

体内药物分析

主 编 邓远雄 李晓宇



中南大学出版社
www.csupress.com.cn

内容提要

本书是药学专业的专业课教材，主要介绍了三个方面的内容：第一部分为总论，包括体内药物分析的性质、特点、生物样品的预处理方法以及体内药物分析方法的建立与确证。第二部分为常用的体内药物分析技术，包括高效液相色谱与液-质联用技术、气相色谱与气-质联用技术、毛细管电泳及其联用技术、免疫分析技术和成像技术。第三部分为体内药物分析方法在各领域的应用，包括手性药物分析研究、中药分析研究、生物技术药物分析研究、新药药代动力学研究、治疗药物监测研究以及药物相互作用研究。本书适合于药学类专业本科生、研究生教学使用，也可作为新药研究、临床药代动力学研究、临床药理研究以及临床药师培训等相关人员学习、参考用书。

《体内药物分析》编委会

主 编 邓远雄 李晓宇

副主编 汪电雷 许风国 张 伟

编 委 (以姓氏笔画为序)

邓远雄(湖南师范大学)

许风国(中国药科大学)

朱 倩(安徽医科大学)

陈晓颖(广东药科大学)

李晓宇(上海交通大学)

汪电雷(安徽中医药大学)

张 伟(澳门科技大学)

郝 刚(苏州市食品药品检验所)

俞蕴莉(苏州大学附属第二医院)

前 言

《体内药物分析》作为药学类相关专业本科生和研究生的核心课程，已在各医药类院校开设多年。随着近年来新药研究的快速发展，新药筛选和新药评价成为新药研究中的重要环节，特别是新药的药物动力学筛选和评价迅速发展，这使得体内药物分析技术在新药研发、新药评价和临床合理用药研究方面发挥的作用越来越重要。因此，我们组织了湖南师范大学、上海交通大学附属第一人民医院、中国药科大学、澳门科技大学、安徽中医药大学、广东药科大学、安徽医科大学、苏州大学附属第二医院、苏州市食品药品检验所等单位从事体内药物分析教学和科研的一线教师和临床药师编写了本书。本书反映了体内药物分析领域的新理论、新技术、新方法和相关指导原则的要求，体现了体内药物分析在手性药物分析研究、中药分析研究、生物技术药物分析研究、新药药代动力学研究、治疗药物监测研究以及药物相互作用研究等领域的科学研究的成果。全书编写上力求内容的实用性和技术先进性相统一，在一定程度上反映了本学科目前的技术水平。

全书共分 15 章，本着科学性、先进性和实用性相结合的原则，将全书内容分为 3 部分：第一部分(1~3 章)为总论，包括体内药物分析的性质、特点、生物样品的预处理方法以及体内药物分析方法的建立与确证。第二部分(4~8 章)为常用的体内药物分析技术，包括高效液相色谱与液-质联用技术、气相色谱与气-质联用技术、毛细管电泳及其联用技术、免疫分析技术和成像技术。第三部分(9~15 章)为体内药物分析方法在各领域的应用，包括在手性药物分析研究、中药分析研究、生物技术药物分析研究、新药药代动力学研究、治疗药物监测研究以及药物相互作用研究等领域的应用。为便于读者更好地学习和掌握本书内容，每章后面附有思考题。

本书既介绍了体内药物分析的基本知识又反映了体内药物分析的新方法及其在新领域的应用。如在第二部分体内药物分析技术中增加了目前的新技术——成像技术的介绍，在应用领域我们增加了在中药研究和药物相互作用研究中的应用，这是本书的特色。本书适合于药学类专业本科生、研究生教学使用，也可作为新药研究、临床药代动力学研究、临床药理研究以及临床药师培训等相关人员的学习、参考用书。

本书第 1、10 章由邓远雄编写；第 2 章由陈晓颖编写；第 3、13 章由俞蕴莉编写；第 4、5 章由郝刚编写；第 6、7 章由张伟编写；第 8、15 章由李晓宇编写；第 9、14 章由许风国编写；第 11 章由朱倩编写；第 12 章由汪电雷编写。限于编者的水平与经验，书中难免存在疏漏及谬误，恳请各位专家、读者提出宝贵的意见及建议，以便不断修订完善。

在本书编写过程中，各编委所在的单位特别是上海交通大学附属第一人民医院给予了大力支持，广西中药质量标准研究重点实验室(广西中医药研究院)开放课题为本书的出版提供了部分资助，中南大学出版社对编写的各项工作给予了大量的指导和帮助，在此一并致以深深的谢意。

邓远雄
2016 年 6 月于长沙

目 录

第1章 绪 论	(1)
1.1 体内药物分析的性质与意义	(1)
1.1.1 体内药物分析的性质	(1)
1.1.2 体内药物分析的意义	(1)
1.2 体内药物分析的对象与特点	(3)
1.2.1 体内药物分析的对象	(3)
1.2.2 体内药物分析的特点	(4)
1.3 体内药物分析方法及其新技术、新要求	(5)
1.3.1 体内药物分析方法	(5)
1.3.2 体内药物分析方法的新要求与新技术	(6)
1.4 体内药物分析的任务	(7)
1.4.1 分析方法学研究	(7)
1.4.2 分析方法在相关研究中的应用	(7)
1.5 体内药物分析的发展及研究热点	(9)
1.5.1 体内药物分析的发展	(9)
1.5.2 体内药物分析的研究热点	(10)
第2章 生物样品的种类、采集、储存与前处理	(12)
2.1 生物样品的种类、采集、制备与储存	(12)
2.1.1 常用生物样品的采集、制备与储存	(12)
2.1.2 生物样品的代表性	(19)
2.2 生物样品预处理	(19)
2.2.1 概述	(19)
2.2.2 常见生物样品的预处理	(20)
2.2.3 生物样品预处理新技术	(28)
2.2.4 在线样品预处理技术	(31)
第3章 体内分析方法的建立与确证	(40)
3.1 体内药物分析方法的选择依据	(40)
3.1.1 分析方法建立的前期准备	(40)
3.1.2 常用的体内药物分析方法	(41)
3.2 体内药物分析方法建立的一般步骤	(43)
3.2.1 选择合适的分析方法	(43)
3.2.2 选择合适的样品前处理方法	(43)
3.2.2 方法建立的一般步骤	(44)
3.3 方法学确证的内容与要求	(45)

3.3.1	特异性	(45)
3.3.2	标准曲线和定量范围	(46)
3.3.3	定量下限	(49)
3.3.4	精密度与准确度	(49)
3.3.5	样品稳定性	(50)
3.3.6	提取回收率	(51)
3.3.7	基质效应	(52)
3.3.8	稀释试验	(53)
3.3.9	残留效应	(53)
3.3.10	系统适应性	(54)
3.3.11	微生物学和免疫学方法确证	(54)
3.3.12	质量控制	(54)
3.3.13	各国指导原则对方法学确证要求的区别	(55)
3.4	生物大分子药物的分析方法确证	(57)
3.4.1	对照品	(58)
3.4.2	特异性和选择性	(58)
3.4.3	标准曲线	(58)
3.4.4	精密度和准确度	(59)
3.4.5	稀释线性	(59)
3.4.6	稳定性	(59)
3.4.7	质量控制	(59)
第4章	高效液相色谱及其联用技术	(62)
4.1	高效液相色谱法的类型与原理	(62)
4.1.1	液-固吸附色谱	(62)
4.1.2	液-液分配色谱	(63)
4.1.3	化学键合相色谱	(63)
4.1.4	其他高效液相色谱法	(64)
4.2	高效液相色谱仪	(67)
4.2.1	贮液瓶	(67)
4.2.2	流动相脱气装置	(68)
4.2.3	高压输液泵	(68)
4.2.4	梯度洗脱装置	(69)
4.2.5	进样器	(69)
4.2.6	色谱柱	(70)
4.2.7	检测器	(70)
4.2.8	色谱数据处理系统	(74)
4.3	高效液相色谱分析方法的建立	(74)
4.3.1	样品的性质与色谱分离模式的选择	(75)
4.3.2	体内药物分析中内标化合物的选择	(77)

4.3.3	色谱柱的选择	(77)
4.3.4	流动相的选择	(78)
4.3.5	梯度洗脱的应用	(78)
4.3.6	检测器的选择	(79)
4.3.7	应用实例	(80)
4.4	超高效液相色谱法	(83)
4.4.1	超高效液相色谱的理论基础——Van Deemeter 方程	(83)
4.4.2	超高效液相色谱的特点	(84)
4.4.3	超高效液相色谱仪	(85)
4.4.4	应用实例	(86)
4.5	液相色谱-质谱联用技术	(88)
4.5.1	质谱分析的基本原理	(89)
4.5.2	质谱仪器的组成	(89)
4.5.3	液质联用方法的建立	(95)
4.5.4	应用实例	(98)
第5章	气相色谱及其联用技术	(103)
5.1	填充柱气相色谱	(103)
5.1.1	气-固色谱法	(103)
5.1.2	气-液色谱法	(104)
5.2	毛细管柱气相色谱	(107)
5.2.1	毛细管柱气相色谱法的特点	(107)
5.2.2	毛细管色谱柱	(107)
5.2.3	毛细管色谱柱固定相	(108)
5.2.4	毛细管气相色谱的载气	(108)
5.2.5	进样系统	(108)
5.3	气相色谱常用检测器	(111)
5.3.1	热导检测器	(111)
5.3.2	火焰离子化检测器	(113)
5.3.3	电子捕获检测器	(114)
5.3.4	氮磷检测器	(115)
5.3.5	质谱检测器	(116)
5.4	顶空气相色谱法	(118)
5.4.1	顶空分析基本原理	(118)
5.4.2	顶空气相色谱的分类	(118)
5.5	气相色谱法在体内药物分析中的应用	(120)
5.5.1	建立气相色谱分析方法	(120)
5.5.2	应用实例	(123)
第6章	毛细管电泳及其联用技术	(126)
6.1	毛细管电泳的概念和基本原理	(126)

6.1.1	毛细管电泳的沿革	(126)
6.1.2	毛细管电泳的分离模式	(127)
6.1.3	毛细管电泳的分离原理	(128)
6.2	毛细管电泳的仪器系统及分离条件的选择	(130)
6.2.1	毛细管电泳仪的基本结构	(130)
6.2.2	毛细管电泳进样及富集	(131)
6.2.3	毛细管电泳分离条件选择	(133)
6.3	毛细管电泳的联用技术	(137)
6.3.1	CE-MS联用中的接口技术	(137)
6.3.2	CE-MS联用的几种分离模式	(140)
6.4	毛细管电泳在体内药物分析中的应用	(141)
第7章	免疫分析	(147)
7.1	免疫分析的分类及基本原理	(147)
7.1.1	免疫分析的类型	(147)
7.1.2	免疫分析的基本原理	(148)
7.1.3	免疫分析反应的基本条件	(149)
7.1.4	免疫分析的反应特点	(155)
7.2	放射免疫分析	(157)
7.2.1	放射免疫分析的原理	(157)
7.2.2	放射免疫分析的特点	(157)
7.2.3	放射免疫分析标记抗原的制备	(158)
7.2.4	游离标记和结合标记药物的分离技术	(159)
7.2.5	样品的测定	(160)
7.2.6	应用实例	(161)
7.3	酶免疫分析	(162)
7.3.1	基本原理	(162)
7.3.2	标记酶的选择	(162)
7.3.3	酶标药物的制备方法	(163)
7.3.4	均相酶免疫分析	(163)
7.3.5	非均相酶免疫分析	(164)
7.3.6	酶免疫分析的局限性和新进展	(165)
7.3.7	应用实例	(166)
7.4	荧光免疫分析	(166)
7.4.1	抗体的荧光素标记	(166)
7.4.2	底物标记荧光免疫分析	(167)
7.4.3	荧光偏振免疫分析	(168)
7.4.4	时间分辨荧光免疫分析	(169)
7.4.5	荧光淬灭免疫分析	(170)
7.4.6	荧光增强免疫分析	(170)

7.4.7	现代荧光免疫分析技术前进和展望	(171)
7.4.8	应用实例	(171)
第8章	成像技术	(173)
8.1	放射自显影技术	(173)
8.1.1	发展历史	(173)
8.1.2	放射自显影分类及相关技术	(173)
8.1.3	应用领域	(176)
8.1.4	应用实例	(178)
8.2	同位素示踪技术	(180)
8.2.1	发展历史	(180)
8.2.2	同位素示踪相关技术	(180)
8.2.3	应用领域或范围	(184)
8.2.4	应用实例	(186)
8.3	质谱成像技术	(188)
8.3.1	概况	(188)
8.3.2	质谱成像的原理和方法	(188)
8.3.3	质谱成像技术的应用	(191)
8.4	光谱成像技术	(193)
8.4.1	光谱成像技术的发展历史	(194)
8.4.2	光谱成像技术的原理	(194)
8.4.3	光谱成像技术的分类	(196)
8.4.4	光谱成像技术在生物医学中的应用	(197)
8.4.5	应用实例	(198)
8.4.6	现有医学成像光谱技术存在的问题	(199)
8.5	其他新技术	(199)
8.5.1	核磁共振成像	(199)
8.5.2	光学分子成像	(200)
8.5.3	量子点	(201)
第9章	手性药物分析研究	(203)
9.1	手性基本理论	(203)
9.1.1	手性及手性表示方法	(203)
9.1.2	手性药物	(204)
9.1.3	手性药物分析的内容、意义、方法	(206)
9.2	手性色谱法	(207)
9.2.1	色谱手性识别的三点作用模式	(207)
9.2.2	高效液相色谱法	(208)
9.2.3	液质联用	(216)
9.2.4	气相色谱法	(218)
9.2.5	手性毛细管电泳法和毛细管电色谱	(221)

9.2.6 超临界流体色谱法	(224)
9.3 手性光谱法	(227)
9.3.1 核磁共振法	(227)
9.3.2 旋光法	(230)
9.4 手性免疫分析法	(231)
第10章 中药的体内分析	(233)
10.1 概述	(233)
10.2 中药成分的体内分析	(234)
10.2.1 黄酮类成分的体内分析	(234)
10.2.2 生物碱类成分的体内药物分析	(241)
10.2.3 环烯醚萜类成分的体内药物分析	(248)
10.2.4 香豆素类成分的体内药物分析	(255)
10.3 体内药物分析在中药研究中的应用	(261)
10.3.1 中药血清指纹图谱研究	(262)
10.3.2 中药药代动力学研究	(264)
10.3.3 中药配伍研究	(267)
第11章 生物技术药物体内分析研究	(273)
11.1 生物技术药物概述	(273)
11.1.1 生物技术药物	(273)
11.1.2 生物技术药物的性质	(274)
11.1.3 生物技术药物的分类	(275)
11.1.4 生物技术药物的体内分析方法的特点	(277)
11.2 色谱分析法	(278)
11.2.1 高效液相色谱法	(278)
11.2.2 联用技术	(281)
11.2.3 应用实例	(283)
11.3 高效毛细管电泳法	(284)
11.3.1 毛细管区带电泳	(284)
11.3.2 胶束电动毛细管电泳	(284)
11.3.3 毛细管等电聚焦电泳	(285)
11.3.4 毛细管凝胶电泳	(285)
11.3.5 亲和毛细管电泳	(285)
11.3.6 应用实例	(286)
11.4 生化分析法	(288)
11.4.1 同位素标记示踪法	(288)
11.4.2 免疫分析法	(288)
11.4.3 实时荧光定量多聚酶链反应分析法	(291)
11.4.4 应用实例	(292)
11.5 生物检定法	(293)

11.6	生物技术药物体内分析的发展趋势	(294)
第12章	新药药物代谢动力学研究	(297)
12.1	新药非临床药物代谢动力学研究	(298)
12.1.1	新药非临床药物代谢动力学研究的目的和意义	(298)
12.1.2	新药非临床药物代谢动力学研究的基本要求与内容	(298)
12.1.3	新的缓控释制剂的非临床研究的内容与方法	(302)
12.1.4	应用实例	(304)
12.2	新药临床药代动力学	(310)
12.2.1	临床药代动力学研究的目的和意义	(310)
12.2.2	临床药代动力学的研究内容和研究方法	(310)
12.2.3	健康志愿者的药代动力学研究	(311)
12.2.4	目标适应证患者的药物动力学研究	(313)
12.2.5	特殊人群的药代动力学	(314)
12.2.6	群体药物动力学	(315)
12.2.7	应用实例	(316)
12.3	药物制剂生物利用度及生物等效性评价	(331)
12.3.1	药物制剂生物利用度和生物等效性评价的目的与意义	(331)
12.3.2	生物利用度及生物等效性试验原则和方法	(332)
12.3.3	缓控释制剂的生物利用度与生物等效性研究	(336)
12.3.4	应用实例	(338)
第13章	治疗药物监测研究	(348)
13.1	血药浓度的临床意义	(348)
13.1.1	药物治疗与药物效应的关系	(348)
13.1.2	与血药浓度相关的药代动力学参数	(349)
13.1.3	血药浓度的临床应用	(352)
13.2	治疗药物监测	(353)
13.2.1	治疗药物监测的意义	(353)
13.2.2	治疗药物监测的范围	(353)
13.3	治疗药物监测的实施	(355)
13.3.1	TDM 实施的临床指征	(355)
13.3.2	TDM 实施的方法	(355)
13.3.3	常用分析方法	(356)
13.3.4	质量控制	(359)
13.4	血药浓度测定种类	(362)
13.4.1	游离型和结合型药物总浓度的测定	(362)
13.4.2	游离型药物浓度的测定	(362)
13.4.3	活性代谢产物浓度的测定	(363)
13.4.4	内源性活性化合物的测定	(364)
13.5	甲氨蝶呤血药浓度监测	(365)

13.6 治疗药物监测研究的发展	(368)
13.6.1 治疗药物监测中分析技术的发展	(368)
13.6.2 群体药代动力学研究方法的发展	(368)
13.6.3 药物基因组学在治疗药物监测中的应用	(368)
13.6.4 中药治疗药物监测及个体化给药的发展	(370)
第14章 药物滥用检测	(372)
14.1 药物滥用概述	(372)
14.1.1 药物滥用及常见滥用药物	(372)
14.1.2 药物滥用危害	(373)
14.1.3 药物滥用检测方法	(374)
14.2 典型麻醉药品检测	(375)
14.2.1 阿片类	(375)
14.2.2 可卡因	(379)
14.2.3 大麻	(382)
14.3 典型精神药品检测	(385)
14.3.1 苯丙胺类	(385)
14.3.2 镇静催眠类药物	(389)
14.3.3 氯胺酮	(392)
第15章 药物相互作用研究	(397)
15.1 药物相互作用研究概述	(397)
15.1.1 药物相互作用基本类型	(397)
15.1.2 开展药物相互作用研究的意义	(398)
15.2 药物代谢动力学相互作用	(399)
15.2.1 药物代谢动力学相互作用的相关环节	(399)
15.2.2 I相代谢酶与药物相互作用	(400)
15.2.3 II相代谢酶与药物相互作用	(404)
15.2.4 转运体与药物相互作用	(407)
15.3 药效学相互作用	(410)
15.3.1 概述	(410)
15.3.2 药效学相互作用类型	(410)
15.4 药物相互作用研究技术方法	(411)
15.4.1 药动学相互作用研究技术方法	(411)
15.4.2 药效学相互作用研究技术方法	(416)
15.5 药物相互作用的预测及影响因素	(417)
15.5.1 体外数据对药物体内相互作用的预测	(418)
15.5.2 影响预测准确性的因素	(423)

第1章 绪论

1.1 体内药物分析的性质与意义

1.1.1 体内药物分析的性质

体内药物分析 (pharmaceutical analysis in biological samples), 又称生物医药分析 (biomedical analysis), 是一门研究药物及其代谢产物在生物体内数量和质量变化规律的方法学学科, 是药物分析的重要分支之一。通过体内药物分析, 可以获得药物或其代谢物的药代动力学参数, 了解其在体内的吸收 (absorption)、分布 (distribution)、代谢 (metabolism) 和排泄 (excretion) 情况, 也可以了解其与机体内的生物大分子 (如蛋白质分子) 之间相互作用的情况, 探索其在体内的代谢途径和代谢方式, 为新药研究和药物的临床应用提供科学依据。

1.1.2 体内药物分析的意义

以前, 对药物质量的控制主要是通过理化方法和生物学方法对药物进行鉴别、杂质检查和含量测定等工作, 根据药品质量标准的要求来控制药品的质量。随着研究的深入, 对药物质量控制由静态控制进入了全面质量控制, 对药物在体内的吸收、分布、代谢和排泄过程与药物疗效进行研究, 针对“化学上等效而生物学上不等效”等问题对药物质量进行全面质量控制。对药物的药代动力学和生物等效性进行研究必然要涉及到生物体内药物含量 (浓度) 的测定, 这就需要采用体内药物分析的方法和手段来进行研究。同时, 随着临床药理学和临床药理学的发展, 对药物与机体的相互作用、个体化给药进行研究已成为这些学科的研究热点, 而这些研究离不开体内药物分析。此外, 对药物滥用的监测和中药的现代化研究 (如中药药代动力学研究) 等也离不开体内药物分析。因此, 体内药物分析具有重要意义, 具体体现在以下几个方面。

1. 对新药进行评价, 为新药研究开发提供依据

(1) 新药评价: 世界各国对新药的研究开发都非常重视, 而且新药的研究开发也是推动药学各学科发展的重要力量。在新药的研究开发过程中, 新药的筛选和评价极为重要, 其中新药的药代动力学评价和新药制剂的生物等效性评价是新药评价的重要研究内容。新药的药代动力学评价包括临床前药代动力学评价和临床药代动力学评价。临床前药代动力学研究就是采用动物体内和体外的研究方法, 研究药物在动物体内的动态变化规律, 获得药物的基本药代动力学参数, 阐明药物的吸收、分布、代谢和排泄的过程和特点。临床前药代动力学评价在新药的研究与开发过程中起着极其重要的作用。在新药的临床前评价中, 药代动力学评价既是一项独立的评价, 也与其他新药评价密切联系。例如, 在新药的药效学和毒理学评价中, 药物的药代动力学行为及其药代动力学参数是决定药效或毒性大小的基础; 在药物制剂的研究中, 临床前药代动力学研究结果是评价药物制剂特性的重要依据, 其结果可以为制剂

处方的设计和优化提供重要信息。新药的临床药代动力学研究的受试对象是人,因而又称人体药代动力学试验。新药的临床药代动力学研究的目的是阐明药物在人体内的吸收、分布、代谢和排泄的动态变化规律,全面了解药物和人体之间的相互作用,为临床制定合理的用药方案提供依据。临床药代动力学的研究内容包括:①健康志愿者的药代动力学研究,包括药物代谢物的药代动力学研究和药-药之间的相互作用研究;②目标适应证患者的药代动力学研究,即研究药物在适应证患者中的药代动力学特点,探讨药物的药动学与药效学之间的关系(即PK-PD关系),研究其治疗血药浓度的范围,为该药物的临床用药方案的制定提供依据;③特殊人群中的药代动力学研究,即研究药物在一些特殊人群中的药代动力学,如药物在老年患者中的药代动力学、药物在儿童患者中的药代动力学、药物在肝功能损害患者中的药代动力学、药物在肾功能损害患者中的药代动力学,等等。在新药的药代动力学评价中,首先要测定机体内的药物浓度,而这就需要建立体内药物分析的方法。因此,体内药物分析是新药药代动力学评价的基础,在新药的评价中具有重要意义。

(2) 新药发现与新药制剂开发: 新药发现是创新药物研究的起点和关键。药物代谢研究是新药发现的有效途径之一。通过对药物代谢产物的研究,可能会发现一些代谢产物具有更强的活性和更小的副作用,从而进一步开发成新药。例如,通过对抗过敏药氯雷他定的代谢研究,发现其代谢产物去羧氯雷他定具有比母药氯雷他定更强的抗组胺受体作用,从而具有更好的抗过敏效应,目前已被开发成新药。通过对特非那定的代谢研究,发现其代谢产物非索非那定具有毒副作用小、作用时间长的特点,目前已被开发成了新型抗组胺药物。通过对解热镇痛药物非那西丁的代谢研究,发现其代谢物扑热息痛的镇痛作用更强,且不导致高铁血红蛋白血症及溶血性贫血,因而将扑热息痛开发成了新的解热镇痛药物,取代了非那西丁。这种通过对药物代谢产物的研究发现新药的例子还有不少。此外,通过对药物的代谢进行研究,针对其代谢导致的问题,从而进行结构改造,使药物具备更好的特性。例如,通过对6-巯基嘌呤的代谢研究发现其在体内容易代谢失活,因而对其结构进行改造以保护巯基,于是有了新药巯唑嘌呤的开发。由此可见,药物代谢研究对新药发现和新药开发具有重要意义,而药物代谢研究离不开体内药物分析,因此体内药物分析在新药发现和新药开发中也具有重要作用。

新药的剂型设计即新制剂开发与药代动力学研究密切相关。药物的药代动力学研究是进行剂型设计的基础。一种药物制剂在体内的吸收、分布、代谢和排泄特性既与这个药物的理化性质密切相关,也与该制剂的所使用辅料和制备工艺密切相关。因此,进行药物制剂的开发离不开药代动力学的研究,因而体内药物分析在药物制剂开发的过程也具有重要意义。

2. 指导临床合理用药

药物治疗在临床上具有极其重要的作用,其基本要求是安全和有效。当患者诊断明确后,必须正确地选择药物及其剂型、给药途径、给药剂量和给药间隔等(即给药方案),才能有效、安全地达到预期的治疗目的。因此制定合理的给药方案非常重要,合理的给药方案能够使药物在靶部位达到最佳的治疗浓度,从而获得最佳的治疗效果和最小的副作用。目前临床上常用的给药方案绝大多数是多年临床用药的药效学观察的积累和总结,其推荐的给药剂量也是一种平均剂量。这种给药方案虽然有很重要的应用价值,但由于药物作用存在个体差异,这些给药方案适用于大部分人,但不适用于对药物高度敏感者和耐受者。另外,对于那些治疗窗较窄的药物如地高辛、氨茶碱、苯妥英钠、胺碘酮、利多卡因、环孢素等,要求血药

浓度的波动范围在最低中毒浓度和最小有效浓度之间,而个体在药物的吸收、分布、消除方面的差异常常造成血药浓度的显著变化,因此对这些药物有必要进行个体化给药。

进行个体化给药方案的设计和调整,需要对血药浓度进行监测。作用部位的药物浓度决定药物效应,但测定作用部位的药物浓度通常比较困难,而多数血药浓度与作用部位的药物浓度存在平行关系,因此,通过监测血药浓度可以了解药物效应,为临床对用药剂量的调整提供指导,从而使血药浓度落在治疗窗范围内,避免中毒和治疗失败。但是只有当血药浓度与临床疗效相关或者血药浓度与药物的副作用相关时,进行血药浓度监测才有意义。个体化给药的基本程序为:①患者经明确诊断,选择适合的药物及给药途径,并确定给药方案,包括确定药物的剂量及给药间隔;②给药后,在观察临床疗效的同时,按一定的时间点采取适当次数的血液样本,测定其血药浓度;③根据血药浓度-时间数据计算患者个体的药代动力学参数,并结合文献资料与患者的实际情况选定合适的治疗血药浓度,调整给药剂量和给药间隔;④按新的给药方案给药,并继续观察。由此可见,个体化给药的中心是根据血药浓度-时间数据计算其药代动力学参数,并进行给药剂量和给药间隔的调整。血药浓度的测定依靠体内药物分析。因此,从这个意义上讲,体内药物分析在指导临床合理用药方面具有重要意义。此外,当怀疑患者药物中毒的时候,通过测定患者体内的药物浓度可以确定其是否是药物中毒。因此,体内药物分析在临床药物中毒的诊断等方面也具有重要意义。

3. 中药的现代化研究

中医中药是中华民族瑰宝,为人民的健康和民族的繁衍作出了不可磨灭的贡献。中药是在中医药理论的指导下用于预防与治疗疾病的传统药物。几千年的临床实践证明,中药在防病治病方面具有确切的疗效。临床上,中药复方是其主要的用药形式。由于中药复方由少则两味,多则几十味中药组成,而每一味中药含有几十种甚至上百种化学成分,所以一个中药复方含有的化学成分可能有几百种甚至更多。由于中药复方化学成分的复杂性,其防病治病的物质基础不明确,发挥疗效的作用机制也不甚明了,各药味之间的配伍机制也非常复杂,阻碍了中药的现代化研究进程。因此,利用中药药代动力学、中药血清指纹图谱等研究方法开展中药及其复方产生疗效的物质基础、作用机制及其配伍规律等方面的研究,对促进中药现代化研究有着极其重要的意义,而这些研究方法的核心就是测定生物样本中的中药成分的浓度,这就需要建立合适的体内药物分析方法。因此,体内药物分析在中药的现代化研究中具有重要的作用。

1.2 体内药物分析的对象与特点

1.2.1 体内药物分析的对象

1. 生物样品

体内药物分析是通过分析手段了解药物在生物体内的数量与质量的变化,获得各种药代动力学参数、代谢途径等信息,从而有助于药物的研究开发与评价、指导临床用药以及中药的现代化研究。因此,生物体(包括人和动物)内药物所到之处相关的体液、组织、器官和排泄物都是体内分析的对象。其中血液样品是最为常见的生物样品,这是因为血药浓度与药理作用密切相关,通过分析血药浓度,建立血药浓度-时间曲线,估算出其药代动力学参数,

研究影响药物吸收、分布、代谢和排泄各环节的因素,评价药物(制剂)的质量。除了血液样品外,尿液、唾液、胆汁、淋巴液、脑脊液、乳汁、精液和粪便等样品也是体内药物分析的对象。此外,随着药物研究水平的提高,高通量筛选技术的应用,对药物早期开发的安全性、有效性、药代动力学评价多采用体外试验方法(如 Caco-2 细胞模型、人 CYP 转基因细胞模型、动物和人肝组织匀浆、微粒体等)。这些体外实验方法的样品也是体内药物分析的对象,通过对这些样品的分析,能了解药物的吸收、代谢等信息。

2. 分析目标

体内药物分析的目的是了解药物在机体内的质量和数量的变化,因此,体内药物分析的分析目标应包括药物及其代谢产物。此外,研究药物与机体之间的相互作用时,机体内的内源性物质也是体内药物分析的分析目标之一。

1.2.2 体内药物分析的特点

体内药物分析的分析对象是生物样本,与常规的药物分析相比,体内药物分析自有其特点,其特点可以归纳为以下几点。

1. 干扰物多

体内药物分析的样品中含有很多干扰分析的杂质,包括内源性和外源性的杂质。内源性杂质包括样品中与待测物共存的蛋白质、多肽、脂肪酸、色素、糖类等有机物,以及钠、钾、氯、碳酸盐、碳酸氢盐等无机物。这些杂质在生物样品中的含量较高,种类较多,成分复杂,在样品的前处理中很难完全去除干净,因而容易干扰生物样品中微量药物的测定。外源性的杂质则是指在生物样品的分析、处理过程中引入的杂质,如样品处理时容器中带入的杂质,这些杂质的量一般不大,但是由于生物样品中待测药物的量一般是微量的,因而这些外源性的杂质对生物样品的分析的影响比较大,要特别注意。因为同样的原因,内源性杂质对待测药物的分析的影响也比较大。因此,进行体内药物分析时,对生物样品一般都要进行分离、纯化后再分析,而且大多数情况下,要求分析方法具有较高的灵敏度和选择性。

2. 被测药物(或代谢物)浓度低

生物样品中待测物(药物或代谢物)的浓度在大多数情况下很低,一般在 $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1} \sim \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 之间。例如,大鼠血浆中的小檗碱的浓度为 $0.4 \sim 6.2 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 梓醇的血药浓度为 $0.2 \sim 4.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。也有少量的药物在生物样品中浓度较高,如丙戊酸的血药浓度高达 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。此外,进行药代动力学研究的时候,其峰浓度与低浓度点浓度(常为 4~5 个半衰期后)变化幅度大,低浓度点的浓度很低。因此,对样品处理的最后一步常采用富集浓缩的方法对待测组分进行浓集以方便测定。

3. 样品量少

应用大鼠等小动物进行试验时,其生物样品(如血样)采样量受到限制,尤其是在连续取样的情况下,一次采样量受到限制,而且很难再次获得完全相同的样品。例如,采用大鼠进行药代动力学试验,每次采样量一般为 $0.1 \sim 0.3 \text{ mL}$, 分离得到的血浆或血清不超过 0.2 mL 。

4. 对分析方法要求较高

由于体内药物分析的生物样品量小,其中的待测物(药物或其代谢物)浓度又低,因此,进行体内药物分析时,一般要求所采用的分析方法具有较高的灵敏度和专属性。

5. 要求较快提供分析结果

当体内药物分析用于治疗药物监测、滥用药物患者的救治或药物中毒患者的抢救时,要求尽快提供分析结果,为临床用药监护和中毒抢救提供信息。这种情况下,要求建立的分析方法简便、快速,以便快速测定,为临床服务。

6. 需要一定的仪器设备

进行体内药物分析的时候,由于生物样品中待测物浓度低,杂质干扰大,因而需要对生物样品进行前处理。而且,因为大多数情况下生物样品中的待测物是微量的,要求其分析方法具有较高的灵敏度和专属性。因此,进行体内药物分析时,要求实验室具备样品冷储、萃取、分离、浓集等预处理设备和各种高选择性、高灵敏度的分析仪器如 HPLC、LC-MS、GC、GC-MS、HPCE、LC-NMR 等等。

7. 工作量大

体内药物分析常用于药代动力学研究中,不管是临床前药代动力学研究还是临床药代动力学研究,其需要测定的样品数量往往达数百个,工作量很大。例如,在新药的 I 期临床药代动力学试验研究中,一般选用高、中、低 3 个剂量,每个剂量组要求有健康志愿者 8~12 例,每例志愿者的采样点不少于 12 个,可见其需要分析的样品量之大。根据测得的各受试者的血药浓度-时间数据建立受试者的血药浓度-时间曲线,估算其药代动力学参数,并对其药代动力学参数进行分析。有时,这些数据的处理和阐明较为困难,工作量也大。

1.3 体内药物分析方法及其新技术、新要求

1.3.1 体内药物分析方法

体内药物分析采用的分析方法众多,可以分为以下几类:色谱法及其联用技术、免疫法、光谱法、放射性核素标记法和生物学方法等等。各种方法分别具有不同特点,实际应用的时候应根据待测物的性质、浓度范围、预处理方法、实验目的和实验室的条件等情况综合考虑,选择合适的方法进行测定。

1. 色谱法及其联用技术

色谱法包括高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱法(GC)、高效毛细管电泳法(HPCE)和薄层色谱法(TLC)等。其中 TLC 现在很少用于体内药物分析。色谱联用技术有液相色谱-质谱联用(LC-MS)、气相色谱-质谱联用(GC-MS)、高效毛细管电泳-质谱联用(HPCE-MS)、液相色谱-核磁共振联用(LC-NMR)等。色谱法具有分离分析能力,其专属性和灵敏度较高,是体内药物分析中常用的方法。近 20 年来,随着色谱方法的普及,其在体内药物分析的方法中占据着主导地位。特别是高效液相色谱法(包括超高效液相色谱,UPLC)以及其与质谱联用(LC-MS)是体内药物分析中使用最多的方法。据不完全统计,自 1990 年以来,在公开发表的相关文献中,高效液相色谱法占体内药物分析方法总数的 50% 以上。不断开发的各类型液相色谱柱和检测器,使得高效液相色谱技术适合于绝大多数药物的体内分析。特别是液相色谱与质谱、核磁共振联用,不但提高了其分析的灵敏度(将常规 HPLC 的 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 级提高到 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 级),而且能进行结果确证(与 MS^n 、NMR 联用),这使得 LC-MS、LC-NMR 在药代动力学研究(特别是代谢研究)方面的应用非常广泛。高效液相色谱