



隨身課堂

《药物分析》

第十三章 莨菪烷类抗胆碱药物的分析

药学系 药学教研室 刘燕老师



学习目标

- 1.掌握莨菪烷类抗胆碱药物的结构特征、理化性质与分析方法之间的关系；莨菪烷类药物含量测定的酸性染料比色法、非水酸碱滴定法。
- 2.熟悉莨菪烷类药物的鉴别和特殊杂质检查方法原理与应用。
- 3.了解其他分析方法在莨菪烷类药物分析中的应用。



教学内容

- (一) 结构和性质
- 莨菪烷类抗胆碱药物是由莨菪烷衍生的氨基醇与不同有机酸缩合成的酯类生物碱，具有水解性和旋光性，分子结构中具五元脂环氮原子，碱性较强，易与酸成盐。
- (二) 鉴别试验
- 托烷生物碱的鉴别反应 (Vitali反应)；与硫酸-重铬酸钾的反应；与生物碱沉淀剂的反应；紫外分光光度法；红外分光光度法；高效液相色谱法；硫酸盐和溴化物的反应等。
- (三) 特殊杂质与检查
- 氢溴酸东莨菪碱、硫酸阿托品中的有关物质与检查
- (四) 含量测定
- 酸性染料比色法：基本原理和影响因素。
- 非水溶液滴定法：硫酸阿托品与高氯酸反应的摩尔比为1：1。
- HPLC法。



第一节 结构和性质

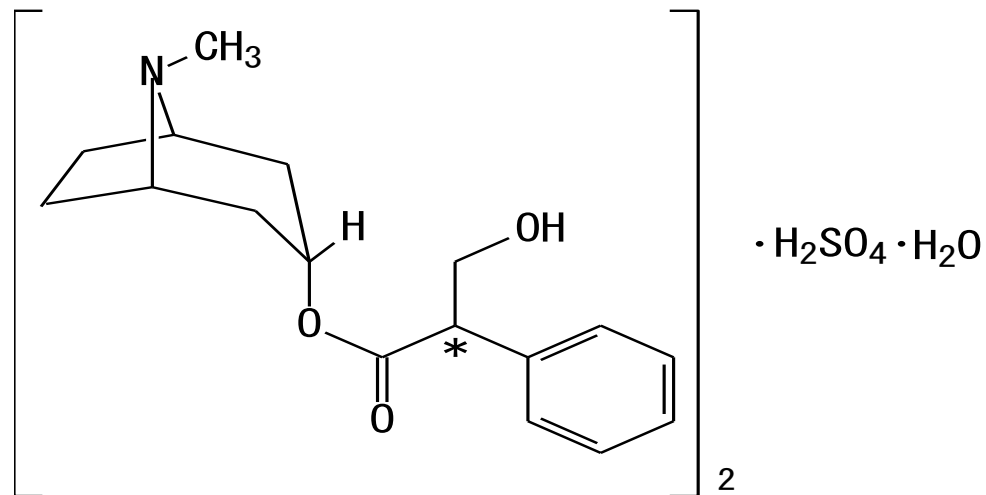


颠茄生物碱的来源：从茄科植物，如颠茄、莨菪和曼陀罗等中提取的
生物碱，由**莨菪醇**与不同**有机酸**所成的**酯**。

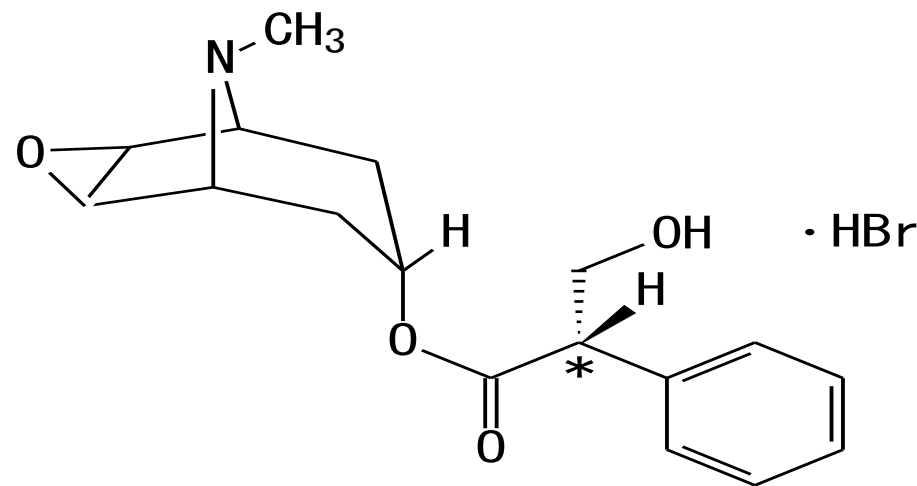
作用：具有对M受体阻断作用



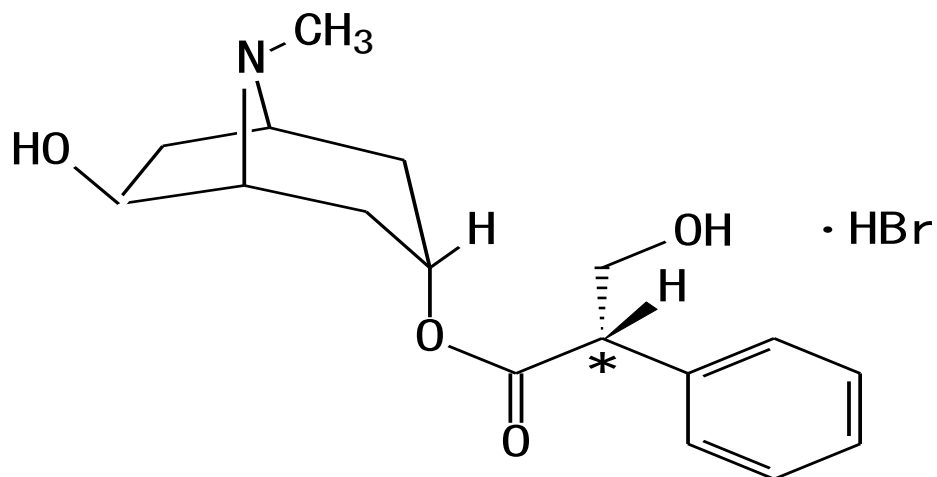
一、典型药物与结构特点



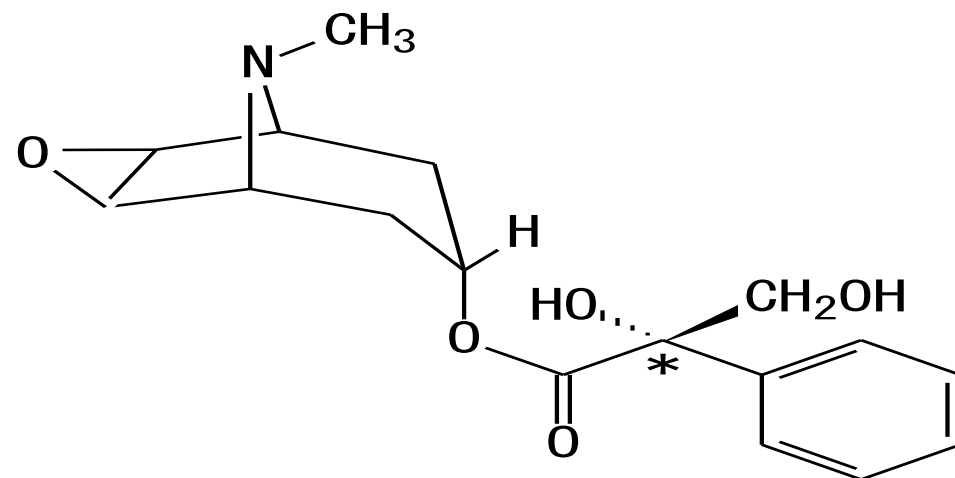
硫酸阿托品 (atropine sulfate)



氢溴酸东莨菪 (Scopolamine hydrobromide)



氢溴酸山莨菪碱 (Anisodamine hydrobromide)



樟柳碱 (Anisodine)



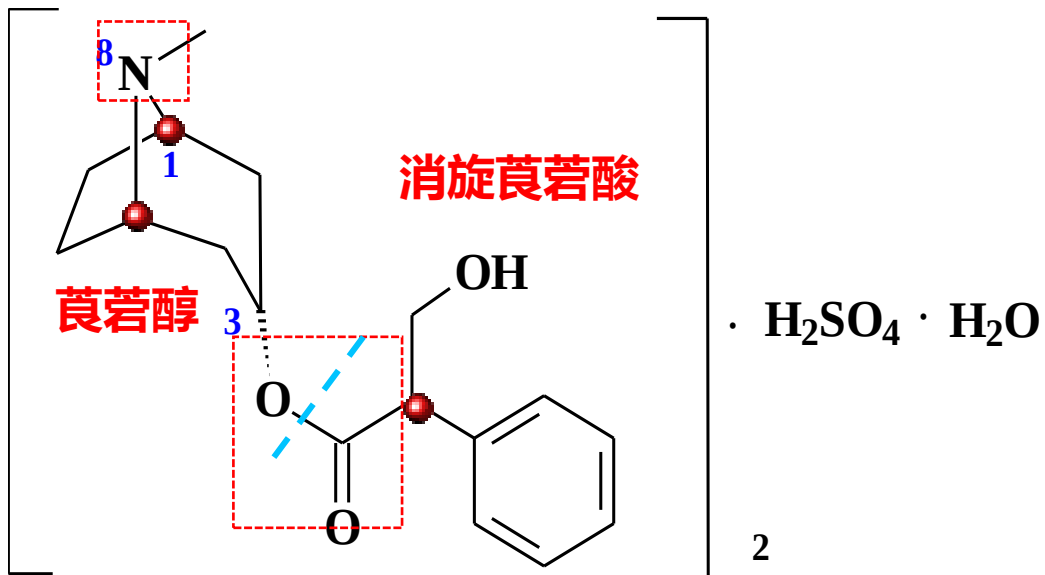
实例 硫酸阿托品

结构特点与性质

碱性（氮）

水解（酯）

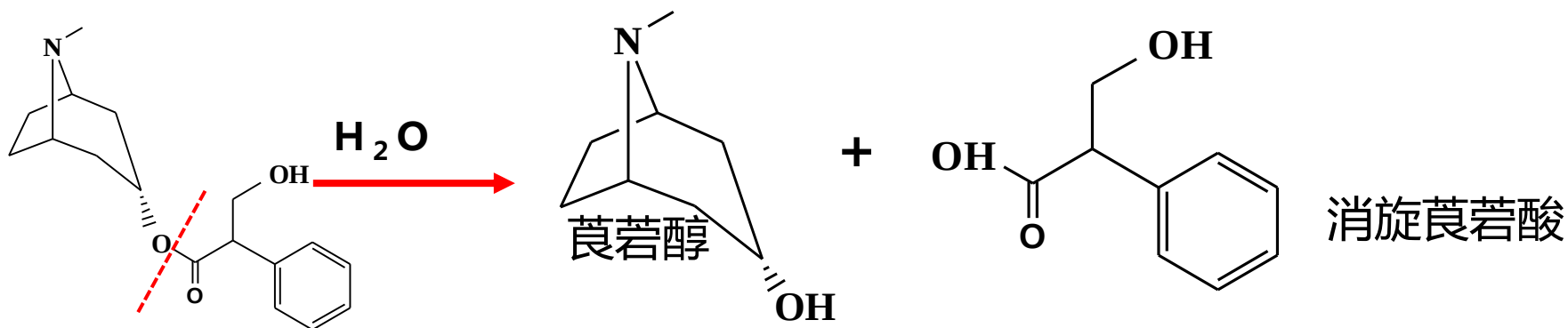
旋光性（手性碳）



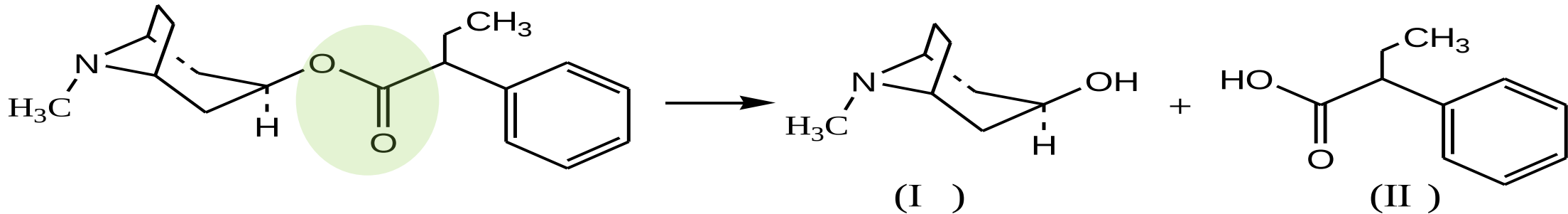
二、主要化学性质

1. 水解性

阿托品和东莨菪碱分子结构中，具有酯的结构，易水解。以阿托品为例，水解生成莨菪醇（Ⅰ）和莨菪酸（Ⅱ），其反应结构式：



或



2. 碱性

阿托品和东莨菪碱结构中，五元脂环含有叔胺氮原子，较强的碱性，易与酸成盐，如阿托品 pK_{b1} 为4.35。

3. 旋光性

氢溴酸东莨菪碱含有不对称碳原子，左旋体比旋度为 -24° 至 -27° 。阿托品虽然含有不对称碳原子，但外消旋化，无旋光性。



第二节 鉴别试验



鉴别 反应

1 托烷生物碱的鉴别反应 (Vitaili反应)

2 与硫酸-重铬酸钾的反应

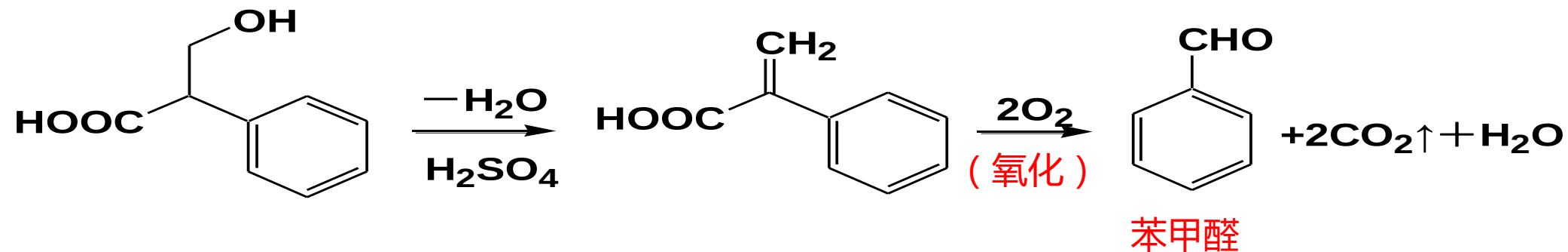
3 与生物碱显色剂和沉淀剂的反应

4 光谱鉴别法

5 色谱法



二、与硫酸-重铬酸钾的反应（氧化反应）



水解生成的茛菪酸易脱水氧化，可生成**苯甲醛**，发出苦杏仁味。



三、与生物碱显色剂和沉淀剂的反应

阿托品 + 氯化汞醇试液 → 黄色沉淀

东莨菪碱 + 氯化汞醇 → 白色复盐沉淀

示例13-2 ChP2020 氢溴酸东莨菪碱的鉴别

【鉴别】(1) 取本品约10mg，加水1ml 溶解后，置分液漏斗中，加氨试液使成碱性后，加三氯甲烷5ml，振摇，分取三氯甲烷液，置水浴上蒸干，残渣中加二氯化汞的乙醇溶液（取二氯化汞2g，加60% 乙醇使成100ml）1.5ml，即生成**白色沉淀**（与阿托品及后马托品的区别）。



常用的生物碱沉淀试剂及反应

生物碱沉淀试剂	反应条件及结果
碘化铋钾试液（ Dragendorff试剂 ）	橙红或棕红色沉淀
碘化钾碘试液（ Wagnen试剂 ）	棕色或棕褐色沉淀
碘化汞钾试液（ Mayen试剂 ）	在酸性或碱性溶剂中生成白色或淡黄色沉淀
三硝基苯酚试液（ Hager试剂或苦味酸试液 ）	结晶性沉淀并有特定熔点
硅钨酸试液（ Bertrend试剂 ）	白色、淡黄色或黄棕色沉淀
磷钨酸试液（ Scheibler试剂 ）	酸性或中性溶液中，淡黄色沉淀



四、光谱鉴别法

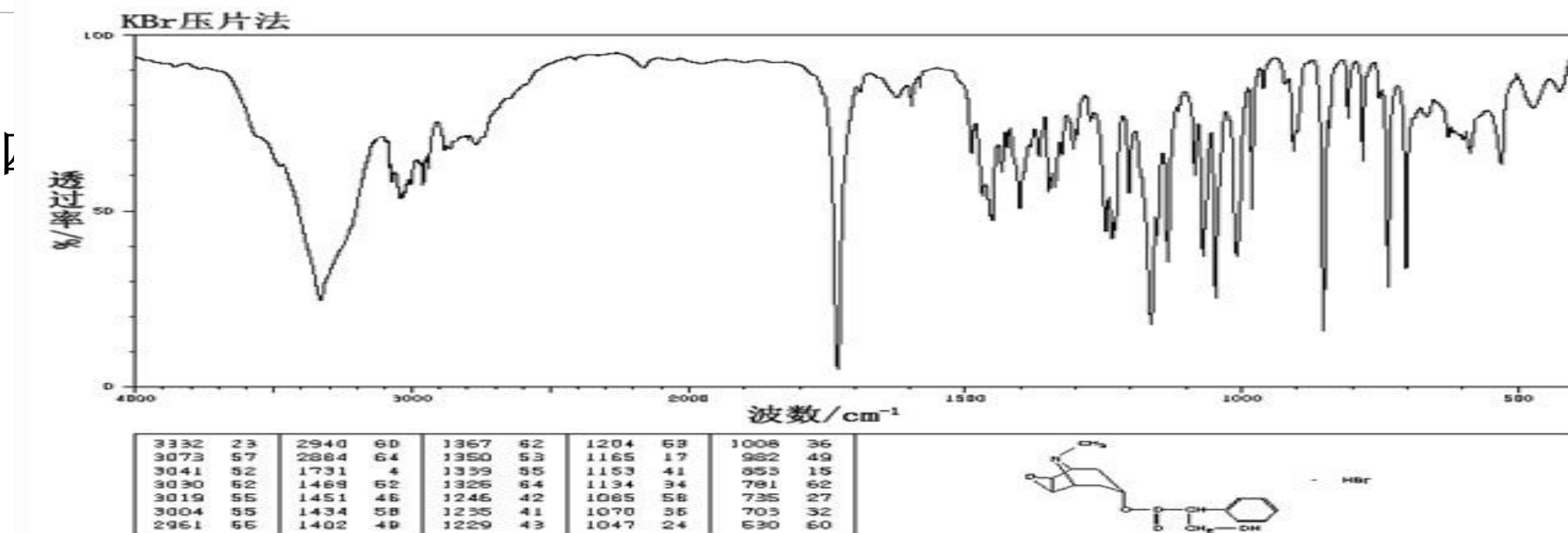
1. 紫外分光光度法 (UV)

通过比较 $\lambda_{\max}$ 、 $\lambda_{\min}$ 或吸收光谱的一致性进行鉴别，也可比较其吸光度或吸收系数的比值来鉴别

2. 红外分光光度法 (IR)

绝大多数生物碱原料药都采用IR法鉴别



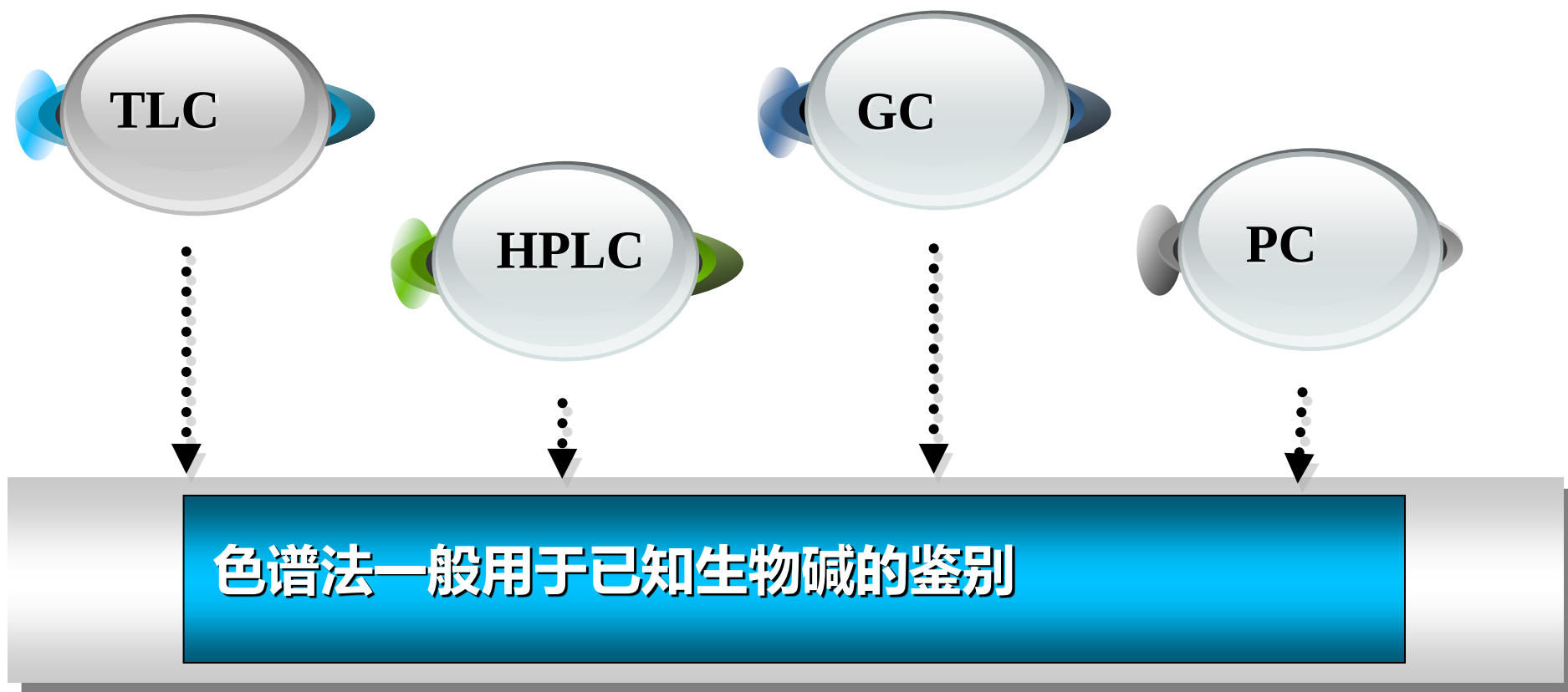


氢溴酸东莨菪红外光谱

The infrared spectrum of Scopolamine Hydrobromide



五、色谱法



Ch.P2020氢溴酸山莨菪碱注射液HPLC鉴别 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。



第三节 有关杂质与检查



一、氢溴酸东莨菪碱的有关物质与检查

• 氢溴酸东莨菪碱来源：

➤ 茄科植物颠茄、白曼陀罗、莨菪中等提取（我国，白曼陀罗的干燥品：洋金花中提取东莨菪碱，制成氢溴酸盐）

➤ 制备方法：渗漉法

洋金花粗粉 $\xrightarrow{\text{乙醇/渗漉}}$ 渗漉液 $\xrightarrow{\text{减压蒸馏}}$ 浸膏 $\xrightarrow{\text{H}_2\text{SO}_4/\text{提取}}$ 酸性提取液
 $\xrightarrow{\text{Na}_2\text{CO}_3, \text{CHCl}_3/\text{提取}}$ 总生物碱 $\xrightarrow{\text{Na}_2\text{CO}_3, \text{CHCl}_3/\text{分离}}$ 东莨菪碱 $\xrightarrow{\text{HBr}/\text{成盐}}$
 氢溴酸东莨菪碱（粗品） $\xrightarrow{75\% \text{ C}_2\text{H}_5\text{OH}/\text{精制}}$ 成品

ChP2020 氢溴酸东莨菪碱 检查项目有溶液澄清度、酸度、其他生物碱、有关物质、易氧化物、干燥失重。详细如下。



氢溴酸东莨菪碱 检查项目

溶液的澄清度 取本品0.50g，加水15ml 溶解后，溶液应澄清。

酸度 取本品0.50g，加水10ml 溶解后，依法测定（通则0631），pH 值应为4.0-5.5。

其他生物碱 取本品0.10g，加水2ml 溶解后，分成两等份：一份中加氨试液2-3 滴，不得发生浑浊；另一份中加氢氧化钾试液数滴，只许发生瞬即消失的类白色浑浊。

有关物质 照高效液相色谱法（通则0512）测定。

供试品溶液 取本品适量，加水溶解并制成每1ml 中含0.3mg 的溶液。

对照溶液 精密量取供试品溶液1ml，置100ml 量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀。

色谱条件 用辛基硅烷键合硅胶为填充剂；以0.25%+二烧基硫酸钠溶液（用磷酸调节pH 值至2.5）- 乙腈(60: 40)为流动相；检测波长为210nm；进样体积20 μ l。

系统适用性要求 理论板数按东莨菪碱峰计算不低于6000。



测定法 精密量取供试品溶液与对照溶液，分别注入液相色谱仪，记录色谱图至主成分峰保留时间的3 倍。

限度 供试品溶液的色谱图中如有杂质峰，除溶剂峰附近的离子峰外，**单个杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积的0.5 倍(0.5%)，各杂质峰面积的和不得大于对照溶液主峰面积(1.0%)。**

易氧化物 取本品0.15g, 加水5ml 溶解后，在15~20℃加高锰酸钾滴定液(0.02mol/L) 0.05ml，10 分钟内红色不得完全消失。

干燥失重 取本品，先在60℃干燥1 小时，再升温至105℃干燥至恒重，减失重量不得过13.0%(通则0831)。



二、硫酸阿托品中的有关物质与检查

硫酸阿托品（消旋体，无旋光性） Ch.P2020

检查由消旋不完全引入的**莨菪碱**（左旋）。

[检查] 莨菪碱

取本品，按干燥品计算，加水制成每 1ml 中含 50mg 的溶液，依法测定（通则0621），旋光度不得过 -0.40° 。

有关物质 照高效液相色谱法（通则0512）测定。



第四节 含量测定



方法要求：专属、灵敏

莨菪烷类抗胆碱药物的药理活性均较强，临床使用剂量较小（如硫酸阿托品片规格0.3mg、氢溴酸东莨菪碱片规格0.3mg等），所以需要采用专属灵敏的方法对它们进行含量及均匀度等的测定



一、酸性染料比色法

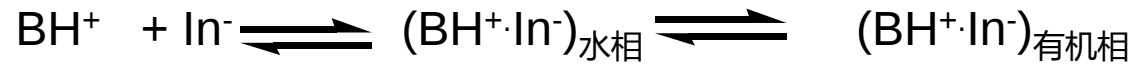
1. 基本原理



生物碱盐
阳离子



酸性染料
阴离子



UV



2.酸性染料比色法的影响因素

- **水相最佳pH**：使得 BH^+ 和 In^- 最多
- **酸性染料及其浓度**：定量结合；对离子对的溶解性好；有较高的吸收度；足够量即可。常用的有：溴麝香草酚蓝、**溴甲酚绿**、甲基橙等
- **有机溶剂的选择**：提取效率高，三氯甲烷最理想
- **水分的影响**：影响结果，脱水剂或滤纸除去水分
- **酸性染料中的有色杂质**：有机溶剂萃取除去



应用示例 (13-13)

硫酸阿托品片的含量测定ChP2020

【含量测定】照紫外 - 可见分光光度法 (通则0401) 测定。

供试品溶液 取本品20 片，精密称定，研细，精密称取适量 (约相当于硫酸阿托品2. 5mg)，置50ml 量瓶中，加水振摇使硫酸阿托品溶解并稀释至刻度，滤过，取续滤液。

对照品溶液 取硫酸阿托品对照品约25mg，精密称定，置25ml 量瓶中，加水溶解并稀释至刻度，摇匀，精密量取5ml，置100ml 量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀。

测定法 精密量取供试品溶液与对照品溶液各2ml，分别置预先精密加入**三氯甲烷**10ml 的分液漏斗中，各加**溴甲酚绿**溶液 (取溴甲酚绿50mg 与邻苯二甲酸氢钾1.021g，加0.2mol/L 氢氧化钠溶液6.0ml 使溶解，再用水稀释至100ml，摇匀，必要时滤过) 2.0ml，振摇提取2 分钟后，静置使分层，分取澄清的三氯甲烷液，在420nm 的波长处分别测定吸光度，计算，并将结果乘以1. 027 。



计算，并将结果与1.027相乘，即得本品（ $C_{17}H_{23}NO_3$ ）
 $2 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$ 相当标示量的百分含量。

公式？ 百分标示量 =
$$\frac{A_x / A_s \cdot C_s \times 50 \times 1.027 \times \bar{W}}{m \times \text{标示量}} \times 100\%$$

式中 A_x 、 A_s 分别为供试品和对照品溶液的吸光度； C_s 为对照品溶液的浓度mg/ml； m 为样品质量； $\bar{W}$ 为平均片重。1.027为硫酸阿托品（ $C_{17}H_{23}NO_3$ ）
 $2 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$ 与硫酸阿托品对照品（无水硫酸阿托品）（ $C_{17}H_{23}NO_3$ ） $2 \cdot H_2SO_4$ 的质量换算系数。50为供试品溶液的稀释倍数。



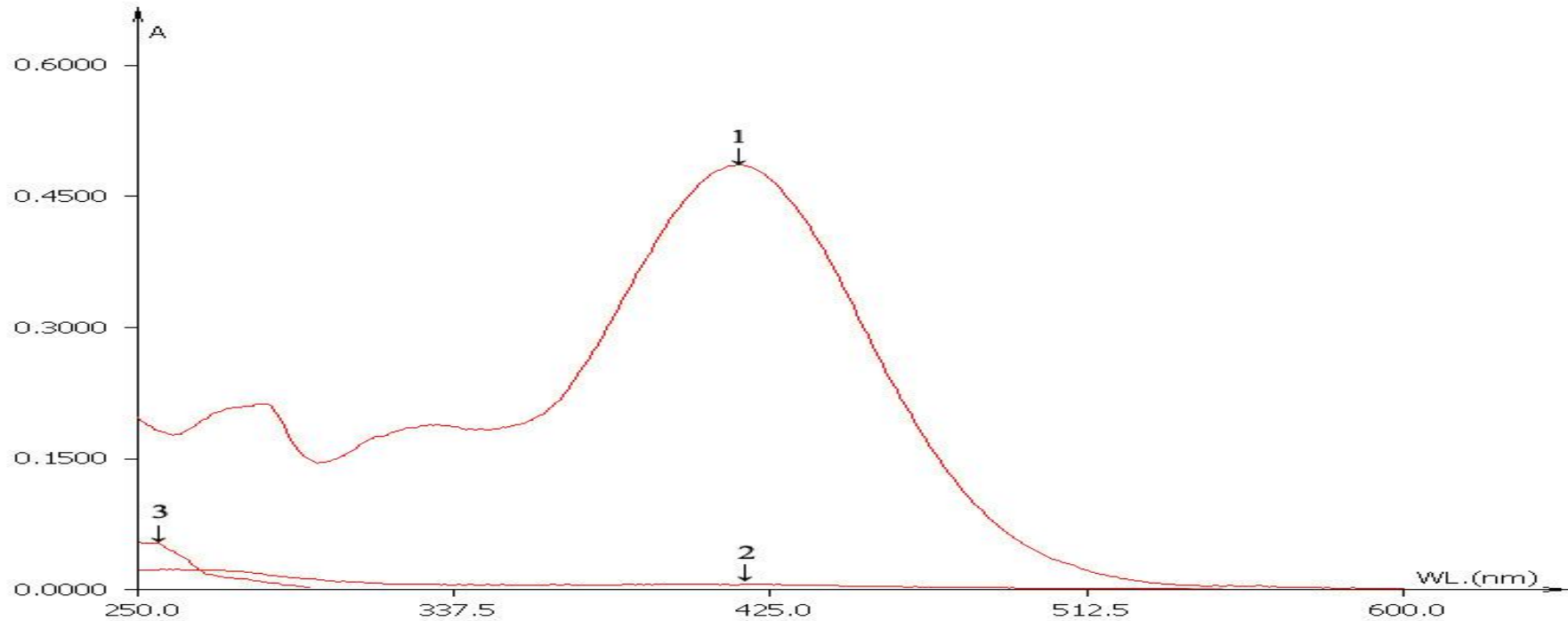


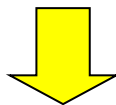
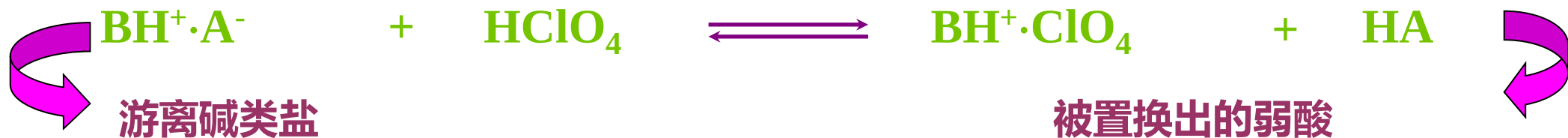
Fig. 13-2 The UV-spectra of atropine sulfate with BTB ions

1.离子对 2.染料空白（对照品平行测定，空白吸收可被扣除）3.阿托品（水溶液在420nm附近无吸收）



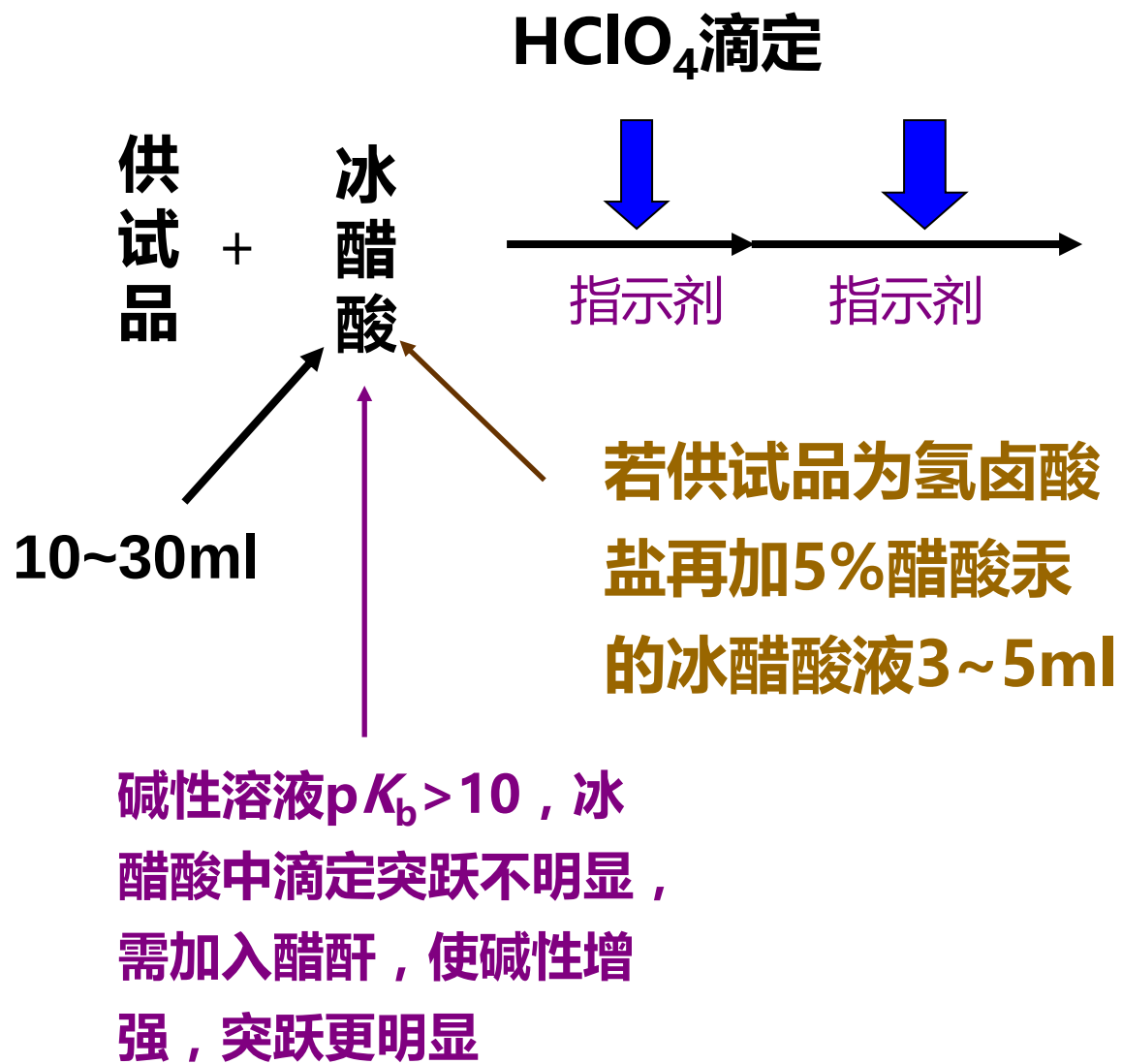
二、非水溶液滴定法

溶剂种类	使用范围	常用溶剂
酸性	有机弱碱	冰醋酸
碱性	有机弱酸	二甲基甲酰胺
两性	酸/碱	甲醇
惰性	酸/碱	甲苯、三氯甲烷、丙酮



当HA酸性较强时，反应不能定量完成，必须除去或降低HA的酸性，使反应顺利地完成。





结果

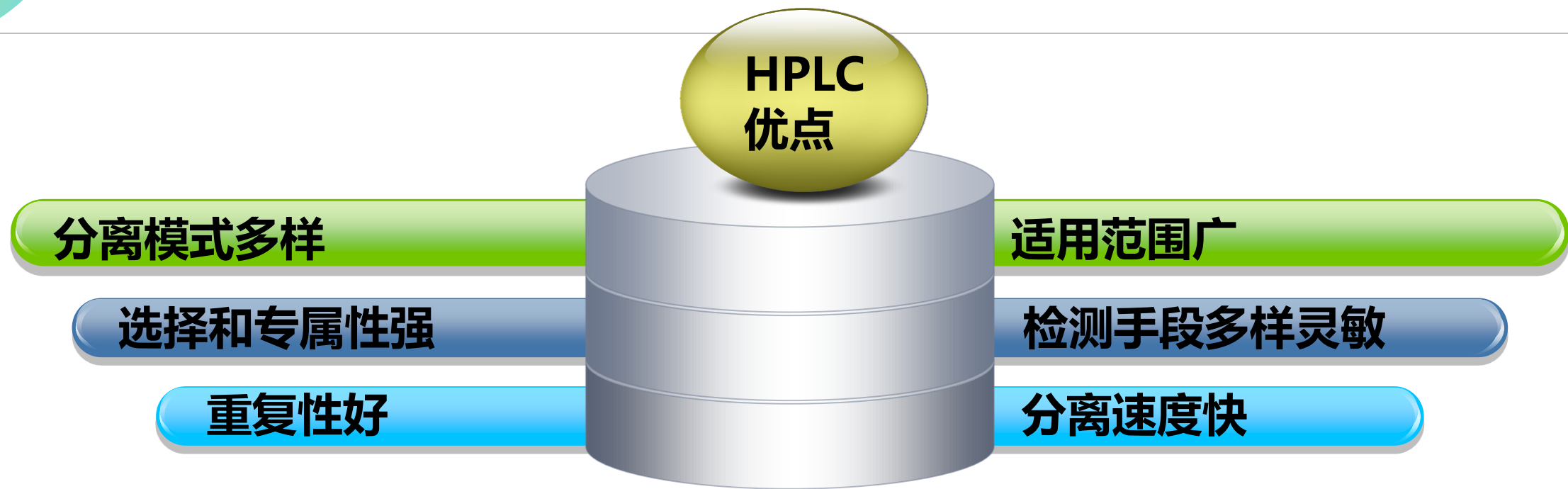
空白试验校正

示例13-14 硫酸阿托品

【含量测定】取本品约0.5g，精密称定，加冰醋酸与醋酐各10ml溶解后，加结晶紫指示液1-2滴，用高氯酸滴定液(0.1mol/L)滴定至溶液显纯蓝色，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67.68mg的 $(C_{17}H_{23}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4$



三、高效液相色谱法



各国药典中采用HPLC法对茛菪类生物碱的含量和有关物质进行直接分析测定的比例不断增加。



- 在反相液相色谱条件下呈离子状态的药物，如有机碱类、有机酸类等

色谱保留常常较弱，
从而影响到它们的
含量或有关物质
HPLC测定的专属性
和准确度。

调整流动相的pH，
抑制它们的解离，
以改变色谱保留行
为。但并不都能获
得满意的结果。

采用离子对高效
液相色谱法，可
以改善它们的色
谱保留行为，并
实现准确测定。

1



离子对色谱法

在反相液相色谱条件下呈离子状态的药物，如有机碱类、有机酸类，其色谱保留常常较弱，从而影响结果的专属性和准确性。

分析碱性物质时常用的离子对试剂为烷基磺酸盐阴离子对试剂。如戊烷磺酸钠、庚烷磺酸钠、十二烷基磺酸钠等。另外，高氯酸、三氯醋酸、磷酸、十二烷基硫酸钠等也可与多种碱性样品形成离子对。

分析酸性物质时常用季铵盐阳离子对试剂。如四丁基溴化铵、四丁基氢氧化铵等。



影响离子对形成的条件，均影响被测组分的保留。如反离子的种类、性质与浓度，流动相的组成、pH及离子强度等，均应选择恰当，以利于离子对在色谱柱上的保留与分离。离子对试剂**非极性部分**越大，形成的离子对分配系数越大，反相色谱**保留则越强**。

离子对色谱法常用**ODS柱**，流动相由**甲醇-水**或**乙腈-水**溶液等组成，水相由具有**适宜pH的缓冲溶液**所构成，同时含有3~10mmol/L适宜的离子对试剂。

萜萜烷类药物HPLC分析测定时，常采用**烷基磺酸盐**作为离子对试剂，流动相一般呈酸性，以利于碱性药物的质子化。



示例：氢溴酸东莨菪碱含量测定

照高效液相色谱法（通则0512）测定。

供试品溶液 取本品适量，精密称定，加水溶解并定量稀释制成每1ml中约含0.3mg 的溶液。

对照品溶液 取氢溴酸东莨菪碱对照品适量，精密称定，加水溶解并定量稀释制成每1ml中约含0.26mg 的溶液。

色谱条件与系统适用性要求见有关物质项下。

色谱条件 用辛基硅烷键合硅胶为填充剂；以0.25%**十二烷基硫酸钠**溶液（用磷酸调节pH值至2.5）- 乙腈（60:40）为流动相；检测波长为210nm；进样体积20 μ l **系统适用性要求**理论板数按东莨菪碱峰计算不低于6000。

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。按**外标法**以峰面积计算。

离子对试剂





隨身課堂

《药物分析》

莨菪烷类抗胆碱药物的分析

敬请关注下一节内容

维生素类药物的分析

