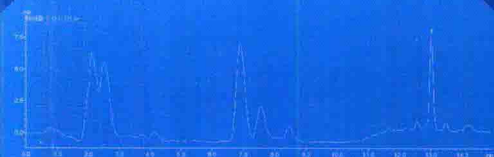
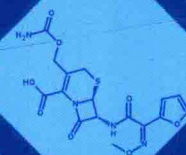
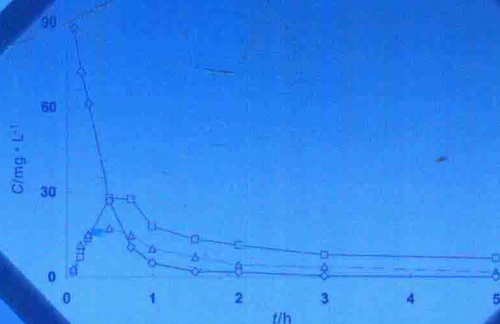


高等院校“十三五”规划/创新实验教材系列：医药类

药代动力学 实验教程

钟国平 黄民 主编

Yaodai Donglixue Shiyao Jiaocheng



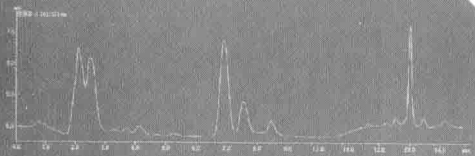
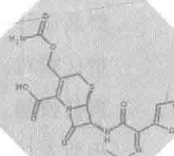
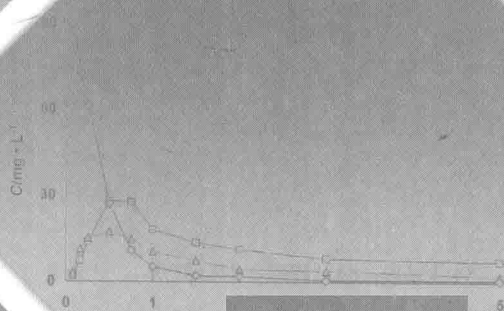
中山大学出版社
SUN YAT-SEN UNIVERSITY PRESS

高等院校“十三五”规划/创新实验教材系列：医药类

药代动力学 实验教程

钟国平 黄 民 主 编

Yaodai Donglixue Shiyān Jiāochéng



中山大学出版社
SUN YAT-SEN UNIVERSITY PRESS

· 广州 ·

版权所有 翻印必究

图书在版编目 (CIP) 数据

药代动力学实验教程/钟国平, 黄民主编. —广州: 中山大学出版社, 2017. 4
ISBN 978 - 7 - 306 - 05982 - 6

I. ①药… II. ①钟… ②黄… III. ①药物代谢动力学—教材 IV. ①R969. 1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2017) 第 017937 号

出 版 人: 徐 劲

策划编辑: 鲁佳慧

责任编辑: 鲁佳慧

封面设计: 林绵华

责任校对: 谢贞静

责任技编: 黄少伟

出版发行: 中山大学出版社

电 话: 编辑部 020 - 84110771, 84113349, 84111997, 84110779

发行部 020 - 84111998, 84111981, 84111160

地 址: 广州市新港西路 135 号

邮 编: 510275 传 真: 020 - 84036565

网 址: <http://www.zsup.com.cn> E-mail: zdcbs@mail.sysu.edu.cn

印 刷 者: 佛山市浩文彩色印刷有限公司

规 格: 787mm × 1092mm 1/16 7 印张 170 千字

版次印次: 2017 年 4 月第 1 版 2017 年 4 月第 1 次印刷

定 价: 22.00 元

如发现本书因印装质量影响阅读, 请与出版社发行部联系调换

本教程得到中山大学教学改革与建设专项经费资助

本书编委会

主 编 钟国平 黄 民
参 编 金 晶 李嘉丽 陈江英 白 雪 温鼎声

前 言

药代动力学是一门应用广泛的新兴学科，在新药研发、制剂质量评价以及临床合理用药等方面均有不可或缺的理论价值和实践意义。药代动力学实验是药代动力学教学的重要组成部分。通过药代动力学实验，既可进一步巩固药代动力学相关知识，理论联系实际；又可提高动手能力及独立发现问题、分析问题、解决问题的能力，培养客观严谨的思维方法和积极开拓的创新精神。

实验教程是实验教学的主要依据，也是提高并保障教学质量的重要工具。结合多年的实验教学经验，为了更好地提高药代动力学的教学质量，参考有关材料，我们编写了此教程。

本教程结合编者实际工作，考虑可行性及教学目标，围绕生物样本浓度测定方法的建立，实验动物的选择、给药与采样、未知样本浓度测定，药代动力学数据处理、参数计算与结果分析等药代动力学研究的全过程，重点介绍了“头孢呋辛在家兔体内的药代动力学实验”。同时，结合药代动力学研究相关进展及有关药代动力学实验教学动态，针对性地介绍了“药代动力学药物相互作用”“对代谢酶抑制”“在体肠灌流”等实验，并期望增强相关知识和技术介绍，拓展学生对药代动力学实验方法和技能的理解。

本书中每个实验均含有实验目的、原理、方法、注意事项等内容，并提供思考题以拓展学生思维。另外，还附有药代动力学实验相关规范性要求等附录供参考，以期全面培养学生认真、规范、客观、严谨、求实的科学研究态度。

由于水平有限，本书一定有不妥和错漏之处，我们真诚希望广大读者批评指正，提出宝贵意见。

编者

2017年3月

目 录

课程概述	1
第一编 药代动力学实验基础	3
第一章 实验室管理制度	3
第二章 药代动力学实验管理要求	5
第三章 药代动力学实验记录要求	8
第四章 药代动力学实验常规仪器设备	10
第五章 药代动力学分析方法	30
第二编 头孢呋辛在家兔体内的药代动力学实验	34
实验一 方法建立：HPLC 测定家兔血浆中头孢呋辛浓度	34
实验二 样本采集：家兔单次给予头孢呋辛酯/头孢呋辛钠	40
实验三 样本测定：头孢呋辛在家兔体内的药代动力学实验	46
实验四 数据处理与结果分析报告：头孢呋辛在家兔体内的药代动力学实验 ..	49
第三编 推荐的药代动力学实验	56
第一章 家兔静脉注射和肌内注射磺胺二甲基嘧啶的药代动力学实验	56
第二章 小鼠静脉注射、口服以及滴鼻冰片的药代动力学实验	60
第三章 家兔灌胃给药对乙酰氨基酚的药代动力学实验	64
第四章 合并使用苯巴比妥对大鼠体内氨茶碱药代动力学影响的实验	68
第五章 大鼠吸入和灌胃给药沙丁胺醇的药代动力学实验	72
第六章 加替沙星对肝药酶 CYP1A2 和 CYP2C9 的抑制作用实验	76
第七章 磺胺嘧啶（SD）在家兔体内的肾清除率的测定实验	80
第八章 大鼠在体肠灌注萘普生肠吸收动力学实验	83
附录	86
附录一 实验动物的安全防护要求	86
附录二 动物实验伦理	89

附录三	标准体重动物的剂量换算	91
附录四	药代动力学实验数据管理要求	94
附录五	药代动力学实验记录册书写要求	96
附录六	受试动物血样采集记录表样稿	97
参考文献		98

课程概述

“药代动力学实验”课程是在“生物药剂学与药物动力学”等课程的基础上，为药学专业高年级本科学生开设的必修实验课程。

一、教学目的

通过本课程的学习，学生应达到如下要求：

(1) 进一步巩固“生物药剂学与药物动力学”课程的基础知识，理论联系实际，提高动手能力，提高独立发现问题、分析问题、解决问题的能力，培养科学思维方法和开拓创新能力。

(2) 了解、熟悉、掌握药代动力学实验相关的基本操作方法与思路。

二、课程要求

(1) 任课老师需向学生讲清课程的性质、任务要求、课程的安排和进度、评分方法、实验守则、实验安全制度、值日生制度及实验记录的书写格式等。

(2) 实验以基本操作为主，实验前学生必须按照要求进行预习。

(3) 实验建议多人（2~4人）协作，在规定的时间内完成，并详细记录观察到的实验现象。

(4) 实验中要注意各种仪器设备的正确使用和维护。

(5) 注意实验操作全程的规范性、安全性。

(6) 由于本实验课程需要接触生物样本，实验过程中禁止穿短裙，短裤，拖鞋等，必须按要求穿着实验服及佩戴实验用口罩和手套。

(7) 实验结束，学生要收拾好桌面，清洗干净并摆放好仪器，值日生要打扫卫生，检查水电，待教师签名后才能离开。

(8) 实验完成，学生应及时根据结果撰写实验报告，并整理实验资料。

第一编 药代动力学实验基础

第一章 实验室管理制度

(1) 严守实验课堂纪律。不得迟到和早退，事假或病假凭学工部门出具的请假单请假。未经教师允许不准私自调换实验分组及实验时间。

(2) 进入实验室必须穿着实验服，教师特别指明的某些情况，必须戴口罩和手套。禁止穿露趾的鞋、拖鞋和披散长发进入实验室。不得在实验室内吸烟和进食。

(3) 使用仪器、药品、试剂和各种物品必须注意节约。洗涤和使用仪器时，应小心仔细，防止损坏仪器。使用贵重精密仪器时，应严格遵守操作规程，发现故障须立即报告教师，不得擅自动手检修。

(4) 实验室内严禁吸烟！须严格遵守防火、防爆规程，易燃物（如乙醇、丙酮、乙醚、甲醇、乙腈等）不能直接加热，且应远离明火火源。凡产生烟雾、有害气体和不良气味的实验，均应在通风条件下进行。使用微波炉加热溶液时必须在教师的指引下进行，严禁私自使用微波炉加热任何溶液！

(5) 每次实验前应尽可能了解实验中使用的试剂的性质，包括理化性质、是否有毒性等，并严格遵守教师针对试剂发出的安全指引进行实验操作。

(6) 实验台面应随时保持整洁，仪器、药品摆放整齐。与实验无关的个人物品（特别是水杯和食物）不要放在实验台面。公用试剂用毕，应立即盖严放回原处。勿将试剂、药品洒在实验台面或地上，勿用手或身体其他部位直接接触药品。实验完毕，玻璃器皿须洗净放好，将实验台面清理干净，才能离开实验室。

(7) 化学试剂的存放必须按照规定执行。特别注意：实验室中易燃性液体、有机酸的常规储存不能高于 50 L（单容器内不能高于 25 L）。配制好的溶液必须在标记清晰的相关容器内存放，不得任意转移、不得修改或撕毁标签，标签应注明配制溶液的名称、浓度、时间及其他需要标注的事项。容器配套的瓶盖或滴管不能随意更换、丢弃。

(8) 配制的试剂和实验过程中的样品，尤其是保存在冰箱中的样品，必须贴上标签、写上品名、姓名、日期及其他相关信息。放在冰箱中的易挥发溶液和酸性溶液，必须严密封口。

(9) 一般废液可倒入水槽内,同时放水冲走。强酸、强碱、有机溶剂和有毒液体必须倒入专用废液缸内。

(10) 实验前必须认真预习,书写预习报告,以备教师在实验过程中检查。

(11) 实验过程中要听从教师的指导,严肃认真地按操作规程进行实验,并把实验结果和数据及时、如实地记录在实验记录本和公用电脑上,完成实验后经教师(或助教)检查同意,方可离开实验室。

(12) 实验室内一切物品,未经本室负责教师批准,严禁携带出室外。

第二章 药代动力学实验管理要求

(1) 应建立完善的组织管理体系,任命实验课程负责人和实验操作负责人,并配备相应的实验人员和助教。

(2) 实验课程负责人应具备相关专业多年本科教学经历,熟悉业务,能全面有效组织、指导和开展实验工作。其职责包括:

- 1) 全面负责实验课程的建设,确保顺利开展实验课程所需要满足的各项条件。
- 2) 组织制定和修改实验讲义,确保实验讲义适时更新。
- 3) 制定教学大纲,掌握各项教学工作的进展。
- 4) 建立有效的交流机制,以保证实验人员、助教与学生之间可及时、有效地沟通。
- 5) 建立完善的实验教学和考核机制。
- 6) 在每项实验开始前,指定实验操作负责人。
- 7) 审查、批准实验教学进度表、教学经费预算、实验结果或报告。
- 8) 指定专人负责检查实验室环境、设施、仪器设备、档案资料与生物样本的管理等。

(3) 实验操作负责人具体负责某项具体实验的工作,具备相应专业本科教学经验,对所承担实验的方法、结果和报告负直接责任。职责包括:

- 1) 制订该实验的方案。
 - 2) 全面负责该实验的运行管理、组织实施。
 - 3) 建立并验证有关方法。
 - 4) 确保所有参与该实验的人员明确各自所承担的内容,并掌握和执行相关的标准操作规程。
 - 5) 掌握教学进展,确保实验记录及时、完整、准确和清晰。
 - 6) 确保实验中偏离方案的情况及采取的措施均有详细记录。
 - 7) 整理、分析实验数据和结果,指导学生撰写实验报告。
 - 8) 及时处理实验期间的应急情况。
- (4) 实验工作人员应符合以下要求:
- 1) 具备严谨的科学作风和良好的职业道德,经过培训与考核。
 - 2) 熟悉实验各项要求,掌握并严格执行相关的标准操作规程。
 - 3) 指导、协助学生开展实验,监督学生及时、完整、准确和清晰地进行实验记录,对实验中发生的可能影响结果的任何情况应及时报告给相应负责人。
 - 4) 根据教学的需要着装,保持工作环境正常。

5) 遵守健康检查制度, 确保实验过程安全有序, 实验样本不受污染。

(5) 实验室环境应保持清洁、卫生, 环境调控应符合相应工作的要求。

(6) 实验设施的基本要求:

1) 有完善的实验设施, 并处于良好运行状态。

2) 具备相应的安全防护、应急和急救设施。

3) 洁净区与污染区分离。

4) 具备保存生物样本的设施; 确保样本的完整性, 并防止交叉污染。

5) 具备不同实验用品的储存设施, 确保实验材料、试剂、标准物质等的储存符合相关要求; 危险化学品、归属于麻醉药品和精神药品的物质、放射性物质的保管设施应符合《危险化学品安全管理条例》《麻醉药品和精神药品管理条例》《放射性药品管理办法》的相关规定。

(7) 废物处理的基本要求:

1) 应按照《医疗废物管理条例》和《医疗卫生机构医疗废物管理办法》的相关规定处理医疗废物。

2) 应参照《实验室生物安全通用要求》的要求妥善处理过期的化学试剂、含化学试剂的废物。

(8) 仪器设备基本要求:

1) 配有与实验相适应的仪器设备, 仪器的量程、精度、分辨率等应符合相应要求。

2) 放置地点合理。

3) 应有专人管理, 由专业技术人员按照相关要求定期进行校正、维护。

4) 应有明显的状态标识; 新购进仪器具有安装验证、操作验证以及性能验证报告; 对不合格、待修、待检的仪器, 应及时联系相关技术人员进行处理并确保维修记录存档。

5) 根据仪器设备的性能要求定期进行性能验证, 确保仪器设备处于良好的状态。仪器定期性能验证的文件应存档。

6) 设备操作人员应经过培训, 考核合格后方可上岗, 并严格执行相关标准操作规程。

(9) 实验材料的管理要求

1) 应根据实验选择、使用与方案要求中一致的实验材料, 并确保实验材料充足。

2) 应有专人负责实验材料的管理, 实验材料的采购、接收、储存和分发均有详细记录。

3) 实验材料的储存条件应符合要求, 储存容器应贴有标签, 标明品名、来源、批号、有效期和储存条件等。

(10) 试剂的管理要求:

1) 应根据实验选择、使用相应的试剂、标准物质等。

2) 应有专人负责试剂、标准物质等的管理, 有采购、接收、储存、分发、使用的记录。

3) 应记录试剂、标准物质的称量、溶液配制。

4) 配制的溶液应贴有标签, 标明品名、浓度、贮存条件、配制日期、有效期及配制人员名字等必要的信息。

5) 实验中不得使用变质或过期的试剂和溶液, 保留处理过期试剂的记录。

(11) 生物样本的接收和管理要求:

1) 应采取适当的方式和条件转运生物样本, 监测转运过程中样本的保存条件。

2) 接收生物样本时, 应检查样本的标识、状态、数量, 保存记录有样本标识、状态、数量、来源、转运方式和条件、到达日期等信息的文件。

3) 生物样本的保存应符合方案中规定的条件; 监测保存样本的设施设备, 以确保其在可接受的参数范围内工作; 监测参数偏离可接受范围时, 应及时采取应急措施, 并保存监测和采取应急措施的记录。

4) 生物样本保存以样本长期冻存稳定时间为限; 超过保存期后, 在取得申办者书面同意后, 按相关规定进行销毁处理。

5) 应按照《医疗废物管理条例》和《医疗卫生机构医疗废物管理办法》的相关规定处理超过保存期的生物样本。

(12) 生物样本的重复分析应符合实验方案和标准操作规程的有关规定, 并记录重复分析的理由以及采用相关数据的理由。

第三章 药代动力学实验记录要求

(1) 实验记录是指在研究过程中,应用实验、观察、调查或资料分析等方法,根据实际情况直接记录或统计形成的各种数据、文字、图表、声像等原始资料。

(2) 实验记录的基本要求:真实、及时、准确、完整,防止漏记和随意涂改。不得伪造、编造数据。

(3) 实验记录的内容:通常应包括实验名称、实验目的、实验设计或方案、实验时间、实验材料、实验方法、实验过程、观察指标、实验结果和结果分析等内容。

1) 实验名称:每项实验开始前应首先注明课题名称和实验名称,需保密的课题可用代号。

2) 实验设计或方案:实验设计或方案是实验研究的实施依据。各项实验记录的首页应有一份详细的实验设计或方案,并由设计者和(或)审批者签名。

3) 实验时间:每次实验须按年月日顺序记录实验日期和时间。

4) 实验材料:受试样品和对照品的来源、批号及效期;实验动物的种属、品系、微生物控制级别、来源及合格证编号;其他实验材料的来源和编号或批号;实验仪器设备名称、型号;主要试剂的名称、生产厂家、规格、批号及效期;自制试剂的配制方法、配制时间和保存条件等。实验材料如有变化,应在相应的实验记录中加以说明。

5) 实验环境:根据实验的具体要求,对环境条件敏感的实验,应记录当天的天气情况和实验的微小气候(如光照、通风、洁净度、温度及湿度等)。

6) 实验方法:常规实验方法应在首次实验记录时注明方法来源,并简述主要步骤。改进、创新的实验方法应详细记录实验步骤和操作细节。

7) 实验过程:应详细记录研究过程中的操作,观察到的现象,异常现象的处理及其产生原因,影响因素的分析等。

8) 实验结果:准确记录计量观察指标的实验数据和定性观察指标的实验变化。

9) 结果分析:每次(项)实验结果应做必要的数据处理和分析,并有明确的文字小结。

10) 实验人员:应记录所有参加实验研究的人员。

(4) 实验记录用纸:

1) 实验记录必须使用本研究机构统一专用的带有页码编号的实验记录本或科技档案专用纸。记录用纸的幅面,由研究单位根据需要设定。

2) 计算机、自动记录仪器打印的图表和数据资料等应按顺序粘贴在记录本或记录纸或病历报告表的相应位置上,并在相应处注明实验日期和时间;不宜粘贴的,可另行

整理装订成册并加以编号，同时在记录本相应处注明，以便查对。

3) 实验记录本或记录纸应保持完整，不得缺页或挖补；如有缺、漏页，应详细说明原因。

(5) 实验记录的书写：

1) 实验记录本（纸）竖用横写，不得使用铅笔和圆珠笔，建议使用签字笔。实验记录应用字规范，字迹工整。

2) 常用的外文缩写（包括实验试剂的外文缩写）应符合规范。首次出现时必须用中文加以注释。实验记录中属译文的应注明其外文名称。

3) 实验记录应使用规范的专业术语，计量单位应采用国际标准计量单位，有效数字的取舍应符合实验要求。

(6) 实验记录不得随意删除、修改或增减数据。不得使用涂改液或遮贴纸。如必须修改，须在修改处划一斜线，不可完全涂黑，保证修改前记录能够辨认，并应由修改人签字，注明修改时间及原因。

(7) 实验图片、照片应粘贴在实验记录的相应位置上，底片装在统一制作的底片袋内，编号后另行保存。用热敏纸打印的实验记录，须保留其复印件。

(8) 实验记录应妥善保存，避免水浸、墨污、卷边，保持整洁、完好、无破损、不丢失。

(9) 实验记录的签署、检查和存档

1) 每次实验结束后，应由实验负责人和记录人在记录后签名。

2) 课程负责人或上一级研究人员要定期检查实验记录，并签署检查意见。

3) 每项研究工作结束后，应按归档要求将研究实验记录整理归档。

第四章 药代动力学实验常规仪器设备

一、高效液相色谱仪

以液体作为流动相的色谱法称为液相色谱法 (liquid chromatography, LC)。高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC) 是色谱法的一个重要分支, 以液体为流动相, 采用高压输液系统, 将具有不同极性的单一溶剂或不同比例的混合溶剂、缓冲液等流动相泵入装有固定相的色谱柱, 在柱内各成分被分离后, 进入检测器进行检测, 从而实现对待测样品的分析。

液相色谱法和气相色谱法在理论和技术上有许多相似之处, 两者各有优势, 相互补充。如气相色谱法不适用于分析高沸点、热稳定性差的物质; 而液相色谱法则可以在常温下进行, 从而有效地弥补了气相色谱法的不足, 在药学领域具有更为广泛的应用范围。

液相色谱法按照分离原理可以分为吸附和分配色谱法、离子交换色谱法和体积排阻色谱法三种类型。

(一) 高效液相色谱仪的组成

高效液相色谱仪主要包括输液系统、进样系统、分离系统、检测系统、组分收集系统五部分组成。

1. 输液系统

输液系统主要由贮液槽、高压输液泵和梯度洗脱装置组成, 其主要功能是把待测样品带入色谱柱中, 以实现分离, 并最终进入检测系统。因此, 输液系统的稳定性直接影响样品保留时间的重复性。

(1) 贮液槽。主要用来盛放流动相, 输送流动相的管路前端装有一个过滤器, 主要是用来防止流动相中的固体颗粒进入到流动相中, 堵塞管路及色谱柱。流动相在使用前一般要进行脱气处理, 以除去溶解在其中的气体, 防止系统过程中产生气体。常用的脱气方式有超声波脱气法和抽真空脱气法, 但由于流动相长时间放置后又会有气体溶解在溶液中, 因此, 流动相不能长时间放置使用。目前, 很多仪器都使用了在线真空脱气技术, 实现了流动相的连续脱气。

(2) 高压输液泵。是输液系统中的核心部分, 其功能主要是输送流动相。在高效液相色谱法中, 高压输液泵要具备较高的性能, 除了能够达到较高的压力, 还需要提供