

# 药物分析

## 第十二章

### 喹啉与青蒿素类抗疟 药物的分析



人民卫生出版社

PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

# 学习要求

## 掌握

- 喹啉类和青蒿素类药物的结构、性质和分析测定方法。

## 熟悉

- 喹啉类和青蒿素类药物的鉴别试验、有关物质的特点。

## 了解

- 喹啉类和青蒿素类药物的体内样品分析。



# 疟疾与抗疟药

- 疟疾是由疟原虫引起的一种传染病，每年全世界死于疟疾的人数约 250 万。寄生于人体的疟原虫有间日疟原虫、恶性疟原虫、三日疟原虫和卵形疟原虫四种，分别引起间日疟、恶性疟、三日疟和卵形疟。
- 在我国以间日疟和恶性疟为主，其他两种少见。疟原虫有独特的生活史，其不同发育阶段在生物学上存在明显差异，因而导致对不同抗疟药的敏感性不同，因此，必须了解疟原虫的生活史及抗疟药作用环节，以便根据防治的目的正确选择药物。



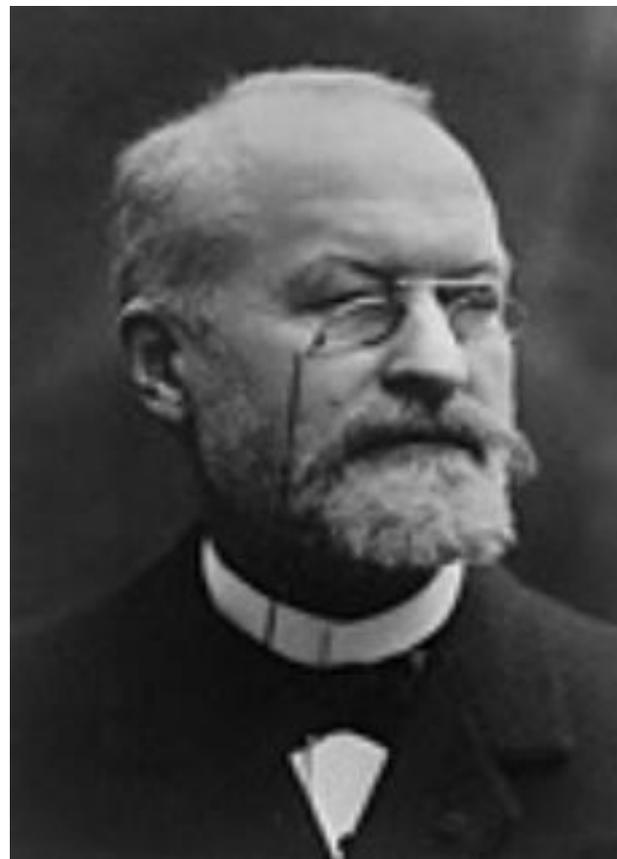
- **抗疟药（antimalarial drugs）** 作用于疟原虫生活史的不同环节，从而抑制或杀灭疟原虫。根据用药的目的，将抗疟药分为三类：
  1. 主要用于控制症状的抗疟药（如磷酸氯喹、硫酸奎宁、磷酸咯萘啶、青蒿素、蒿甲醚、青蒿琥酯、本芴醇等）；
  2. 主要用于控制复发和传播的药物（如磷酸伯氨喹等）；
  3. 主要用于病因性预防的抗疟药（如乙胺嘧啶、磺胺类等）。



- **Ross**证实蚊子是疟疾的传播媒介，为此获得**1902年诺贝尔医学奖**
- **The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1902**



- 直至1880年法国学者 Laveran才发现疟疾的病原体是疟原虫，为此获得1907年诺贝尔医学奖；
- **The Nobel prize in physiology or medicine 1907**



- 2015年10月8日，中国科学家屠呦呦获2015年诺贝尔生理学或医学奖，成为第一个获得诺贝尔自然科学奖的中国人。



- 多年从事中药和中西药结合研究的屠呦呦，创造性地研制出抗疟新药——青蒿素和双氢青蒿素，获得对疟原虫100%的抑制率，为中医药走向世界指明一条方向。



第一节 喹啉类药物的分析  
第二节 青蒿素类药物的分析



# 第一节

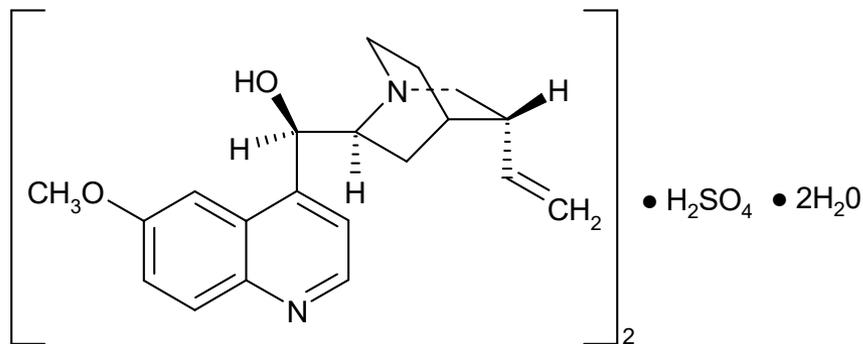
## 喹啉类药物的分析



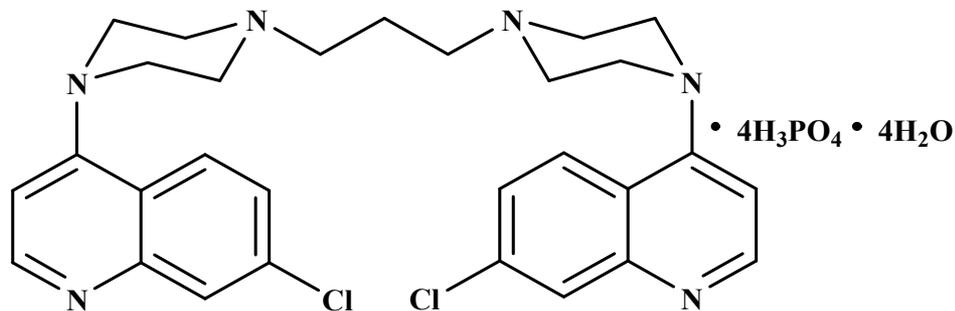
- 喹啉类药物分子结构中含有吡啶与苯稠合而成的喹啉杂环，环上杂原子的反应性能基本与吡啶相同。
- 现以本类最常用的典型药物硫酸奎宁、二盐酸奎宁、磷酸氯喹、磷酸哌喹、磷酸咯萘啶和磷酸伯氨喹，就其鉴别和检查的有关问题进行讨论。



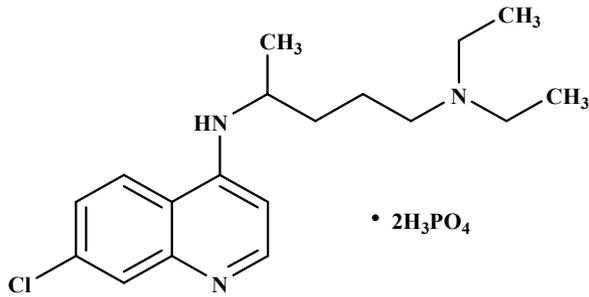
# 一、喹啉类药物的基本结构与主要性质



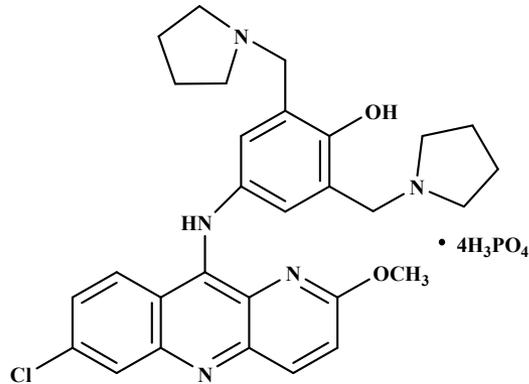
硫酸奎宁 Quinine Sulfate



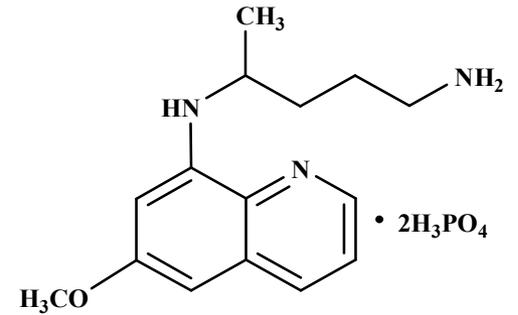
磷酸哌嗪 Piperazine Phosphate



磷酸氯喹  
Chloroquine  
Phosphate



磷酸咯萘啶  
Malaridine  
Phosphate



磷酸伯氨喹  
Primaquine  
Phosphate

- 喹啉类药物分子结构中含有吡啶与苯稠合而成的喹啉杂环，环上杂原子的反应性能基本与吡啶相同。

# (一) 典型药物的结构与物理性质

## 喹啉类药物的物理性质、鉴别、检查及含量测定

药物名称	物理性质	鉴别	检查	含量
硫酸奎宁 Quinine Sulfate	白色细微的针状结晶，轻柔，易压缩；无臭；遇光渐变色；水溶液显中性反应。 在三氯甲烷-无水乙醇（2：1）中易溶，在水、乙醇、三氯甲烷或乙醚中微溶。 $[\alpha]_D$ （0.1mol/L HCl溶液） -237°至-244°	1. 荧光反应； 2. 绿奎宁反应； 3. 氯化钡反应； 4. IR	①酸度；②三氯甲烷-无水乙醇不溶物；③其他金鸡纳碱（TLC）；④干燥失重；⑤炽灼残渣	非水滴定



## 喹啉类药物的物理性质、鉴别、检查及含量测定

药物名称	物理性质	鉴别	检查	含量
二盐酸奎宁 Quinine Dihydrochloride	白色粉末；无臭，味极苦；遇光渐变色；水溶液显酸性反应。 在水中极易溶解，在乙醇中溶解，在三氯甲烷中微溶，在乙醚中极微溶解。 $[\alpha]_D$ (0.1mol/L HCl溶液) $-223^\circ$ 至 $-229^\circ$	1. 荧光反应； 2. 绿奎宁反应； 3. IR； 4. 氯化物反应	①酸度； ②硫酸盐； ③其他金鸡纳碱 (TLC)； ④干燥失重； ⑤炽灼残渣； ⑥钡盐	非水滴定



## 喹啉类药物的物理性质、鉴别、检查及含量测定

药物名称	物理性质	鉴别	检查	含量
磷酸哌喹 Piperaquine Phosphate	类白色至浅黄色 的结晶性粉末； 遇光易变色。 在水中微溶，在 无水乙醇或二氯 甲烷几乎不溶	1. 硫氰酸铵反应； 2. HPLC； 3. IR； 4. 磷酸盐反应	① 酸度； ② 有关物质 (HPLC)； ③ 水分	HPLC



## 喹啉类药物的物理性质、鉴别、检查及含量测定

药物名称	物理性质	鉴别	检查	含量
磷酸氯喹 Chloroquine Phosphate	白色结晶性粉末， 无臭；遇光渐变 色；水溶液显酸 性反应。 在水中易溶，在 乙醇、三氯甲烷、 乙醚中几乎不溶	1. UV； 2. IR； 3. 磷酸盐反应	① 酸度； ②溶液的澄清度； ③有关物质 (TLC)；④干 燥失重；⑤重金 素；⑥砷盐	非水 滴定



## 喹啉类药物的物理性质、鉴别、检查及含量测定

药物名称	物理性质	鉴别	检查	含量
磷酸咯萘啶 Malaridine Phosphate	黄色至橙黄色 结晶性粉末； 无臭，具引湿 性。 在水中溶解， 在乙醇或乙醚 中几乎不溶	1. HPLC； 2. UV； 3. IR； 4. 磷酸盐 反应	①酸度；②水 中不溶物；③氯 化物；④有关物 质（HPLC）； ⑤甲醛；⑥四氢 吡咯； ⑦干燥失重	非水滴定 （电位法 ）



## 喹啉类药物的物理性质、鉴别、检查及含量测定

药物名称	物理性质	鉴别	检查	含量
磷酸伯氨喹 Primaquine Phosphate	橙红色结晶性 粉末，无臭。 在水中溶解， 在二氯甲烷或 乙醇中不溶	1. UV; 2. IR; 3. 钼钒酸 铵反应	①酸度；②有关 物质（HPLC）； ③残留溶剂； ④干燥失重	HPLC



## (二) 主要化学性质

### 1. 碱性

- 奎宁为二元生物碱，其中奎宁环上的氮原子的碱性较强（ $pK_a$  8.8），与强酸形成稳定的盐，奎宁和奎尼丁均与二元酸成盐，如与硫酸成盐；而喹啉环上的氮原子碱性较弱（ $pK_a$  4.2），不能与硫酸成盐。磷酸氯喹和磷酸伯氨喹为三元生物碱；磷酸咯萘啶为五元生物碱；磷酸哌喹为六元生物碱。



## 2. 旋光性

- 喹啉类抗疟药基本都具有手性，硫酸奎宁为左旋体，其比旋度为 $-237^{\circ}$ 至 $-244^{\circ}$ ；二盐酸奎宁也为左旋体，其比旋度为 $-223^{\circ}$ 至 $-229^{\circ}$ 。而磷酸哌喹和磷酸咯萘啶不具有手性。

## 3. 荧光特性

- 硫酸奎宁和二盐酸奎宁在稀硫酸溶液中均显蓝色荧光。



#### 4. 紫外吸收光谱特征

- 由于喹啉类药物分子结构中含有吡啶与苯稠合而成的喹啉杂环，具有共轭体系，可用紫外吸收光谱的特征鉴别该类药物。



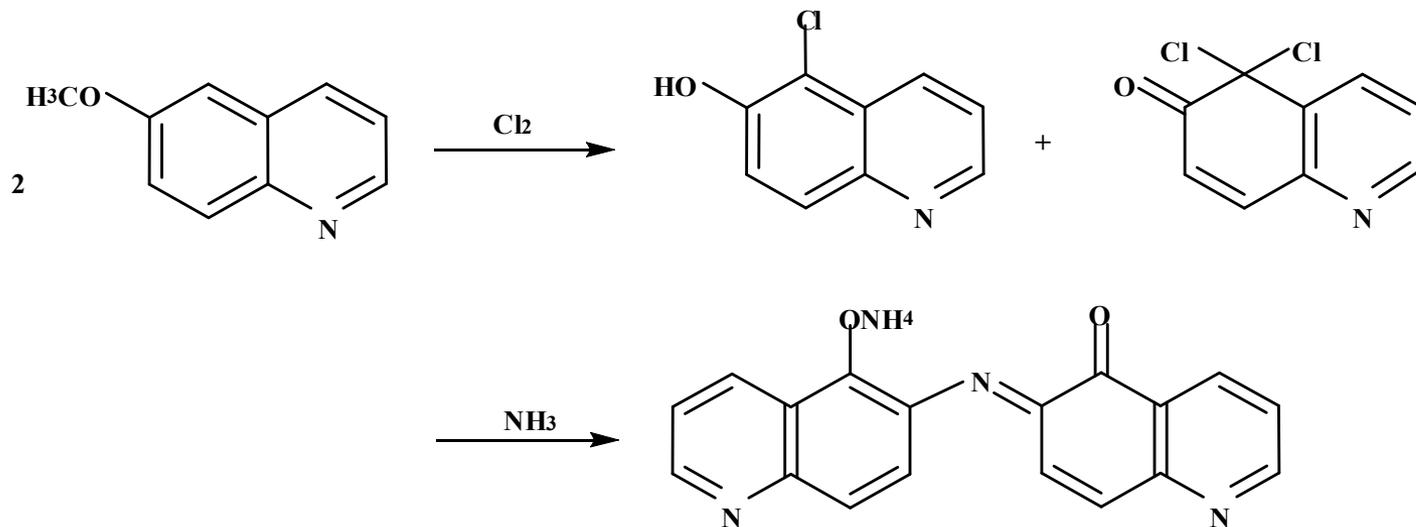
## 二、鉴别试验

- (一) 绿奎宁反应
- (二) 光谱特征
- (三) 无机酸盐



## (一) 绿奎宁反应

- 奎宁为6-位含氧喹啉衍生物，可以发生绿奎宁反应（Thalleioquin reaction）。反应基本机制是6-位含氧喹啉，经氯水（或溴水）氧化氯化，再以氨水处理缩合，生成绿色的二醌基亚胺的铵盐。



- 硫酸奎宁和二盐酸奎宁的绿奎宁反应机制同上。取其水溶液，加溴试液0.2ml和氨试液1ml，即显翠绿色，加酸成中性变成蓝色，成酸性时则为紫红色。翠绿色可转溶于醇、三氯甲烷中而不溶于醚。因此ChP2015采用此反应鉴别硫酸奎宁和二盐酸奎宁。
- ChP2015硫酸奎宁的绿奎宁反应鉴别：取本品约5mg，加水5ml溶解后，加溴试液3滴与氨试液1ml，即显翠绿色。



## (二) 光谱特征

### 1. 紫外吸收光谱特征

- 由于喹啉类药物分子结构中含有吡啶与苯稠合而成的喹啉杂环，具有共轭体系，可用紫外吸收光谱的特征鉴别该类药物。ChP2015采用本法鉴别磷酸氯喹、磷酸哌喹、磷酸咯萘啶和磷酸伯氨喹。



## (二) 光谱特征

- **ChP2015磷酸氯喹的UV鉴别：**取本品，加0.01mol/L盐酸溶液制成每1ml中约含10 $\mu$ g的溶液，照紫外-可见分光光度法测定，在222nm、257nm、329nm与343nm的波长处有最大吸收。
- **ChP2015磷酸咯萘啶的UV鉴别：**取本品，加磷酸盐缓冲溶液（pH7.0）制成每1ml中约含10 $\mu$ g的溶液，在260nm与276nm的波长处有最大吸收。



## 2. 荧光光谱特征

- 利用硫酸奎宁和二盐酸奎宁在稀硫酸溶液中均显蓝色荧光。
- **ChP2015硫酸奎宁的荧光鉴别：**取本品约20mg，加水20ml溶解后，分取溶液10ml，加稀硫酸使成酸性，即显蓝色荧光。



### 3. 红外吸收光谱特征

- 硫酸奎宁、二盐酸奎宁、磷酸氯喹、磷酸哌喹、磷酸咯萘啶和磷酸伯氨喹在ChP2015中均采用红外光谱的方法进行鉴别。
- ChP2015磷酸氯喹的IR鉴别：取本品约0.5g，置分液漏斗中，加水25ml溶解后，加氢氧化钠试液5ml、乙醚50ml振摇提取，醚层用水洗涤后通过置有无水硫酸钠的漏斗滤过，滤液置水浴上蒸干，残渣用五氧化二磷为干燥剂减压干燥至析出结晶，其红外光吸收图谱应与氯喹的对照图谱一致。



### (三) 无机酸盐

- 利用硫酸奎宁的硫酸根，显硫酸盐的鉴别反应进行鉴别。
- 硫酸盐的鉴别反应：①取供试品溶液，滴加氯化钡试液，即生成白色沉淀；分离，沉淀在盐酸或硝酸中均不溶解。②取供试品溶液，加醋酸铅试液，即生成白色沉淀；分离，沉淀在醋酸铵试液或氢氧化钠试液中溶解。③取供试品溶液，加盐酸，不生成白色沉淀（与硫代硫酸盐区别）。
- 二盐酸奎宁中具有盐酸根，即显氯化物的鉴别反应进行鉴别。



- 氯化物的鉴别反应：①取供试品溶液，加稀硝酸使成酸性后，滴加硝酸银试液，即生成白色凝乳状沉淀；分离，沉淀加氨试液即溶解，再加稀硝酸酸化后，沉淀复生成。如供试品为生物碱或其他有机碱的盐酸盐，须先加氨试液使成碱性，将析出的沉淀滤过除去，取滤液进行试验。②取供试品少量，置试管中，加等量的二氧化锰，混匀，加硫酸湿润，缓缓加热，即发生氯气，能使用水湿润的碘化钾淀粉试纸显蓝色。



- 磷酸氯喹、磷酸哌喹、磷酸咯萘啶和磷酸伯氨喹都具有磷酸根，显磷酸盐反应进行鉴别。

### 磷酸盐的鉴别反应

- (1) 取供试品的中性溶液，加硝酸银试液，即生成浅黄色沉淀；分离，沉淀在氨试液或稀硝酸中均易溶解。
- (2) 取供试品溶液，加氯化铵镁试液，即生成白色结晶性沉淀。
- (3) 取供试品溶液，加钼酸铵试液与硝酸后，加热即生成黄色沉淀；分离，沉淀能在氨试液中溶解。



# 三、检查

## (一) 硫酸奎宁的检查

- ChP2015 硫酸奎宁进行酸度、三氯甲烷-无水乙醇不溶物、其他金鸡纳碱、干燥失重、炽灼残渣的检查。
- 奎宁主要来源于金鸡纳树皮，在提取分离过程中除了得到奎宁外，还得到了奎宁丁、辛可宁和辛可尼定等其他金鸡纳碱。



- 硫酸奎宁为白色细微的针状结晶，轻柔，易压缩；无臭，味极苦；遇光渐变色；水溶液显中性反应。在三氯甲烷-无水乙醇（2：1）中易溶，在水、乙醇、三氯甲烷或乙醚中微溶。



## (一) 硫酸奎宁的检查

- 根据硫酸奎宁的制备工艺，产品中有关物质主要是生产过程中产生的中间体以及副反应产物。通过检查酸度、三氯甲烷-乙醇中不溶物质和其他金鸡纳碱等加以控制。



## 1. 酸度

- 主要是在成盐过程中引入。
- 检查法：取本品0.20g，加水20ml溶解后，用酸度计进行测定，pH应为5.7~6.6。



## 2. 三氯甲烷-乙醇中不溶物质

- 本项检查主要控制药物在制备过程中引入的醇中不溶性杂质或无机盐类等。
- 检查法：取本品2.0g，加三氯甲烷-无水乙醇（2：1）混合溶液15ml，在50°C加热10分钟后，用称定重量的垂熔坩埚滤过，滤渣用上述混合溶液分5次洗涤，每次10ml，在105°C干燥至恒重，遗留残渣不得超过2mg。



### 3.其他金鸡纳碱

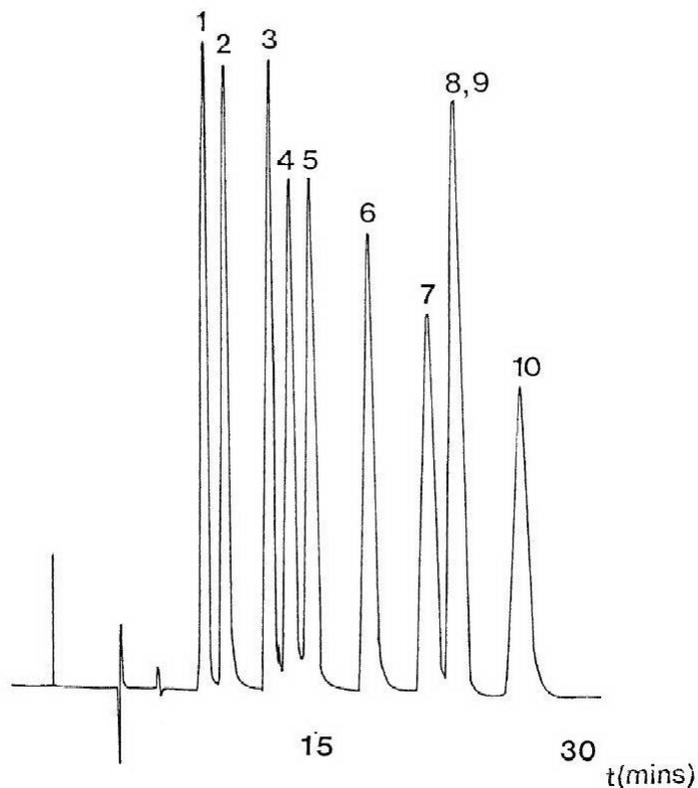
- 本项检查主要控制硫酸奎宁中的其他生物碱，采用HPLC或TLC中的主成分自身对照法或杂质对照品对照法进行检查。



- **TLC检查法**：取本品，加稀乙醇制成每1ml中约含10mg的溶液，作为供试品溶液；精密量取适量，加稀乙醇稀释制成每1ml中约含50 $\mu$ g的溶液，作为对照溶液。照薄层色谱法试验，吸取上述两种溶液各5 $\mu$ l，分别点于同一硅胶G薄层板上，以三氯甲烷-丙酮-二乙胺（5：4：1.25）为展开剂，展开后，微热使展开剂挥散，喷以**碘铂酸钾试液**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。



## BP2014 HPLC检查法



- 金鸡纳生物碱的HPLC分析系统适用性试验示意图

1-辛可宁 (cinchonine) ;

2-辛可尼丁 (cinchonidine) ;

3-二氢辛可宁 (dihydrocinchonine) ;

4-二氢辛可尼丁 (dihydrocinchonidine) ;

5-奎尼丁 (quinidine) ;

6-奎宁 (quinine) ;

7-二氢奎尼丁 (dihydroquinidine) ;

8-二氢奎宁 (dihydroquinine) ;

9-表奎尼丁 (epiquinidine) ;

10-表奎宁 (epiquinine)



## （二）磷酸咯萘啶的纯度检查

- ChP2015磷酸咯萘啶进行酸度、水中不溶物、氯化物、有关物质、甲醛、四氢吡咯、干燥失重的检查。
- 磷酸咯萘啶（疟乃停）对疟原虫红细胞内期裂殖体有杀灭作用。与氯喹无交叉抗药性，临床上用于治疗抗氯喹株恶性疟和抢救脑型疟等凶险型疟疾。
- 磷酸咯萘啶在生产和贮藏过程中引入的有关物质，通过溶液的澄清度与颜色、有关物质等项目的检查进行控制。
- 磷酸咯萘啶为黄色至橙黄色结晶性粉末；无臭，具引湿性。在水中溶解，在乙醇或乙醚中几乎不溶。



## 1. 酸度

- 主要是在成盐过程中引入。本品水溶液的pH如小于2.4，刺激性较大。
- 检查法 取本品1.0g，加水25ml溶解后，用酸度计进行测定，pH应大于2.4。



## 2.氯化物

- 系生产工艺中带入。检查时为了避免溶液颜色的干扰，先加碱使咯萘啶沉淀析出，然后再对滤液进行检查。
- 检查法 取本品0.10g，加水4ml使溶解，加20%碳酸钠溶液5ml，摇匀，使沉淀完全，用5号垂熔玻璃漏斗滤过，容器用水15ml分次洗涤、滤过，合并滤液，加水使成25ml，依氯化物法检查，与标准氯化钠溶液3.0ml制成的对照液比较，不得更浓（0.03%）。



### 3. 水中不溶物

- 本品加水溶解后，稍放置即有黄色不溶物产生，影响质量。故质量标准按给药途径不同，规定其不同限量以控制质量。
- 检查法 取本品2.0g，加水25ml振摇使溶解，放置30分钟，用置105°C恒重的4号垂熔玻璃坩埚滤过，沉淀用水15ml分次洗涤，在105°C干燥4小时，遗留残渣不得超过4mg（供注射用）或7mg（供口服用）。



#### 4. 甲醛

- 在合成磷酸咯萘啶的反应中使用了甲醛进行缩合，甲醛具有毒性，应对产品中可能剩余的甲醛进行检查。
- 检查法 取本品50.0mg，加水2ml使溶解，加5%碳酸钠溶液4ml，搅匀，滤过，滤液加硫酸溶液（1→2）3ml，冷却后加品红亚硫酸试液5ml，在20～30℃保温30分钟，如显色，与新制的甲醛溶液（每1ml含甲醛0.10mg的水溶液）1.0ml用同一方法制成的对照液比较，不得更深（0.2%）。



## 5. 四氢吡咯

- 在合成磷酸咯萘啶的反应中使用了四氢吡咯进行缩合，四氢吡咯具有毒性，应对产品中可能剩余的四氢吡咯进行检查。
- 检查法 取本品10mg，加水2ml溶解后，加5%碳酸钠溶液2ml，搅拌，滤过，滤液加新制的亚硝基铁氰化钠乙醛试液1ml，摇匀，5分钟内不得显蓝紫色。



## 四、含量测定—硫酸奎宁原料

### 硫酸奎宁的含量测定

- 硫酸奎宁具有生物碱的性质，很难在水溶液中用酸直接滴定。而在非水酸性介质中，碱性显著增强，即可以在冰醋酸或醋酐等酸性溶液中，用高氯酸滴定液直接滴定，以指示剂或电位法确定终点。



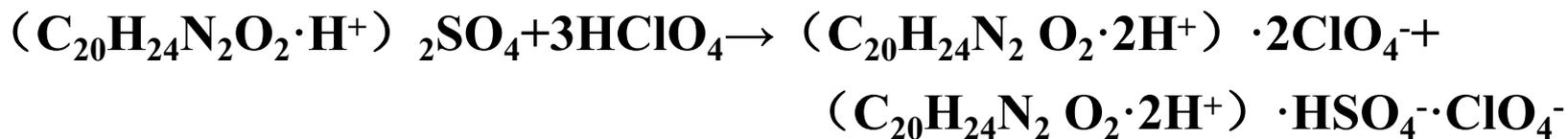
- 由于硫酸为二元酸，在水溶液中能进行二级解离，但在冰醋酸介质中，只能解离为 $\text{HSO}_4^-$ ，所以生物碱的硫酸盐在冰醋酸中只能滴定至硫酸氢盐。



- 测定时还应注意生物碱分子结构中氮原子碱性的强弱，正确判断反应的摩尔比，以准确计算结果。



- ChP2015硫酸奎宁的含量测定法：取本品约0.2g，精密称定，加冰醋酸10ml溶解后，加醋酐5ml与结晶紫指示液1~2滴，用高氯酸滴定液（0.1mol/L）滴定至溶液显蓝绿色，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24.90mg的  $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4$ 。
- 奎宁为二元碱，**喹核氮可与硫酸成盐，喹啉环氮不与硫酸成盐，但在冰醋酸介质中用高氯酸滴定时，却能与高氯酸成盐。即：**



- 因此，1 mol硫酸奎宁消耗3 mol高氯酸滴定液。即其中的2 mol奎宁结合4 mol质子（1 mol质子是硫酸提供的，其他3 mol质子是由高氯酸提供的）。USP方法与本法相同。

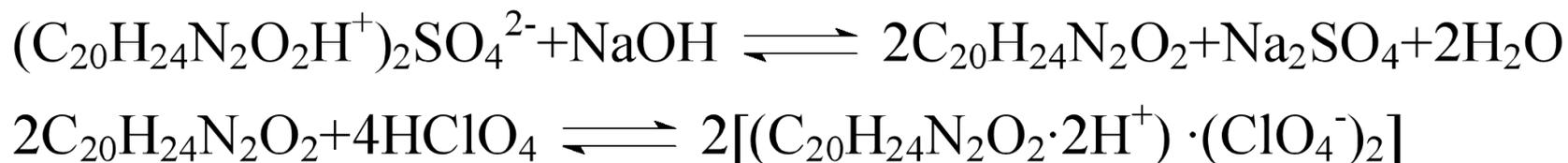


## 四、含量测定—硫酸奎宁片

- **ChP2015 硫酸奎宁片的含量测定法：**取本品20片，除去包衣后，精密称定，研细，精密称取适量（约相当于硫酸奎宁0.3g），置分液漏斗中。加氯化钠0.5g与0.1mol/L氢氧化钠溶液10ml，混匀，精密加三氯甲烷50ml，振摇10分钟，静置，分取三氯甲烷液，用干燥滤纸滤过，精密量取续滤液25ml，加醋酐5ml与二甲基黄指示液2滴，用高氯酸滴定液（0.1mol/L）滴定至溶液显玫瑰红色，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19.57mg的  $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$ 。



- 测定中1mol硫酸奎宁可转化为2mol奎宁，每1mol奎宁消耗2mol高氯酸，故1mol硫酸奎宁消耗4mol高氯酸。反应式为：



- **显然其片剂分析与原料药有所不同。**另外还应注意考察共存物的干扰，片剂中如有较多辅料，如硬脂酸盐、苯甲酸盐等，也消耗高氯酸滴定液，故应先用强碱溶液碱化，使之游离，经三氯甲烷提取分离后，再用高氯酸滴定液滴定。
- **USP38-NF33硫酸奎宁片含量的HPLC测定法**



## 磷酸氯喹制剂的含量测定

- 磷酸氯喹对疟原虫红细胞内期裂殖体起作用，可能系干扰了疟原虫裂殖体DNA的复制与转录过程或阻碍了其内吞作用，从而使虫体由于缺乏氨基酸而死亡。用于治疗对氯喹敏感的恶性疟、间日疟及三日疟。并可用于疟疾症状的抑制性预防。也可用于治疗肠外阿米巴病、结缔组织病、光敏感性疾病（如日晒红斑）等。磷酸氯喹用非水酸碱滴定，但制剂中由于含有辅料，所采用的含量测定方法不同。



## 四、含量测定

- ChP2015中磷酸氯喹片的含量的紫外-可见分光光度测定法：取本品10片，精密称定，研细，精密称取适量（约相当于磷酸氯喹0.13g），置200ml量瓶中，加0.1mol/L盐酸溶液适量，充分振摇使磷酸氯喹溶解并稀释至刻度，摇匀，滤过，精密量取续滤液2ml，置100ml量瓶中，用0.1mol/L盐酸溶液稀释至刻度，摇匀，在343nm的波长处测定吸光度；另取磷酸氯喹对照品适量，精密称定，加0.1mol/L盐酸溶液溶解并定是稀释制成每1ml中约含13 $\mu$ g的溶液，同法测定，计算，即得。
- 本品含磷酸氯喹（ $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$ ）应为标示量的93.0%~107.0%。



- **ChP2015中磷酸氯喹注射液**[本品含磷酸氯喹的灭菌水溶液。含磷酸氯喹 ( $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$ ) 应为标示量的 **95.0%~105.0%**]的含量的提取酸量测定法：精密量取本品适量（约相当于磷酸氯喹**0.3g**），用水稀释至**30ml**，加**20%氢氧化钠溶液3ml**，摇匀，用乙醚提取**4次**，每次**20ml**，合并乙醚液，用**10ml水**洗涤，水洗涤液再用**15ml乙醚**提取**1次**，合并前后两次的乙醚液，蒸发至近**2~3ml**时，精密加盐酸滴定液（**0.1mol/L**）**25ml**，温热蒸去乙醚并使残渣溶解，冷却，加溴甲酚绿指示液数滴，用氢氧化钠滴定液（**0.1mol/L**）滴定。



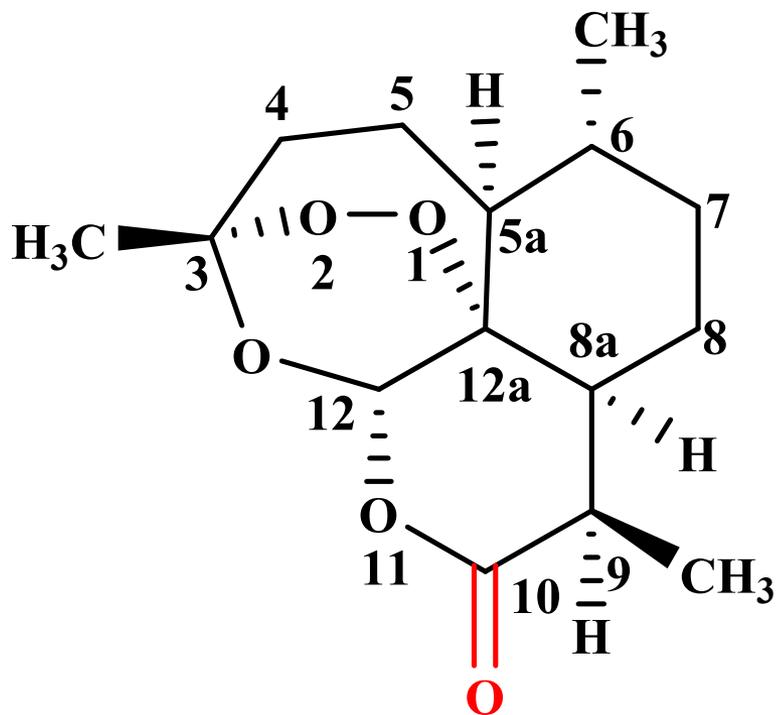
- 每1ml盐酸滴定液（0.1mol/L）相当于25.79mg  $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$ 。
- USP 采用提取后HPLC测定磷酸氯喹注射液的含量。



# 第二节

## 青蒿素类药物的分析





(3*R*,5*aS*,6*R*,8*aS*,9*R*,12*S*,12*aR*) -八氢-3,6,9-三甲基-3,12-氧桥-  
12*H*-吡喃并[4,3-*j*]-1,2-苯并二塞平-10 (3*H*) -酮



- 青蒿素（artemisinin）又名黄蒿素，是我国学者从菊科植物黄花蒿（*artemisia annua* L.）中提取分离得到的一个含**过氧基团的新型倍半萜内酯**。青蒿素是一种高效、速效、低毒的新型抗疟药。本品为脂溶性，易透过血脑屏障。在体内代谢很快，排泄也快，有效血药浓度维持时间短。主要用于耐氯喹的恶性疟，包括脑型疟的抢救。因有效血药浓度维持时间短，杀灭疟疾原虫不彻底，复燃率高达30%，与伯氨喹合用，可使复燃率降至10%。



- **1986年中医研究院研制的青蒿素抗疟药获得我国实施新药审批办法以来的第1个新药证书。但是，由于当时中国还没有专利法，所以，我国没有申请发明专利。**



- 屠呦呦因发现了青蒿素，并开发成功为有效的抗疟药物，为此获得2015年诺贝尔医学奖
- **The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2015**



- 青蒿素的多种衍生物均是治疗疟疾的有效单体，国内外公认的首创新药。将青蒿素结构中C-10位羰基还原成羟基得到双氢青蒿素（dihydroartemisinin），进一步烷氧基化得到蒿甲醚（artemether），而进行酯化可得到青蒿琥酯（artesunate）。随着对青蒿素类药物药理作用研究的不断深入，证实其具有抗疟、抗孕、抗纤维化、抗血吸虫、抗弓形虫、抗心律失常和肿瘤细胞毒性等作用。



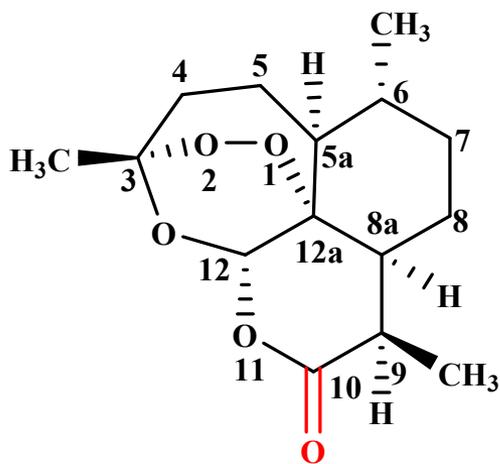
- 蒿甲醚是青蒿素的脂溶性衍生物，而青蒿琥酯是青蒿素的水溶性衍生物，后者可经口、静脉、肌肉、直肠等多种途径给药。两药抗疟作用及作用机制同青蒿素，能杀灭红细胞内期的裂殖体。具有速效、高效、低毒等特点。可用于耐氯喹恶性疟的治疗以及危重病例的抢救。双氢青蒿素是青蒿素经还原制得同时也是青蒿琥酯的体内活性代谢物。



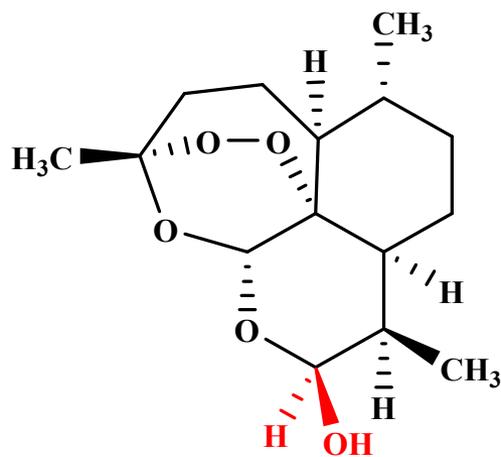
- 1990年，为了控制疟疾对青蒿素的耐药性，世界卫生组织建议在治疗中必须将青蒿素同别的抗疟药联合使用。  
2007年5月，在瑞士日内瓦举行的第60届世界卫生大会上，世界卫生组织声明，单方青蒿素会引发耐药性，建议在全球范围内推广复方类抗疟药。



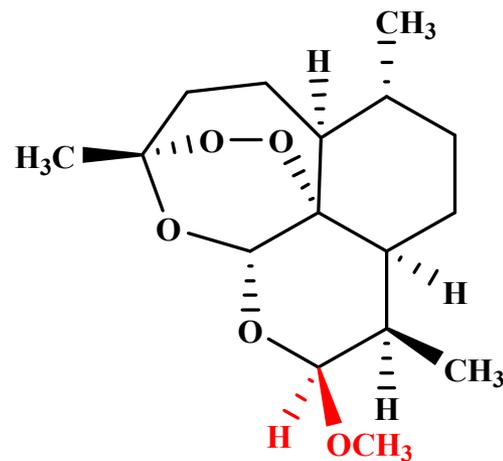
# 一、青蒿素类药物的基本结构与主要性质



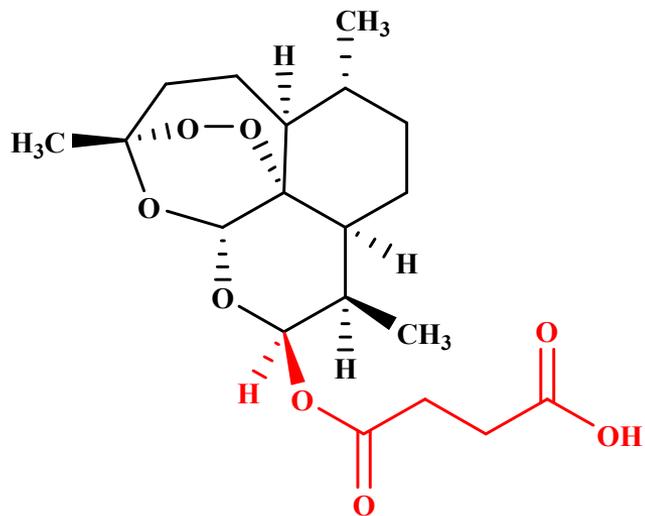
青蒿素  
Artemisine



双氢青蒿素  
Dihydroartemisinin



蒿甲醚  
Artemether



青蒿琥酯  
Artesunate

- 将青蒿素结构中C-10位羰基还原成羟基得到双氢青蒿素（dihydroartemisinin），进一步烷氧化得到蒿甲醚（artemether），而进行酯化可得到青蒿琥酯（artesunate）。

# (一) 典型药物的结构与物理性质

## 青蒿素类药物的物理性质、鉴别、检查及含量测定

药物名称	物理性质	鉴别	检查	含量
青蒿素 Artemisine	无色针状结晶。在丙酮、乙酸乙酯、三氯甲烷中易溶，在甲醇、乙醇、稀乙醇、乙醚及石油醚中溶解，在水中几乎不溶；在冰醋酸中易溶。 熔点为150~153°C。[ $\alpha$ ] <sub>D</sub> (无水乙醇) +75°至+78°	1. 碘化钾试液-淀粉； 2. 羟肟酸铁反应； 3. HPLC； 4. IR	1. 有关物质 (TLC)； 2. 干燥失重； 3. 炽灼残渣	HPLC法



## 青蒿素类药物的物理性质、鉴别、检查及含量测定

药物名称	物理性质	鉴别	检查	含量
双氢青蒿素 Dihydroartemisinin	白色或类白色结晶性粉末或无色针状结晶；无臭。 在丙酮中溶解，在甲醇或乙醇中略溶，在水中几乎不溶。 熔点为145~150℃，熔融时同时分解	1. TLC； 2. HPLC； 3. IR	1. 有关物质（TLC）； 2. 干燥失重； 3. 炽灼残渣； 4. 重金素	HPLC法



## 青蒿素类药物的物理性质、鉴别、检查及含量测定

药物名称	物理性质	鉴别	检查	含量
青蒿琥酯 Artesunate	<p>白色结晶性粉末； 无臭。 在乙醇、丙酮或二 氯甲烷中易溶，在 水中极微溶解。 熔点为131~136°C （口服用）或 132~137°C（注射 用） [α]<sub>D</sub>（二氯甲烷） +4.5°至+6.5°</p>	<p>1. TLC； 2. HPLC； 3. IR</p>	<p>1. 酸度； 2. 溶液的澄清度； 3. 氯化物； 4. 有关物质（ HPLC）； 5. 水分； 6. 炽灼残渣； 7. 重金素； <u>8. 细菌内毒素；</u> <u>9. 无菌</u></p>	<p>HPLC 法</p>



## 青蒿素类药物的物理性质、鉴别、检查及含量测定

药物名称	物理性质	鉴别	检查	含量
蒿甲醚 Artemether	白色结晶或结晶性粉末；无臭。在丙酮或三氯甲烷中极易溶解，在乙醇或乙酸乙酯中易溶，在水中几乎不溶。熔点为86~90℃。 [α] <sub>D</sub> （无水乙醇）+168°至+173°	1.碘化钾反应； 2.香草醛硫酸反应； 3. HPLC； 4. IR	1. 氯化物； 2. 有关物质（HPLC）； 3. 残留溶剂（GC）； 4. 干燥失重； 5. 炽灼残渣	HPLC法



## (二) 主要化学性质

### 1. 氧化性

- 由于青蒿素类是具有过氧桥的倍半萜内酯类化合物，这类化合物具有氧化性。

### 2. 旋光性

- 青蒿素类药物都均有旋光性，均为右旋体药物。青蒿素其比旋度为  $+75^{\circ}$  至  $+78^{\circ}$ 。蒿甲醚其比旋度为  $+168^{\circ}$  至  $+173^{\circ}$ 。



### 3.水解反应

- 青蒿素结构中由于有内酯，在碱性条件下，发生水解，但其他药物由于母核中没有内酯，没法发生水解。

### 4. UV吸收特性

- 由于青蒿素类药物分子结构中母核，不具有共轭体系，其紫外吸收光谱的主要是末端吸收。但C-10由于取代基的不同具有一定吸收特征。



## 二、鉴别试验

- (一) 呈色反应
- (二) 吸收光谱特征
- (三) 色谱法



## (一) 呈色反应

### 1. 碘化钾试液-淀粉反应（过氧桥的氧化反应）

- 由于青蒿素类是具有过氧桥的倍半萜内酯类化合物，这类化合物具有氧化性。在酸性条件能将I<sup>-</sup>氧化成I<sub>2</sub>与淀粉指示液，生成蓝紫色。
- **ChP2015青蒿素的鉴别：**取本品约5mg，加无水乙醇0.5ml溶解后，加碘化钾试液0.4ml，稀硫酸2.5ml与淀粉指示液4滴，立即呈紫色。



- **ChP2015双氢青蒿素片的鉴别：**取本品的细粉适量（约相当于双氢青蒿素20mg），加无水乙醇2ml使双氢青蒿素溶解，滤过，滤液中加碘化钾试液2ml与稀硫酸4ml，摇匀，加淀粉指示液数滴，溶液即显蓝紫色。

## 2.羟肟酸铁反应

- 含有内酯的化合物、羧酸衍生物和一些酯类化合物在碱性条件与羟胺作用，生成羟肟酸；在稀酸中与高铁离子呈色。**ChP2015**收载了青蒿素的羟肟酸铁鉴别反应。
- **ChP2015**青蒿素的鉴别：取本品约5mg，加无水乙醇0.5ml溶解后，加盐酸羟胺试液0.5ml与氢氧化钠试液0.25ml，置水浴中微沸，放冷后，加盐酸2滴和三氯化铁试液1滴，立即显深紫红色。



## (二) 吸收光谱特征

### 1. 红外吸收光谱特征

- 青蒿素类抗疟原料药在ChP2015中均采用红外光谱的方法进行鉴别。要求所得的红外光吸收图谱应与对照的图谱一致。但是制剂的红外光吸收图谱鉴别须经提取分离，残渣干燥后，进行红外光吸收图谱与对照的图谱比较。
- ChP2015青蒿琥酯片的鉴别：取本品的细粉适量（约相当于青蒿琥酯0.1g），加15ml丙酮振摇使溶解，滤过，滤液挥干，残渣用硅胶为干燥剂减压干燥。残渣的红外光吸收图谱应与青蒿琥酯的对照图谱一致。



## 2. 紫外吸收光谱特征

- 由于青蒿素类药物分子结构中母核，不具有共轭体系，其紫外吸收光谱的主要是末端吸收。但C-10由于取代基的不同具有一定吸收特征。ChP2015均未采用本法鉴别所收载青蒿素类药物。



### (三) 色谱法

- 利用比较供试品溶液主峰与对照品溶液主峰的保留时间 ( $t_R$ ) 是否一致或比较供试品溶液所显主斑点的位置和颜色与对照品溶液主斑点的位置和颜色是否相同进行鉴别。HPLC法一般都规定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。青蒿素类抗疟原料药在ChP2015中均采用HPLC的方法进行鉴别。但制剂中也有采用TLC法进行鉴别。



- **ChP2015双氢青蒿素片的鉴别：**取本品的细粉适量（约相当于双氢青蒿素20mg），加二氯甲烷10ml，振摇，使双氢青蒿素溶解，滤过，滤液蒸发至约2ml，作为供试品溶液；另取双氢青蒿素对照品，加二氯甲烷制成每1ml中含10mg的溶液，作为对照品溶液。照薄层色谱法试验，吸取上述两种溶液各10 $\mu$ l，分别点于同一硅胶G薄层板上，以甲苯-丙酮-冰醋酸（90：10：2）为展开剂，展开，晾干，喷以**2%香草醛硫酸溶液**，供试品溶液所显主斑点的位置和颜色应与对照品溶液的主斑点一致。



### 三、检查

- 目前青蒿素的制备仍以天然药材分离提取为主，并用于其衍生药物的生产，所以药品中通常都存在结构类似的有关物质。主要通过TLC和HPLC进行检查控制。



- **ChP2015青蒿素有关物质的TLC检查：**取本品适量，加丙酮溶解制成每1ml中含15mg的溶液，作为供试品溶液；精密量取0.5ml，置100ml量瓶中，加丙酮稀释至刻度，作为对照溶液（1）；精密量取对照溶液（1）5ml，置10ml量瓶中，加丙酮稀释至刻度，作为对照溶液（2）；另取青蒿素对照品和双氢青蒿素对照品，加丙酮溶解并稀释制成每1ml中含青蒿素10mg与双氢青蒿素0.1mg的混合溶液，作为系统适用性溶液。



- 照薄层色谱法试验，吸取上述四种溶液各10 $\mu$ l，分别点于同一硅胶G薄层板上，以石油醚（沸程60~90 $^{\circ}$ C）-丙酮-冰醋酸（8：2：0.1）为展开剂，展开15cm以上，取出，晾干，喷以含2%香草醛的20%硫酸乙醇溶液，在85 $^{\circ}$ C加热10~20分钟至斑点清晰，系统适用性溶液应显青蒿素与双氢青蒿素各自的清晰斑点。供试品溶液如显杂质斑点，颜色深于对照溶液（2）主斑点（0.25%）且不深于对照溶液（1）主斑点（0.5%）的斑点不得多于1个，其他杂质斑点的颜色均不得深于对照溶液（2）所显主斑点的颜色（0.25%）。



## 四、含量测定

- 目前青蒿素类原料药物ChP2015中均采用HPLC法进行含量测定，双氢青蒿素片中采用水解后用UV测定法。



- **ChP2015双氢青蒿素片的紫外分光光度法测定：**取溶出液5ml，滤过，精密量取续滤液2ml，置10ml量瓶中，用2%氢氧化钠溶液稀释至刻度，作为供试品溶液；另精密称取双氢青蒿素对照品适量，加乙醇溶解并定量稀释成每1ml中含0.4mg的溶液，静置2小时以上，精密量取2ml，置10ml量瓶中，用0.15%氢氧化钠溶液稀释至刻度，置37℃保温30分钟，再精密量取2ml，置10ml量瓶中，用2%氢氧化钠溶液稀释至刻度，作为对照品溶液。将供试品溶液与对照品溶液置60℃恒温水浴中反应30分钟，同时取出，迅速放冷，照紫外-分光光度法，在241nm的波长处测定吸光度，计算每片的溶出量。



## ChP2015青蒿琥酯的高效液相色谱法测定

- **色谱条件与系统适用性试验：**用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂[Phenomenex Luna C18（2），4.6mm×100mm，3μm或效能相当的色谱柱]；以乙腈-磷酸盐缓冲液（取磷酸氢二钾1.36g，加水900ml溶解，用磷酸调节pH至3.0，加水至1000ml）（44：56）为流动相；流速为每分钟1.0 ml，柱温30℃；检测波长为216nm。取双氢青蒿素对照品与青蒿素对照品各10mg，置10ml量瓶中，加乙腈溶解并稀释至刻度，作为混合杂质对照品溶液；



- 另取青蒿琥酯对照品10mg，置10ml量瓶中，加混合杂质对照品溶液1ml，加乙腈适量使溶解并稀释至刻度，作为系统适用溶液，取20 $\mu$ l注入液相色谱仪，记录色谱图。青蒿琥酯峰（保留时间约为9分钟）、两个双氢青蒿素峰与青蒿素峰的相对保留时间分别约为1.0、0.58、0.91和1.30。双氢青蒿素第二个色谱峰的峰高与双氢青蒿素第二个色谱峰和青蒿琥酯峰之间的谷高比应大于5.0。



## ChP2015青蒿琥酯的高效液相色谱法测定

- **测定法**取本品40mg，精密称定，置10ml量瓶中，加乙腈溶解并稀释至刻度，摇匀，作为供试品溶液，精密量取20 $\mu$ l注入液相色谱仪，记录色谱图；另取青蒿琥酯对照品，同法测定。按外标法以峰面积计算，即得。



# 习题

- 简述硫酸奎宁原料药和硫酸奎宁片含量测定消耗高氯酸滴定液的摩尔比为何不同。



**Thank you very much!**



**人民卫生出版社**

PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE