

抗生素类药物的分析

§ 1 概述

§ 2 ✓-内酰胺类抗生素

§ 3 氨基糖苷类抗生素

§ 4 四环素类抗生素

§ 5 抗生素类药物中高分子杂质检查

中国药典（2005年版二部）收载抗生素类药物

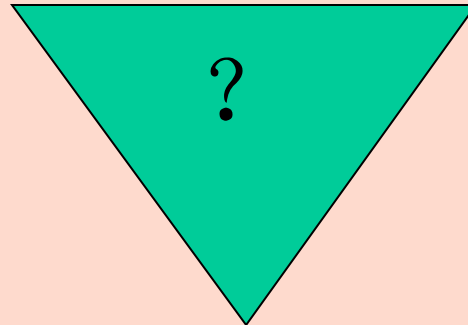
	原料及制剂（原料）	%	%(*/1967)
青霉素类	36（13）	10.3%	1.83%
头孢菌素类	44（16）	12.6%	2.24%
氨基糖苷类	38（14）	10.9%	1.93%
四环素类	18（6）	5.2%	0.92%
大环内酯类	43（11）	12.4%	2.19%
其他	(>) 169（61）	48.6%	8.59%
总计	(>) 348（124）		17.69%

§1 概述

一、定义和特点

抗生素？

抗菌药物？



抗微生物药物？

二、分类

- 根据生源分类
- 根据抗菌谱（作用对象）分类
- 根据化学结构分类
- 根据作用机制分类
- 综合分类

三、抗生素类药物的细菌耐药性（自学）

四、常规分析项目

(一) 性状

(二) *鉴别试验*

理化方法、生物学方法。

(三) *检查*

影响产品稳定性的检查项目

控制杂质的检查项目

与临床安全性密切相关的检查项目

(四) 含量或*效价测定*（有效成分含量）

微生物检定法、理化方法

效价测定方法

微生物检定法

以抗生素对微生物的抑制或杀伤程度为指标来衡量抗生素效价

特点

灵敏度高；测定原理与临床应用的要求一致；适用范围广。
操作步骤繁多，测定时间长，误差较大。

理化方法

根据抗生素的分子结构特点，利用其特有的化学或物理化学性质进行测定

特点

适用于提纯的、化学结构已明确的抗生素。
操作简便、省时、方法准确、一定专属性

§2 β -lactam antibiotics

β -内酰胺抗生素的发现

**Fleming
发现青霉素**

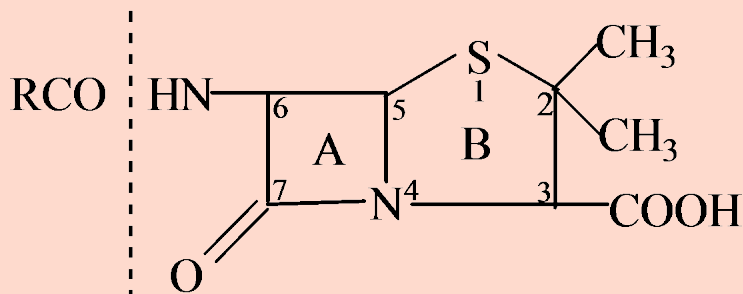
Alexander Fleming 发现接种青霉菌的培养物可产生抑制金黄色葡萄球菌生长的物质，**1929年**，他在英国圣玛丽医院宣读一篇论文，引入“青霉素”(Penicilin)名称并论述该物质具有非常明确的抗菌活性。1941年临床证实青霉素对多种细菌感染有效。

头孢菌素C是Abraham于**1948年**发现。

一、化学结构与性质

1. 青霉素族和头孢菌素族基本结构

青霉素族

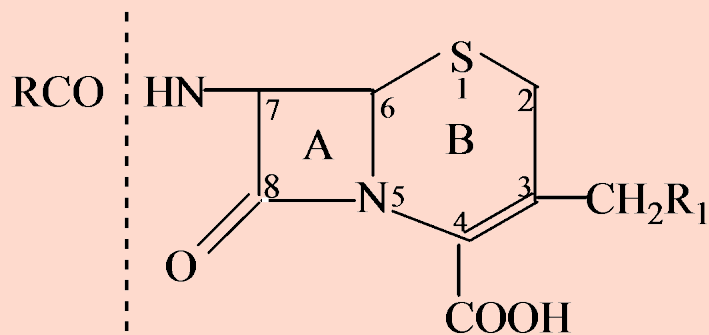


2à Á' Ä,°Ë£ 6-°±»ùÇàÃ'Íé Èá£©
£ 6-aminopenicillanic acid£-6-APA£

A£°β -Ä'£° · »·

B£° Çâ» -àç Bò»·

头孢菌素族



2à Á' Ä,°Ë£ 7-°±»ùÍ· æÍé Èá£©
£ 7-aminocephalosporanic acid£-7-ACA£

A£°β -Ä'£° · »·

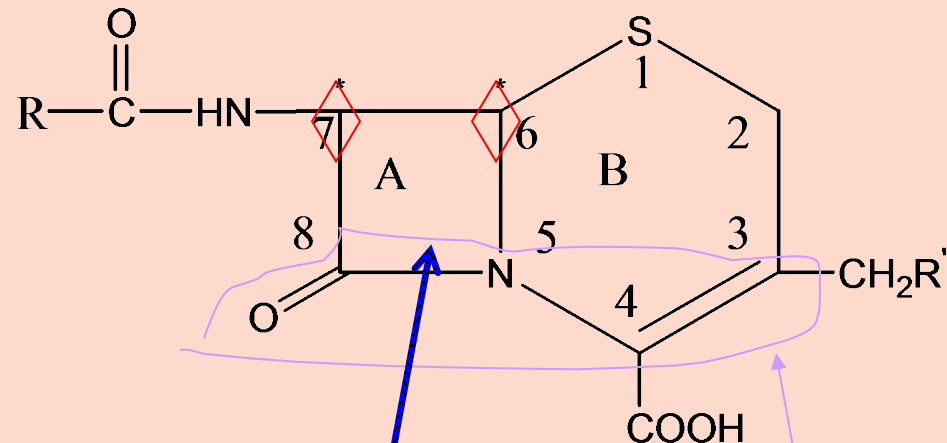
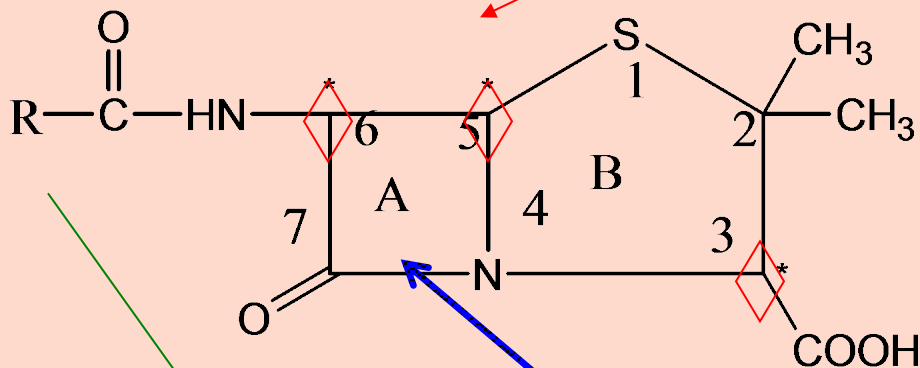
B£° Çâ» -àç à° »·

2. 青霉素类和头孢菌素类理化性质

青霉素
Penicilins

(2) 旋光性

头孢菌素
Cephalosporins



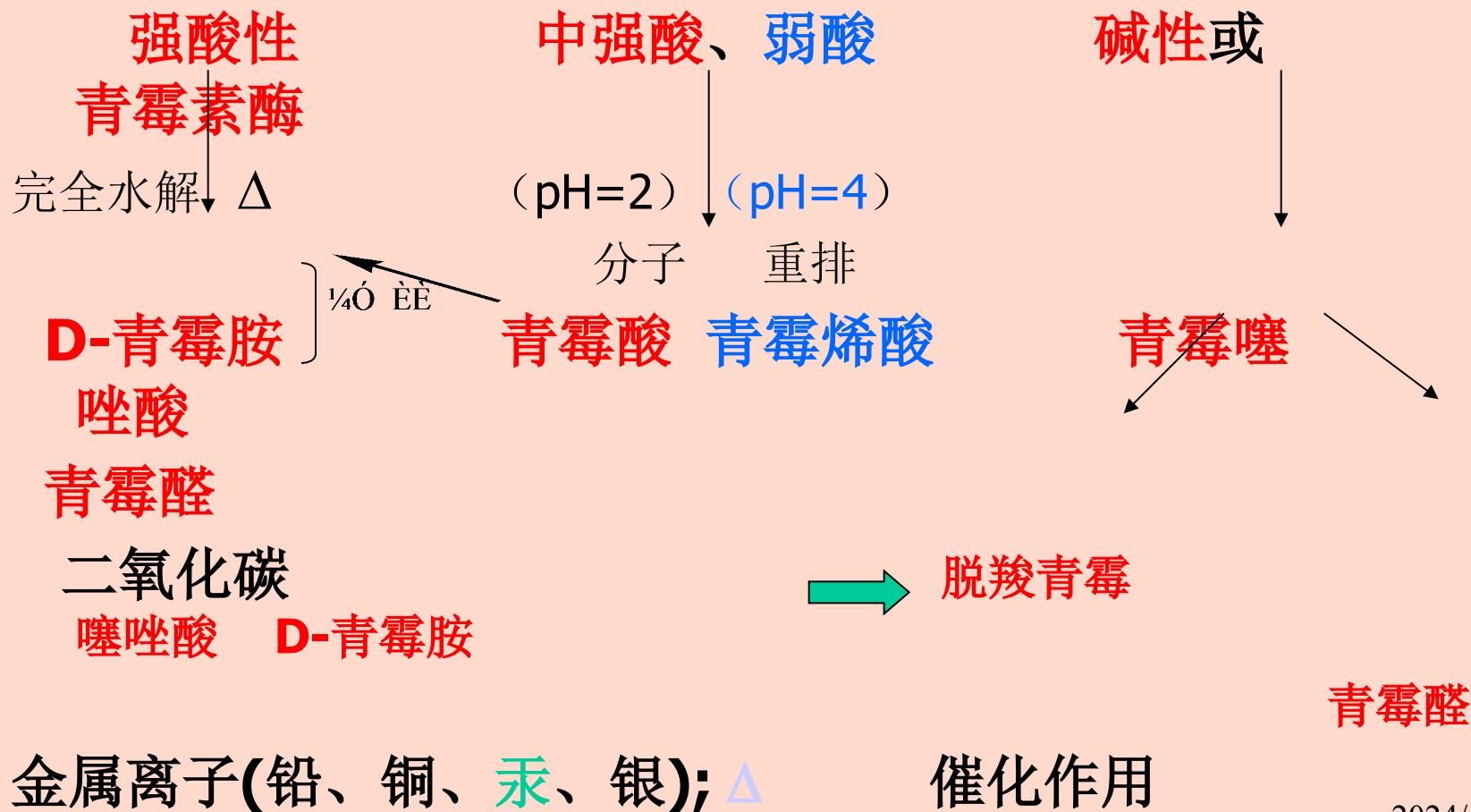
(4) UV吸收特征主要取决于R取代基

(3) 较强酸性
(1) β -内酰胺环的不稳定性

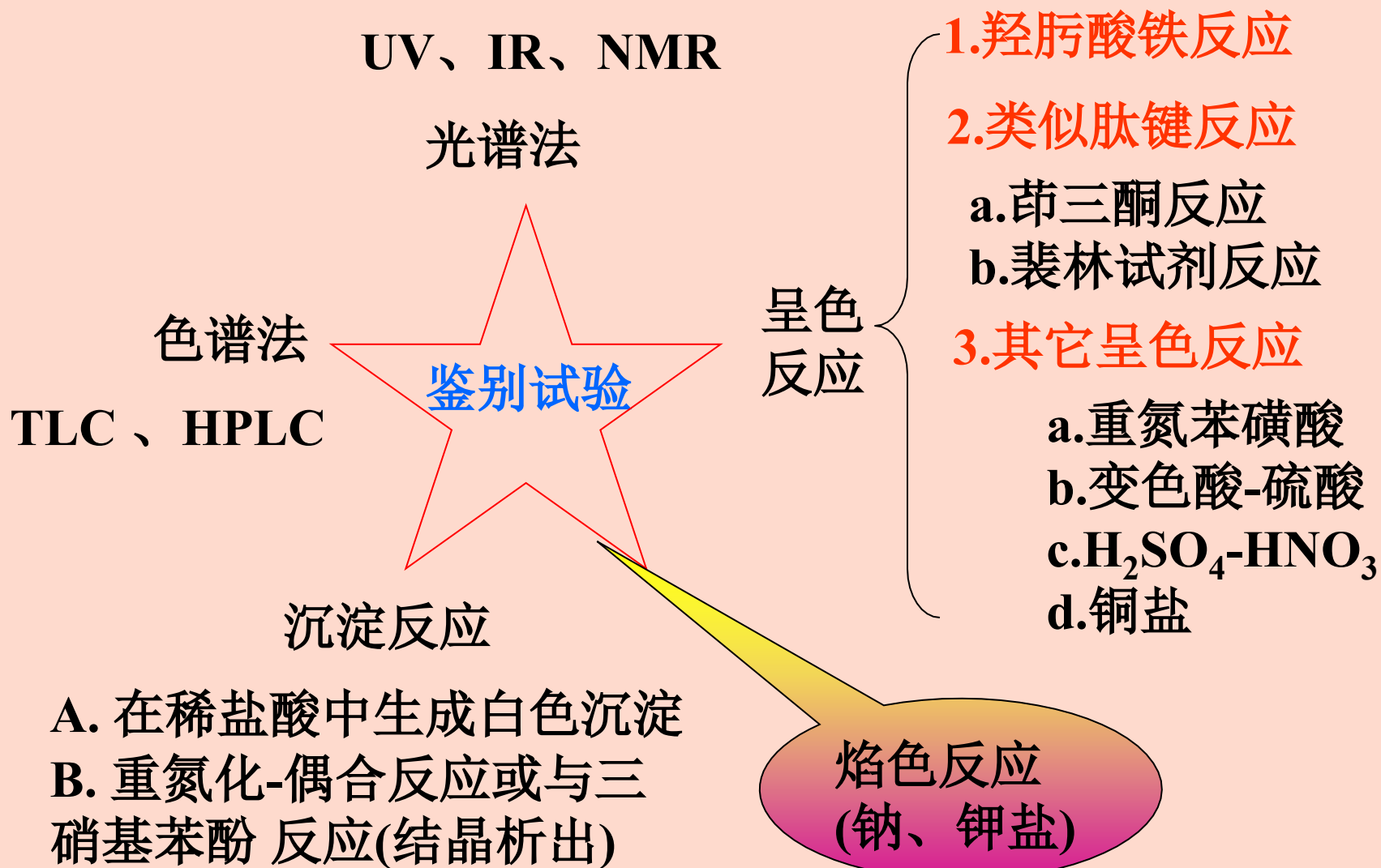
(4) UV吸收

β-内酰胺环的不稳定性

青霉素降解反应 (分解、分子重排) (P415图16-1)



二、鉴别试验



红外吸收光谱

*β-内酰胺类抗生素共有特征峰

β-内酰胺羰基伸缩振动: **1750 ~ 1800 cm⁻¹**

仲酰胺氨基、羰基伸缩振动: **3300 cm⁻¹** ,
1525 cm⁻¹ , **1680 cm⁻¹**

羧酸离子伸缩振动: **1600 cm⁻¹**, **1410 cm⁻¹**

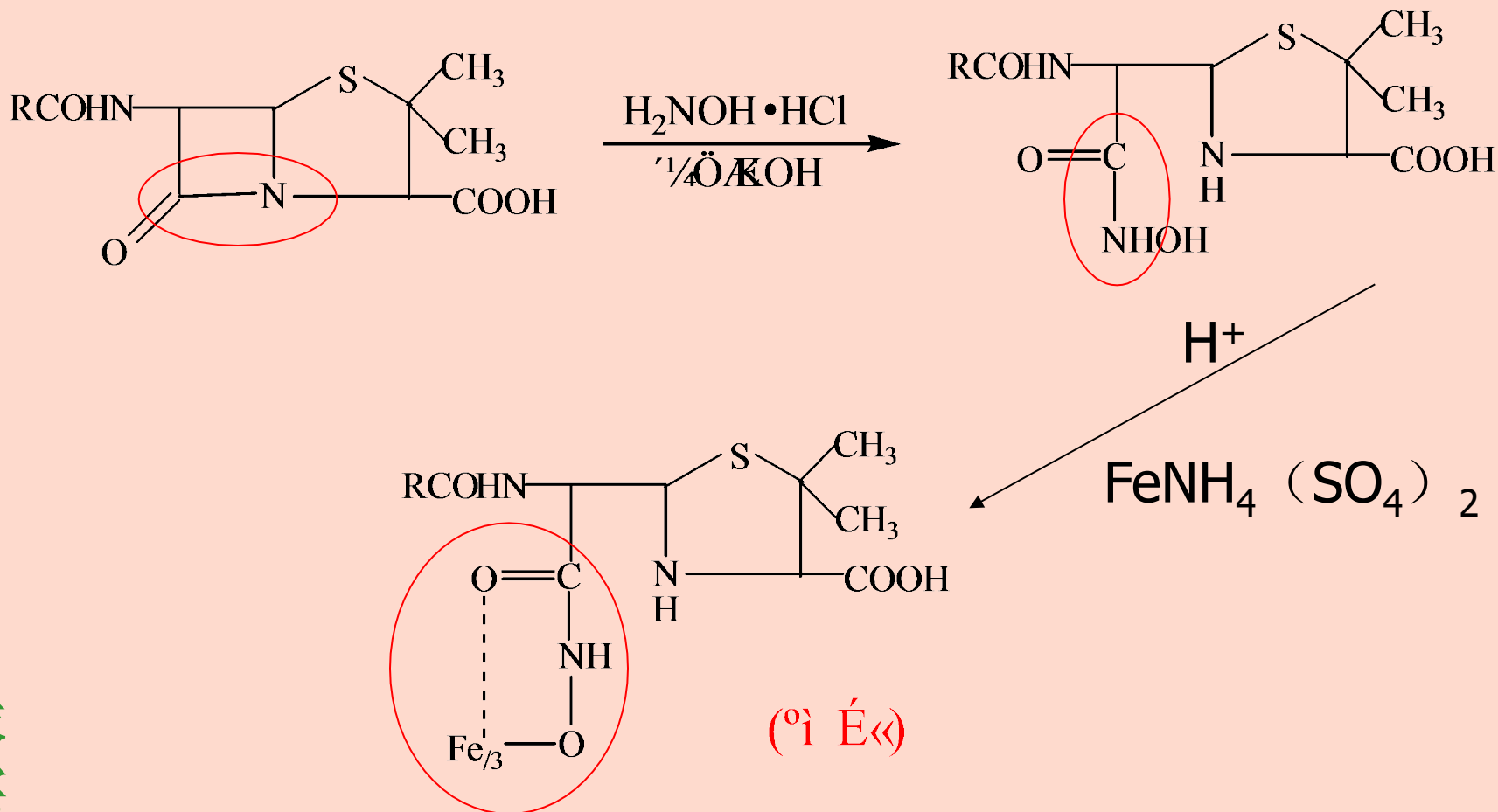
供试品的红外吸收光谱 ← 标准对照品图谱

紫外分光光度法

λ max和水解产物的 λ max

呈色反应

1. 异羟肟酸铁反应



呈色反应

2. 类似肽键反应(-CONH-, α -氨基酸结构)

- a. 茚三酮反应
- b. 斐林试剂反应

3. 其它呈色反应

- a. 重氮苯磺酸(-C₆H₅-OH)
- b. 变色酸-硫酸
- c. H₂SO₄-HNO₃
- d. 铜盐

沉淀反应

1. 在稀盐酸中产生沉淀的反应

青霉素钾(钠)盐水溶液 $\xrightarrow{\text{稀盐酸2滴}}$ 白色沉淀

(溶于过量盐酸、乙醚、醋酸戊酯、乙醇、氯仿)

2. 有机胺盐的特殊反应

(1) 重氮化-偶合反应

普鲁卡因青霉素 \longrightarrow 红色沉淀

(2) 与三硝基苯酚的反应

苄星青霉素 + 苦味酸 \longrightarrow 结晶 \longrightarrow 重结晶测熔点
(二苄基乙二胺 + 青霉素) (二苄基乙二胺苦味酸盐)

色谱法

1. 薄层色谱法

供试品所显主斑点的颜色和位置应与对照品的主斑点相同

2. 高效液相色谱法

在相同实验条件下，色谱图中供试品主峰的保留时间应与对照品主峰的保留时间一致。

三、特殊杂质检查

1. 聚合物

原理：分子排阻色谱

方法：主成分自身对照

面积归一化法

限量法

自身对照外标法

示例：青霉素钠（或钾）中青霉素聚合物

示例：青霉素钠中青霉素聚合物检查

以葡聚糖凝胶G-10为填充剂，以pH 7.0 的0.1mol/L磷酸盐缓冲液为流动相A，以水为流动相B，在254nm波长处检测。理论塔板数以蓝色葡聚糖2000的峰计算不低于400。照分子排阻色谱法，依法测定，按外标法以峰面积计算。

2.有关物质和异构体

检查方法:

色谱法: 通过与主成分(或标准杂质)峰面积比较 (**HPLC**法) 或斑点颜色深浅 (**TLC**法) 来控制杂质的量

示例: 头孢呋辛酯中有关物质和异构体检查

异构体**A**、异构体**B**、反式异构体、头孢呋辛酯 Δ^3 -异构体、其他有关杂质

3. 吸光度

测定一定波长处杂质吸收度来控制杂质量

青霉素钠的吸光度检查：取本品，加水溶解并定量稀释制成每1ml中含1.80mg的溶液，照紫外-可见分光光度法，在280nm与325nm波长处测定，吸光度均不得大于0.10；在264nm的波长处有最大吸收，吸光度应为0.80~0.88。

4.残留溶剂

阿莫西林——丙酮与二氯甲烷（GC法）

头孢哌酮钠——丙酮、乙醇、二氯甲烷等（GC法）

头孢硫脒——丙酮、乙醇、二氯甲烷等（GC法）

头孢他啶——砒啶（HPLC法）

5.结晶性

第一法（偏光显微镜法）

第二法（X射线粉末衍射法）

四、含量测定

微生物检定法

Ch.p2010: 磺苄西林钠及其制剂

理化方法

Ch.p2010: HPLC法

其他理化方法（课外阅读）

(4) HPLC法

(3) UV-Vis法

A. 硫醇汞盐法

B. 酸水解法

C. 羟肟酸比色法

(与羟胺作用,在稀酸或中性溶液中加 Fe^{3+})生成红色络合物,测 ΔA

含量=?

(1) 碘量法

青霉素或头孢菌素分子不消耗碘,其降解产物消耗碘

A. OH-水解

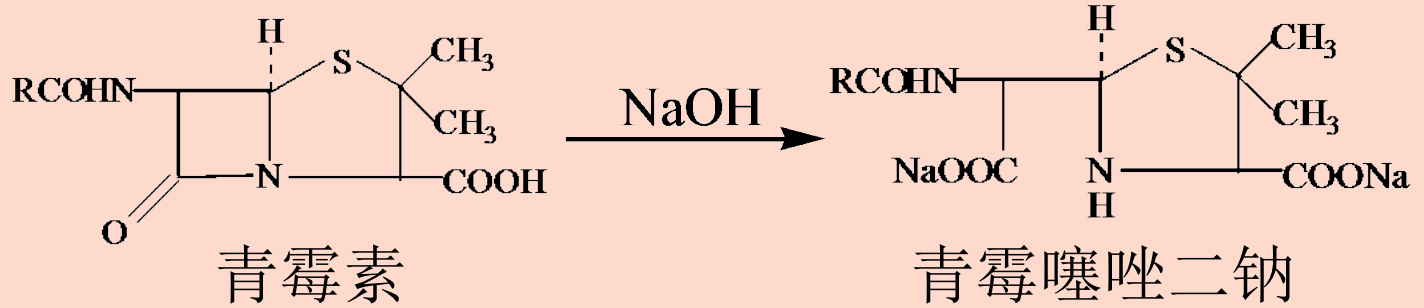
B. pH4.5. 温度在24~26 $^{\circ}\text{C}$

(2) 电位滴定法 (汞量法)

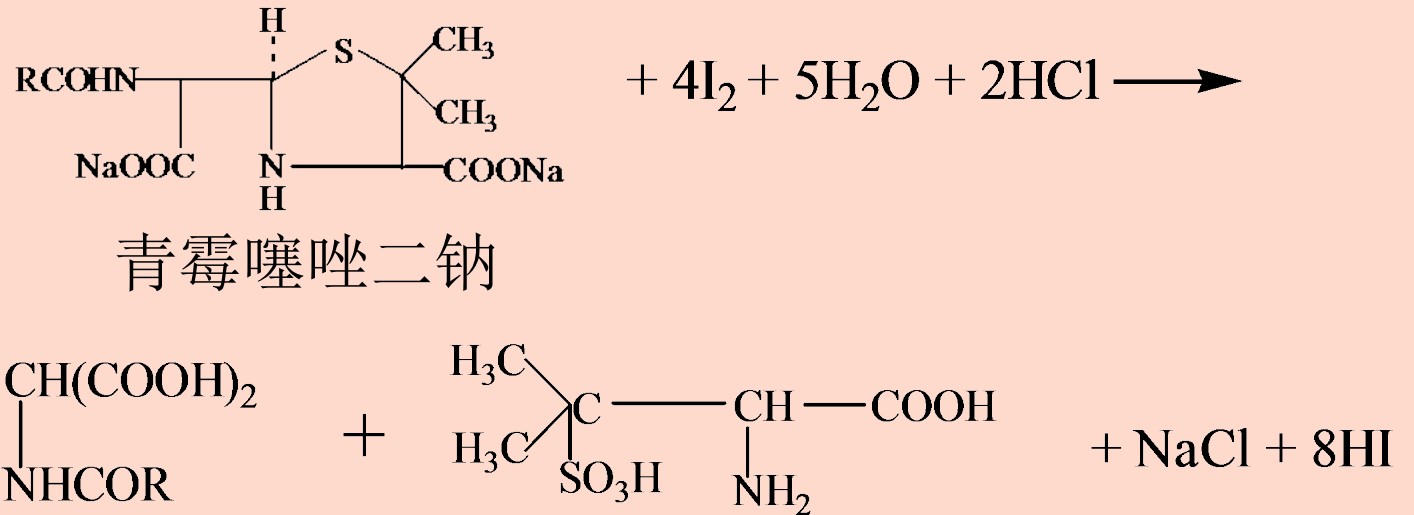
(青霉素类化合物的碱性水解产物可与 Cu^{2+} 或 Hg^{2+} 形成稳定的络合物)。 $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ 滴定剂

(一) 碘量法原理

第1步



第2步



碘量法 讨论

(1)操作应严格遵守规定条件 ←影响因素多

水解条件; 反应温度; 缓冲液浓度; 放置时间; 加碘量; 氧化时间

(2)与碘作用温度和放置时间

室温不经水解的青霉素分子与碘不起作用, 在38°C时能消耗碘 →温度不可过高, 否则空白试验失去意义.

(3)淀粉指示剂加入时间

(4)空白试验目的: 消除供试品中可能存在的降解产物及其它能消耗碘的杂质的干扰.

硝酸汞电位滴定法

青霉素 $\xrightarrow{\text{碱性条件 水解}}$ 青霉噻唑酸 $\xrightarrow{\text{水解}}$ 青霉胺

硝酸汞
↓
定量反应

青霉素: 硝酸汞=1:1 (第二个突跃)

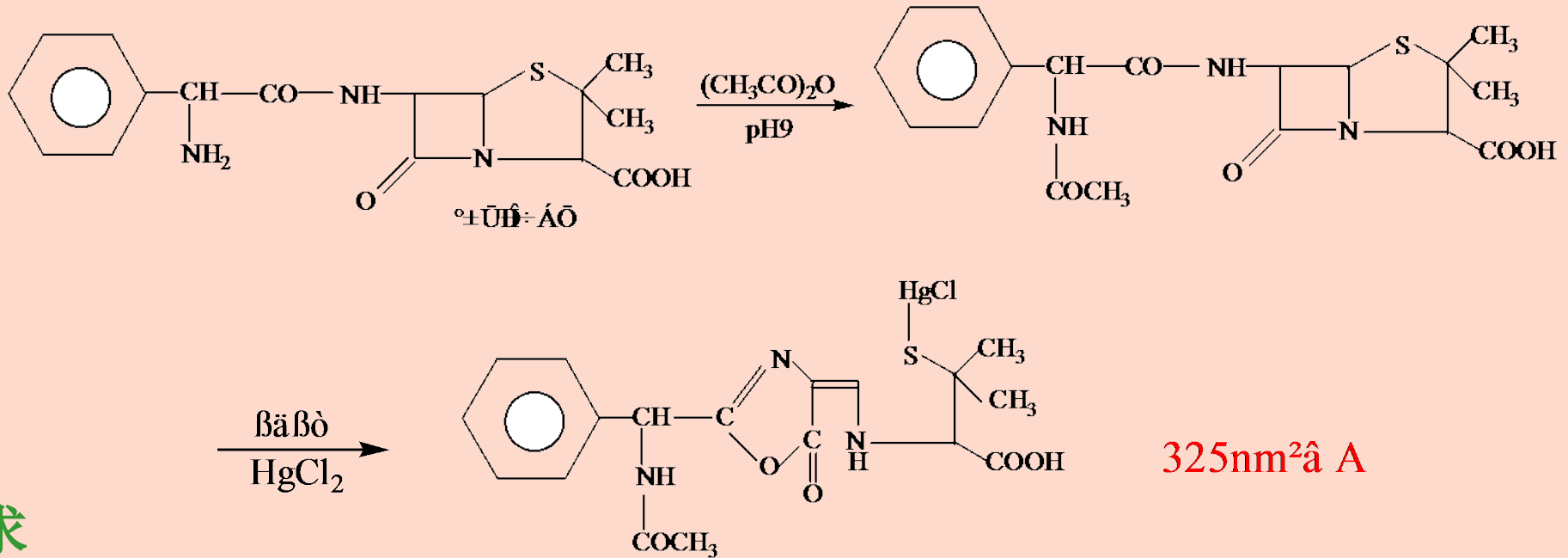
优点: 不需青霉素标准品作对照

应用: 中国药典(2000年版) 收录的青霉素钠、普鲁卡因青霉素等采用本法测定含量

可见—紫外分光光度法

硫醇汞盐法：➡ 专属性强、快速、准确、易于掌握

青霉素 $\xrightarrow[\text{HgCl}_2(0.001\text{mol/L}) \text{ pH}6.8]{\text{Bä\beta\text{o}}}$ **青霉烯酸硫醇汞盐** ($\lambda_{\text{max}}=325\sim345\text{nm}$)



$325\text{nm}^2\hat{\text{A}}$

§3. Aminoglycosides antibiotics

氨基环己醇 + 氨基糖(or中性糖) $\xrightarrow{\text{糖苷键}}$ 氨基糖苷类抗生素

- 链霉素衍生物：链霉素、布鲁霉素
- 2-脱氧链霉素衍生物：庆大霉素、卡那霉素、妥布霉素、新霉素、小诺霉素
- 其它氨基环醇类衍生物：大观霉素

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/486001140112010135>