

陈西敬 主编 王广基 刘晓东 主审

药物代谢动力学 研究进展

YAOWU DAIKIE DONGLIKUE YANJIU JINZHAN



化学工业出版社
生物·医药出版分社

陈西敬 主编 王广基 刘晓东 主审

药物代谢动力学 研究进展

YAOWU DAIXIE DONGLIXUE YANJIU JINZHAI



化学工业出版社
生物·医药出版分社

· 北京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

药物代谢动力学研究进展/陈西敬主编. —北京: 化学工业出版社, 2008. 6

ISBN 978-7-122-03248-5

I. 药… II. 陈… III. 药物代谢动力学 IV. R969.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 102189 号

责任编辑: 韩文阳 余晓捷

装帧设计: 关 飞

责任校对: 吴 静

出版发行: 化学工业出版社·生物·医药出版分社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷: 北京永鑫印刷有限责任公司

装 订: 三河市万龙印装有限公司

787mm×1092mm 1/16 印张 17 字数 431 千字 2008 年 9 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 49.00 元

版权所有 违者必究

编写人员名单

主编 陈西敬

主审 王广基 教授

刘晓东 教授

编写人员(按姓氏汉语拼音排序)

陈西敬 董 婧 韩德恩 何 卉 荆 晶 卢 琴

赖 力 李婷婷 倪 亮 任伟超 孙 雅 王 磊

吴 磊 俞巧玲 于 雪 赵 营

前 言

药物代谢动力学（又称“药物动力学”或“药动学”）是研究药物在体内的吸收、分布、代谢和排泄过程及其变化规律的一门科学。从 20 世纪中叶创建至今该学科已得到了很大的发展，并在新药研究和临床用药个体化过程中发挥了巨大的作用。

近年来随着分析测试技术的飞速发展以及细胞和分子生物学技术在该学科的应用，药代动力学理论和研究技术得到了突飞猛进的发展。在分析技术方面，随着串联接口技术不断成熟，LC-MSⁿ、LC-TOF-MS、GC-MSⁿ、LC-NMR 串联技术在微量药物浓度分析和代谢物鉴定中展现出了巨大的优势；高效毛细管电泳（EC）技术在药物和代谢物分离，微透析技术在体内药物分布试验等方面发挥了十分重要的作用。细胞生物学和分子生物学技术的发展和应用于药代动力学研究提供了一次技术革命，如 Caco-2 细胞培养技术的普及为我们研究药物吸收过程提供了很好的体外模型；肝细胞、脑微血管内皮细胞、肾细胞及转染人代谢酶和转运体基因的动物或昆虫细胞培养技术为研究药物在体内的代谢和转运机制提供了十分有效的手段。目前已有大量介导药物转运的功能蛋白（转运体）被发现，对它们的研究已使人们可以从分子水平认识药物在体内吸收、分布和排泄的机制。基因重组酶系、基因敲除与转基因技术有助于人们更深入地研究药物代谢、分布和排泄的机理。基于药物代谢酶和转运体单核苷酸多态性的药物基因组学研究，已成为临床药代动力学研究的重要组成部分并在个体化给药设计方面发挥着愈来愈大的作用。此外手性药物药代动力学研究、中药药代动力学研究及药物定量构动关系研究等也得到了前所未有的发展。

为促进我国药代动力学研究水平的提高，本书作者根据自己研究工作并在大量文献基础上编写了此书。由于水平有限，错误与不足之处在所难免，请同行和读者不吝指正。

作 者

2007 年 12 月于中国药科大学

文中出现的部分缩略语

英文缩写	中 文	英文缩写	中 文
AA	对乙酰氨基酚	MRP	多药耐药相关蛋白
AFB	黄曲霉毒素	NAT	N-乙酰化转移酶
AGP	α 1-酸性糖蛋白	NHE3	Na^+/H^+ 交换子 3
ALT	谷丙转氨酶	OAT	有机阴离子转运体
AST	谷草转氨酶	OATP	有机阴离子转运体
AUC	药-时曲线下面积	OCT	有机阳离子转运体
BBB	血-脑屏障	P_{app}	表观渗透系数
BCRP	乳腺癌耐药蛋白	PEPT	寡肽转运体
BEI	脑外排指数	P-gp	P-糖蛋白
BMEC	脑微血管上皮细胞	PM	弱代谢型
CYP450	细胞色素 P450	PSA	极性表面积
$\text{E}_217\beta\text{G}$	雌二醇 17- β -葡萄糖醛酸苷	PXR	孕烷 X 受体
EM	强代谢型	QSAR	定量构效关系
GGT	γ -谷氨酰转肽酶	QSPR	定量构动关系
GST	谷胱甘肽 S-转移酶	RAAS	肾素-血管紧张素醛固酮系统
IM	中间代谢型	S. E	标准误差
MAbs	单克隆抗体	SNPs	单核苷酸多态性
MDCK	犬肾上皮细胞	TEA	四乙胺
MDR	多药耐药蛋白	UEM	超快代谢型
MP	巯嘌呤	UGT	UDP 葡萄糖醛酸转移酶

目 录

第一章 体内药物浓度分析方法的研究进展	1
一、高效液相色谱-质谱联用技术 (LC-MS) 在体内药物浓度分析中的应用	1
二、高效液相色谱-串联质谱 (LC-MS/MS) 技术在临床药动学研究中的应用	5
三、飞行时间质谱 (TOF-MS) 在药代动力学研究中的应用	8
四、微透析技术在组织分布和代谢物研究中的应用	9
五、毛细管电泳 (EC) 在生物样品测定中的应用	11
六、核磁共振 (NMR) 技术在体内药物分析中的应用	11
七、总结与展望	13
第二章 药物吸收的研究进展 (一)	
——Caco-2 细胞培养技术的应用	16
一、Caco-2 细胞模型的主要应用	17
二、Caco-2 细胞单层模型的新发展	23
三、小结	23
第三章 药物吸收的研究进展 (二)	
——P-gp 和 MRP2 在药物肠吸收中的作用	26
一、P-gp 和 MRP2 概述	26
二、P-gp 对药物肠吸收的影响	27
三、P-gp 的研究方法	29
四、MRP2 在药物肠吸收中的作用	32
第四章 药物吸收的研究进展 (三)	
——CYP3A 在药物肠首关效应中的作用	37
一、CYP3A 研究概述	37
二、肠道 CYP3A4 和 P-gp 协同限制口服药物的吸收	40
三、药物或食物对 CYP3A 活性的影响	42
四、CYP3A 选择性探针药物的研究	46
第五章 药物吸收的研究进展 (四)	
——PEPT1 对类寡肽药物吸收的促进作用	51
一、寡肽转运体的生物学特征	51
二、PepT1 的转运机制	53
三、影响药物经 PepT1 转运吸收的因素	55
四、PepT1 在药物传递系统中的应用及研究进展	58

第六章 药物分布的研究进展	63
一、药物转运体在药物分布中的作用	63
二、药物转运体在药物脑部转运中的作用	65
三、药物转运体在药物胎盘转运中的作用	77
四、药物转运体在药物血-脑屏障转运中的作用	80
五、药物转运体与靶向药物设计	81
六、结语	86
第七章 药物代谢的研究进展	91
一、药物代谢研究方法概述	91
二、有关 P450 酶的研究进展	95
三、肝外药物代谢酶的研究	104
四、药物代谢研究与药物相互作用	107
五、药物代谢研究与新药开发	110
六、药物代谢酶知识的临床应用	115
第八章 药物排泄的研究进展	118
一、药物转运体和药物排泄的关系	118
二、药物转运体在药物肾排泄中的作用	121
三、转运体在药物肝胆排泄中的作用	126
四、转运体在药物肠排泄和其他排泄途径中的作用	133
五、转运体介导的药物相互作用	135
六、结语	138
第九章 药物基因组学在临床药代动力学研究中的应用	143
一、药物基因组学的介绍	143
二、药物基因组学的应用	145
三、药物基因组学的发展现状和发展前景	146
四、高血压病的药物基因组学研究	147
五、高脂血症的药物基因组学研究	151
六、抗肿瘤药物的药物基因组学研究	155
七、精神科药物的药物基因组学	157
第十章 手性药物的药代动力学研究进展	162
一、手性药物的药代动力学特征	162
二、手性药物的药代动力学立体选择性影响因素	166
三、手性药物的手性拆分方法	170
第十一章 中药药代动力学的研究进展	177
一、中药药代动力学及其研究特点	177
二、中药药代动力学的常用研究方法	178

三、中药药代动力学近年的研究进展	180
第十二章 毒代动力学研究进展	186
一、中药毒代动力学研究进展	186
二、毒代动力学的研究实例	188
第十三章 生物技术药物的药代动力学研究进展	195
一、蛋白质和多肽类药物的药代动力学研究	195
二、核酸药物的药代动力学研究	200
三、单克隆抗体 (MAbs) 的药代动力学研究	204
第十四章 非线性药物代谢动力学的研究进展	208
一、最近新发现的一些非线性代谢的药物	208
二、引起药物非线性消除的其他因素	212
三、非线性药物动力学研究中的新技术	213
四、药物的非线性结合研究	213
第十五章 药物与血浆蛋白结合的研究进展	216
一、与药物结合的血浆蛋白种类及结合位点的研究进展	216
二、药物与血浆蛋白结合的测定方法的研究进展	221
三、药物与血浆蛋白结合的立体选择性	225
四、药物与血浆蛋白结合的不可逆结合	226
五、由血浆蛋白结合所致的药物相互作用	228
第十六章 基因敲除和先天性缺陷动物在药代动力学研究中的应用	231
一、基因敲除与基因敲除动物	231
二、基因敲除动物在药物转运体研究中的应用	232
三、Mrp2 先天性基因缺陷动物在药物转运体研究中的应用	236
四、药物代谢酶基因敲除动物模型	237
第十七章 基因转染技术在药代动力学研究中的应用	240
一、基因转染技术在药物转运体研究中的应用	240
二、基因转染技术在药物代谢酶研究中的应用	246
三、以基因转染技术研究多种因素的联合作用	246
四、常用的基因转染技术	247
第十八章 基于计算机模拟的药物定量构动关系研究	250
一、以定量构动关系对药物 ADME 性质进行预测	251
二、以计算机模拟法预测药代动力学参数及转运与代谢结果	253
三、计算机模拟中常用的定量参数	257
四、计算机模拟中常用的计算工具	257
五、定量构动关系研究中常用的建模方法	258

第一章

体内药物浓度分析方法的研究进展

在药物代谢动力学的发展和推广应用过程中,体内药物浓度分析方法的不断改进起到了关键的作用。由于其研究工作的大部分内容为生物样品测试,而生物样品的特点是药物浓度低、干扰成分多、样本数量大等,所以对分析技术的要求较高。一个好的分析方法必须具备灵敏、快速和高专属性等特点。20世纪从化学分析到光谱分析,再从光谱分析到色谱分析,体内药物浓度测定技术得到了两次质的飞跃。而放射同位素标记、放射免疫技术和酶联免疫技术的应用也使微量药物浓度的测定成为可能。进入新世纪以来,随着串联接口技术不断成熟,LC-MSⁿ、GC-MSⁿ、LC-TOF-MS等新技术在药动学研究领域得到了越来越多的应用。此外高效毛细管电泳(EC)技术在药物或代谢物的分离,微透析(MC)技术在在体药物分布试验等方面也发挥了各自巨大的优势。核磁共振(NMR)技术则体现出了其快速和高分辨力等特点,本章就近年来体内药物浓度分析的新方法及其应用作一介绍。

一、高效液相色谱-质谱联用技术(LC-MS)在体内药物浓度分析中的应用

液相色谱-质谱联用技术(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS),是20世纪70年代发展起来的将液相色谱分离技术与质谱检测手段结合,集液相色谱(LC)的高分离能力和质谱(MS)的高灵敏度、高专属性于一体的色谱技术。它具有其他仪器不可比拟的高灵敏度和选择性,可以快速获得巨大的信息量。与紫外、二极管阵列管等检测器法比较,LC-MS鉴定更准确,特异性更强,同时简化了试验步骤,减少了生物样品处理过程。LC-MS也能够对多组分同时检测,基本可排除紫外检测器和二极管阵列管检测器等很难解决的干扰问题。因此,药物药代动力学研究中需对原药及代谢物同时分析和鉴定时,LC-MS显得尤为重要。同时,随着LC-MS接口技术的发展,LC-MS不断成熟,当今较先进的接口技术包括电喷雾离子化(electrospray ionization, ESI)和大气压化学离子化(atmospheric pressure chemical ionization, APCI),使得LC-MS技术成为药物代谢和药动学研究等现代药学研究领域最有力的分析工具^[1~6]。

1. LC-MS在临床前药代动力学研究中的应用

LC-ESI-MS技术在临床前药代动力学研究中有着广泛的应用。临床前药动学研究往往是用小鼠、大鼠、犬和猴等为研究对象,小鼠和大鼠的血量较少,作为一个整体的研究对象,取血量就会受到很大限制。下面以胡黄连苷-II临床前药代动力学研究说明其应用。

胡黄连苷Ⅱ为一种具有保肝作用的植物成分。由于它的极性较强且紫外吸收较弱,采用常规的液相分析方法,每个样品分析时间为8min,且最低检测限为 $0.5\mu\text{g/mL}$,其灵敏度和专属性难以达到样品分析的要求。改用LC-MS法后其检测灵敏度得到了很大提高,最低检测限可达 $0.05\mu\text{g/mL}$,线性范围为 $0.05\sim 20.0\mu\text{g/mL}$,血浆用量仅为 $50\mu\text{L}$ 。使用该技术后,每个样品的分析时间缩短为4min,见图1-1。

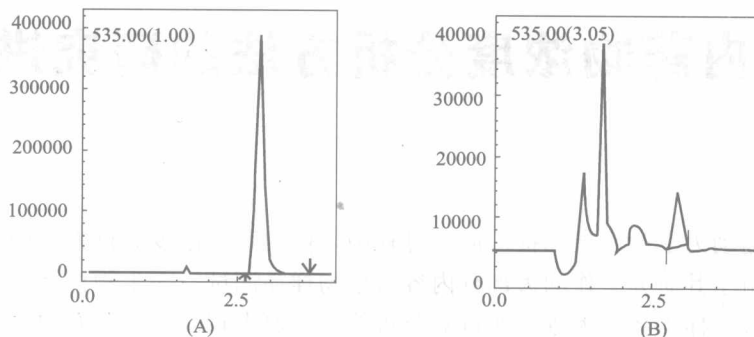


图 1-1 大鼠血浆中胡黄连苷-Ⅱ测定的 LC-MS 图
(A): 大鼠血浆中胡黄连苷-Ⅱ测定的最高定量限 ($20\mu\text{g/mL}$);
(B): 大鼠血浆中胡黄连苷-Ⅱ测定的最低定量限 ($0.05\mu\text{g/mL}$)

2. LC-MS 在 I 期临床药代动力学研究中的应用

I 期临床药代动力学试验往往是在较低的给药剂量下进行的,对分析方法的灵敏度通常有较高的要求。

例如盐酸马尼地平的血药浓度测定有报道采用 HPLC-UV 法^[7],但是其紫外最大吸收波长为 230nm,在如此短的波长下检测干扰问题很难排除。也有人使用 HPLC-ED 法进行测定^[8],最低检测限为 0.3ng/mL ,但干扰较为严重,每个样品分析时间长达 30min。Jing J 等用 HPLC-ESI-MS 法测定了健康受试者分别口服 5mg、10mg 和 20mg 盐酸马尼地平片后得血药浓度并进行了临床药代动力学研究^[9],测定方法的线性范围为 $0.2\sim 20\text{ng/mL}$,每个样品分析时间仅 8min,见图 1-2。

3. LC-MS 在代谢物研究中的应用

药物在体内的过程包括吸收、分布、代谢转化以及母药及其代谢物在体内的消除。对药物的代谢物而言,经过氧化、还原、水解或异构化等反应的 I 相代谢物有时在分子结构上改变较小,难以通过一般的色谱法得到很好的分离;而经过葡萄糖醛酸结合、硫酸结合或谷胱甘肽结合的 II 相代谢物的结构和极性又会有较大的改变,同时测定药和代谢物的还将会有一定的难度,此时可以考虑使用 LC-MS 进行分析^[10]。

作者在采用该方法对银杏内酯 B 代谢物进行分析过程中,发现在大鼠静脉注射给予银杏内酯 B 后,胆汁和尿中可检测到原药和四种代谢物,其质荷比 (m/z) 分别为 457、501.1、439 和 441 (见图 1-3)。其中 $m/z=439$ 为羟化产物即银杏内酯 C,441 为开环羟化产物,457 为银杏内酯 C 开环羟化产物,501 为银杏内酯 B 的硫酸结合产物,其体内代谢途径见图 1-4。

在另一个试验中,作者采用 LC-MS 法对大鼠给予甘草次酸后胆汁中的代谢物进行了研究。发现紫外检测波长为 254nm 时,有三个与甘草次酸相关的色谱峰出现 (见图 1-5),LC-ESI/MS 扫描确定此三个峰的 m/z 分别为 727,647,551。推测这三个组分可能分别为甘草

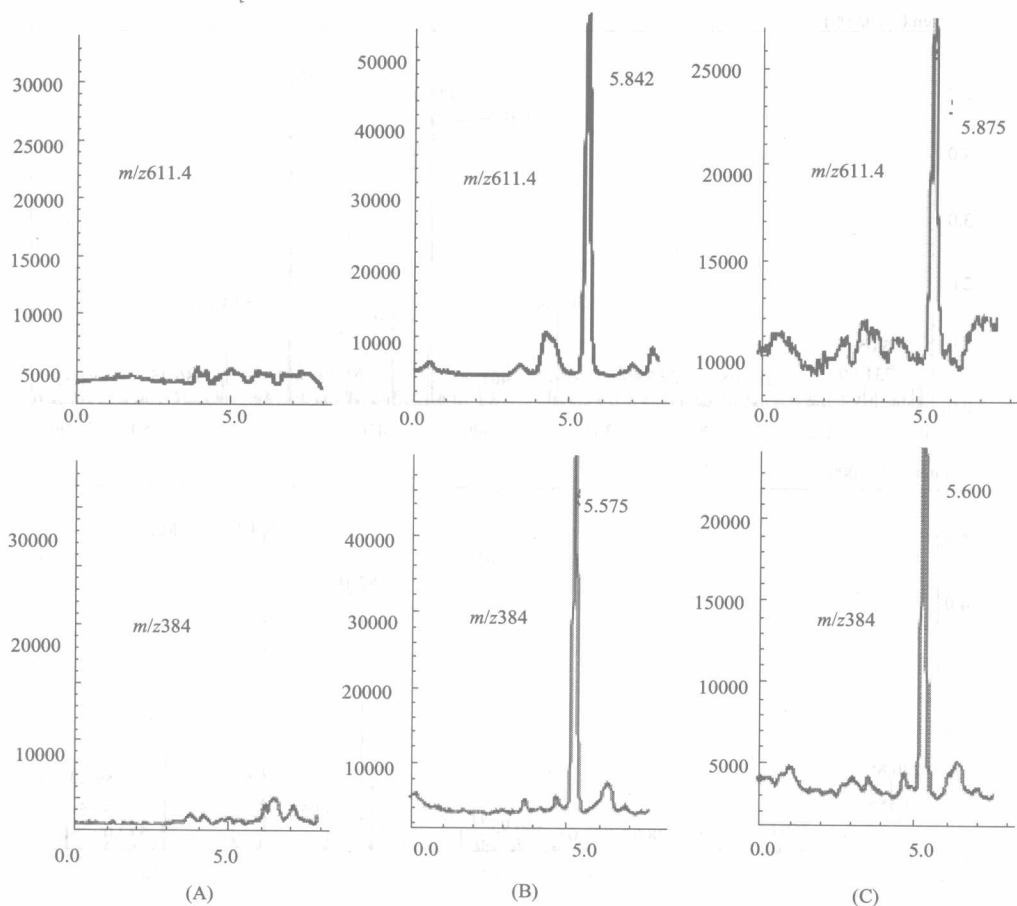


图 1-2 人血浆中马尼地平测定的 LC-MS 图

(A) 空白人血浆；(B) 空白人血浆中加入马尼地平 and 内标非洛地平；(C) 健康受试者

口服马尼地平后血浆样品及内标。(引自 Jing J, et al. Biomed. Chromatogr, 2007, 21: 836~840)

次酸的葡萄糖醛酸结合物、硫酸结合物和甘草次酸葡萄糖醛酸-硫酸二结合物（见图 1-6）。采用碱水解以及 β -葡萄糖醛酸酶水解后， m/z 为 727 和 647 的峰消失，551 的峰反而增大，进一步确认 $m/z=727$ 的代谢物为甘草次酸葡萄糖醛酸-硫酸二结合物， m/z 为 647 的代谢物为单葡萄糖醛酸结合物。

4. 在肽类药物分析中的应用

肽类药物的研究开发成为新生物技术药物研究开发的热点之一。然而，建立可靠、灵敏和准确的肽类药物体内分析方法是其临床前和临床药动力学研究的难点。Wilbert 等采用 LC-ESI-MS 法定量分析大鼠血清中多肽 NR58-3.14.3 (1357.7Da)，线性范围为 0.2 ~ 200.0 $\mu\text{g/mL}$ ，相关系数 $r_2=0.9996$ ，方法学日内精密度 RSD 小于 12%，标准误差为 $\pm 11\%$ ，结果符合药代动力学试验的要求^[11]。

5. LC-APCI-MS 在分析弱极性化合物血药浓度中的应用

有些化合物由于结构和极性方面的原因，用 ESI 不能产生足够的离子强度。这种情况下可以考虑采用 APCI 接口增加离子化程度，故可认为 APCI 是 ESI 技术的补充。APCI 主

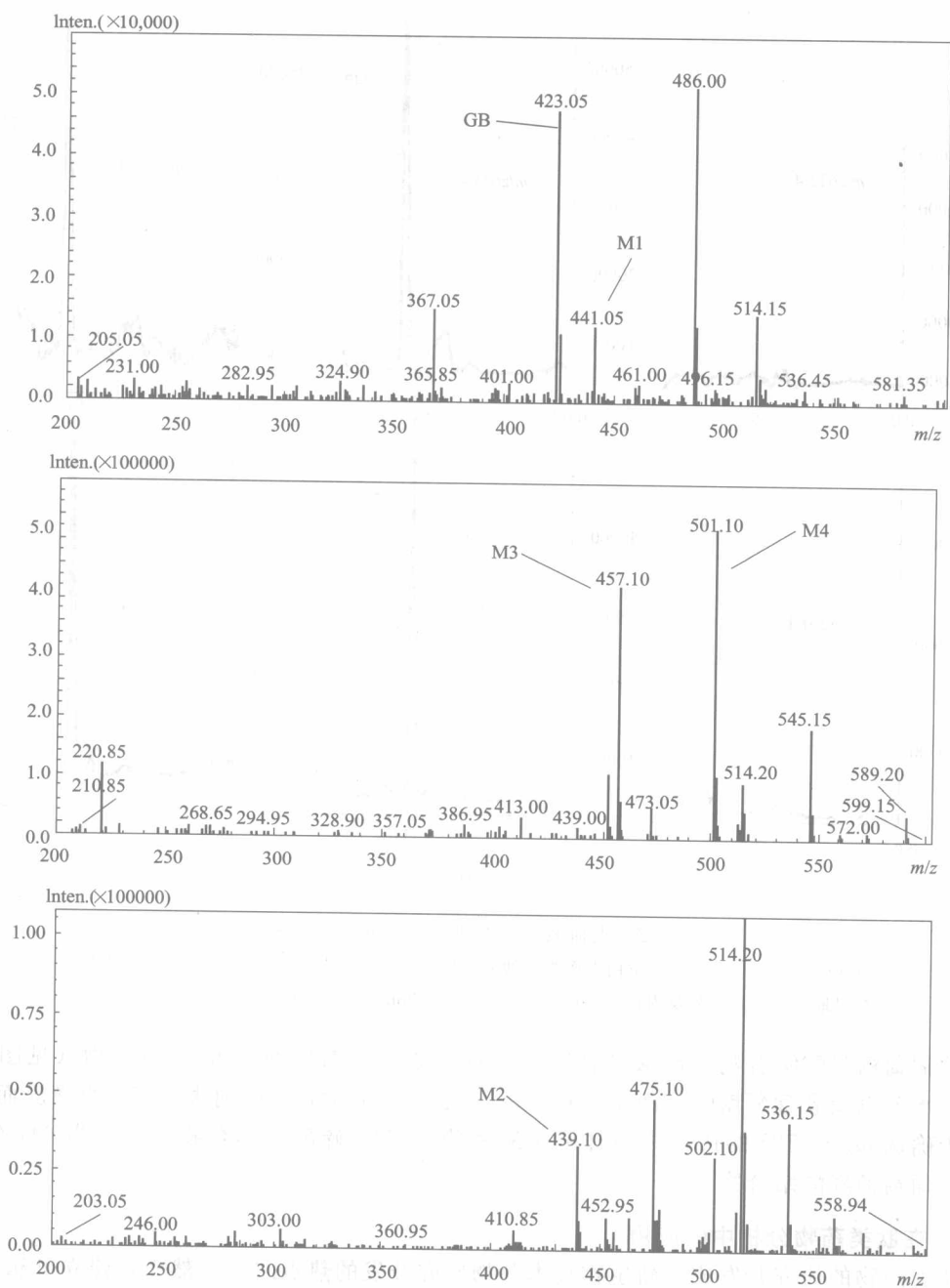


图 1-3 大鼠静脉给予银杏内酯 B 后胆汁色谱峰的质谱扫描图

要产生的是单电荷离子，所以分析的化合物分子量一般小于 1000Da。用这种电离源得到的主要是准分子离子，而很少有碎片离子。LC-APCI-MS 曾用于头颈部癌症患者静脉注射放疗辅助药泊非霉素后尿中代谢物的测定^[12]，也有关于测定鼠血清和肌肉样本中半胱氨酸蛋白酶抑制剂和它的乙基酯、测定狗血浆中美托咪定、鉴别甲苯噻嗪体内体外代谢物以及测定血浆中 5 α 还原酶抑制剂 L-654, 066 等的报道^[13]。Bakhtiar 等用此法测定了利他林酸、吲哚洛尔、氟西丁、奥沙西泮、普萘洛尔及尼卡地平药物的浓度^[14]。

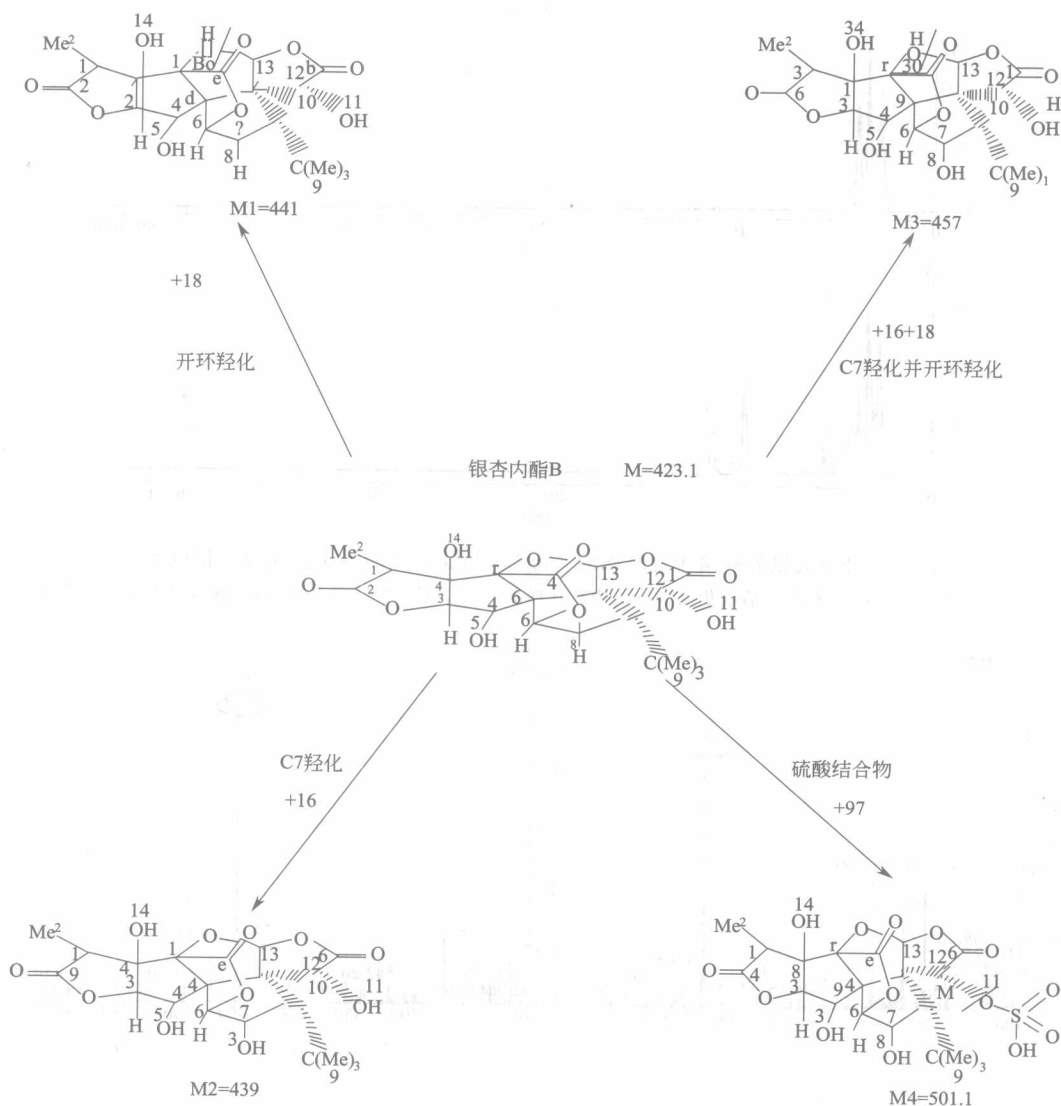


图 1-4 大鼠静脉给予银杏内酯 B 后主要代谢物的结构

二、高效液相色谱-串联质谱 (LC-MS/MS) 技术在临床药动学研究中的应用

LC-MS/MS 相对 LC-MS 而言, 通常有更高灵敏度和选择性, 它可把被检测物质破坏成若干碎片离子, 可实现多种离子同时检测、正负离子分段检测等。这样大大简化了试验步骤, 也有效地排除了 HPLC、LC-MS 等很难解决的干扰问题。因此, 串联质谱也广泛应用于生物体内药物分析。以下分别举例说明其在药物或代谢物测定中的应用。

1. LC-MS/MS 法在血药浓度测定中的应用

作者在研究奥拉米特生物等效性试验中, 发现其主要成分 5-氨基-4 酰胺基咪唑 (AI-CA) 的紫外吸收和一级质谱响应均较弱, LC-MS 的最低检测限尚不足 $0.2\mu\text{g/mL}$, 而且血浆杂质对测定有严重干扰, 最后采用 LC-MS/MS 法解决了其血浆浓度测定的灵敏度和专属

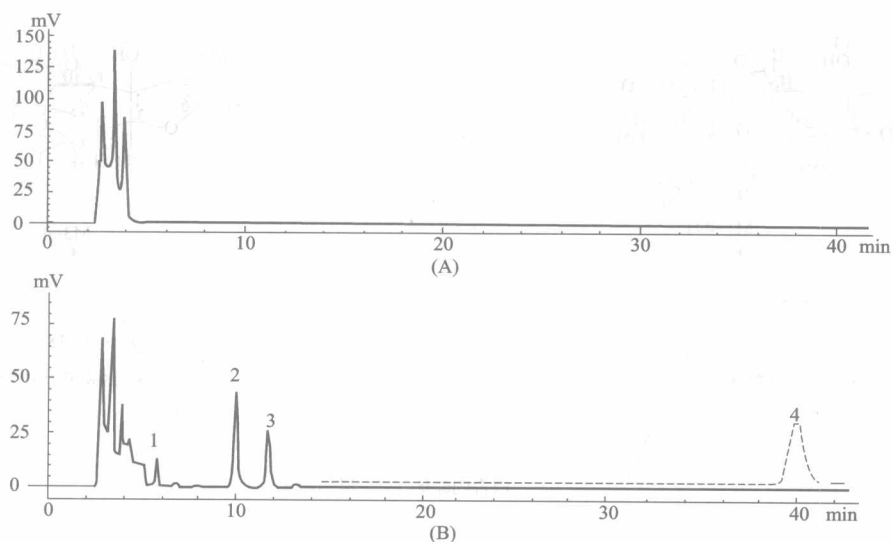


图 1-5 SD 大鼠静脉给予甘草次酸 2mg/kg 后胆汁样品测定的高效液相色谱图
(A) 空白胆汁；(B) 静脉给药后收集的 30min 内胆汁样品，1~3 号峰均为甘草次酸相关峰，4 号峰为甘草次酸

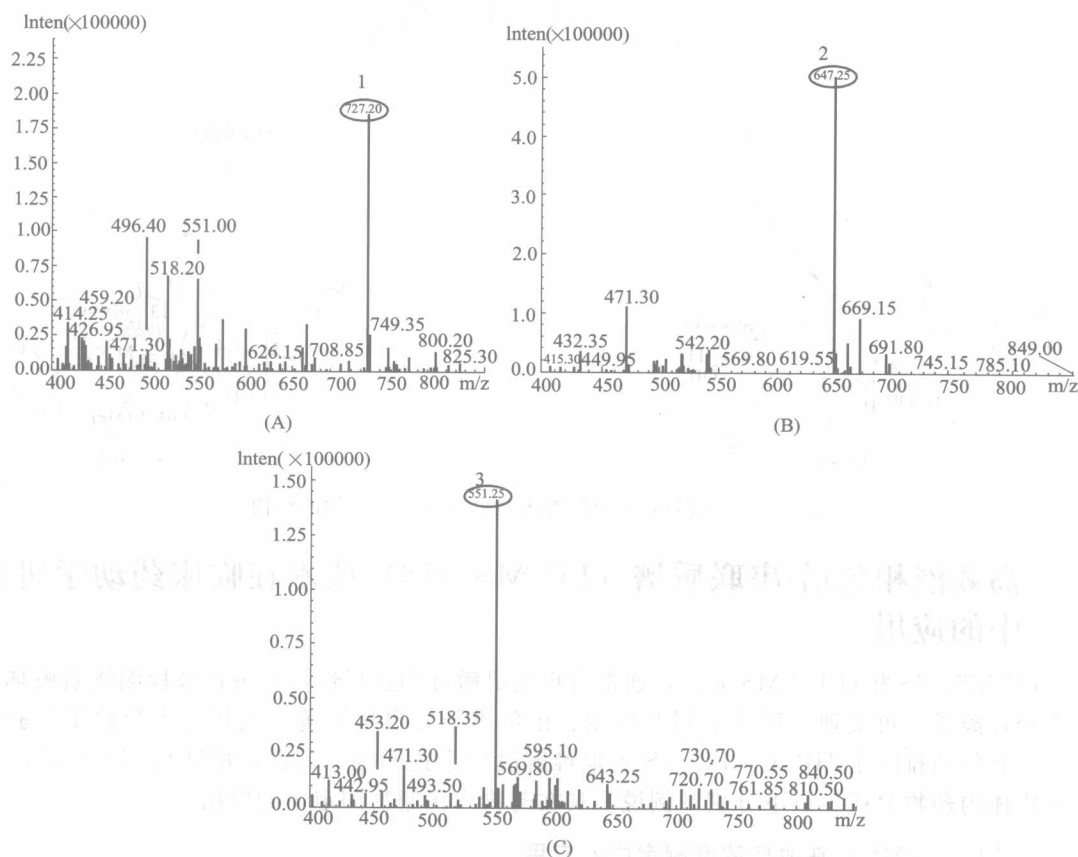


图 1-6 图 1-5 中 1~3 号代谢物峰 ESI (+) 质谱扫描图

(A) 1 号峰扫描结果， $m/z=727$ 为甘草次酸-葡萄糖醛酸-硫酸结合物；(B) 2 号峰扫描结果， $m/z=647.25$ 为甘草次酸-葡萄糖醛酸结合物；(C) 3 号峰扫描结果， $m/z=551$ 为甘草次酸-硫酸结合物

性问题。最低定量限可达 20ng/mL，与一级质谱相比响应值提高了 10 倍，测定方法有较好的重现性^[15]。结果见图 1-7 和表 1-1。

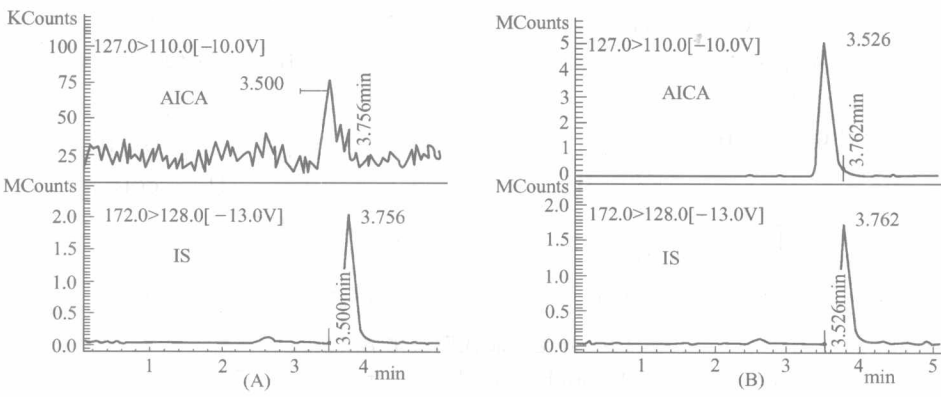


图 1-7 人血浆中 AICA 浓度测定的 LC-MS/MS 图

(A) 最低定量限 (20ng/mL) 时 AICA 和内标 (IS) 的色谱-质谱图; (B) 最高定量限 (2000ng/mL) AICA 和内标 (IS) 的色谱-质谱图; AICA: m/z 127 $\rightarrow$ 110; 内标: m/z 172 $\rightarrow$ 128

表 1-1 人血浆中 AICA 测定的回收率和精密度试验数据 ($n=5$)

加入浓度 /(ng/mL)	日内精密度		日间精密度	
	Mean $\pm$ SD/(ng/mL)	RSD/%	Mean $\pm$ SD/(ng/mL)	RSD/%
50	48.4 $\pm$ 2.8	5.7	49.6 $\pm$ 1.2	2.46
200	195.6 $\pm$ 11.6	5.9	191.6 $\pm$ 10.8	5.65
1000	972.8 $\pm$ 32	3.3	972.4 $\pm$ 32.8	3.37

注: 引自 Chen X J, et al. J Chromatogr B, 2007, 855: 140~144。

2. LC-MS/MS 在代谢物鉴定中的应用

利用 LC-MS/MS 联用技术, 不仅可以避免复杂、繁琐、耗时的分离纯化代谢物样品的工作, 而且能分离鉴定以往难于辨识的痕量药物代谢物。因此, 在探讨药物代谢特征、确定药物代谢物结构及代谢途径与药物及代谢物的药理作用及毒副作用间的关系, 即结构-代谢-活性/毒性三者之间的相关性方面, LC-MS/MS 显示出了很强的优势。

Lee 等通过鉴定一种新的抗癫痫药唑尼沙胺的代谢物, 有力证明了该方法的可行性^[16]。首先测定唑尼沙胺 (MW=212) 的正离子化学电离谱, 质谱图中给出了很强的质子化分子离子 $[M+H]^+$ ($m/z=213$), 较强的加合离子 $[M+29]^+$ 和 $[M+41]^+$, 以及少量的碎片离子。 $[M+H]^+$ 离子的子离子谱显示主要的中性丢失 81 (SO_2NH_2+H) 和主要的子离子 $[M+H-HSO_2NH_2]^+$ $m/z=132$ 。然后分别选择 81 作中性丢失扫描, 选择 $m/z=132$ 子离子扫描, 测定尿液萃样品, 分别找到 $m/z=229$ 、259、299、215 和 255 的离子, 在这些离子的子离子谱, 根据分子量和裂解特征得到代谢物结构。图 1-8 为鉴定得到的代谢物, 代谢物 A、B 是通过中性丢失扫描和子离子扫描推断出的, 代谢物 C、D 是通过母离子扫描和子离子扫描推断出的。

利用 MS/MS 还可鉴定药物的二相结合型代谢物。在氟尼辛的葡萄糖苷酸结合物的鉴定中^[17]。代谢物可用强碱和 β -葡萄糖醛酸酶水解成原药, 表明存在氟尼辛 C1- β -葡萄糖醛酸酯。进一步用正离子电喷雾离子化与串联质谱鉴定代谢物。质谱数据表明在 $m/z=473$ 存在 $[M+H]^+$ 离子, 与质子化的氟尼辛葡萄糖醛酸的分子量一致, 其中一个子离子的质荷比 $m/z=$

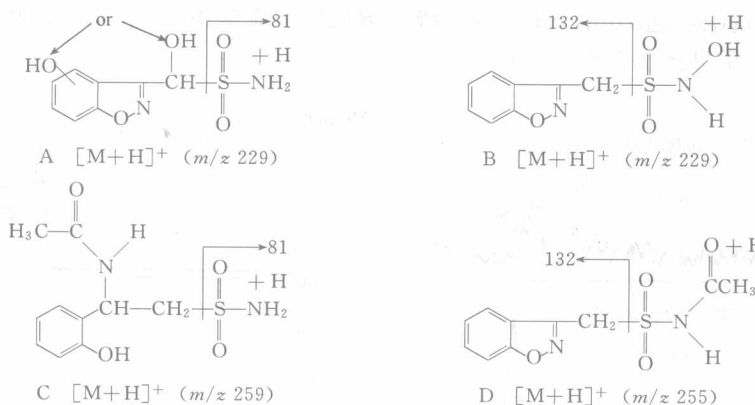


图 1-8 噻尼沙胺代谢物化学结构式

引自 Lee M S, et. al. Biomed Environ Mass Spectrom, 1988, 15: 193~204

297, 与质子化的氟尼辛分子量一致, 该离子的碰撞诱导裂解谱与原药的一致。这些数据充分证明该代谢物为氟尼辛 C1- β -葡萄糖醛酸结合物。由此可以证明, 利用母离子扫描、中性丢失扫描以及子离子扫描技术可以快速得到代谢物的大量结构信息。

三、飞行时间质谱 (TOF-MS) 在药代动力学研究中的应用

飞行时间质谱是根据不同质量的离子的飞行速度不同而将其分离。如果固定离子飞行距离, 则不同质量离子的飞行时间不同, 质量小的离子飞行时间短而首先到达检测器。各种离子的飞行时间与质荷比的平方根成正比。离子以离散包的形式引入质谱仪, 这样可以统一飞行的起点, 依次测量飞行时间。离子包通过一个脉冲或者一个栅系统连续产生, 但只在一特定的时间引入飞行管。新发展的飞行时间分析器具有大的质量分析范围和较高的质量分辨率, 尤其适合生物大分子和代谢产物的分析。汪江山等采用 UPLC-TOF-MS 平台对人参皂甙 Rg3 静脉给药大鼠正常大鼠尿液代谢物进行分析, 测定出人参皂甙 Rg3 给药后大鼠尿液代谢物的变化 (见图 1-9), 对其中两种发生显著变化的代谢物分别通过准确的质量测定得到其元素组成, 以 MS/MS 技术得到其结构信息, 并通过检索数据库最终分别鉴定为 4,8-二羟喹啉甲酸和 4-羟基-2-喹啉酸 ($C_{10}H_7NO_3$, $m/z=189.0426$)^[18]。董倩倩等建立靶细胞提取和 HPLC-ESI-TOF-MS 分析相结合进行丹参活性成分研究的方法, 对丹参中可能的活性成分进行了推测^[19]。将靶细胞和丹参样品一起孵育, 根据活性成分可以与靶细胞膜有特异性的结合或者进入靶细胞内的原理, 用 HPLC-MS 方法对培养后细胞破碎液中的成分进行

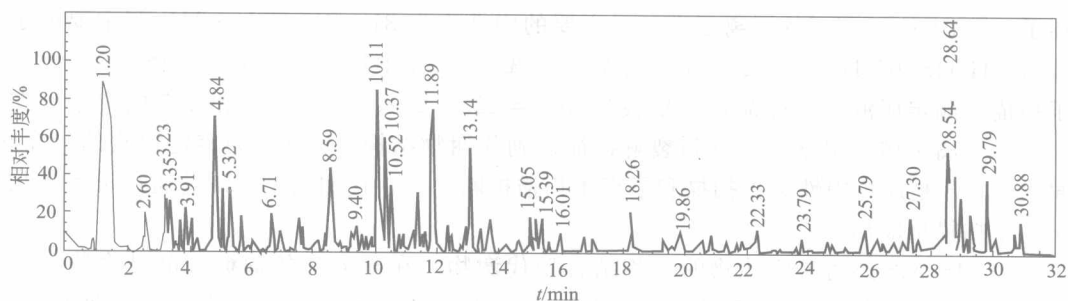


图 1-9 大鼠静脉人参皂甙 Rg3 后尿液的 UPLC-TOF-MS 图

引自汪江山等. 色谱, 2006, 24: 5~9