

药物分析

第七章

苯乙胺类拟肾上腺素



人民卫生出版社

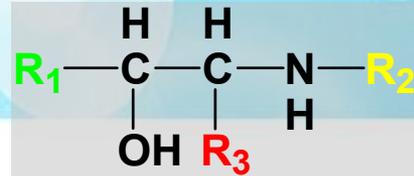
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

主要内容

- 1 结构与性质
- 2 鉴别试验
- 3 特殊杂质与检查方法
- 4 含量测定
- 5 体内药物分析

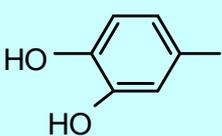
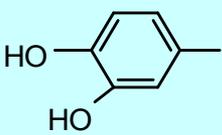
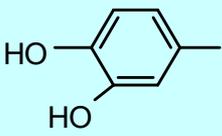
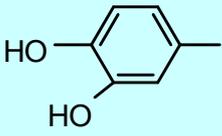
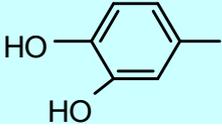
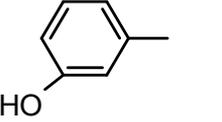


一、结构与性质

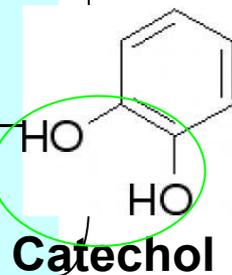


1. 结构

- 拟肾上腺素类药物，分子结构中具有苯乙胺基本结构

药物名称	R ₁	R ₂	R ₃	HX
肾上腺素 * Epinephrine		-CH ₃	-H	
盐酸异丙肾上腺素 Isoprenaline Hydrochloride		-CH(CH ₃) ₂	-H	HCl
重酒石酸去甲肾上腺素 * Norepinephrine Bitartrate		-H	-H	$ \begin{array}{c} \text{CH(OH)COOH} \\ \\ \text{CH(OH)COOH} \end{array} $
盐酸多巴胺 Dopamine Hydrochloride		-H	-H	HCl
硫酸特布他林 Terbutaline Sulfate		-C(CH ₃) ₃	-H	H ₂ SO ₄
盐酸去氧肾上腺素 * Phenylephrine Hydrochloride		-CH ₃	-H	HCl

儿茶酚胺类



药物名称	R ₁	R ₂	R ₃	HX
重酒石酸间羟胺 Metaraminol Bitartrate *		-H	-CH ₃	$\begin{array}{c} \text{CH(OH)COOH} \\ \\ \text{CH(OH)COOH} \end{array}$
硫酸沙丁胺醇 Salbutamol Sulfate ⊙		-CH(CH ₃) ₂	-H	H ₂ SO ₄
盐酸甲氧明 Methoxamine Hydrochloride ⊙		-H	-CH ₃	HCl
盐酸苯乙双胍 Phenformin Hydrochloride ⊙			-H	HCl
盐酸氯丙那林 Clorprenaline Hydrochloride ⊙		-CH(CH ₃) ₂	-H	HCl
盐酸克仑特罗 Clenbuterol Hydrochloride ⊙		-C(CH ₃) ₃	-H	HCl
盐酸麻黄碱 Ephedrine Hydrochloride *		-CH ₃	-CH ₃	HCl
盐酸伪麻黄碱 Pseudoephedrine *		-CH ₃	-CH ₃	HCl
盐酸氨溴索 Ambroxol Hydrochloride			-H	HCl

(1-C上无-OH)



人民卫生出版社

PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

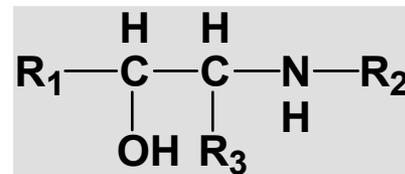
2. 化学性质

酚羟基特性

- 邻苯二酚（或苯酚）结构，与金属离子配位呈色；
- 在空气中或遇光、热易氧化，色泽变深；
- 在碱性溶液中更易变色

弱碱性

- 烃氨基侧链，仲胺氮 — 弱碱性
- 游离碱难溶于水，易溶于有机溶剂；
- 成盐 — 改善水溶性、稳定性



光学活性

- 手性碳原子，具有旋光性

共轭取代苯环特性

- 紫外特征吸收、红外官能团特性吸收、芳伯氨基—克伦特罗、氨溴索



二、鉴别试验

与三氯化铁试液的反应

药物	三氯化铁
肾上腺素 Adrenaline	0.1mol/L盐酸液中显翠绿色，加氨试液显紫色、紫红色
盐酸异丙肾上腺素 Isoprenaline hydrochloride	深绿色，滴加新制5%碳酸氢钠液，显蓝紫色、红色
重酒石酸去甲肾上腺素 Noradrenaline bitartrate	翠绿色，加5%碳酸氢钠试液显蓝色、红色
盐酸去氧肾上腺素 Phenylephrine hydrochloride	紫色
盐酸多巴胺 Dopamine hydrochloride	墨绿色，滴加1%氨溶液，显紫红色
硫酸沙丁胺醇 Salbutamol sulfate	硫酸沙丁胺醇加三氯化铁试液2滴，振摇，溶液显紫色；加碳酸氢钠试液，即成橙黄色浑浊液



- **ChP2010 :**

- 取本品10mg，加水1ml溶解后，加三氯化铁试液1滴，溶液显墨绿色；滴加1%氨溶液，即转变成紫红色。



与甲醛—硫酸反应

- 具有酚羟基取代的本类药物，可与甲醛在硫酸中反应，形成具有醌式结构的有色化合物。

药物	甲醛—硫酸
肾上腺素 Adrenaline	红色
盐酸异丙肾上腺素 Isoprenaline hydrochloride	棕色、暗紫色
重酒石酸去甲肾上腺素 Noradrenaline bitartrate	淡红色
盐酸去氧肾上腺素 Phenylephrine hydrochloride	玫瑰红→橙红→深棕红



氧化反应（酚羟基，易被碘、过氧化氢、铁氰化钾氧化呈现不同颜色）

肾上腺素 $\xrightarrow[\text{中性或酸性}]{\text{碘或过氧化氢}}$ 肾上腺素红 $\xrightarrow{\text{放置}}$ 棕红色多聚体

盐酸异丙肾上腺素 $\xrightarrow[\text{偏酸性条件}]{\text{碘}}$ 异丙肾上腺素红 $\xrightarrow{\text{硫代硫酸钠}}$ 淡红色溶液

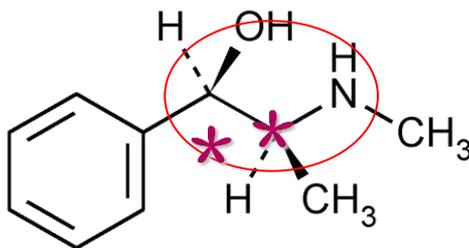
重酒石酸去甲肾上腺素 $\xrightarrow[\text{pH 3.56}]{\text{酒石酸氢钾饱和液}}$ $\xrightarrow[\text{放置5分钟}]{\text{碘试液}}$ $\xrightarrow{\text{硫代硫酸钠}}$ 溶液为无色或仅显微红色或淡紫色

肾上腺素 或 盐酸异丙肾上腺素 \longrightarrow 明显的深红棕色 或 紫色



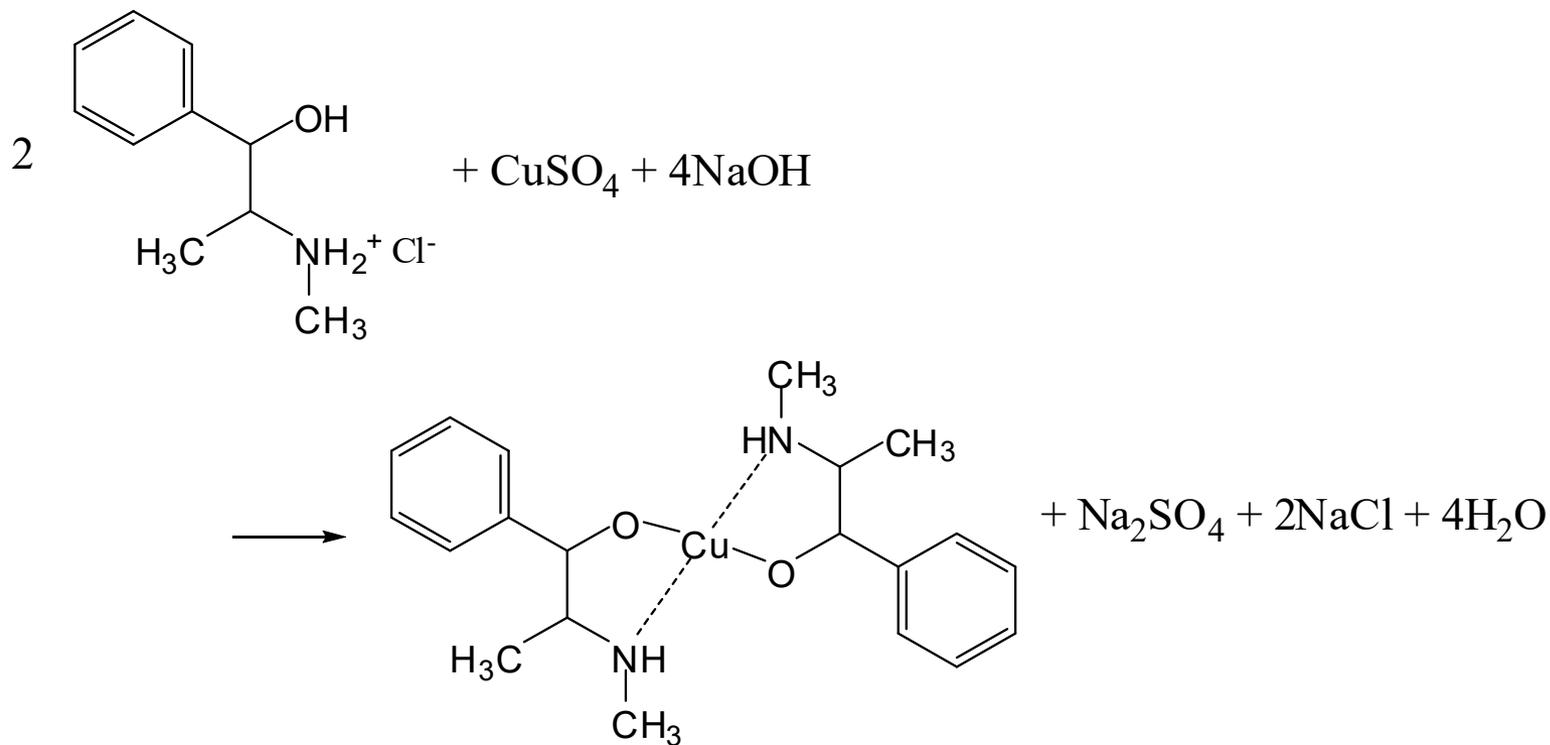
双缩脲反应

- 芳环侧链具有**氨基醇**结构，可显**双缩脲**特征反应。
- **ChP2000 盐酸麻黄碱**: 取本品1%水溶液1ml,
 - 加硫酸铜试液2滴与20%氢氧化钠液1ml，即显蓝紫色，
 - ✓ 加乙醚1ml振摇、放置，乙醚层显紫红色，水层变为蓝色。



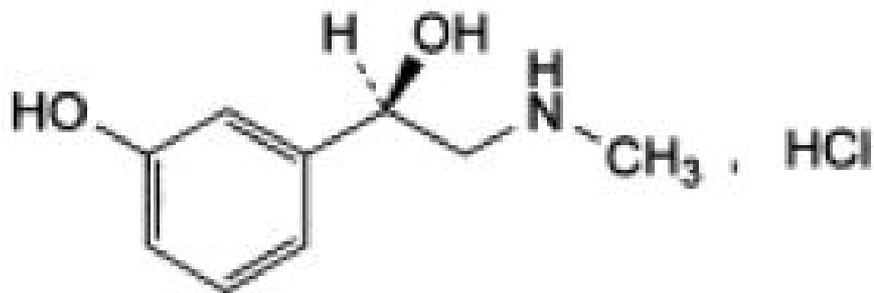
Ephedrine





盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱

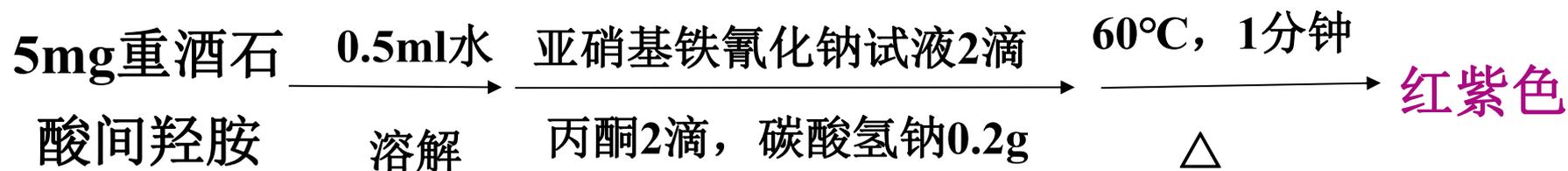
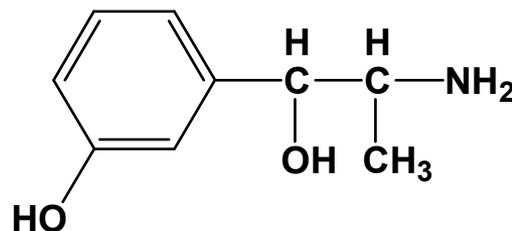
- 盐酸去氧肾上腺素的鉴别：乙醚层不显色



与盐酸麻黄碱区别

与亚硝基铁氰化钠反应（Rimini试验）

- 重酒石酸间羟胺的 **脂肪伯氨基**



- 脂肪伯氨基的专属反应
- 丙酮不含有甲醛



- 紫外特征吸收

药物	溶剂	浓度(mg/ml)	λ_{\max} (nm)	吸收度(A)
盐酸异丙肾上腺素	水	0.05	280	0.50
盐酸多巴胺	0.5%硫酸	0.03	280	
硫酸特布他林	0.1mol/L 盐酸	0.1	276	
重酒石酸间羟胺	水	0.1	272	
硫酸沙丁胺醇	水	0.08	274	
盐酸苯乙双胍	水	0.01	234	0.60
盐酸克仑特罗	0.1mol / L 盐酸	0.03	243, 296	
盐酸伪麻黄碱	水	0.5	251, 257, 263	

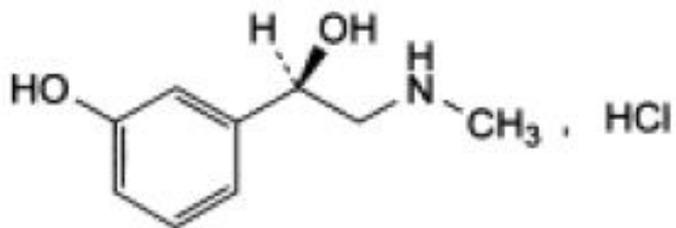
- 红外特征吸收：上述药物还可采用红外吸收光谱进行鉴别。



三、特殊杂质检查

1. 酮体检查

- 生产工艺：酮体氢化还原制得，若氢化不完全则引入酮体杂质。



盐酸去氧肾上腺素



紫外分光光度法检查酮体的条件及要求

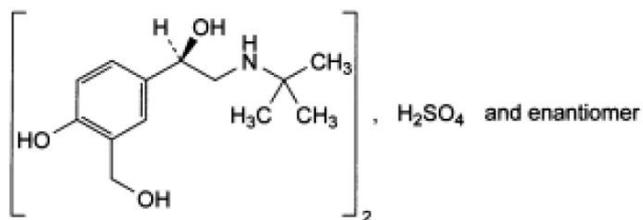
药物	检查的杂质	溶剂	样品浓度 (mg/ml)	测定波长 (nm)	A
肾上腺素	肾上腺酮	HCl (9→2000)	2.0	310	不得过0.05
重酒石酸去甲肾上腺素	去甲肾上腺酮	水	2.0	310	不得大于0.05
盐酸去氧肾上腺素	酮体	水	2.0	310	不得大于0.20
盐酸甲氧明	酮胺	水	1.5	347	不得大于0.06
硫酸沙丁胺醇	酮体	10%HCl	0.24	310	不得大于0.10
硫酸特布他林	酮体	0.01mol/L HCl	20	330	不得大于0.47



2. 光学纯度检查

- 含手性碳原子药物 → 比旋度测定 控制质量

药 物	溶剂	样品浓度(mg/ml)	比旋度
肾上腺素	HCl(9→200)	20	-50.0° ~ -53.5°
重酒石酸去甲肾上腺素	水	50	-10.0° ~ -12.0°
盐酸去氧肾上腺素	水	20	-42° ~ -47°
硫酸沙丁胺醇 ⊙	水	10	-0.10° ~ +0.10°
盐酸麻黄碱	水	50	-33° ~ -35.5°
盐酸伪麻黄碱	水	50	+61.0° ~ +62.5°



Salbutamol Sulphate



- 光学纯度检查 → 手性柱HPLC, Chiral CE

- 重酒石酸去甲肾上腺素的光学纯度检查：称取重酒石酸去甲肾上腺素消旋体约50mg溶于5ml蒸馏水中，滴加氨水调pH为7~8；以乙酸乙酯萃取3次，所得乙酸乙酯层用蒸馏水洗涤2次，再用1g硫酸钠脱水，过滤除去硫酸钠，得到溶液置于50ml量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀，即得手性分离系统适用性溶液。



- 同法制备 (*R*)-重酒石酸去甲肾上腺素供试品溶液。取20 μl 注入液相色谱仪，照高效液相色谱法测定。用Chiralpak AD-H色谱柱，以正己烷-乙醇-乙醇胺（800：200：2）为流动相，检测波长为280 nm，流速0.8 ml/min。
- 对映体的分离因子为7.2。通过手性高效液相色谱法分离，按峰面积归一化法，可以测定重酒石酸去甲肾上腺素的光学纯度。



3. TLC法检查有关物质

盐酸去氧肾上腺素

- TLC检查方法：避光操作。
- 取本品，加甲醇制成每1ml含20mg的溶液，作为供试品溶液；精密量取上述溶液适量，加甲醇稀释成每1ml中含0.10mg的溶液，作为对照溶液。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，以异丙醇-三氯甲烷-浓氨溶液（80：5：15）为展开剂，展开后，晾干，喷以重氮苯磺酸试液使显色。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。



4. 肾上腺素中有关物质的HPLC检查

- 供试品溶液：1mg/ml
- 对照溶液0.2%（2 μ g/ml）
- 氧化破坏溶液：50mg供试品，加浓过氧化氢溶液1ml，放置过夜，加盐酸0.5ml，加流动相稀释至50ml
- 系统适用性试验溶液：取重酒石酸去甲肾上腺素对照品适量，加氧化破坏溶液溶解并稀释制成每1ml中含20 μ g的溶液



- **HPLC离子对色谱法：**去甲肾上腺素峰与肾上腺素峰之间应出现两个未知杂质峰。理论板数按去甲肾上腺素峰计算不低于**3000**，去甲肾上腺素峰、肾上腺素峰与相邻杂质峰的分离度均应符合要求



四、含量测定

- 原料：非水溶液滴定法、溴量法
- 制剂：比色法、提取容量法、紫外分光光度法、高效液相色谱法



1. 非水溶液滴定法

- 非水溶液滴定法是在非水溶剂中进行的酸碱滴定测定法。主要用来测定有机碱及其氢卤酸盐、磷酸盐、硫酸盐以及有机酸碱金属盐类药物的含量。也用于测定某些有机弱酸的含量。

1.酸性溶剂：冰醋酸

2.碱性溶剂：DMF

3.两性溶剂：甲醇

4.惰性溶剂：氯仿、甲苯、丙酮





(1) 非水溶液滴定法—弱碱性

- 冰醋酸为溶剂
- 醋酸汞消除氢卤酸的干扰
- 指示剂（终点颜色应以电位滴定时的突跃点为准，并将滴定结果用空白试验校正）
- 若碱性较弱则加醋酐使突跃明显



例：重酒石酸去甲肾上腺素——直接滴定

- 盐酸克伦特罗——加醋酸汞消除氢卤酸干扰；由于碱性较弱，电位法指示终点
- 硫酸沙丁胺醇——加入醋酐以增大突跃，结晶紫为指示剂

□ 注：加入醋酐注意防止氨基被乙酰化，所以在冰醋酸溶解样品后应放冷后再加醋酐。



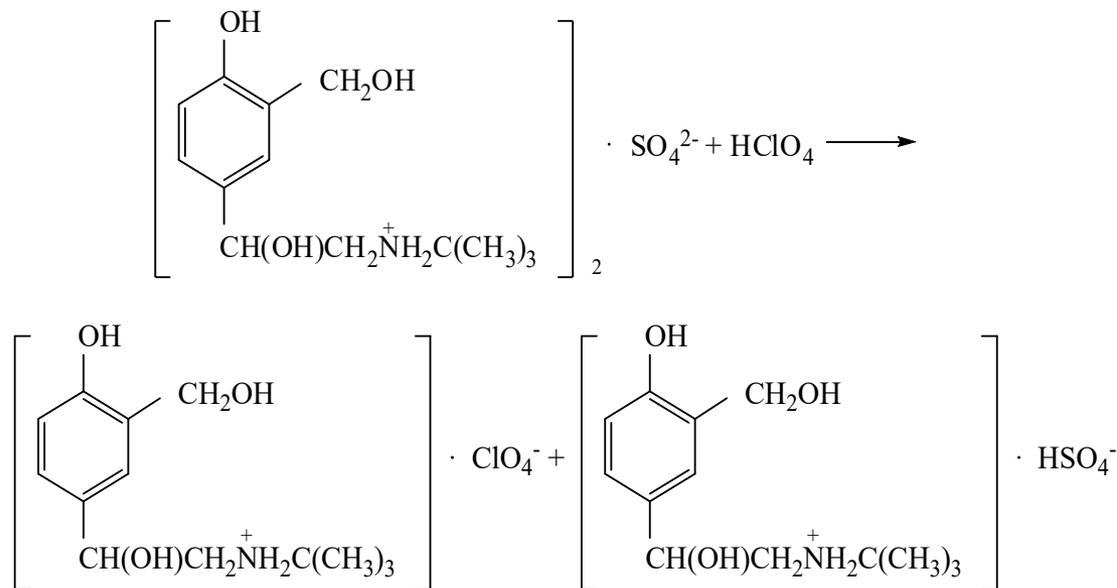


ChP2010中的硫酸沙丁胺醇

- 含量测定：取本品约0.4g，精密称定，加冰醋酸10ml，微温使溶解，放冷，加醋酐15ml与结晶紫指示液1滴，用高氯酸滴定液（0.1mol/L）滴定至溶液显蓝绿色，并将滴定结果用空白试验校正。每1ml高氯酸滴定液（0.1mol/L）相当于57.67mg的 $(\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ 。



- 有机碱的硫酸盐，因硫酸在滴定液中酸性很强，只能滴定至 HSO_4^-



(2) 非水溶液滴定法--11种

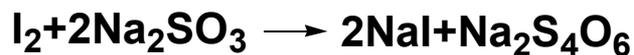
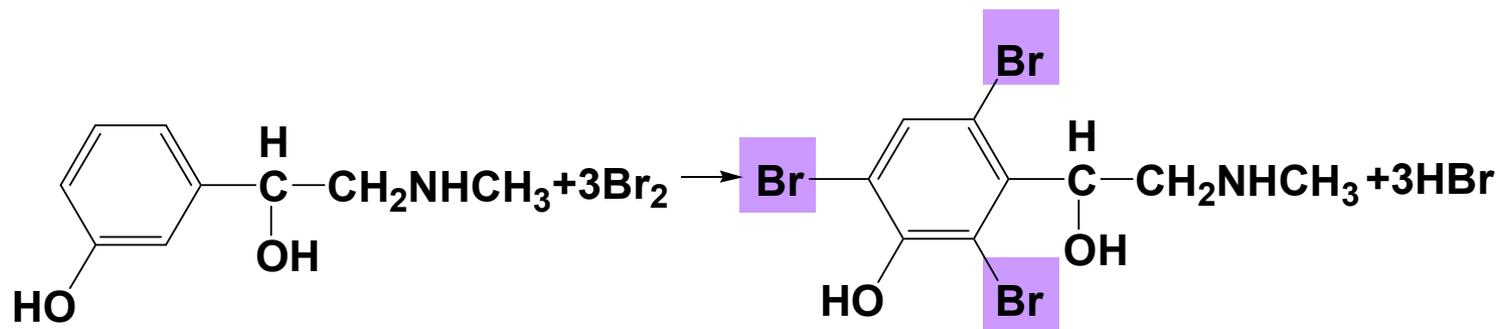
药 物	取样量 (g)	加冰醋酸量 (ml)	加醋酸汞液量 (ml)	指示终点	终点颜色
肾上腺素	0.15	10	—	结晶紫	蓝绿色
重酒石酸去甲肾上腺素	0.2	10	—	结晶紫	蓝绿色
硫酸特布他林	0.3	30	—/乙腈(30)	电位法	
硫酸沙丁胺醇	0.4	10	—/醋酐(15)	结晶紫	蓝绿色
盐酸多巴胺	0.15	25	5	结晶紫	蓝绿色
盐酸异丙肾上腺素	0.15	30	5	结晶紫	蓝色
盐酸甲氧明	0.2	10	5	萘酚苯甲醇	黄绿色
盐酸苯乙双胍	0.1	20	—/醋酐(20)	电位法	
盐酸氯丙那林	0.15	20	3	结晶紫	蓝绿色
盐酸麻黄碱	0.15	10	4	结晶紫	翠绿色
盐酸伪麻黄碱	0.3	10	6	结晶紫	蓝绿色



2. 溴量法--盐酸去氧肾上腺素

基本原理:

C₉H₁₃NO₂, HC 203.7



测定方法

- 取本品约0.1g，精密称定，置碘瓶中，加水20ml使溶解，精密加溴滴定液（0.1mol/L）50ml，再加盐酸5ml，立即密塞，放置15分钟并时时振摇，注意微开瓶塞，加碘化钾试液10ml，立即密塞，振摇后，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，并将滴定的结果用空白试验校正。每1ml溴滴定液（0.05mol/L）相当于3.395mg的 $C_9H_{13}NO_2 \cdot HCl$ 。



3. 紫外分光光度法&比色法

盐酸甲氧明注射液含量测定

- 精密量取本品适量（约相当于盐酸甲氧明100mg），置250ml量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀；精密量取10ml，置100ml量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，照紫外-可见分光光度法，在290nm的波长处测定吸光度，按 $C_{11}H_{17}NO_3 \cdot HCl$ 的吸收系数（ $E_{1cm}^{1\%}$ ）为137计算，即得。



4. 高效液相色谱法

- **HPLC** 高效分离，高灵敏度和高选择性
— 可用于制剂常规分析、临床药物监测和体内药物动力学研究。



重酒石酸去甲肾上腺素注射液分析

- 色谱条件

- 色谱柱：**ODS**

- 流动相：**0.14%庚烷基磺酸钠溶液—甲醇（65：35）**，
用磷酸调pH至**3.0±0.1**，流速：**1.0ml/min**

- 检测波长：**280nm**



- 测定方法

- 精密量取本品适量（约相当于重酒石酸去甲肾上腺素4mg），置25ml量瓶中，加醋酸溶液（1→25）稀释至刻度，摇匀，取2 μ l注入液相色谱仪，记录色谱图；另取重酒石酸去甲肾上腺素对照品适量，精密称定，加醋酸溶液（1→25）制成每1ml中含0.16mg的溶液，同法测定。按外标法以峰面积计算，即得。



五、体内药物分析

动物组织中的盐酸克伦特罗残留的测定—瘦肉精

1.提取

- 称取动物肝脏组织样品 $5\text{g}\pm 0.05\text{g}$ 于带盖的聚四氟乙烯离心管中，加入乙酸乙酯 15ml ，再加入 10.0% 碳酸钠溶液 3ml ，然后以 $10\ 000\text{r}/\text{min}$ 以上的速度匀质 60秒 ，盖上盖子以 $5000\text{r}/\text{min}$ 的速度离心 2分钟 ，吸取上层有机溶剂于离心管中，在残渣中再加入乙酸乙酯 10ml ，在涡旋混合器上混合 1分钟 ，离心后吸取有机溶剂并合并提取液。



- 在收集的有机溶剂中加入**0.10mol/L**的盐酸溶液**5ml**，涡旋混合**30秒**，以**5000r/min**的速度离心**2分钟**，吸取下层水溶液，同样步骤重复萃取一次，合并两次萃取液，用**2.5mol/L**氢氧化钠溶液调节**pH至5.2**。



2.净化

- SCX小柱依次用甲醇5ml、水5ml和30mmol/L盐酸5ml活化，然后将上述萃取液上样至固相萃取小柱中依次用水5ml和甲醇5ml淋洗柱子，在溶剂流过固相萃取柱后，抽干SCX小柱，再用4%氨化甲醇溶液5ml洗脱，收集洗脱液。



3.测定

(1) 衍生化：在50°C水浴中用氮气吹干上述洗脱液，加入甲苯100 μ l和BSTFA（双三甲基硅烷三氟乙酰胺）100 μ l，试管加盖后于涡旋混合器上振荡30秒，在80°C的烘箱中加热衍生1小时（盖住盖子）；同时吸取标准工作液0.5ml加入到4%氨化甲醇溶液4.5ml中，用氮气吹干后同样品操作，待衍生结束后加入甲苯0.3ml转入进样小瓶中，进行气相色谱-质谱（GC/MS）分析。



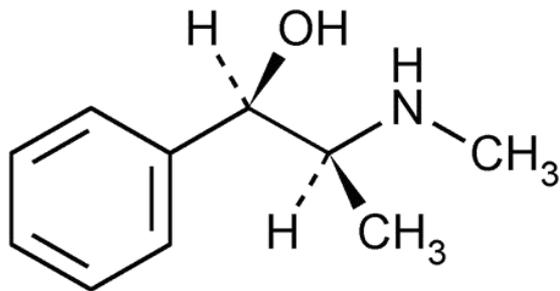
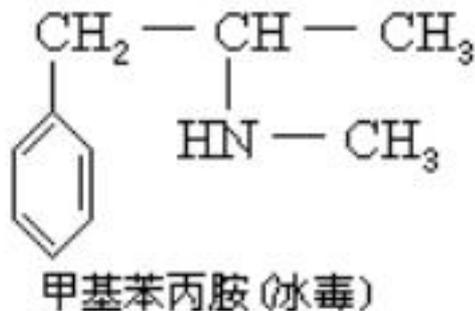
(2) GC/MS测定参数：色谱柱HP-5MS 5%苯基甲基聚硅氧烷，30m×0.25mm（内径），0.25μm（膜厚）；进样口温度220℃；进样方式不分流；进样体积1μl；柱温70℃（保持0.6分钟），以25℃/min升温至200℃（保持6分钟），以25℃/min升温至280℃（保持5分钟）；载气氦气；流速0.9ml/min（恒流）；GC/MS传输线温度280℃；溶剂延迟8分钟；EM电压高于调谐电压200V；离子源（EI）温度200℃；四极杆温度160℃；选择离子监测（*m/z*）86、212、262、277。



- 样品预处理：方法与目的
- 样品测定：方法与特点



人血浆/尿液中的麻黄碱、特布他林的测定—兴奋剂



Thank you very much!



人民卫生出版社

PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE