



隨身課堂

《药物分析》

第八章 对氨基苯甲酸酯和酰苯胺类局麻药物的分析

药学系 药学教研室 刘燕老师



- 1.掌握本类药物的结构特点。
- 2.掌握主要对氨基苯甲酸酯和酰苯胺类药物的鉴别及含量测定方法的亚硝酸钠滴定法、非水溶液滴定法、紫外分光光度法。
- 3.熟悉本类药物的性质、特殊杂质检查及其他含量测定方法。
- 4.了解本类药物的体内分析。



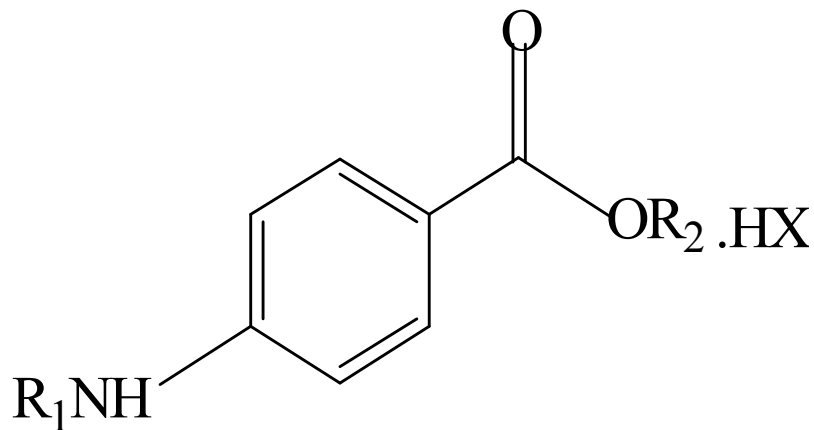
- 1.典型对氨基苯甲酸酯和酰苯胺类药物的**结构特点**及主要理化性质。
- 2.对氨基苯甲酸酯和酰苯胺类药物的化学鉴别试验，**重氮化—偶合反应、与金属离子反应、水解产物反应**、制备衍生物测定熔点。
- 3.对氨基苯甲酸酯和酰苯胺类药物的光谱鉴别方法。
- 4.对氨基苯甲酸酯和酰苯胺类药物（盐酸普鲁卡因、盐酸氯普鲁卡因、盐酸利多卡因、盐酸罗哌卡因）中特殊杂质的检查方法。
- 5.对氨基苯甲酸酯和酰苯胺类药物的含量测定方法，**亚硝酸钠滴定法、非水滴定法、紫外分光光度法、高效液相色谱法**。



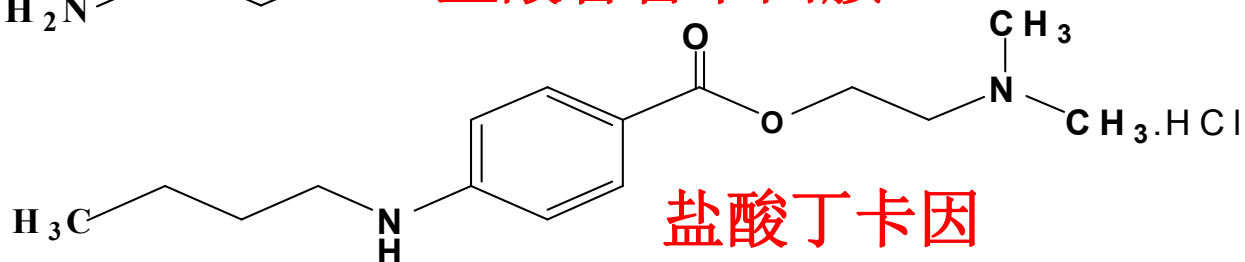
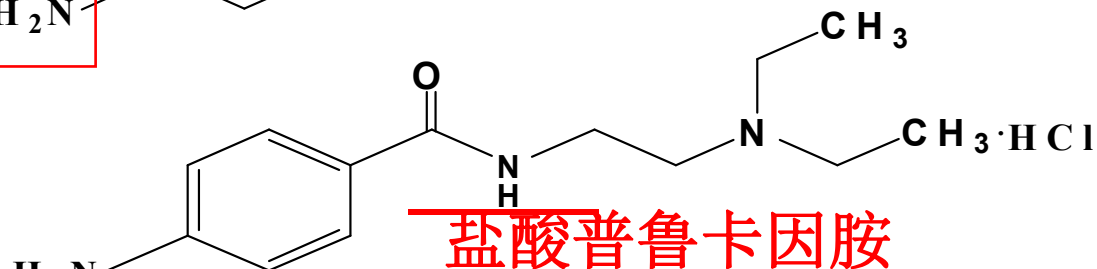
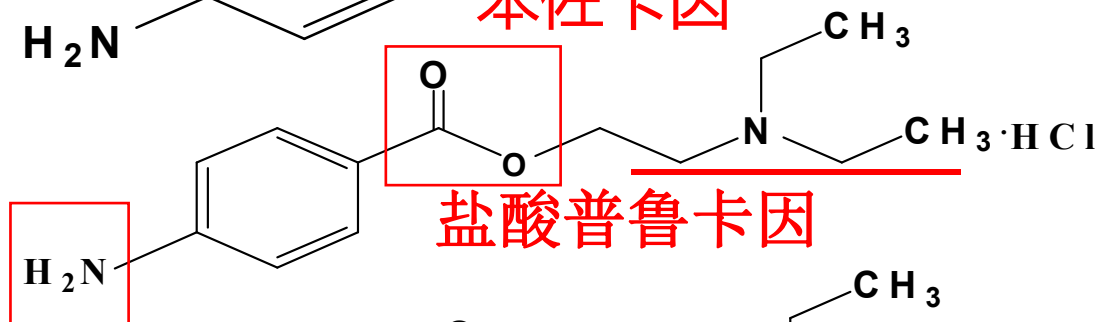
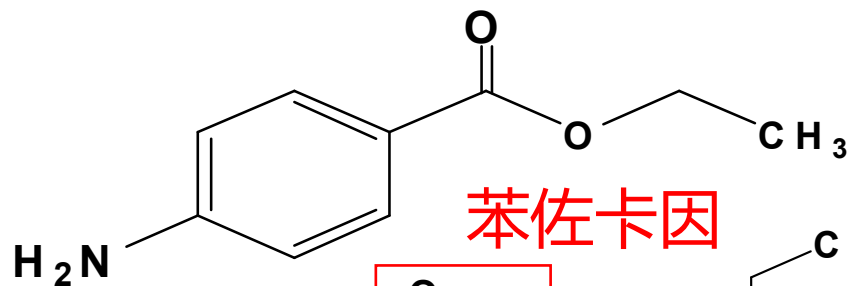
第一节 结构与性质

一、对氨基苯甲酸酯类药物的基本结构

典型药物：表8-1



结构特征 ? 性质 ?



1. 芳伯氨基特性

2. 水解性

3. 弱碱性

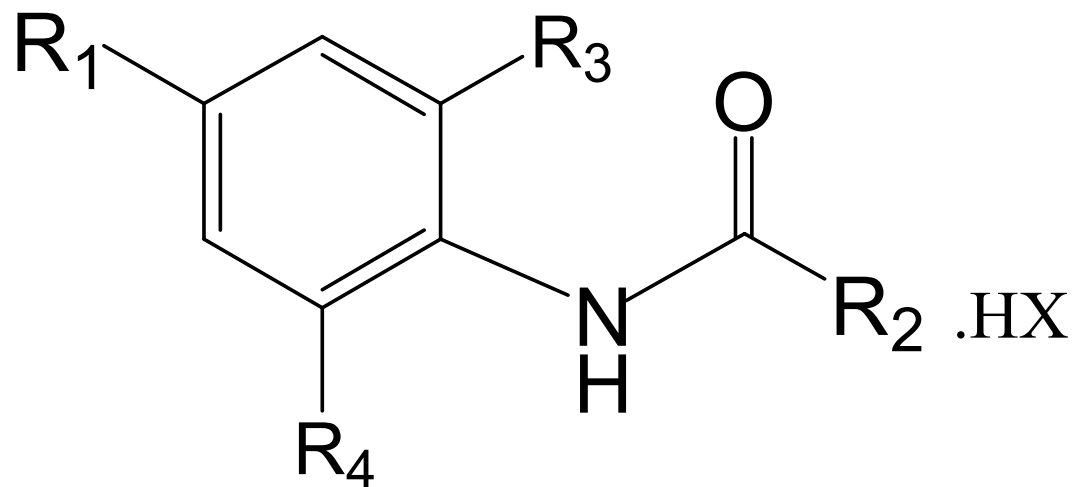
4. 紫外、红外吸收



第一节 结构与性质

二、酰胺类药物的基本结构

典型药物：表8-2

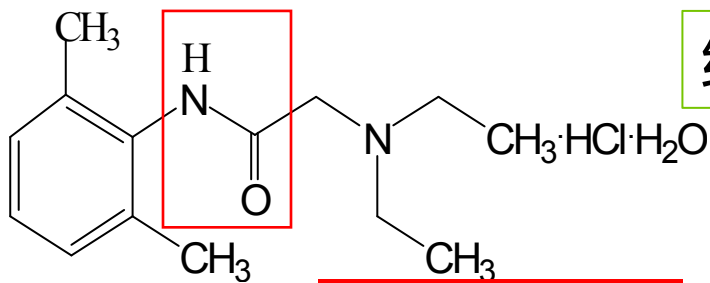


典型药物结构

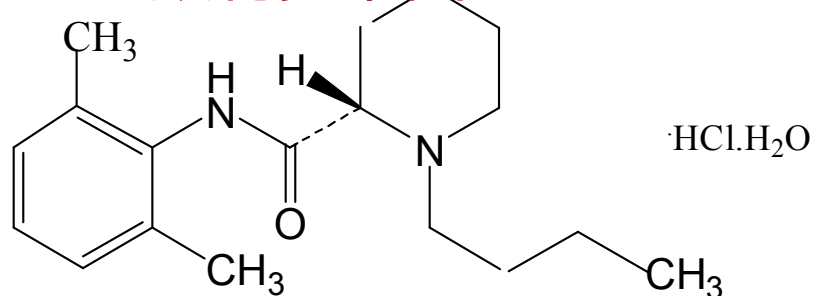
与

性质

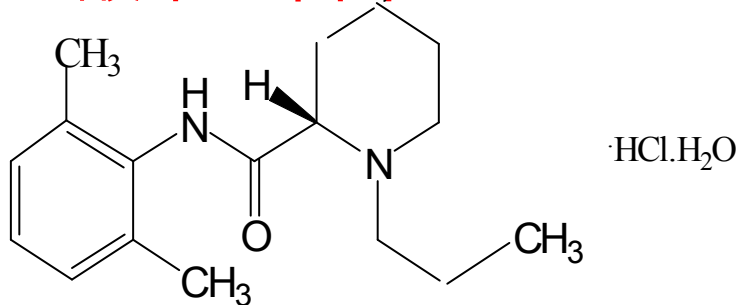
结构特征 ? 性质 ?



盐酸利多卡因



盐酸布比卡因



盐酸罗哌卡因

1. 芳伯氨基特性
 2. 水解性
 3. 弱碱性
 4. 与重金属离子反应
 5. 紫外、红外吸收
 6. 其他特性
- (P250)



第二节 鉴别试验 (p250)

一、重氮化-偶合反应 (芳伯氨基和潜在芳伯氨基)

芳伯氨基

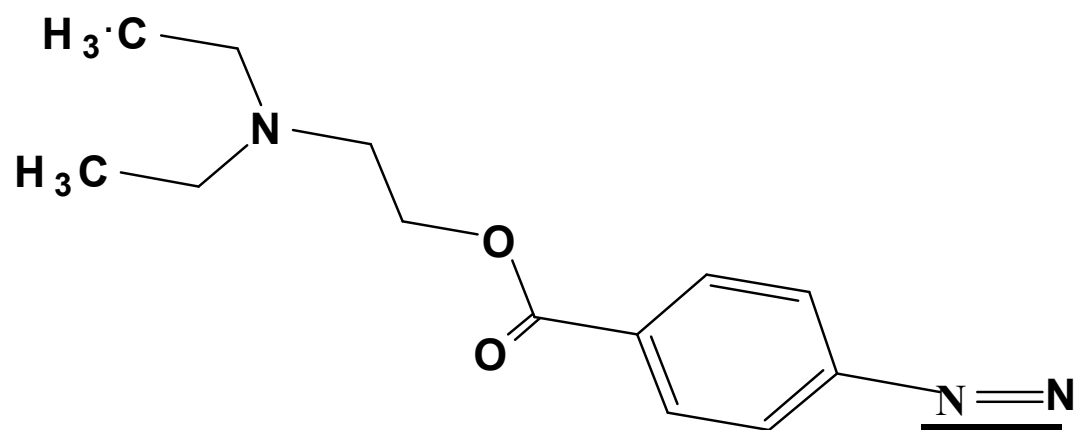
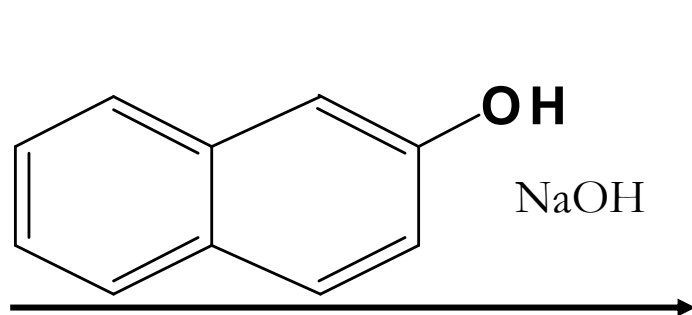
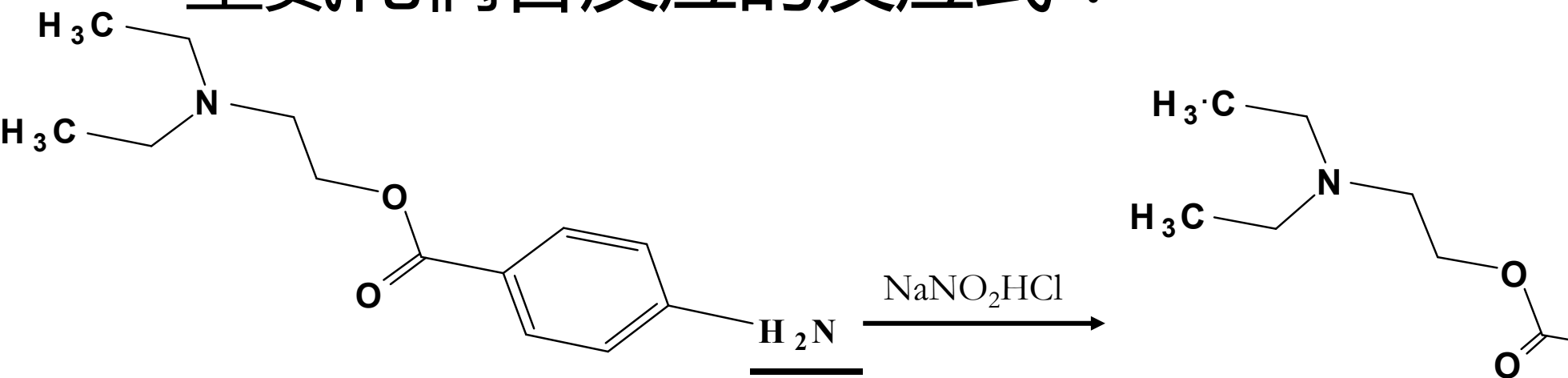
- 苯佐卡因、盐酸普鲁卡因、盐酸普鲁卡因胺
- 本品显 芳香第一胺类 的鉴别反应 (通则0301)
- NaNO_2/HCl 碱性 β -萘酚 有色偶氮染料 (橙黄到猩红色)

芳香第一胺类鉴别试验

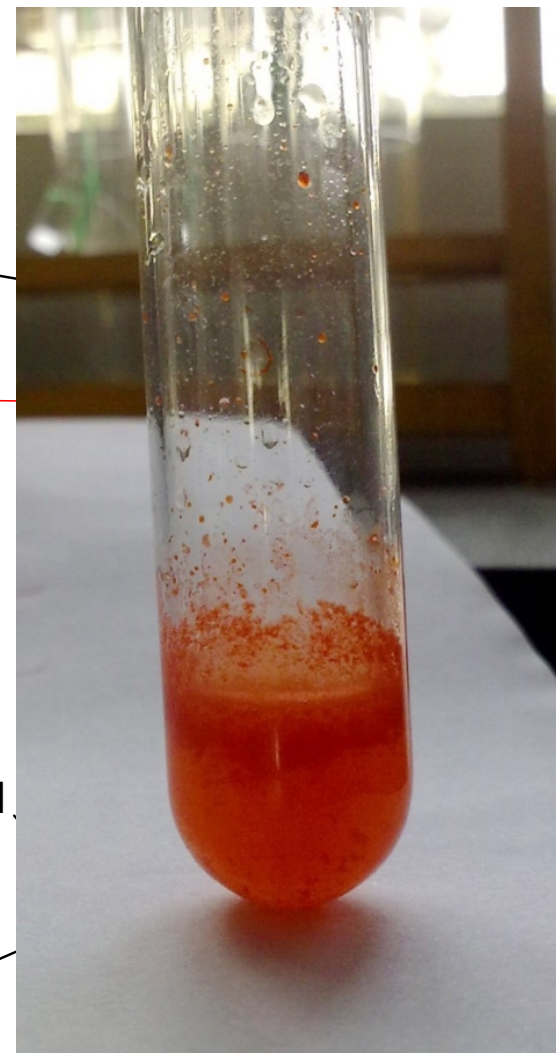
- 取供试品约50mg，加稀盐酸1ml,必要时缓缓煮沸使溶解，放冷，加0.1mol/L亚硝酸钠溶液数滴，滴加碱性 β -萘酚试液数滴，视供试品不同，生成由橙黄到猩红色沉淀。



重氮化偶合反应的反应式：



红色



第二节 鉴别试验

二、与金属离子反应

- 酰芳胺-烃胺氮原子与金属离子络合显色 盐酸利多卡因

1. 与铜和钴离子反应

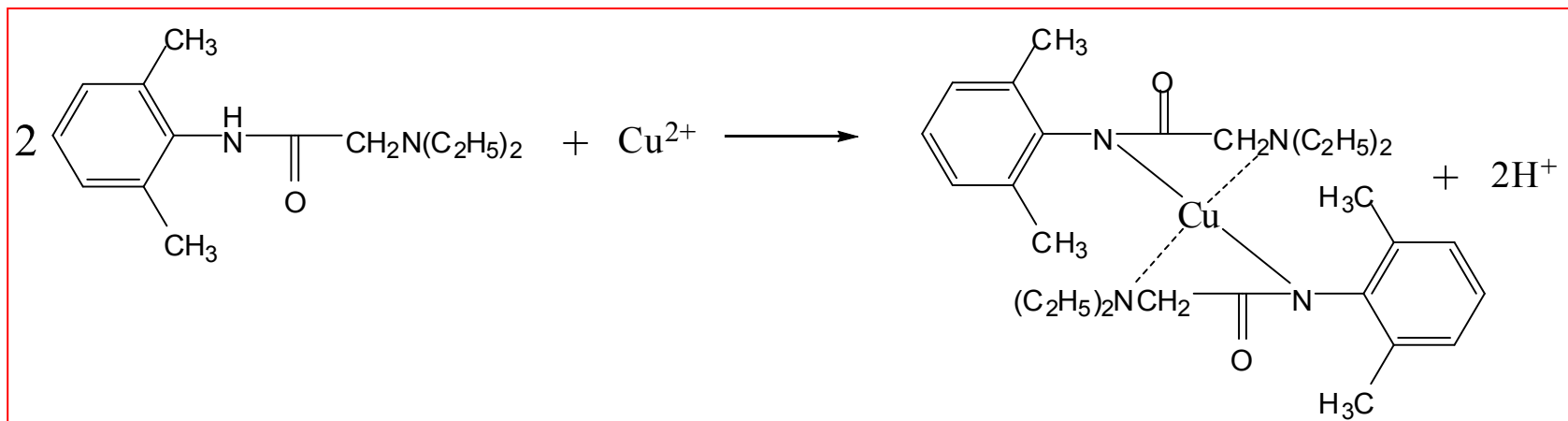
硫酸铜/碳酸钠试液→蓝紫色配合物→

显黄色（溶于三氯甲烷）



盐酸利多卡因

- 取本品0.2g，加水20ml溶解后，取溶液2ml，加硫酸铜试液0.2ml与碳酸钠试液1ml，即显蓝紫色；加三氯甲烷2ml，振摇后放置，三氯甲烷层显黄色。

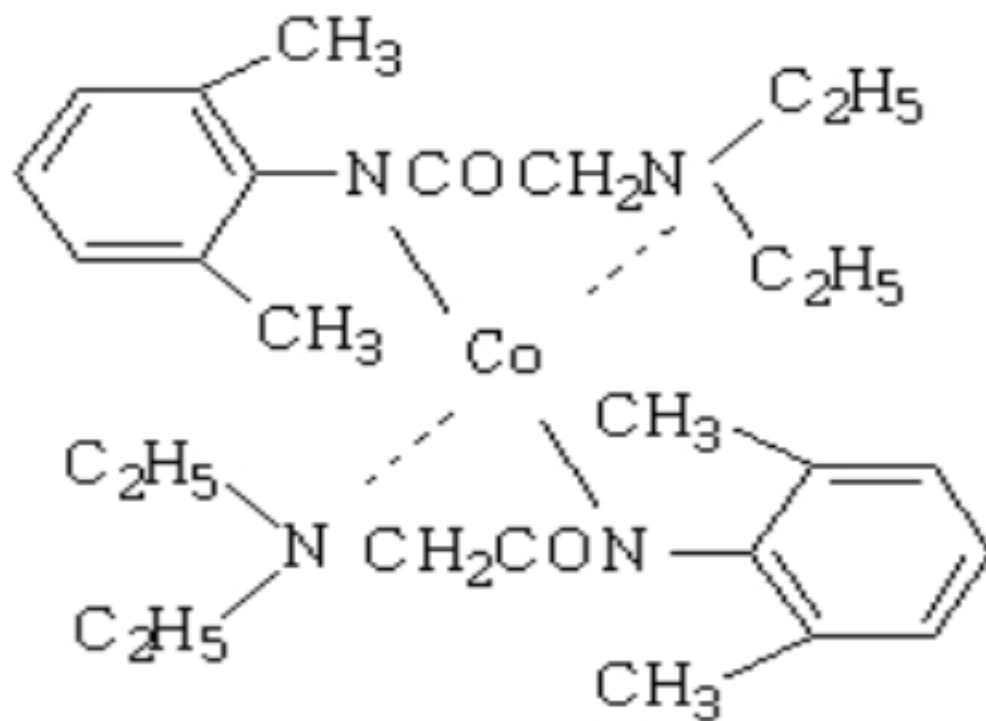


说明：

- 在同样条件下
氨基甲酸酯类
不发生此反应。



氯化钴/酸性溶液 → 亮绿色细小钴盐沉淀↓



2. 与汞离子反应

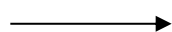
酰芳胺类：

- 盐酸利多卡因 硝酸汞/硝酸，煮沸



对氨基苯甲酸酯类：

- 苯佐卡因 硝酸汞/硝酸，煮沸



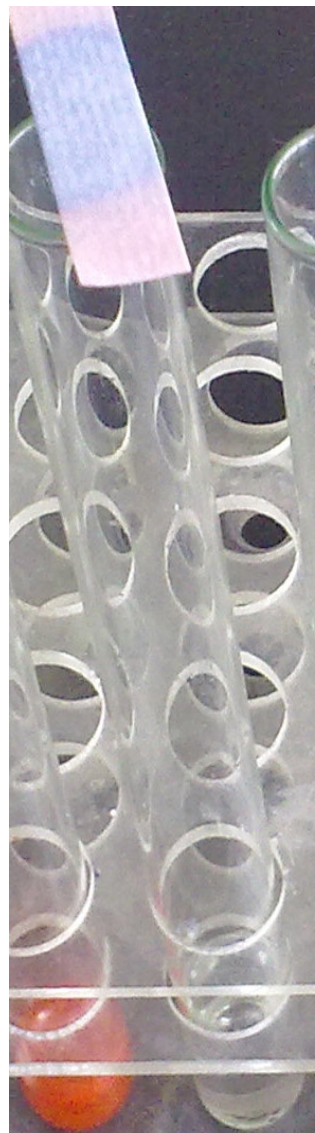
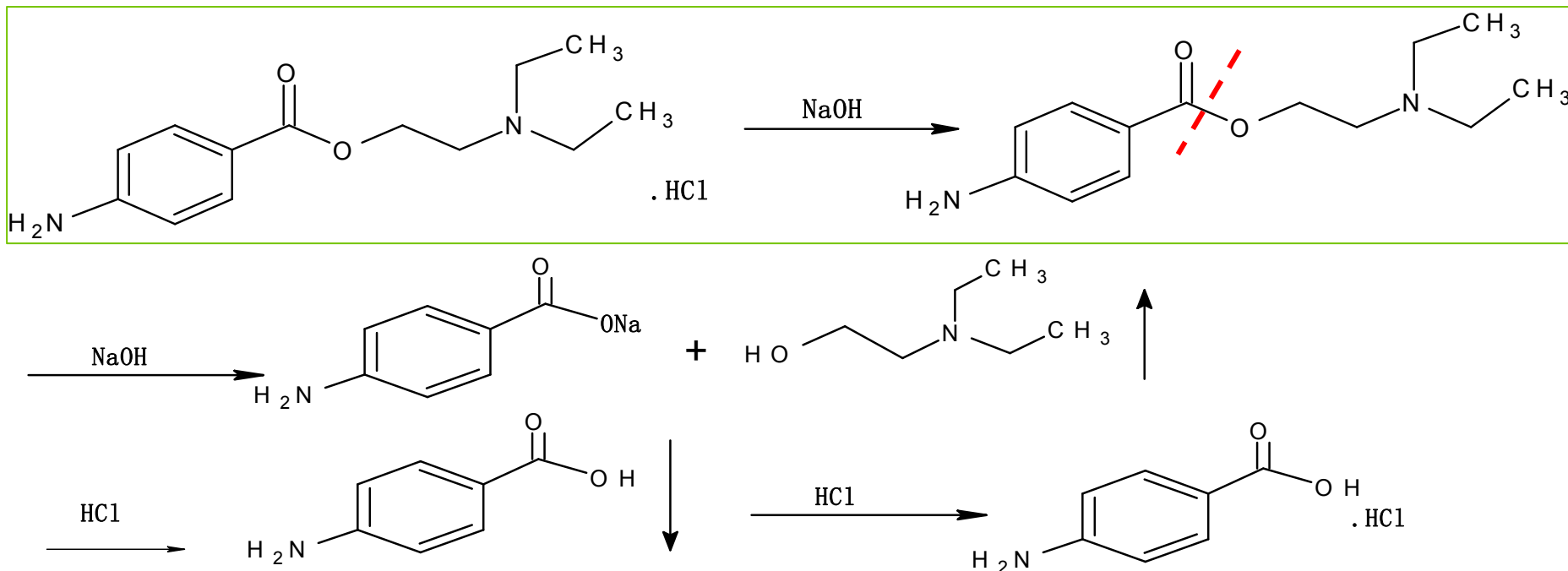
第二节 鉴别试验

三、水解产物反应

- 对氨基苯甲酸酯类药物分子中有些具有酯键结构，在碱性条件下可水解，利用其水解产物的特性或与某些试剂的反应可进行鉴别。



例： 盐酸普鲁卡因 取本品约0.1g，加水2ml溶解后，加10%氢氧化钠溶液1ml，即生成**白色沉淀**；加热，变为油状物；继续加热，产生的**蒸气**，能使湿润的红色石蕊试纸变为蓝色；热至油状物消失后，放冷，加盐酸酸化，即析出**白色沉淀**。

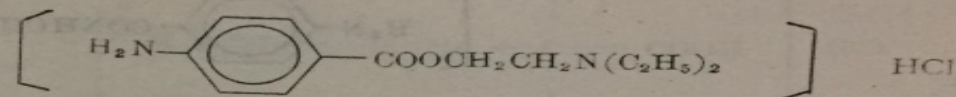


第二节 鉴别试验

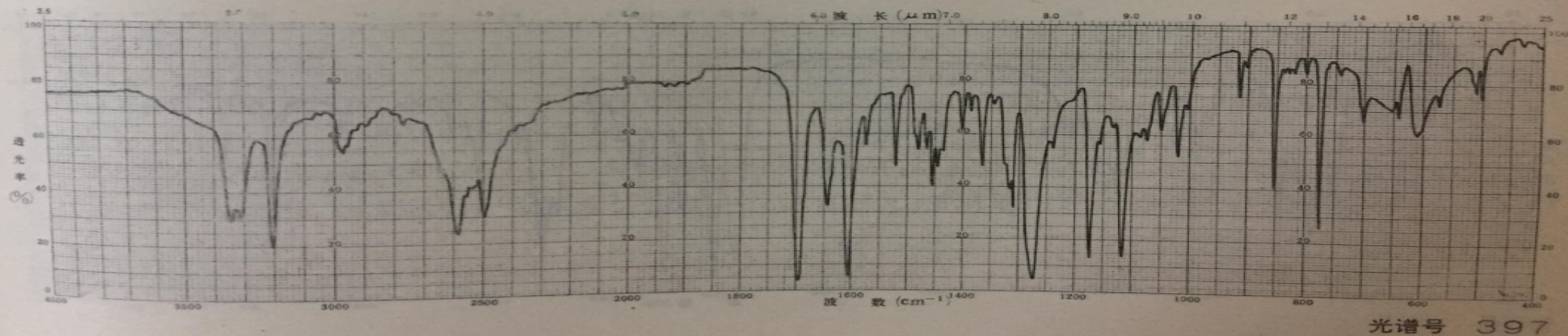
中文名: 盐酸普鲁卡因

英文名: Procaine Hydrochloride

分子式: $C_{13}H_{20}N_2O_2 \cdot HCl$



试样制备: KCl 压片法



检测题：单选题

1. 盐酸普鲁卡因常用鉴别反应有

A .重氮化 - 偶合反应

A

B .氧化反应

C .磺化反应

D .碘化反应

E .银盐反应



检测题：多项选择题

2. 盐酸普鲁卡因水解后的产物有：

A .对氨基苯甲酸

B .对氨基苯丙酸

C .对丁氨基苯甲酸

D .二乙氨基乙醇

E .二甲氨基乙醇

AD



第三节 特殊杂质与检查

一、盐酸普鲁卡因中对氨基苯甲酸的检查

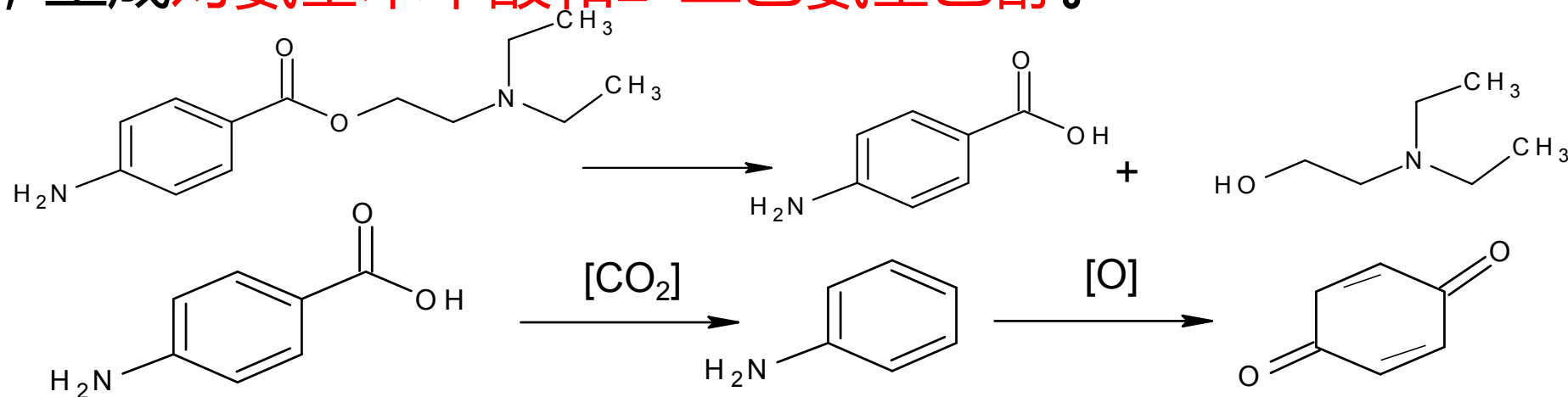
《中国药典》盐酸普鲁卡因 检查项目：

酸度、溶液澄清度、对氨基苯甲酸、干燥失重、炽灼残渣、铁盐、
重金属



杂质来源

注射液在制备过程中受灭菌温度、时间、溶液pH值的影响，以及受贮藏时间、光线和重金属离子等因素的影响，可发生水解，生成对氨基苯甲酸和2-二乙氨基乙醇。



注射液变黄，药物疗效下降，毒性增加



检查方法

• HPLC 杂质对照品法

- 固定相 : 十八烷基硅烷键合硅胶
- 流动相 : 0.1%庚烷磺酸钠的0.05mol/L磷酸二氢钾溶液 (用磷酸调节pH至3.0) -甲醇 (68: 32)
- 检测波长 : 279 nm

系统适用性试验

- 理论板数按对氨基苯甲酸峰计算不低于2000
- 盐酸普鲁卡因峰和对氨基苯甲酸峰的分离度应大于2.0
- 外标法以峰面积计算



第三节 特殊杂质与检查

二、盐酸氯普鲁卡因注射液中有有关物质的及光降解产物检查

- 盐酸氯普鲁卡因 易 水解 生成：**4-氨基-2-氯苯甲酸** 降解产物

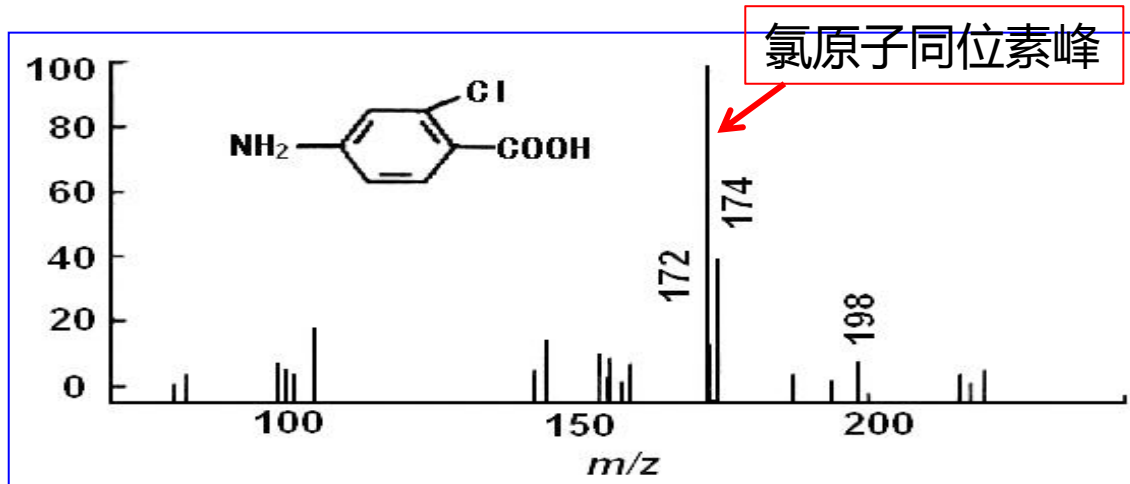
USP34-NF29 : HPLC

原料药中杂质限量 : $\leq 0.625\%$

注射液中杂质限量 : $\leq 3.0\%$

示例8-5 采用 高效液相色谱/质谱 (LC/MS) 联用技术

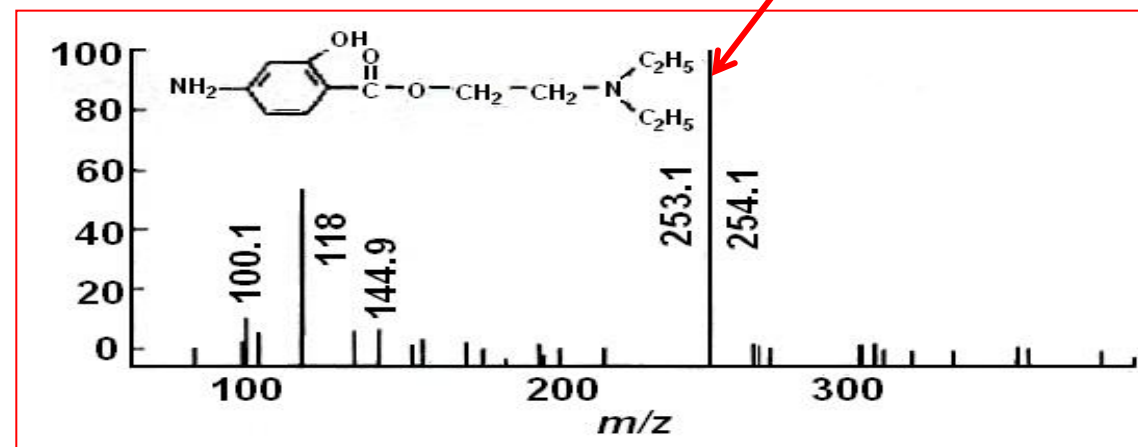




盐酸氯普鲁卡因注射液中
光照前存在的杂质及其质谱图

光照后消失

光照后产生的另一杂质峰



盐酸氯普鲁卡因注射液
经光照后产生的杂质及其质谱图

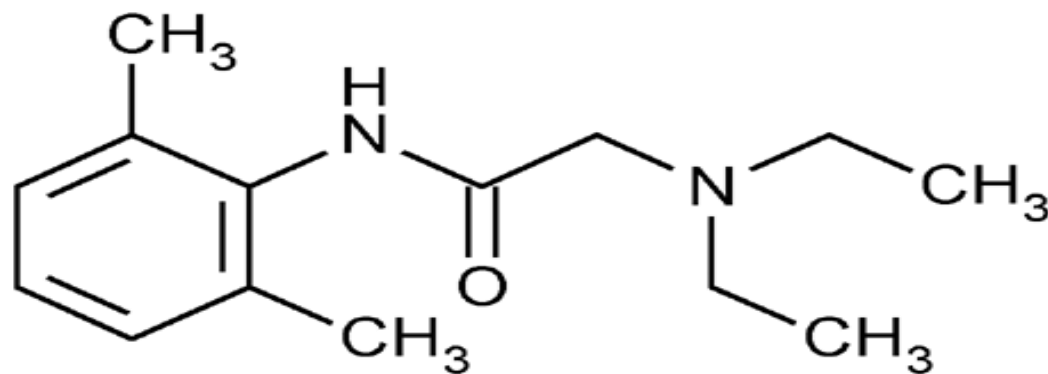


第三节 特殊杂质与检查

三、盐酸利多卡因注射液中2,6-二甲基苯胺 及其他杂质的检查

杂质来源： 水解产生

检查方法： HPLC 杂质对照品法

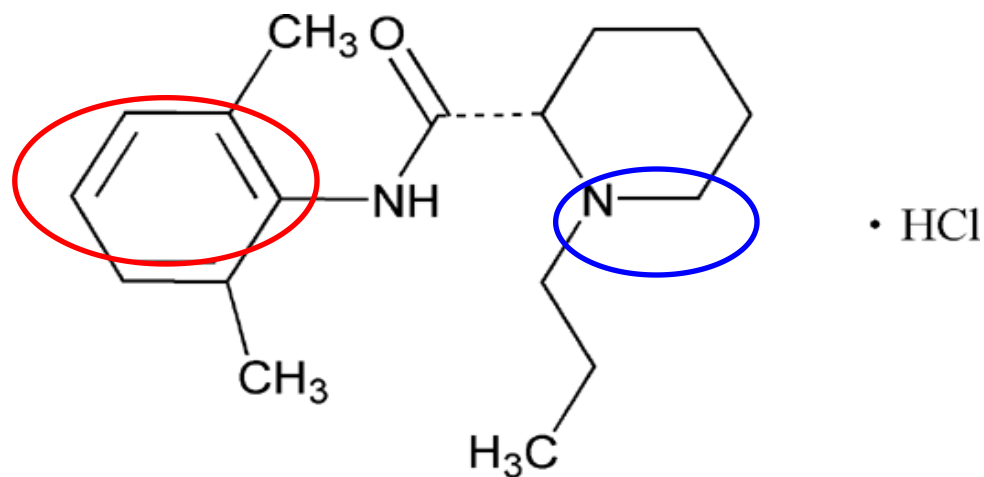


盐酸利多卡因 lidocaine hydrochloride



第三节 特殊杂质与检查

四、盐酸罗哌卡因的光学纯度检查(略)



盐酸罗哌卡因
ropivacaine hydrochloride

- 长效酰胺类局麻药
- 术后镇痛
- *R*- 心脏毒性较大（杂质），要控制其限量---ChP 采用 HPLC
- *S*-盐酸罗哌卡因对映体 临床应用



高效毛细管电泳方法 (HPCE) (略) : **USP34-NF29**

- 规定：供试品中*R*-盐酸罗哌卡因的限量不得超过0.5%

1.分析溶液配制

背景电解质溶液： H_3PO_4 (pH2.9~3.1)

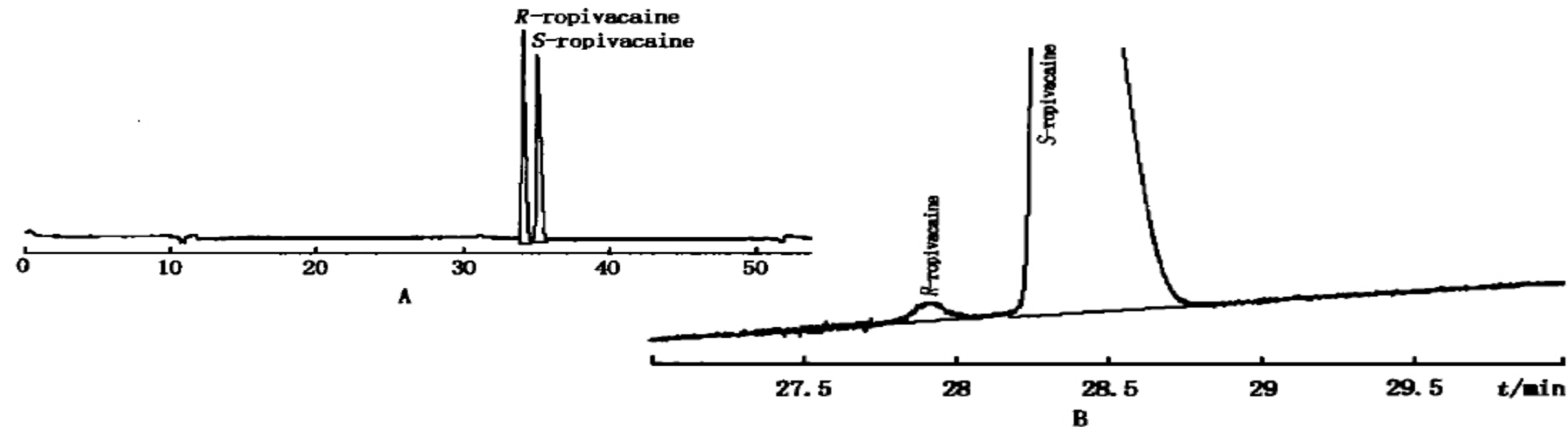
运行缓冲液：背景缓冲液 + 2,6-二-*O*-甲基- β -环糊精(手性拆分试剂)

系统适用性溶液：*S*-盐酸罗哌卡因及*R*-盐酸罗哌卡因标准品

供试品溶液：*S*-盐酸罗哌卡因样品

供试品稀释溶液





盐酸罗哌卡因光学杂质的HPCE检查

A.光学异构体RS分离系统适用性测试图；

B.添加1.0%R杂质的供试品检测图（进一步说明样品S也可以与R分离）



第四节含量测定

容量分析法

volumetric analysis

分光光度法

Spectro-photometry

非水溶液滴定法

non-aqueous titrimetry

色谱法

chromatography

亚硝酸钠滴定法

sodium nitrite method



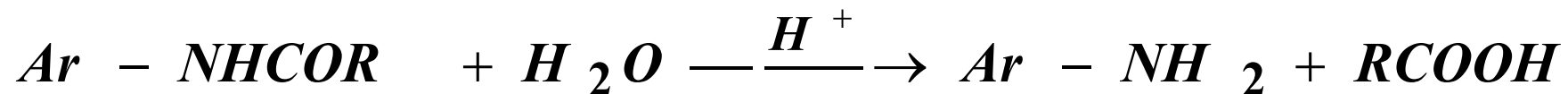
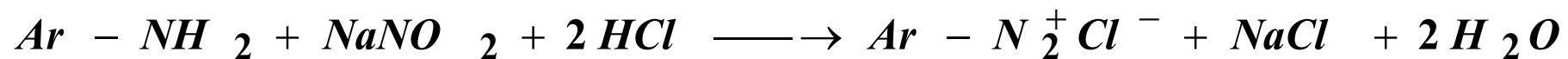
第四节 含量测定

《中国药典》亚硝酸钠滴定法(测原料和注射用盐普鲁卡因)

高效液相色谱法(测盐酸普卡因注射液)

一、亚硝酸钠滴定法(重氮化法)

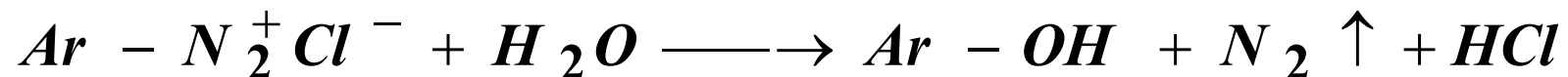
原理:具有芳伯氨基或水解后具有芳伯氨基的药物在酸性溶液中与亚硝酸钠定量反应,生成重氮盐,用永停法指示反应终点。



第四节 含量测定

1. 反应条件？

通常温度高，重氮化反应速度快。但**温度太高**，可使亚硝酸逸失，并可使重氮盐分解；而**低温**时反应太慢，所以一般在室温下进行。



(2) 加入适量KBr做催化剂加快反应速度



第四节 含量测定

1. 反应条件：

(3) 盐酸酸性条件：

作用：1) 重氮化反应速度加快；

2) 重氮盐在酸性溶液中稳定；

3) 防止生成偶氮氨基化合物，而影响测定

酸的种类： $\text{HBr} > \text{HCl} > \text{H}_2\text{SO}_4 > \text{HNO}_3$

酸的浓度：芳胺类药物:盐酸 = 1:2.5 ~ 6 (物质的量比)；



1. 反应条件：

(4) 滴定速度：先快后慢

为避免滴定过程中亚硝酸挥发和分解，加快反应速度，滴定管尖端插入液面下2/3处，一次性将大部分的滴定液在搅拌条件下迅速加入，使其尽快反应，在近终点时方改为慢速滴定。

原因：在近终点时，因尚未反应的芳伯氨基药物浓度极稀，须在最后一滴加入后，搅拌1min~5min，再确定终点是否真正达到。这种滴定方式可以缩短滴定时间，也不影响结果。



第四节 含量测定

2. 指示终点的方法

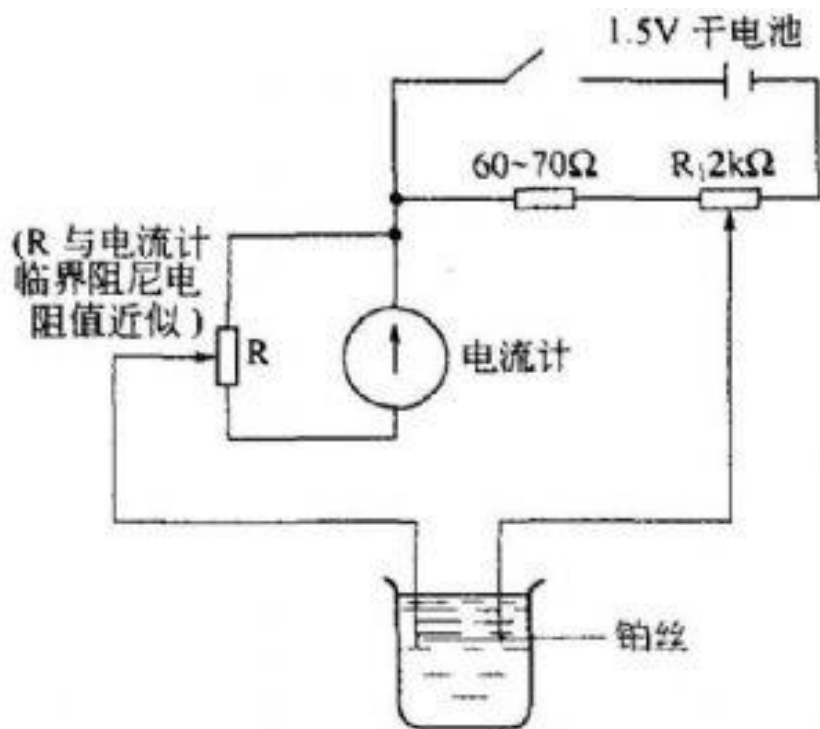
电位法，永停滴定法，外指示剂法和内指示剂法等。

(1) 永停滴定法：《中国药典》（2020年版）

原理：永停滴定法采用两支相同的铂电极，当在电极间加一低电压(例如50mV)时，若电极在溶液中极化，则在未到滴定终点时，仅有很小或无电流通过；但当到达终点时，滴定液略有过剩，使电极去极化，溶液中即有电流通过，电流计指针突然偏转，不再回复。反之，若电极由去极化变为极化，则电流计指针从有偏转回到零点，也不再变动。

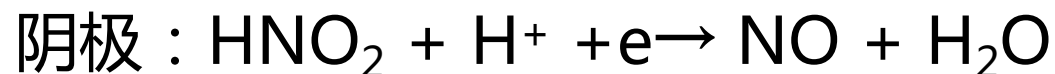
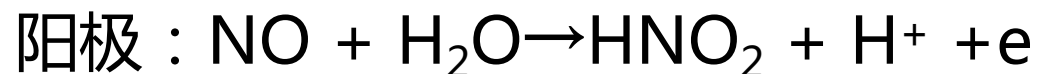


永停滴定法：(又称双电流法或双安培滴定法)



调节 R_1 ，使加在电极上的电压约为50mv。用亚硝酸钠滴定，**终点前**，溶液中无亚硝酸，线路无电流通过，电流计指针指零。

近终点时溶液中有微量亚硝酸存在，在电极上即起氧化还原反应：



指针突然偏转，不再回复为终点

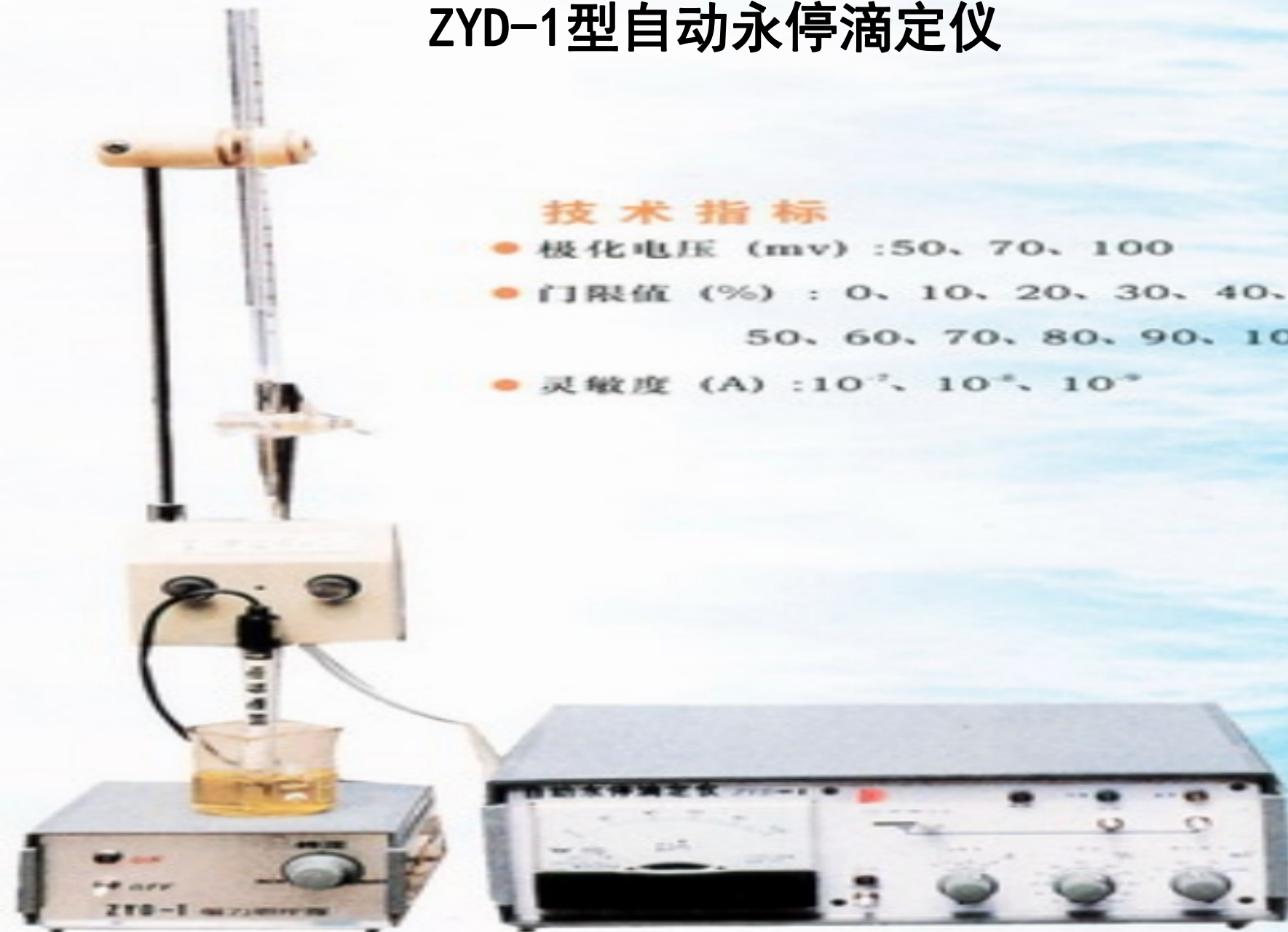


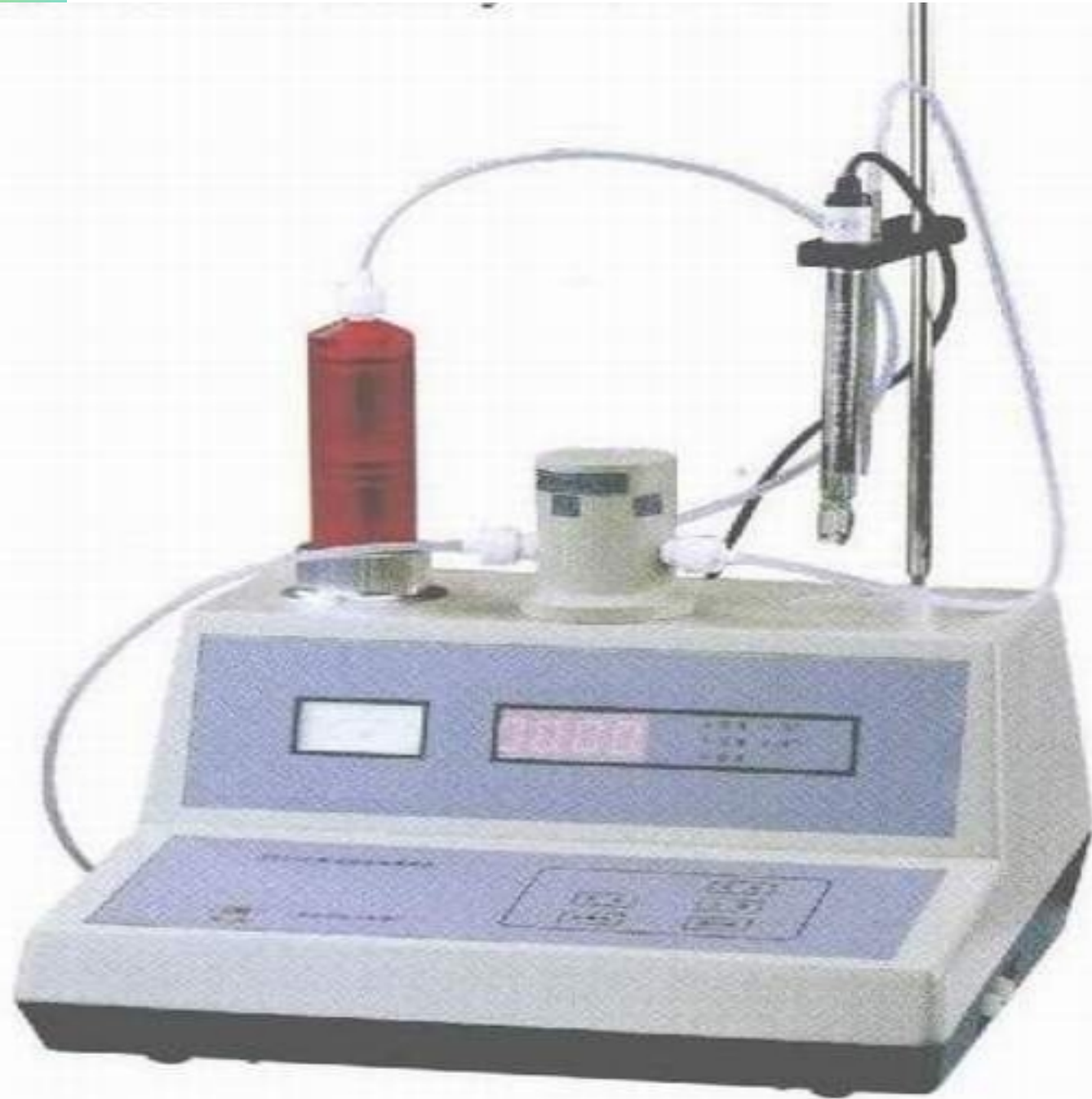


ZYD-1型自动永停滴定仪

技术指标

- 极化电压 (mv) : 50、70、100
- 门限值 (%) : 0、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100
- 灵敏度 (A) : 10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-9}





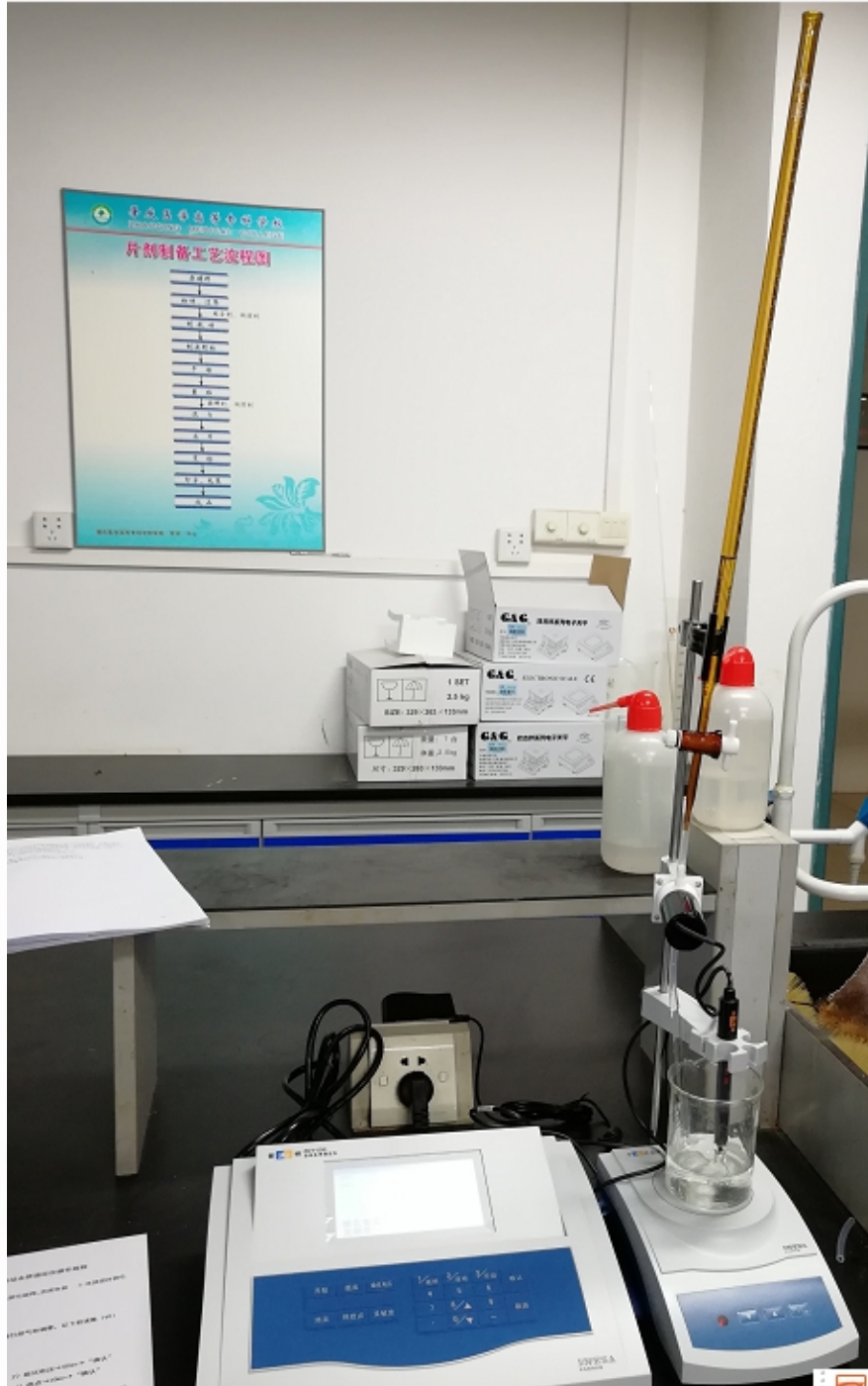
ZYT-2型自动永停滴定仪按照中国药典所规定的永停滴定法来检测药品含量的终点指示仪器，本仪器采用特制精密计量泵和可靠三通转换阀，能完成自动吸液，自动注液，自动测定最后终点自动由LED数字显示正确的标准液消耗毫升量





YT-1型自动永停滴定仪

ZYD-500型自动永停滴定仪



永停滴定法（通则0701）

用作重氮化法的终点指示时，调节 R_1 使加于电极上的电压约为50mV。取供试品适量，精密称定，置烧杯中，除另有规定外，可加水40ml与盐酸溶液（1→2）15ml，而后置电磁搅拌器上，搅拌使溶解，再加溴化钾2g，插入铂—铂电极后，将滴定管的尖端插入液面下约2/3处，用亚硝酸钠滴定液（0.1mol/L或0.05mol/L）迅速滴定，随滴随搅拌，至近终点时，将滴定管的尖端提出液面，用少量水淋洗尖端，洗液并入溶液中，继续缓缓滴定，至电流计指针突然偏转，并不再回复，即为滴定终点。



2. 指示终点的方法

(2) 电位法 USP

(3)外指示剂法：碘化钾-淀粉糊剂或指示液，滴定达到终点时，稍过量的亚硝酸钠在酸性溶液中氧化碘化钾，析出碘遇淀粉即显蓝色。



(4)内指示剂法：中性红不可逆指示剂（紫红→纯蓝色为终点



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 $10\sim 30^{\circ}\text{C}$
- (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)



(4) 测定方法

盐酸普鲁卡因的含量测定

取本品约0.6g，精密称定，照永停滴定法（通则0701），在15～20℃，用亚硝酸钠滴定(0.1mol/L) 滴定。每1ml 亚硝酸钠滴定液(0.1mol/L) 相当于27.28mg 的 $C_{13}H_2ON_2O_2 \cdot HCl$ 。

公式：？

$$\text{含量}\% = \frac{VFT}{W} \times 100\%$$



第四节 含量测定

二、非水溶液滴定法

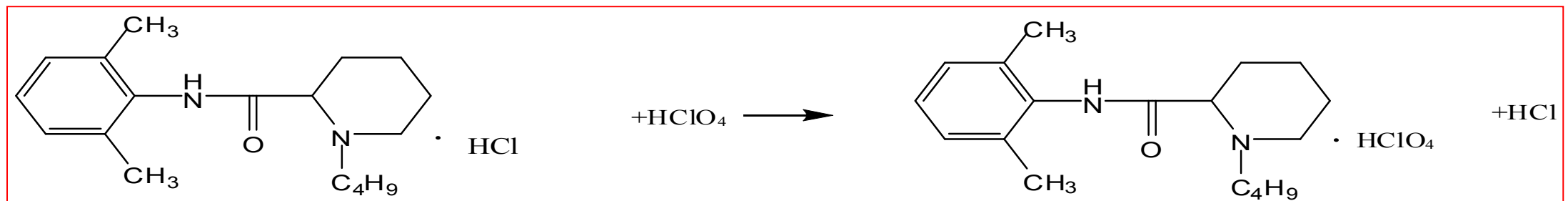
- 本类药物中的分子结构含有弱碱性氮原子，具弱碱性。
 - 溶 剂：冰醋酸与醋酐溶液
 - 滴定剂：高氯酸（ 0.1mol/L ）
 - 指示滴定终点方法：电位法
- 加入适量醋酐的作用
 - 在冰醋酸与醋酐溶液中，醋酐解离生成的醋酐合乙酰氧离子比醋酐合质子的酸性还强，有利于布比卡因碱性的增强，使滴定突跃敏锐。



盐酸布比卡因的含量测定(2020年版)

取本品约0.2g，精密称定，加冰醋酸20ml与醋酐20ml溶解后，照电位滴定法，用高氯酸滴定液（0.1mol/L）滴定，并将滴定的结果用空白试验校正。每1ml高氯酸滴定液（0.1mol/L）相当于32.49mg的 $C_{18}H_{28}N_2O \cdot HCl$ 。

- 盐酸布比卡因非水滴定法反应过程如下：



盐酸丁卡因的含量测定

- ChP2020采用乙醇作为溶剂的非水溶液酸碱滴定法

取本品约0.25g，精密称定，加乙醇50ml振摇使溶解，加0.01 mol/L盐酸溶液5ml，摇匀，照电位滴定法，用氢氧化钠滴定液（0.1mol/L）滴定，两个突跃点体积的差作为滴定体积。每1ml氢氧化钠滴定液（0.1mol/L）相当于30.08mg的 $C_{15}H_{24}N_2O_2 \cdot HCl$ 。

公式： ?

$$\text{含量}\% = \frac{VFT}{W} \times 100\%$$



第四节 含量测定

三、紫外分光光度法

紫外分光光度法测定注射用盐酸丁卡因的含量 (ChP2020)

取本品10瓶，分别加水溶解，并分别定量转移至250ml量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀，作为供试品溶液；另取盐酸丁卡因对照品，精密称定，加水溶解并定量稀释制成每1ml中约含0.2mg的溶液，作为对照品溶液。



精密量取供试品溶液与对照品溶液各3ml，分别置于100ml量瓶中，加盐酸溶液（1→200）5ml与磷酸盐缓冲液（pH 6.0）（取磷酸氢二钾20g与磷酸二氢钾80g，加水溶解并稀释至1000ml，用6mol/L磷酸溶液或10mol/L的氢氧化钾溶液调节pH至6.0）10ml，用水稀释至刻度，摇匀，照紫外-可见分光光度法，在310nm的波长处分别测定吸光度，计算每瓶的含量，求出平均含量，即得。

公式：？

$$\text{含量}\% = \frac{C_R \times \frac{A_X}{A_R} \times D \times V \times \text{每支容量}}{V_s \times \text{标示量}} \times 100\%$$



分光光度法的含量测定计算

1. 吸收系数法：

$$A = E_{1cm}^{1\%} CL$$

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

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

$$\text{百分含量}\% = \frac{m}{m_s} \times 100\%$$

2. 标准曲线法：

$$\text{百分含量}\% = \frac{C \times D \times V}{S} \times 100\% = \frac{\frac{A}{E \times L} \times \frac{1}{100} \times D \times V}{m_s} \times 100\%$$

3. 对照品比较法：

$$C_X = C_R \times \frac{A_X}{A_R} (\because \text{对照品和样品是同一物质} \therefore E_{1cm(X)}^{1\%} = E_{1cm(R)}^{1\%}) \rightarrow$$

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

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

$$\frac{A_X}{C_X L} = \frac{A_R}{C_R L}$$

$$C_X = C_R \times \frac{A_X}{A_R}$$



片剂

$$\text{标示量 \%} = \frac{\text{每片实际含量}}{\text{标示量}} \times 100\%$$

$$\text{标示量 \%} = \frac{\frac{A}{EL} \times \frac{1}{100} \times D \times V \times \text{平均片重}}{m_s \times \text{标示量}} \times 100 \%$$

$$\frac{\frac{A}{EL} \times \frac{1}{100} \times D \times V}{m_s}$$

每g样品中含被测成分的g数

对照品比较法

$$\text{含量\%} = \frac{C_X \times D \times V}{m_s} \times 100\% = \frac{C_R \times \frac{A_X}{A_R} \times D \times V \times \text{平均片重}}{m_s \times \text{标示量}} \times 100\%$$



注射剂

$$\text{标示量 \%} = \frac{\text{每支实际含量}}{\text{标示量}} \times 100\%$$

$$\text{标示量 \%} = \frac{\frac{A}{EL} \times \frac{1}{100} \times D \times V \times \text{每支容量}}{V_s \times \text{标示量}} \times 100\% \quad \boxed{V = V_s}$$

$$\frac{\frac{A}{EL} \times \frac{1}{100} \times D \times V}{V_s}$$

每ml注射液中含被测成分的g数

对照品比较法

$$\text{含量\%} = \frac{C_x \times D \times V}{V_s} \times 100\% = \frac{C_R \times \frac{A_x}{A_R} \times D \times V \times \text{每支容量}}{V_s \times \text{标示量}} \times 100\%$$



第四节 含量测定

(四) 高效液相色谱法

盐酸利多卡因注射液的含量测定 (ChP2020)

色谱条件：

- 固定相： C_{18}
- 流动相：磷酸盐缓冲液 (pH8.0) - 乙腈 (50 : 50)
- 检测波长：254nm

系统适用性试验：

- 理论板数按利多卡因峰计算不低于2000



測定法

精密量取本品适量（约相当于**盐酸利多卡因**100mg）置50ml量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀，精密量取20 μ l注入液相色谱仪，记录色谱图；另取**利多卡因**对照品约85mg，精密称定，置50ml量瓶中，加1mol/L盐酸溶液0.5ml使溶解，用流动相稀释至刻度，摇匀，同法测定。按外标法以峰面积计算，并乘以**1.156（P260）**，即得。

公式：？

$$\text{标示量}\% = \frac{C_R \times \frac{A_X}{A_R} \times D \times \text{每支容量}}{\text{标示量}} \times 100\%$$



检测题：单选题

1.用永停法指示终点的滴定法是

C

A .银量法

B .碘量法

C .重氮化法

D .中和滴定法

E .溴酸钾法



检测题：单选题

2. 关于亚硝酸钠滴定法的叙述，错误的是

A

- A .对有酚羟基的药物，均可用此方法测定含量
- B .水解后呈芳伯氨基的药物，可用此方法测定含量
- C .芳伯氨基在酸性液中与亚硝酸钠定量反应，生成重氮盐
- D .在强酸性介质中，可加速反应的进行
- E .反应终点多用永停法指示



检测题：多项选择题

1. 盐酸普鲁卡因采用亚硝酸钠滴定法测定含量时的反应条件是

ABCDE

A.强酸

B.加入适量溴化钾

C.室温（10—30度）下滴定

D.滴定管尖端插入液面下2/3处

E.永停法指示终点





隨身課堂

《药物分析》

对氨基苯甲酸酯和酰苯胺类局麻药物的分析

敬请关注下一节内容

二氢吡啶类钙通道阻滞药物的分析

