，并稀释至刻度，摇匀。

对照品溶液 取水杨酸对照品约10mg，精密称定，置100ml量瓶中，加溶剂适量使溶解，并稀释至刻度，摇匀；精密量取5ml，置50ml量瓶中，用溶剂稀释至刻度，摇匀。

色谱条件 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；以乙腈-四氢呋喃-冰醋酸-水（20：5：5：70）为流动相；检测波长为303nm；进样体积20 μ l。

系统适用性要求 理论板数按水杨酸峰计算不低于5000，阿司匹林主峰与水杨酸主峰分离度应符合要求。

测定法 精密量取供试品溶液与对照品溶液，分别注入液相色谱仪，记录色谱图。

限度 供试品溶液色谱图中如有与水杨酸峰保留时间一致的色谱峰，按外标法以峰面积计算不得过**0.1%**。

公式？



(二) 阿司匹林中游离水杨酸与有关物质的检查

注意：不同剂型的限度不同

原料 0.1%

阿司匹林片 0.3%

肠溶片 1.5%

肠溶胶囊 1.0%

泡腾片 3.0%

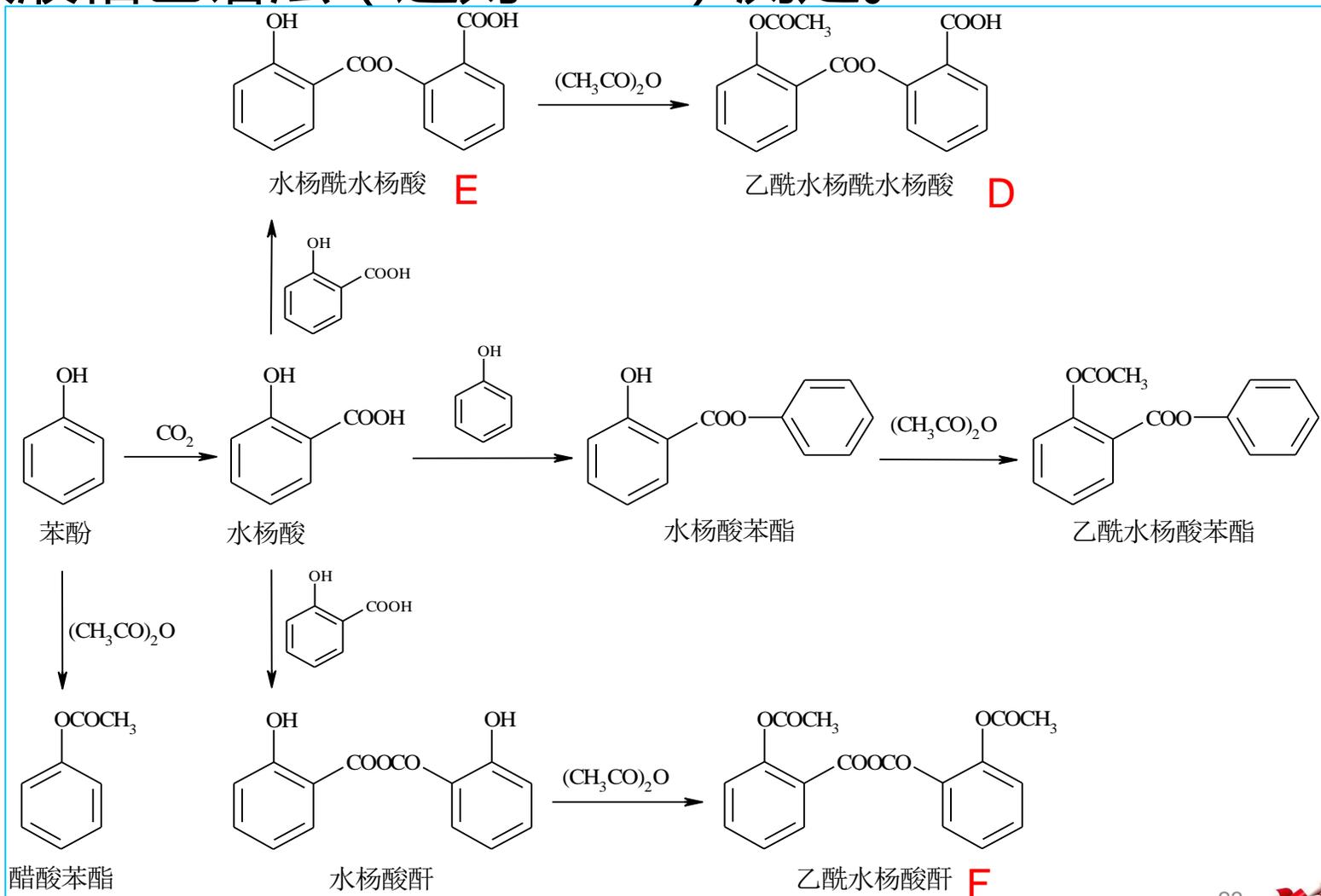
栓剂 3.0%



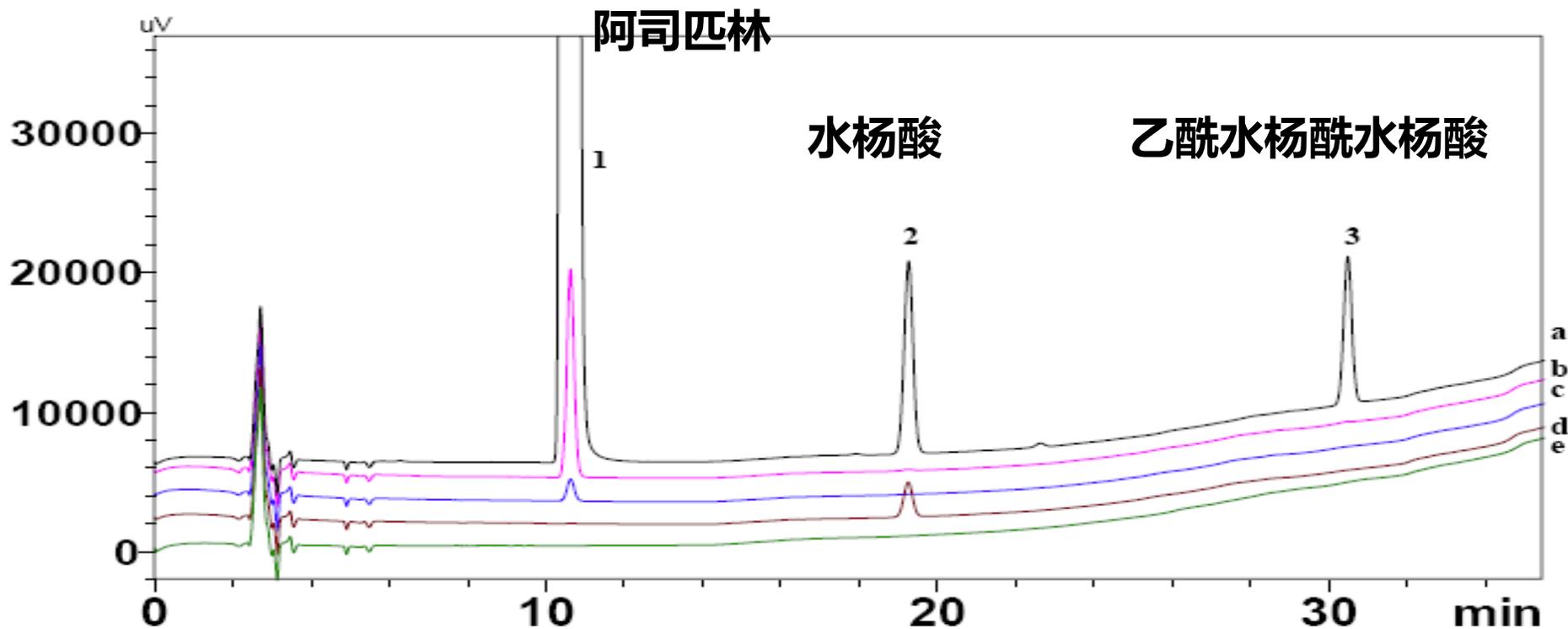
(二) 阿司匹林中游离水杨酸与有关物质的检查

2. 有关物质 照高效液相色谱法 (通则0512) 测定。

阿司匹林中的“有关物质”系指除“游离水杨酸”外的其他未命名的相关杂质，如表6-3所列杂质A、B、D、E、F及其他未知杂质。



限度 供试品溶液色谱图中如有杂质峰，除水杨酸峰外，其他各杂质峰面积的和不得大于对照溶液主峰面积（0.5%）。小于灵敏度溶液主峰面积的色谱峰忽略不计。



- 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”

- **游离水杨酸** 照**紫外 - 可见**分光光度法 (通则0401) 测定。
- **供试品溶液** 取本品1.0g, 加三氯甲烷20ml 使溶解。
- **对照品溶液** 取水杨酸对照品约25mg, 精密称定, 置100ml 量瓶中, 加三氯甲烷溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取20ml。
- **测定法** 分别将供试品溶液与对照品溶液置于分液漏斗中, 各用硝酸铁溶液 [取硝酸铁1g, 加硝酸溶液 (0.1 → 100) 溶解, 并稀释成1000ml] 提取4次, 每次20ml, 分取硝酸铁溶液, 滤过, 置100ml 量瓶中, 并用硝酸铁溶液稀释至刻度, 摇匀, 在530nm 的波长处分别测定吸光度。
- **限度** 供试品溶液的**吸光度**不得大于对照品溶液的吸光度。



(三) 双水杨酯中“游离水杨酸”

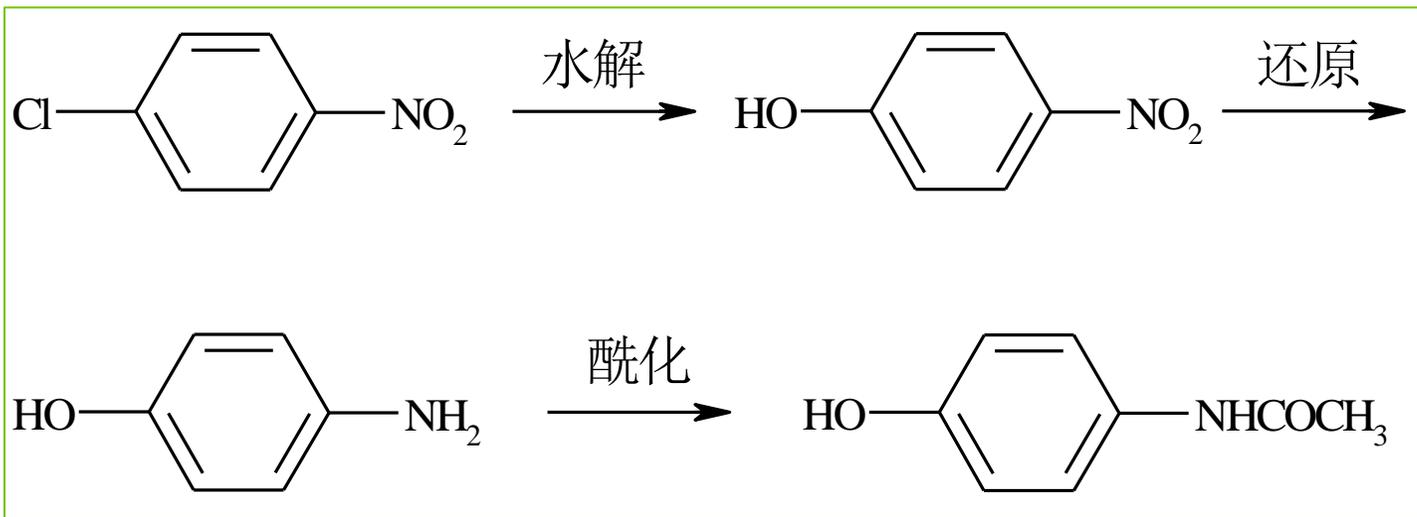
- **原理**：水杨酸与三价铁生成有色配离子
- **供试溶液**：50mg/ml（三氯甲烷）
- **对照溶液**：0.25mg/ml（三氯甲烷）
- **显色剂**：硝酸铁的0.1%硝酸溶液（1mg/ml）
- **检测**：530nm测定吸光度
- **限度**：0.5%（原料药）；1.5%（片剂）

显色剂萃取4次→100ml，水相测 $A_{530\text{nm}}$



二、对乙酰氨基酸中有关物质和对氯苯乙酰胺的检查

(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、对乙酰氨基酸中有关物质和对氯苯乙酰胺的检查

(二) 检查法

1. 有关物质 (2020版) —— HPLC (等度)

- **填充剂**：辛烷基硅烷键合硅胶 (C₈)
- **流动相**：磷酸盐缓冲液 (含1.2%四丁基氢氧化铵)：甲醇 (90:10)
- **限量**：有关物质 (对氨基酚：0.005% (杂质对照)
单杂：0.1% (自身对照)，总杂：0.5%)

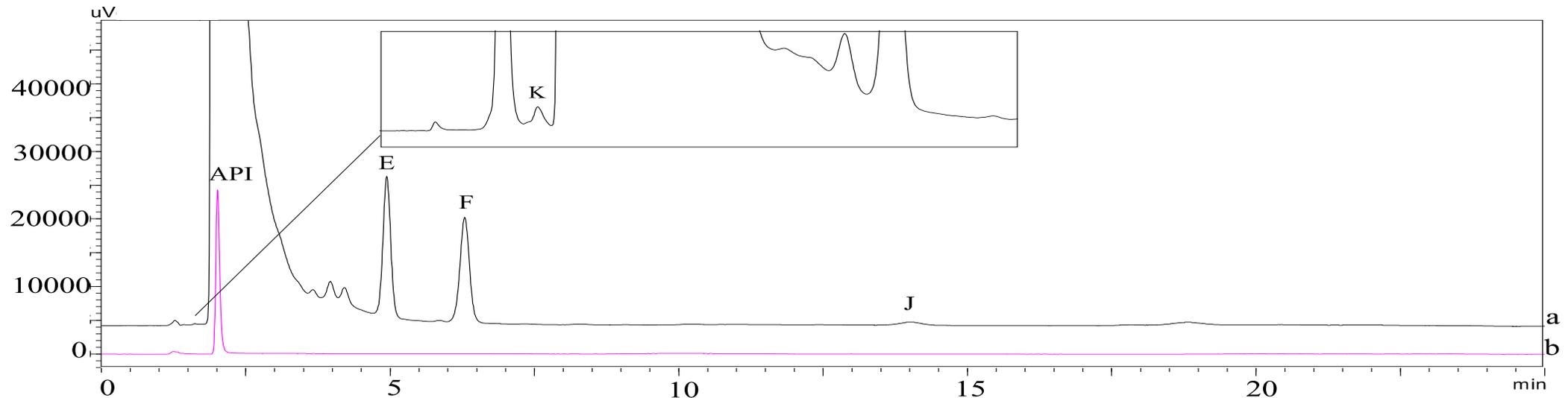
【注】对照溶液：是供试品溶液稀释100倍的稀溶液，同时含有对氨基酚对照品 (是允许存在的最大量)。

2. 对氯苯乙酰胺 —— HPLC

- **流动相**：磷酸盐缓冲液 (含1.2%四丁基氢氧化铵)：甲醇 (60:40)
- **限量**：0.005% (杂质对照) (外标)



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

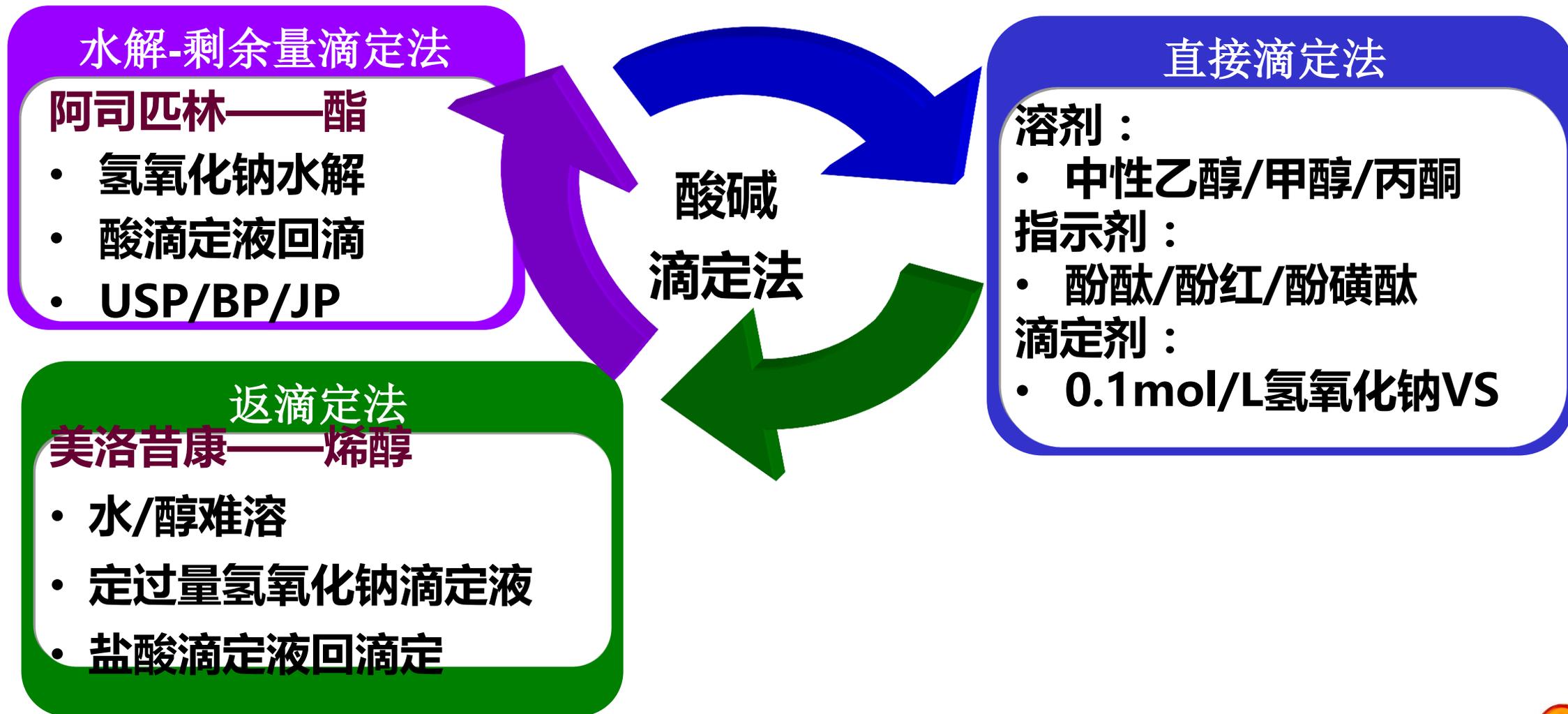
紫外-可见分光光度法

5

反相高效液相色谱法



一、原料药测定法



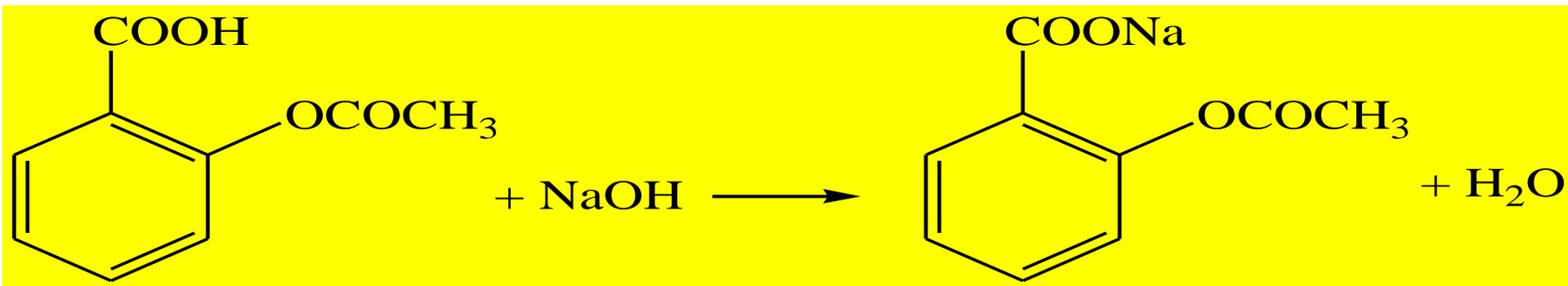
(一) 直接滴定法

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

$T=18.02\text{mg}$

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



例题：

取阿司匹林，精密称定为0.4211g，加中性乙醇（对酚酞指示液显中性）20ml溶解后，加酚酞指示液3滴，消耗氢氧化钠滴定液（0.1005mol/L）23.02ml。每1ml氢氧化钠滴定液（0.1mol/L）相当于18.02mg的C₉H₈O₄。求阿司匹林的含量。

解：依据

$$\begin{aligned}
 A\% &= \frac{V \times F \times T}{W} \times 100\% \\
 &= \frac{23.02 \times \frac{0.1005}{0.1} \times 18.02 \times 10^{-3}}{0.4211} \times 100\% \\
 &= 99.00\% = 99.0\%
 \end{aligned}$$

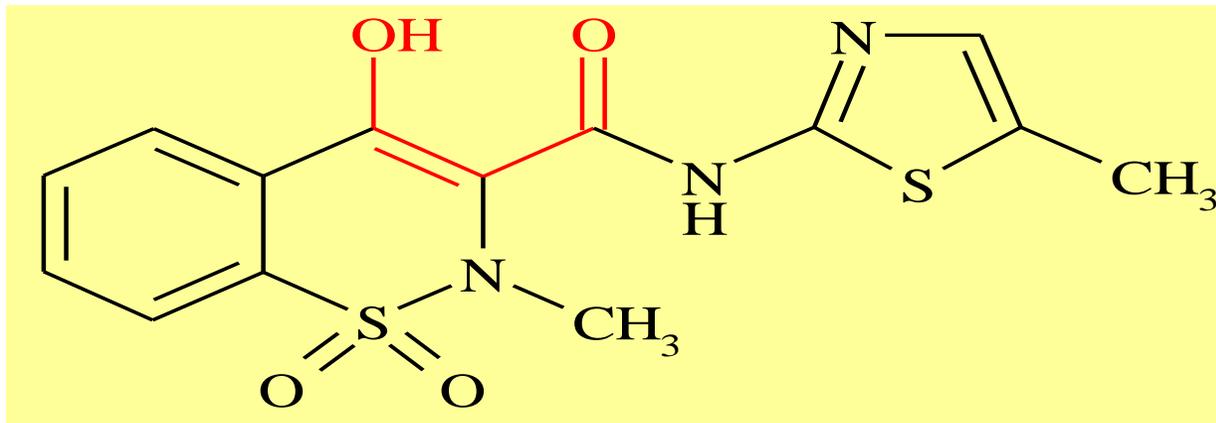
答：.....



(二) 返滴定法(了解)

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. 測定法

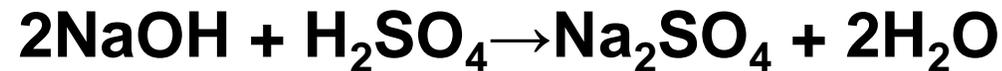
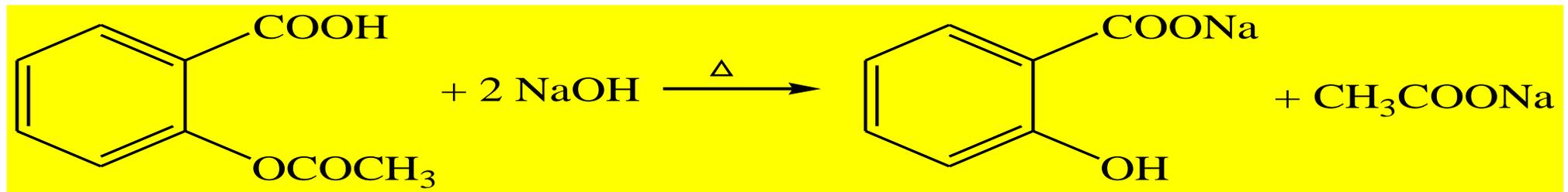
- 约0.4g，精密称定，精密加氢氧化钠滴定液（0.1mol/L）25ml，微温溶解，加中性乙醇（对溴麝香草酚蓝指示液显中性：pH6.0黄-7.6蓝）100ml与指示液10滴，用盐酸滴定液（0.1mol/L）滴定； $T=35.14\text{mg}$



(三) 水解后剩余量滴定法(了解)

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. 測定法 (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



对乙酰氨基酚的含量测定

用什么方法测定？计算公式？

$$\text{百分含量}\% = \frac{m}{W} \times 100\% = \frac{C \times D}{W} \times 100\% = \frac{A \times D}{E_{1cm}^{1\%} \times 100 \times W} \times 100\%$$

对乙酰氨基酚在0.4%氢氧化钠溶液中，于257nm波长处有最大吸收，其紫外吸收光谱特征，可用于其原料及其制剂的含量测定。

但其泡腾片、注射液、滴剂、凝胶等制剂

用高效液相色谱法（外标）



例：对乙酰氨基酚含量测定

取本品约40mg，精密称定（0.0414），置250ml量瓶中，加0.4%氢氧化钠溶液50ml溶解后，加水至刻度，摇匀，精密量取5ml，置100ml量瓶中，加0.4%氢氧化钠溶液10ml，加水至刻度，摇匀，在257nm的波长处测定吸收度(0.590)，按C₈H₉NO₂的吸收系数为715 计算，即得。

解：依据：

$$\begin{aligned} \text{百分含量}\% &= \frac{m}{W} \times 100\% = \frac{C \times D}{W} \times 100\% \\ &= \frac{A \times D}{E_{1cm}^{1\%} \times 100 \times W} \times 100\% = \frac{0.590 \times 250 \times \frac{100}{5}}{715 \times 100 \times 0.0414} \times 100\% = 99.66\% \\ &= 99.7\% \end{aligned}$$

答……



• **二氟尼柳膠囊含量測定：**

用什么方法測定？計算公式？

- 裝量差異項下內容物適量（二氟尼柳0.1g），置100ml量瓶，加0.1mol/L鹽酸的乙醇液適量，超聲溶解並稀釋至刻度，濾過，續濾液5ml，置100ml量瓶，用溶劑稀釋至刻度，315nm波長處測定吸光度
- 標準對照（50 μg/ml）計算

□ 式中， $D=100 \times 100 / 5 = 2000$

$$E_{1cm(x)}^{1\%} = E_{1cm(R)}^{1\%}$$

$$\frac{A_x}{C_x L} = \frac{A_R}{C_R L}$$

$$C_x = C_R \times \frac{A_x}{A_R}$$

$$\text{含量}\% = \frac{m}{W} \times 100\% = \frac{C_x \times D}{W} \times 100\% = \frac{C_R \times \frac{A_x}{A_R} \times D}{W} \times 100\%$$

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



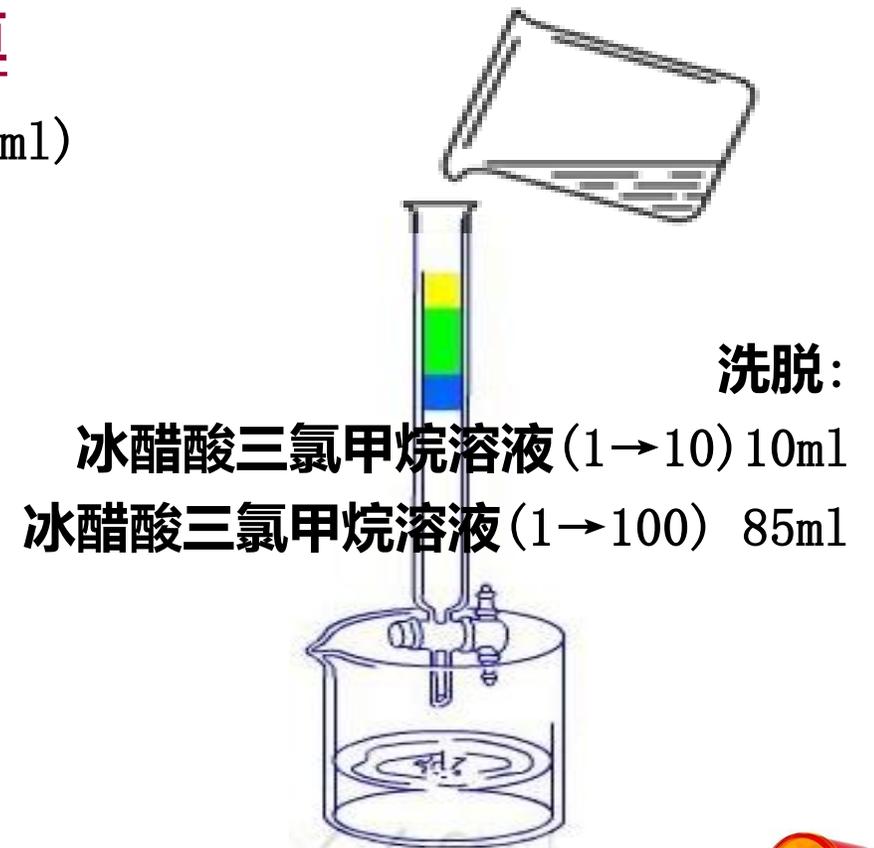
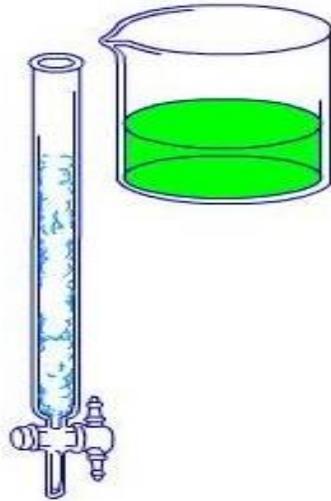
- **柱色谱-紫外法**：USP36-NF31采用柱色谱分离法消除阿司匹林丸剂、胶囊和栓剂干扰，**阿司匹林胶囊(了解)**

▶ **三氯甲烷为空白，280nm测定，标准对照法计算**



玻璃柱 (20cm×2.5cm)

上样：5ml三氯甲烷溶液 (1mg/ml)
洗涤：三氯甲烷



(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
- $D=50 \times 100 / 5 = 1000\text{ml}$

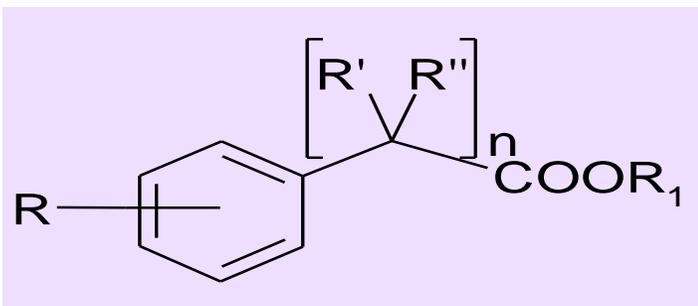


本章摘要

- **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





隨身課堂

《药物分析》

芳酸类非甾体抗炎药物的分析

敬请关注下一节内容

苯乙胺类拟肾上腺素类药物的分析



0188 杀剂

0189 流浸膏剂与浸膏剂

▲ 0200 其他通则

0211 药材和饮片取样法

0212 药材和饮片检定通则

0213 炮制通则

0251 药用辅料

0261 制药用水

0291 国家药品标准物质通则

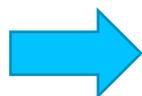
▲ 0300

0301 一般鉴别试验

▲ 0400 光谱法

0401 紫外-可见分光光度法

0402 红外分光光度法



色沉淀，能在过量的碘化钾试液中溶解；再以氢氧化钠试液碱化，加铵盐即生成红棕色的沉淀。

(3) 取不含过量硝酸的供试品溶液，涂于光亮的铜箔表面，擦拭后即生成一层光亮似银的沉积物。

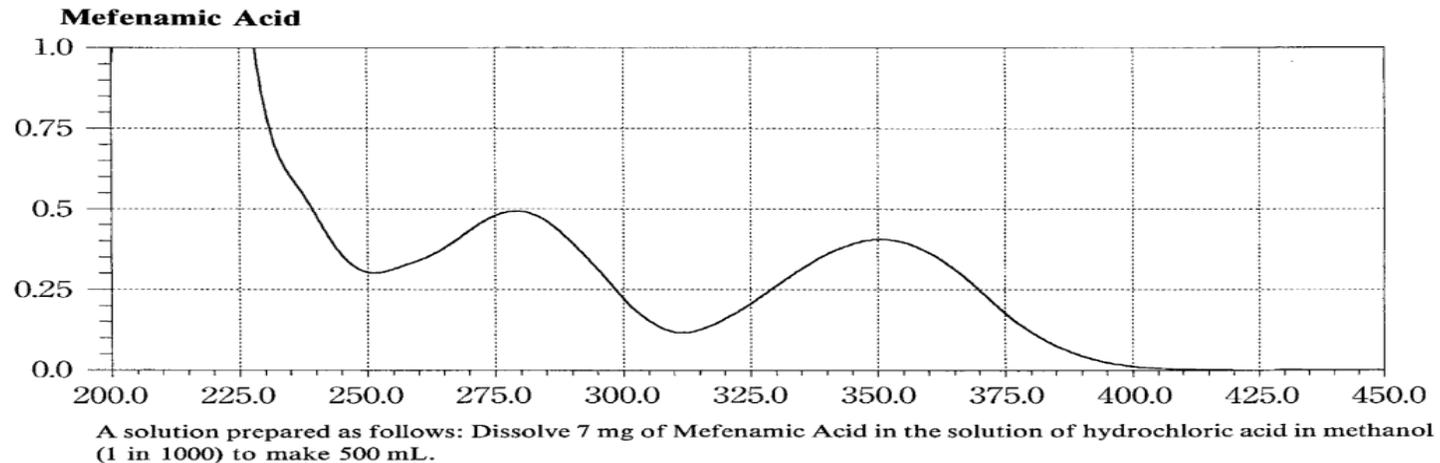
芳香第一胺类

取供试品约 50mg，加稀盐酸 1ml，必要时缓缓煮沸使溶解，加 0.1mol/L 亚硝酸钠溶液数滴，加与 0.1mol/L 亚硝酸钠溶液等体积的 1mol/L 脲溶液，振摇 1 分钟，滴加碱性 β -萘酚试液 数滴，视供试品不同，生成由粉红到猩红色沉淀。



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 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）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

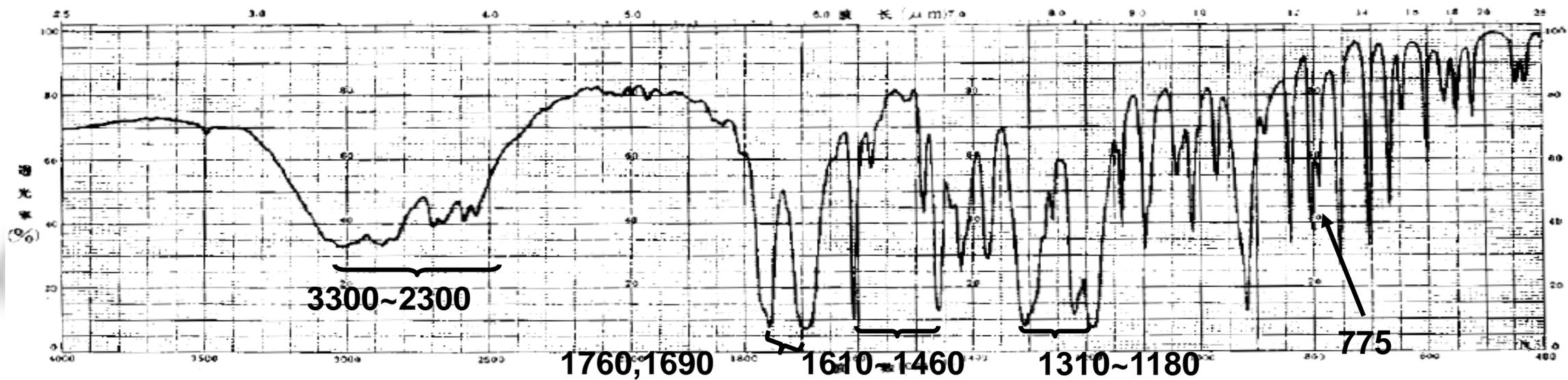


(二) 红外分光光度法

- **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 1760 ; 1690	$\nu_{\text{O-H}}$ (羧基) $\nu_{\text{C=O}}$ (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)





杂质检查常用方法

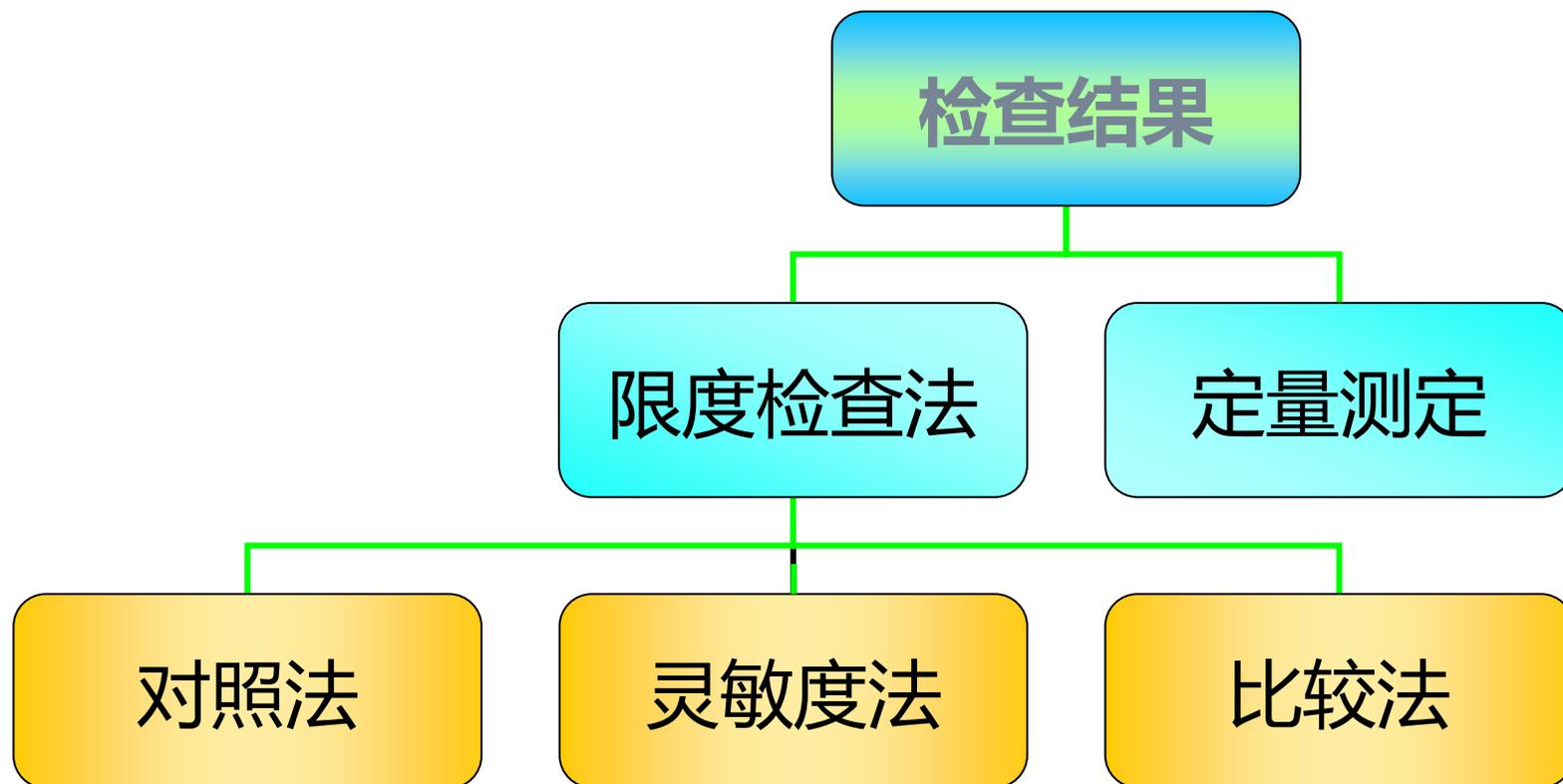
```
graph TD; A[杂质检查常用方法] --- B[化学方法]; A --- C[色谱方法]; A --- D[光谱方法]; A --- E[物理方法];
```

化学方法

色谱方法

光谱方法

物理方法



三、光学性质的差异

(一) 旋光法

如：硫酸阿托品中莨菪碱的检查

规定旋光度不超过 -0.4° 。

三、光学性质的差异

(二) 分光光度法

葡萄糖中5-羟甲基糠醛的检查：（详细见实训四）

精密量取本品适量（约相当于葡萄糖1.0g），置100ml量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，照紫外-可见分光光度法（通则0401），在284nm的波长处测定，吸收度不得大于0.32。

四、色谱性质的差异

(一) 薄层色谱法(TLC)

(二) 高效液相色谱法(HPLC)

(三) 气相色谱法(GC)

四、色谱性质的差异

(一) 薄层色谱法(TLC)

(二) 高效液相色谱法(HPLC)

(三) 气相色谱法(GC)

四、色谱性质的差异

(一) 薄层色谱法(TLC)

根据药物与杂质在固定相和流动相中的层析行为不同(分配系数不同)进行定性、定量检查。

1. 杂质对照品法

2. 供试品自身稀释对照法

(高低浓度对比法)

3. 杂质对照品与供试品自

身稀释对照并用

4. 对照药物法

四、色谱性质的差异

(二) 高效液相色谱法

根据药物与杂质的
和检查。

1. 外标法（杂质对照品法）
2. 不加校正因子的主成分自身对照法（高低浓度对比法）
3. 加校正因子的主成分自身对比法（略）
4. 峰面积归一化法（略）

