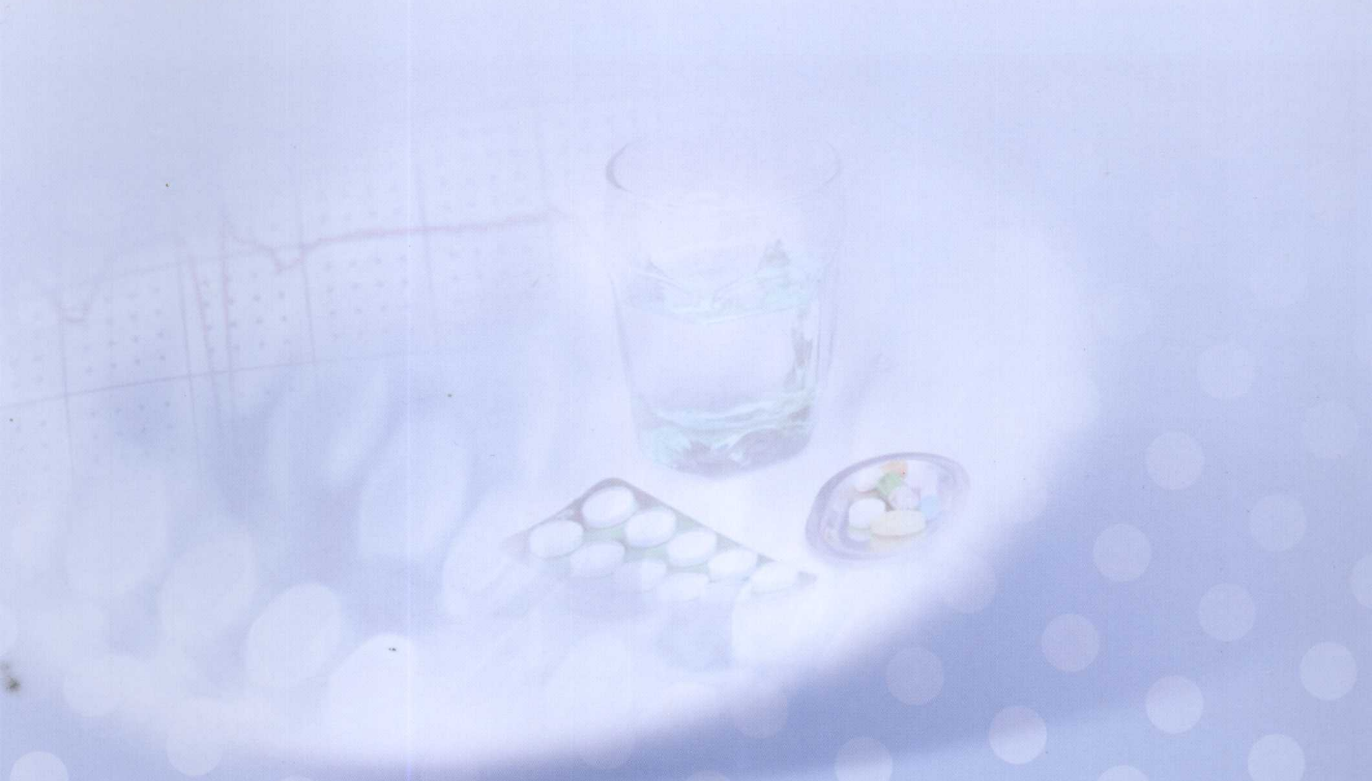



► 药物分析丛书

体内药物分析

● 主编 李好枝



 人民卫生出版社

药物分析丛书

体内药物分析

主编 李好枝

人民卫生出版社

图书在版编目(CIP)数据

体内药物分析/李好枝主编. —北京:
人民卫生出版社, 2008.1

药物分析丛书

ISBN 978-7-117-09406-1

I. 体… II. 李… III. 体内—药物分析 IV. R917

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 171749 号

体内药物分析

主 编: 李好枝

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-67616688)

地 址: 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

邮 编: 100078

网 址: <http://www.pmph.com>

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

印 刷: 北京市后沙峪印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 18.75

字 数: 456 千字

版 次: 2008 年 1 月第 1 版 2008 年 1 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-09406-1/R·9407

定 价: 33.00 元

版权所有, 侵权必究, 打击盗版举报电话: 010-87613394

(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)

药物分析丛书编写说明

药物分析课程是药学专业的一门专业课程,针对 21 世纪药学专业人才培养的需要,它的任务是培养学生具备强烈的药品全面质量控制的观念,使学生能胜任药品研究、生产、供应和临床使用过程中的分析检验工作,在我国药物研究从仿制为主到创制新药为主的历史性转变中,能够具备为提高药品质量所需的独立分析问题和解决问题的能力以及创新能力的基本素质。

本科教育是培养创新人才的教育基础,学生的能力素质和发展后劲很大程度上取决于本科阶段的训练。为了在有限的教学时间内不断提高学生的培养质量,实现学生个性化、自主化的学习积极性,在 2006 年 7 月 1 日召开全国高等学校药学类专业第六版规划教材主编人会议之前提议编写一套《药物分析丛书》,为学生提供充足的自主学习的扩充性资料,当即得到了安登魁教授、张正行教授和杭太俊教授的赞同,及有关院校各位主编的支持,并在主编人会议上获得认同。

《药物分析丛书》包括药物光谱分析、药物色谱分析、体内药物分析、手性药物分析、中药制剂分析、生物制品分析、药物信息学和现代联用技术等 8 本专论,系统地提供了大量教科书以外的专业实践知识,最新进展与动态等信息,给读者提供了主动学习的平台,拓宽了研究药品质量的知识面。多种扩充性资料的学习,开阔了读者的视野,使读者对药物质量研究有了全面的更加深入的领悟,提高了读者研究药品质量的能力与素质。

《药物分析丛书》各专论在基本理论的基础上,重点讲分析方法设计,并列举在药品质量研究和药学研究的较大量实例,具有基础扎实,应用面宽的特点。《药物分析丛书》可为本科生、研究生提供扩充性学习资料,也可用作选修课的教材,或者为药学领域各专门人才提供业余学习和科研工作的参考资料。

热诚欢迎各位读者多提宝贵意见!

全国高等学校药学类专业规划教材
《药物分析》第四版至第六版主编

刘文英

2007 年 8 月

前 言

本书为《药物分析》系列丛书之一,是介绍体内药物分析方法学在医药领域具体应用的一部实用技术专著。主要为高等医药院校药学专业和相关专业的本科生和硕士研究生提供扩充性学习资料,也可用作选修课的教材,或者作为从事新药研究、临床治疗药物监测、滥用药物检测等各专门人才业余学习的参考资料。

本书分总论和各论两篇,共十章。上篇总论(1~3章),介绍体内药物分析的意义、性质、任务、对象、特点、分析方法及热点、难点问题;生物样品的种类、预处理方法及分析方法的建立与评价等理论知识。下篇各论(4~10章),分别介绍体内药物分析方法在治疗药物监测、药代动力学研究、滥用药物检测、内源性物质测定、体内手性药物测定、中药药动学研究、体内微量元素测定等七个方面的实际应用。

编写本书力求内容实用性和技术先进性。本书重点参考国内药学工作者在2001~2006年间的科研成果,其中相当一部分为国家自然科学基金和各省、市科研基金资助课题,在一定程度上反映了本学科目前的技术水平,代表了我国体内药物分析近年来蓬勃发展的现状。根据药物的结构、性质进行分析方法的设计与评价、生物样品预处理方法的选择,以及通过对实验结果的讨论都将给读者以很好的启迪。

在第九次全国药物分析教学研讨/教材编写会议上(上海2006.10),受《药物分析》(第四、五、六版)主编刘文英教授的推荐,有幸承担编写本书的任务。但由于时间和水平所限,书中难免有不妥之处,诚望广大师生、读者提出宝贵意见。

本书在编写前及编写过程中,得到沈阳药科大学毕开顺副校长等领导的大力支持;在网络查阅文献过程中,得到本校图书馆研究馆员王桂清老师的热心指导和帮助;在此一并表示衷心的感谢。

李如松

沈阳, 2007年6月15日

目 录

上篇 总论

第一章 绪论	2
第一节 体内药物分析的兴起及其意义	2
一、体内药物分析的兴起	2
二、体内药物分析的意义	3
第二节 体内药物分析的性质与任务	3
一、体内药物分析的性质	3
二、体内药物分析的任务	3
第三节 体内药物分析的对象及特点	4
一、体内药物分析的对象	4
二、体内药物分析的特点	4
第四节 体内药物分析方法与新要求、新技术	5
一、体内药物分析方法	5
二、分析方法的新要求与新技术	7
第五节 学科热点与难点	7
第二章 生物样品与样品制备	10
第一节 生物样品的种类、采集、制备与贮存	10
一、生物样品的种类、采集和制备	10
二、生物样品的贮存与处理	16
第二节 离线生物样品制备方法	17
一、生物样品预处理的的目的	17
二、生物样品预处理应考虑的问题	18
三、离线生物样品制备方法	19
四、离线生物样品制备方法选择示例	39
第三节 在线生物样品制备方法	40
一、柱切换高效液相色谱法	41
二、限进填料高效液相色谱法	43
三、微透析技术与其他分析方法联用	44
第三章 体内药物分析方法的建立与确证	48
第一节 分析方法的设计依据	48

一、待测药物的理化性质及体内存在状况	48
二、分析测定的目的与要求	49
三、生物样品的类型与样品制备方法	49
四、实验室条件	49
第二节 分析方法建立的一般步骤	49
一、分析方法的选择	49
二、分析方法的建立	50
第三节 分析方法确证的内容与要求	51
一、相关的基本概念	52
二、分析方法确证的内容与要求	52

下篇 各论

第四章 分析方法在治疗药物监测中的应用	68
第一节 治疗药物监测	68
一、开展治疗药物监测的临床意义	68
二、治疗药物监测的适应范围	69
三、治疗药物监测与个体化用药	70
第二节 分析方法在治疗药物监测中的应用	73
一、高效液相色谱法	74
二、荧光偏振免疫分析法	81
三、放射免疫分析法	85
四、双波长紫外分光光度法	85
五、比色法	87
六、液相色谱-质谱联用法	88
七、高效毛细管电泳法	89
第五章 分析方法在药物代谢动力学研究中的应用	98
第一节 药物代谢动力学参数测定的应用示例	99
一、高效液相色谱法	99
二、液相色谱-质谱联用法	103
三、高效毛细管电泳法	112
第二节 生物利用度和生物等效性测定的应用示例	114
一、高效液相色谱法	114
二、液相色谱-质谱联用法	119
三、气相色谱法	123
四、荧光偏振免疫分析法	125
五、微生物法	127

第三节	药物代谢物测定的应用示例	128
一、	高效液相色谱法	129
二、	液相色谱-质谱联用法	134
第四节	药物的吸收、分布、排泄研究中的应用示例	139
一、	高效液相色谱法	140
二、	液相色谱-质谱联用法	147
三、	紫外分光光度法	149
第五节	药物-药物的相互作用研究中的应用示例	152
一、	高效液相色谱法	153
二、	液相色谱-质谱联用法	162
三、	荧光偏振免疫分析法	166
第六章	分析方法在滥用药物检测中的应用	169
第一节	滥用药物及其危害	169
一、	临床上滥用药物	169
二、	体育运动比赛中兴奋剂的滥用	170
三、	鸦片类毒品的滥用	171
四、	苯丙胺类中枢兴奋剂的滥用	171
五、	苯并二氮杂革类药物的滥用	172
六、	其他	172
第二节	分析方法在滥用药物检测中的应用	172
一、	高效液相色谱法	174
二、	气相色谱法	178
三、	气相色谱-质谱联用法	183
四、	液相色谱-质谱联用法	189
五、	高效毛细管电泳法	193
六、	薄层色谱法	194
七、	免疫分析法	198
第七章	分析方法在内源性物质检测中的应用	201
第一节	分析方法在内源性生物胺测定中的应用	201
一、	内源性生物胺及检测方法	201
二、	分析方法在内源性生物胺测定中的应用示例	202
第二节	分析方法在内源性甾体激素测定中的应用	210
一、	分析方法在内源性肾上腺皮质激素测定中的应用	210
二、	分析方法在内源性雄激素测定中的应用	213
三、	分析方法在内源性雌激素测定中的应用	214
第八章	分析方法在体内手性药物测定中的应用	218
第一节	手性药物及分析方法	218
一、	高效液相色谱法	218
二、	高效毛细管电泳法	219

三、液相色谱-质谱联用技术	219
四、气相色谱法	220
五、超临界流体色谱法	220
六、分子烙印法	220
第二节 手性药物测定应用示例	220
一、高效液相色谱法	220
二、液相色谱-质谱联用法	225
三、高效毛细管电泳法	229
第九章 分析方法在中药药代动力学研究中的应用	235
第一节 概述	235
一、中药药代动力学	235
二、血药浓度法	235
第二节 分析方法在体内中药研究中的应用	236
一、血药浓度与中药药代动力学参数测定中的应用示例	236
二、中药体内分布与排泄研究中的应用示例	248
三、中药代谢物研究中的应用示例	256
四、中药生物利用度和生物等效性测定的应用示例	258
第十章 分析方法在体内微量元素测定中的应用	265
第一节 概述	265
一、微量元素与人体健康的关系	265
二、微量元素的测定方法	268
第二节 分析方法在微量元素测定中的应用	269
一、光谱法测定微量元素的应用示例	269
二、催化动力法测定微量元素的应用示例	276
三、电化学分析法测定微量元素的应用示例	278
四、色谱法测定微量元素的应用示例	279

索 引

I 药物中文名称索引	284
II 药物英文名称索引	287

上 篇

总 论

第一节 体内药物分析的兴起及其意义

一、体内药物分析(Pharmaceutical Analysis in Biological Samples)的兴起

20 世纪 60 年代以来,药学领域中发展产生了两门与临床实践直接相关的学科:①临床药理学(Clinical Pharmacology);②生物药剂学(Biopharmaceutics; Biopharmacy)。临床药理学研究的主要内容:新药疗效与毒性的评价、药物临床试验研究、药物相互作用和作用机理研究等。生物药剂学研究的主要内容:药物及其制剂在体内的吸收、分布、代谢与排泄过程,阐明药物剂型、工艺-药物浓度-药效之间的关系,生物利用度及生物等效性研究等。当临床药理学和生物药剂学与医疗实践相结合时,可以提高医院临床用药的安全性、有效性与合理性。临床药理学和生物药剂学的研究内容均涉及体内(体液、组织等)药物浓度与机体药理效应的相互关系、药物及代谢物的体内代谢过程。

在开展上述两门学科的研究和实际工作中,首先遇到的和必须解决的问题就是建立体内微量药物及其代谢物的分离、分析方法。以此进行药物的临床监测,新老药物剂型的生物利用度、生物等效性评价,药物毒副反应与药效学阐述,以及前体药物和新药的研发等。因此可以说,临床药理学和生物药剂学的发展给药物分析学科提出了新的要求,而体内药物分析方法学的完善与提高是上述学科的实验手段和技术基础。

20 世纪 70 年代初期,体内药物分析在国外开始建立和发展,至 70 年代末,血药浓度监测已广泛用于临床。进入 80 年代后,体内药物分析发展较快,学科雏形已基本形成,出版了一些颇有影响的著作。如 Sadée 等著《Drug Level Monitoring》(1980)等。同时在各种药学杂志上涌现出大量的体内药物分析研究论文。一些文摘性期刊也将体液中药物分析内容列出专项,并出现专业学术会议及会议论文集。这标志该学科已日趋成熟。进入 90 年代后,随着各种微量、超微量分离、分析技术的应用,使该学科得到了更快的发展,成为一门综合性较强的应用学科。

我国学者对体内药物分析的关注始于 20 世纪 70 年代末期。鉴于技术、设备条件有限,多采用比色法、紫外分光光度法、薄层色谱法零星开展工作。

自 20 世纪 80 年代末期以来,高效液相色谱仪得以普及,高效液相色谱法成为主流分析技术。

另一方面,在高等药学教育中也逐渐增加了体内药物分析的内容。从 20 世纪 80 年代

中期开始,中国药科大学、沈阳药科大学等几所高等医药院校,为本科生、硕士研究生开设了体内药物分析课程,编写了各种讲义和教材。

同时,国内药学和临床医学杂志上与体内药物分析研究相关的论文也与日俱增,专业技术队伍不断扩大,并出现了各具特色的研究群体。专著的出版往往标志着学科的进步和发展,在过去二十多年里,由南京药学院药物分析教研室吴如金等根据大量国外文献与自身实践,在国内率先编写出版了《体内药物分析》(人民卫生出版社,1984),对学科的内容、方向和正名起到了极其重要的作用。接着,许多专著相继出版,如陈刚主编的《治疗药物监测——理论与实践》(第一版 1985;第二版 1988);陆明廉主编的《血药浓度测定与临床应用》(1986);曾经泽主编的《生物药物分析》(第二版 1998);李好枝主编、七所大学参编的全国第一本统编教材《体内药物分析》(中国医药科技出版社,2003)等著作,都对学科发展与学术水平的提高发挥了积极作用。

二、体内药物分析的意义

在相当长的时间里,人们对于药物质量的认识和控制主要集中在通过理化、生物手段对药物进行鉴别、检查、含量测定等工作。如今,对于药物在体内的吸收、分布和代谢过程与疗效的关系有了进一步的认识,确悉药理作用的强度常常因用药者间的个体差异所引起的体内药物浓度差别很大而显著不同。即存在“化学上等价而生物学上不等价”的问题。因此,不能只着眼于体外药物质量,也需要研究和了解药物在生物体内的表现。虽然进行临床药学研究由生物药剂学和临床药理学等学科承担,但两门学科都涉及药物进入体内后各个过程中的变化和数量问题。由于近代分析技术的发展,进行上述问题的探讨已成为可能。这样就形成了药物分析的新学科——体内药物分析。体内药物分析采用分析的手段了解药物在体内数量与形态的变化,获得各种药物代谢动力学参数和药物转变、代谢的方式、途径等信息;从而有助于从药物的研究、生产、临床应用等各方面对所研究的药物作出评价,有助于药物的改进和发展。简单地说,如果没有体内药物分析提供数据和有关信息,进行临床药学研究是不可想象的。

第二节 体内药物分析的性质与任务

一、体内药物分析的性质

体内药物分析是一门研究生物机体中药物及其代谢物和内源性物质的质与量变化规律的分析方法学。它是药物分析的重要分支,又是现代药学的创新、延伸和发展。体内药物分析直接关系到药物研制,临床试验、使用,药物作用机理探讨,药物质量评价等工作。它在探求科学用药规律与安全、有效、合理用药,开发新药、保障健康长寿方面具有重要作用。

二、体内药物分析的任务

1. 进行分析方法学研究,提供最佳分析条件;评定各种分析方法的灵敏度、专属性(也称特异性或选择性)和准确度;探讨各种方法应用于体内药物分析的规律性问题。

体内药物分析的样品来自生物体,组成较复杂,干扰物影响较大,而且一般药物含量低。

进行药物体内研究时,要求分析方法的灵敏度、专属性和可靠性均较高。

治疗药物监测(Therapeutic Drug Monitoring, TDM)工作直接服务于临床,这类分析的特点是要求结果及时而且往往分析数量较大。因此,需要简便、快速、灵敏、准确的分析方法。

总之,分析方法学的研究是体内药物分析的主要任务。

2. 为药物体内研究提供数据。在新药研制过程中,按照国家药品注册有关规定,要提供药物在动物和人体内的药物动力学参数、生物利用度及血浆蛋白结合率等基本数据。对于已经应用于临床的药物,仍有必要再进行深入的体内研究。这些研究工作要靠体内药物分析提供数据。

3. 为临床治疗药物监测提供准确的血药浓度测定值,并对血药浓度进行具体分析和合理解释,提供药学情报和信息,参与指导临床科学用药、确定最佳剂量、制订药物治疗方案。

4. 内源性物质的测定和研究。体内内源性物质如激素、儿茶酚胺和尿酸等,在机体正常生理条件下均处在一定的浓度范围内,如果这些物质在体内的含量发生明显变化或出现异常,提示机体发生了病变。因此,测定内源性物质的含量,对于某些疾病的诊断及治疗具有重要作用。

5. 滥用药物的检测。麻醉药品和精神药品的滥用问题在世界范围内日益严重,如何确证嫌疑人存在药物滥用现象,已成为一个重要的课题。如对于吸毒者体内的毒品(海洛因等)和运动员体内的违禁药品(兴奋剂等)的测定,也必须使用体内药物分析手段和技术才能完成。

第三节 体内药物分析的对象及特点

一、体内药物分析的对象

药物从生产到临床应用,药物质量的评价尺度是有效性和安全性,即根据药物在体内的表现作出评价。新药进入临床之前,或者对老药物在某方面的新评价,一般首先在动物体上进行实验。也就是说,体内药物分析对象不仅是人体,也包括动物体,因此,体内药物分析又被称为“生物医药分析”(Biomedical Analysis)或“生物药物分析”(Biopharmaceutical Analysis)。具体检材有生物体的各种器官、组织和体液等。

已知药物在作用部位的浓度直接与药理作用相关,而药物在体内主要靠血液输送到作用部位,因此血药浓度可作为药物在作用部位浓度的一项指标,即血液是体内药物分析的主要对象。另外还有尿液、唾液、头发和组织等。药物在体内的代谢产物常具有一定的生理特性,弄清它们的种类、结构和数量对该药物的评价极为重要,故体内药物代谢物的分析也是体内药物分析的内容之一。

二、体内药物分析的特点

1. 干扰物多。生物样品中含有蛋白质、脂肪、尿素等有机物和 Na^+ 、 K^+ 等无机物,可能干扰测定。同时,体内内源性物质可与药物结合,也能干扰测定。药物代谢产物也往往干扰分析。因此,样品一般均需经过分离、净化后才能进行分析。

2. 样品量一般较少,且多数在特定条件下采集,不易重新获得。一般浓度低、变化幅度

大。因此,初步分离后,在测定前需要浓缩、富集以适应分析方法的要求。

3. 由于药物浓度较低,对分析方法的灵敏度及专属性要求较高。

4. 有时由于被测药物浓度极低,需测定其缀合物及其代谢产物。

5. 药物浓度监测的分析方法,要求简便、快速,以便迅速为临床用药及中毒解救提供数据和情报。

6. 实验室应拥有可以进行复杂样品分析的设备。如样品冷藏、萃取、离心分离、浓集等必要设备及高灵敏度的分析仪器等。

7. 工作量大,测定数据的处理和结果的阐明有时不太容易。

第四节 体内药物分析方法与新要求、新技术

一、体内药物分析方法

体内药物分析方法包括光谱法(比色法、紫外分光光度法、荧光分光光度法、原子吸收分光光度法)、色谱法(薄层色谱法、气相色谱法、高效液相色谱法)、免疫分析法(放射免疫分析、酶免疫分析、荧光免疫分析等)、电化学分析法(电位法、伏安法)、微生物法以及各种联用技术如气相色谱-质谱联用、液相色谱-质谱联用等。

20世纪80年代初,Sadée等对生物样品中75种药物所采用的分析技术做过调查,结果见表1-1。

表 1-1

分析方法	用该法药品数	占全部药品的百分数
气相色谱法(Gas Chromatography, GC)	58	77%
高效液相色谱法 (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)	52	70%
质谱法(Mass Spectrometry, MS)	40	53%
放射免疫测定法(Radioimmunoassay, RIA)	29	39%
荧光分光光度法(Fluorescence, Fluor)	26	35%
比色法(Colorimetry, Col)	26	35%
薄层色谱法(Thin-Layer Chromatography, TLC)	24	32%
紫外分光光度法(Ultraviolet Spectrophotometry, UV)	22	29%
酶免疫测定法(Enzyme Immunoassay, EIA)	17	23%
极谱法(Polarography, Pol)	10	13%
微生物学测定法(Microbiological Assay, Micro)	8	11%
酶测定法(Enzymatic Assay, EA)	6	8%
其他免疫测定法(Other Immunoassay, IA)	5	7%
蛋白结合测定法(Protein Binding Assay, PBA)	4	5%
其他分析方法	5	7%

从上面的结果看出,国外在 20 世纪 80 年代初期,采用 GC 法测定的药物最多,其次是 HPLC 法、MS 法、RIA 法、Fluor 法、Col 法、TLC 法、UV 法等。

我国体内药物分析于 20 世纪 80 年代初期起步,至今经过了 20 多年的发展。笔者对 2001~2006 年间发表的 870 余篇论文中 56 种药物所采用的分析技术进行了统计,结果见表 1-2。

表 1-2

分析方法	用该法药品数	占全部药品的百分数
HPLC	50	89%
LC/MS	26	46%
GC	17	30%
UV	14	25%
高效毛细管电泳法 (High Performance Capillary Electrophoresis, HPCE)	13	23%
GC/MC	11	20%
Fluor	11	20%
TLC	9	16%
荧光偏振免疫分析法 (Fluorescence Polarization Immunoassay, FPIA)	9	16%
RIA	8	14%
Col	2	4%
EIA	2	4%
化学发光酶免疫分析法 (Chemiluminescent Enzyme Immunoassay, CLEIA)	2	4%
电化学分析法 (Electrochemical Analysis, ECA)	2	4%
原子吸收分光光度法 (Atomic Absorption Spectrophotometry, AAS)	1	2%
Micro	1	2%
其他分析方法	5	9%

经过 20 多年的发展,新技术、新仪器不断出现,各种分析方法由于自身的优缺点,在体内药物分析中的应用频率也不断改变。如最早应用 GC 法的药物最多,但由于 GC 法只限于分析高挥发性、热稳定性的有机化合物,为了提高挥发性,多数药物在 GC 分析前须先经化学衍生化、使成挥发性衍生物,降低了定量分析的准确度、给操作增添了麻烦;另一方面,新开发的微粒子柱填充剂、填充剂高压填充法、高灵敏度的检测器以及高可靠性的样品进样装置等,使 HPLC 法从 20 世纪 80 年代末期到 90 年代末期得到迅速发展和普及。尤其是反相 HPLC 法在生物样品测定中的优越性以及柱切换 HPLC 法将固相萃取与 HPLC 分离技术相结合,实现了样品的在线自动净化和浓缩。

因此,当今 HPLC 法的应用范围和频率远远超过了 GC 法,在体内药物分析领域占据了主导地位,并常用作评价其他方法的参比方法。当然,GC 法的灵敏度、准确度及专属性等不比 HPLC 法逊色(如苯并二氮杂草类药物的测定),特别是毛细管 GC 法在体内药物分析中具有良好的应用前景。20 世纪 80 年代后期发展起来的 HPCE 是经典电泳技术和现代微柱分离技术相结合的新型色谱分析技术,由于灵敏度高、分辨率高、分析速度快、样品用量少、成本低,其应用越来越多。再如,RIA 法需要有放射性同位素实验室和记数仪器设备、放射性同位素对人体健康存在一定危害、实验废物处理困难等,使该法的应用受到限制;而 EIA 法、CLEIA 法、FIA 法(荧光免疫测定法, fluorescence immunoassay)却能克服上述缺点,应用越来越受重视,尤其是 FIA 法中的 FPIA 法正在成为医疗单位监测治疗药物的重要手段。至于 Col 法、UV 法、Fluor 法等光谱分析法的应用较过去减少,主要因为光谱分析法不具备分离能力、缺乏特异性。但只要将样品进行合理的预处理或借助数学方法消除干扰,这种简便、快速的分析方法还是有用武之地的,特别是在条件比较困难的基层医疗单位。

二、分析方法的新要求与新技术

现代药学的迅速发展促进针对药物及其代谢物在机体内处置过程的研究不断深入,一方面对体内药物分析方法提出了越来越高的要求,包括:

1. 高灵敏度的检测方法的运用,一般要求最低检测量为 $10^{-9} \sim 10^{-7}$ g,甚至为 $10^{-15} \sim 10^{-12}$ g。
2. 高选择性、高专属性的分离方法的建立。
3. 分析方法应达到所要求的精密度和准确度,具有稳定而较高的回收率等。
4. 得出具有实验与临床意义的参数、模型。

另一方面也推动了体内药物分析研究方法的发展。近年来,色谱技术特别是液相色谱技术不断发展和完善,在灵敏度和选择性等方面都有了很大提高,使得复杂生物样品中药物及其代谢物的测定更加准确、快速和简便。新型色谱技术包括下面八种方法:①胶束色谱法(micellar chromatography, MC);②柱切换技术(column switching, CS);③微柱液相色谱法(micro-bore liquid chromatography, micro-LC);④超临界流体色谱法(supercritical fluid chromatography, SFC);⑤手性色谱法(chiral chromatography, CC);⑥气相色谱-质谱联用法(GC/MS);⑦液相色谱-质谱联用法(LC/MS);⑧高效毛细管电泳法(HPCE)。

其中,目前应用较多的方法是:CS、LC/MS、HPCE、GC/MS 等。

第五节 学科热点与难点

学科的热点与难点问题大致包括以下几个方面:

1. 游离型血药浓度测定方法研究 目前血药浓度值是指血清或血浆中药物的总浓度,即游离型药物浓度和结合型药物浓度(与血浆蛋白结合的药物称为结合型药物)的总和。但只有游离血药浓度才与药效直接相关,因此,有关游离型血药浓度监测的方法学研究,成为关注的一个重要方面。

2. 体内药物浓度比率研究 游离型药物浓度(F)与药物总浓度(T ,游离型药物与结合

型药物的总浓度)的比率(F/T)、唾液中的药物浓度(S)与血液中的药物浓度(P)的比率(S/P),以及它们之间的相关性研究成为临床分析的热点课题。

3. 药物代谢物的测定与研究 药物代谢物的监测与研究有利于深入指导临床合理用药;有助于解释血药浓度与药效间的矛盾,如浓度与效应间的不平行现象;也有助于解释和预防治疗期间出现的某些不良反应,如某些药物代谢物的活性不一定很高,但肾功能障碍时,代谢物的浓度积蓄到一定程度时会出现不良反应。因此,代谢物的监测与研究受到重视。

4. 对映异构体的测定与研究 对映体药物的吸收、分布、代谢和排泄都存在立体选择性,可以导致对映体有不同的药效(例如戊巴比妥: $R(-)$ 镇静作用强, $S(+)$ 引起中枢神经系统兴奋)和不同的药物代谢动力学特征(例如维拉帕米的总体清除率: $S(+)$ 为 $800\text{ml}/\text{min}$ 、 $R(-)$ 为 $1400\text{ml}/\text{min}$),不同给药途径对映体的比值也不同(例如维拉帕米 $R(-)/S(+)$: iv 时为 0.56 ± 0.10 , po 时为 0.23 ± 0.05)。因此,药物对映体的拆分与测定也受到重视,而且成为药物研究的热点。

5. 体内微量元素的测定与研究 Fe 、 Cu 、 Zn 、 Mn 、 Se 、 Cr 等14种必需微量元素通常构成组织、细胞和体液内的活性成分(酶、电子传递体、细胞色素、维生素、激素等)。人的新陈代谢,营养保健,以及肿瘤、冠心病、糖尿病、遗传性疾病、地方病(如缺铁性贫血、缺锌综合征、克山病、地方性甲状腺肿、呆小病等)、职业病(如铅中毒、砷中毒、地方性氟中毒等)等很多系统疾病的预防、诊断、治疗以及新药的开发,无不与微量元素相关。因此,体内微量元素的测定与研究,对揭示生命现象、生理功能、生物化学机制和营养作用、保健功能以及探讨疾病的病因、发病机理、诊断、治疗与预防等均具有重要意义。

6. 中药药物代谢动力学的研究 与化学药物的药物代谢动力学相比,中药药物代谢动力学虽起步较晚,但发展非常迅速。在近20年的研究中,取得了大量有价值的研究成果,发表了有参考价值的研究论文。特别是近10年来,由于许多微量分析方法、特异性分析方法的应用,为单味和复方中药的药代动力学研究开辟了新的局面。不论是单味中药还是复方中药,均为含有大量化学物质的巨大复方,而且每一成分含量极微。这种客观存在的问题构成其药效学和药代动力学研究的难点:说不清何为起药效作用的物质,也说不清这些物质在体内发生何种变化,其变化与药效又有何关系。应用HPLC、LC/MS等现代仪器,采用血药浓度法测定指标成分的药代动力学参数,为中药的研究与开发提供了新思路。但中药在体内成分间相互作用,在吸收、分布、代谢等环节发生变化,如按化学药物的药理研究方法和思路,仅仅从化学成分的药理作用来认识中药,则难以说明中药的作用特点,可能在活性成分的研究过程中(如筛选、药效实验等)丢失真正有效成分。随着国家对中药药品质量的规范化进行管理,要求药学工作者必须学习中医中药的相关理论,运用多学科的研究手段,研究中药的现代内涵,创造新理论,促进中药的现代化和国际化。

7. 方便、快捷的样品制备方法与样品直接进样分析的研究 体液成分十分复杂,干扰物质多,而待测药物浓度又很低,传统的萃取方式存在回收率低等缺点。开发方便、快捷的样品制备方法,将微量的药物从大量复杂的生物基质中分离出来,或者样品不经预处理而直接进样分析,已成为研究的热点之一。

8. 分析新方法、新技术的联用研究 为了满足、适应体内药物分析的需要及特点,提高检测灵敏度、选择性及分析自动化程度,缩短分析时间,所遇到的问题就是各种新方法、新技