

主编 安登魁

现代

药物分析选论

*Selected Topics
on Modern
Pharmaceutical Analysis*



中国医药科技出版社

现代药物分析选论

“Selected Topics on Modern Pharmaceutical Analysis”

主 编 安登魁

副主编 张正行 盛龙生

相秉仁 刘文英

中国医药科技出版社

登记证号 (京) 075 号:

内 容 提 要

本书在内容上,精选药物分析学科重点领域中一些前沿课题,诸如,手性药物的液相色谱分析、高效毛细管电泳法、近红外光谱分析法、现代核磁共振光谱法、现代质谱法的最新理论和应用、人工神经网络在药学上的应用潜力以及药物代谢产物的研究与分析等;在编撰方法上,作者结合工作实践,力求给出启迪性的论述,以使读者在思路和具体方法上均可获得教益。本书可作为药学院校有关专业研究生、高年级本科生的教学参考书,也可供药学、化学化工、环境科学以及生命科学领域中专业人员参考

图书在版编目 (CIP) 数据

现代药物分析选论/安登魁主编. —北京:中国医药科技出版社, 2000

ISBN 7-5067-2211-9

I. 现… II. 安… III. 药物化学—分析 (化学)
IV. P.917

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (1999) 第 56083 号

11-011103

中国医药科技出版社 出版
(北京市海淀区文慧园北路甲 22 号)

(邮政编码 100088)

北京市艺辉印刷有限公司 印刷

全国各地新华书店 经销

*

开本 787×1092mm $\frac{1}{16}$ 印张 42 $\frac{3}{4}$

字数 1021 千字 印数 1—4000

2001 年 1 月第 1 版 2001 年 1 月第 1 次印刷

定价: 86.00 元

主 编 安登魁

副 主 编 张正行 盛龙生 相秉仁 刘文英

编写人员 (按姓氏笔画为序)

丁 黎	王 颖	刘文英	刘国林
安登魁	狄 斌	吴拥军	李 伟
李 睿	林 梅	张正行	周 炜
周红华	杭太俊	范国荣	相秉仁
高守国	高松梅	盛龙生	韩 俊
彭建和			

前言

这本《现代药物分析选论》是针对当前有关药物分析学硕士研究生的需要而编写的,它也是《现代药学科学系列丛书》的一个组成部分。

这本书是在药学专业本科生所用《药物分析》教材的基础上进一步精选某些重点“现代”内容而编写的;它的后续材料似是内容翔实、诱人深入钻研的大型参考书。这样一来,从本科教材到重点选论再到大型参考书,恰好组成了一个一环紧扣一环地系统而完整的教学材料链,以体现药物分析学科不断发展的趋势和适应培养药学科学高级专门人才的需求。这也就是我们组织编写这部书的初衷。

如果说,本科生所用教材应该紧紧围绕专业培养目标和教学计划的安排和要求,牢牢抓住“三基本”内容,那么研究生用教材更应强调有关思维能力和思维方法的培养和锤炼。为此,本书在内容上不求面面俱到,只侧重于选论一些药物分析学科中当前的热门前沿课题,力求给予启迪性的论述,以使有关研究生在思路和方法上获得教益。诸如,手性药物的液相色谱分析、高效毛细管电泳的进展、近红外光谱分析的发展动态、现代核磁共振光谱的理论和应用、现代质谱的最新进展和发展趋势、药物代谢产物的研究与分析以及计算机科学技术,特别是人工神经网络的技术发展等。

由于药物分析学科的迅猛发展,本书只能挂一漏万地重点选论,应该说,这是一种对研究生教材选编的尝试,有待今后逐步改善和提高,敬请有关师生批评指正。

应该再提一下,对广大的药学科学工作者来说,尤其是那些对药物分析的新技术和新方法的进展深感兴趣的专业工作者,本书似不失为一本可以参阅的专著。特此推荐。

安登魁谨识于中国药科大学

绪论

药物分析学科发展到今天已越来越清晰地反映出它在现代药学科学中的地位和作用。

以往说：哪里有药物，哪里就有药物分析。随着药学科学事业的迅猛发展，这句话不仅与现时的情况更加贴切，而且还可否反过来预期一下：哪里对现代药物分析的方法和技术运用得及时恰当，哪里就可能对新药的研究与开发以及药物的合理应用打开一个可喜而崭新的局面。

现代药物分析在方法和技术上已经由二十多年前的色谱-光谱联用阶段向着色谱-光谱-生物技术-电子计算机等多元联用技术的方向迈进，而且在联用技术的各个组成环节的本身都发生了令人兴奋的巨大变化和发展。这样一来，不仅使药物（天然药物、化学合成药物和生物技术药物）的静态常规检验和动态分析监控的有关问题解决得更加完美，而且也为生命科学、环境监测、轻工食品以及化学化工诸多方面提供了切实可信的有效手段。概括地说：现代药物分析的技术和方法为现代药学的发展提供了适时而有效的辅佐和动力。

为此，我们在现代药物分析的方法和技术上精选了七个章次，既有先进的分离分析方法（液相色谱和毛细管电泳），又有确切可靠的测试鉴定技术（近红外光谱、现代核磁共振光谱和现代质谱），另外，还有新的数据的信息处理技术——人工神经网络等等。在药物的对象上着重针对手性药物、生物大分子、复杂药物体系、药物质量的综合评价和药物代谢产物的研究与分析，以适应各个相关学科对药物分析学科不断提出的新的需求。

下面，就对七个章次的“现代”色彩浅谈数语，作为本书的简绪。

近年来，人们日益关注药物的手性对生理活性的影响，许多药物对映体有着不同的药动学和药效学性质，而且在药理作用上具有显著的差异。多数情况下，只有一种对映体具有显著的药理活性，而另一种对映体活性较低或没有活性，甚至活性相反或导致毒副反应。

为了评价药物对映体的生物学活性，检查其光学纯度，或制备单一对映体时，有必要研究建立快速、准确、灵敏、简便、分离性能良好的药物对映体分离分析方法，其中的关键就是手性药物的拆分。

对映体的拆分方法很多，主要可分为非色谱法和色谱法两大类。非色谱拆分法操作繁琐费时，且不能制得较纯的对映体，已逐渐为色谱拆分法所取代。目前，色谱法已成为对映体拆分的主要方法，尤其是薄层色谱（TLC）拆分法和高效液相色谱（HPLC）拆分法的研究报道占大多数，因此，本书伊始即设专章阐述手性药物的液相色谱分析，对其近年

来在方法学上的分类和应用、各种各样的色谱条件和方法、不断问世的手性固定相或手性流动相、以及各种手性衍生化试剂进行了比较全面的论述,以使读者对手性药效学、药动学等方面的研究及手性新药的研制有较多的思考和选择余地。

在现代分离分析技术上,能够和 HPLC 媲美的当推高效毛细管电泳 (HPCE),这两种技术和方法是现代分离分析中不可缺少的重要方法。

电泳是带电粒子在电场作用下的定向移动。电泳技术的存在与发展始终是与色谱技术相互竞争、相互依存的。在电泳发展的初期,正是色谱发展的黄金时期,色谱技术的快速、简便和广泛的适用性,吸引了人们的注意力,使电泳技术的发展大大减慢,但是色谱技术在生物大分子分离分析方面所面临的困难,始终无法取代电泳的地位。正因如此,使得电泳技术在色谱大发展的年代里得以继续存在并发展。

HPCE 是在电泳技术发展史上的一次革命,它结合了电泳技术的分离原理、气相色谱的高质量毛细管和液相色谱的高灵敏检测技术三者的优势,将传统电泳移植到具有良好散热效应和抗对流功能的细内径毛细管中进行,并使电泳迁移和色谱分配能够在一个仪器装置中同时实现,从根本上解决了传统聚丙烯凝胶电泳和高压电泳无法获得的高效分离和快速分析的技术难题,成为生物化学和分析化学中最受瞩目、发展最快的一种分离分析新技术。

HPCE 是当今分析化学领域的一项前沿技术,其多(分离模式多)、快(分析速度快)、好(分离效果好)、省(分析费用低)的应用特点和在生化分析、离子分析、中药分析以及手性药物拆分等方面独特的技术优势,将对目前占统治地位的色谱技术特别是 HPLC 技术提出挑战,在生命科学、医药分析诸多方面必将越来越展示出广阔的应用前景。这也就是我们精选它作为专章的实际基础。

在当今的药物光谱分析中,紫外光谱分析和红外光谱分析已成为常规的分析方法,有关专著和专论已有很多,广大读者比较熟悉,在此不再赘述。本书选中了具有独特效能的近红外光谱分析(NIR)、现代核磁共振光谱和现代质谱方法,分列专章进行重点论述。

早在 1800 年 Herschel 就发现了近红外光谱区,但是直到 20 世纪 50 年代后期,由于其在样品快速分析中的作用,NIR 才开始得到开发应用。近年来,价廉物美的微型计算机的出现,用于光谱数据分析处理的化学计量学软件的发展,以及高信噪比的快速扫描光谱仪的开发,解决了严重影响近红外光谱应用的“瓶颈”问题,大大促进了 NIR 技术的应用。

近红外光谱吸收主要由 C—H、O—H 和 N—H 键产生,这些化学键存在于大多数药物中。NIR 分析的一些重要性质也使得它比传统的药物光谱分析方法更具吸引力。诸如,样品可在常态下进行分析,很少需要或无需进行样品预处理;能够快速分析复杂样品,通常能在 1 分钟或更短时间内获得结果;与常规分析方法不同,NIR 光谱法无需使用贵重或有毒试剂。将 NIR 光谱技术与计算机和光导纤维技术相结合,采用透射、散射、漫反射等光学检测方法,可以直接对颗粒状、固体状、糊状等不透明的复杂混合物样品进行分析,这就为实现对药物生产过程质量的实时在线分析和无损的药品质量定性、定量分析提供了一个很有前景的分析技术。

目前,已有大量文献介绍 NIR 光谱分析技术在药物分析上的应用。例如,对原料药和制剂的鉴别和分类、含水量的测定、对抗生素制剂生产全过程的控制分析、对粉末混合均匀性进行在线检测以及对固体制剂进行无损分析等等。随着 NIR 光谱仪技术的不断提高和

化学计量学的发展, NIR 光谱分析技术必将在现代药物分析领域中获得越来越广泛的应用。

在现代药物光谱分析技术当中,除了引人注目、效能独特的 NIR 光谱分析之外,现代核磁共振光谱和现代质谱应该是最受瞩目、令人兴奋的两种无法取代的重要方法和技术。

核磁共振光谱(NMR)研究原子核的磁化性质以及它在外磁场中的运动规律。样品中含有大量的原子核,研究这群磁性原子核在外磁场中的运动规律,也就是研究原子核的宏观性质及其运动。因此,NMR 是从原子水平上分析测定有机化合物分子结构的物理测定技术。由于这项技术的独特效能,已引起众多科学家(其中荣获诺贝尔奖金的学者就有 12 位)的极大关注和贡献,有关 NMR 的研究文献已浩如烟海。

随着高新科技成果的不断涌现,诸如超导磁体、电子计算机、脉冲傅里叶变换等关键设备和技术相继采用,使 NMR 仪的性能、功效和应用又获得飞跃发展,新技术新方法层出不穷。现已构成为现代 NMR 光谱技术,在化学、药学、乃至生命科学的研究中各类化合物结构测定时应用得最多和最为有效的一种物理测定技术。概括地说:通过核的一维谱,可以获得有机分子结构内部该核的化学环境和个数的结构信息;通过相关谱(HMBC, HMQC, HOHAHA、NOESY 等)可以获得有机分子骨架结构的完整信息。

为了使读者在较短的时间内领略到现代 NMR 的精髓,我们避开了繁琐的量子力学运算,在保持原理严谨的前提下,通过形象的图示,演绎了 NMR 的原理,同时还融入了作者多年来的实践经验,以便使这一强大的分析测试技术更好地为读者所掌握,并尽快地服务于现代药学事业。

近年来,由于生物分子(如多肽与蛋白质、核苷酸、糖类等)和生物药物的大量涌现,促使质谱技术在大分子化合物的分析方面,取得了突破性的进展,其中,两种质谱新技术的应运而生和迅猛发展,更加引起了人们的关注。这两种技术就是基质辅助激光解吸离子化质谱法(matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry, MALDI/MS)和电喷雾离子化质谱法(electrospray ionization mass spectrometry, ESI/MS)。MALDI 用于蛋白分子量的质谱测定可达数十万 Da,甚至更高,并可用于混合物的分析和结构测定。ESI 由于形成多电荷离子,故可用常规质谱仪如四极质谱仪分析高分子量的化合物,也是 HPLC 或 HPCE 与质谱法联用(HPLC/MS 或 HPCE/MS)的一种较好的接口技术。

在 MALDI 和 ESI 出现的同时,也推动了质量分析器的不断发展,因而使飞行时间质谱法(time-of-flight mass spectrometry, TOFMS)获得了新生。再加上离子阱(ion traps)的发展,产生了新一代的质谱仪器和方法,如四极离子阱质谱仪(ion trap mass spectrometer, ITMS)和傅里叶变换离子回旋共振质谱法(Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry, 常简称为 FTMS)。这样,就使现代质谱法的多功能性,超过了所有其他研究有机和无机化合物的仪器方法。如果再与 HPLC 或 HPCE 等现代分离方法联用,加上质谱法本身可实现的联用(如串联质谱法 MS/MS 或多级质谱法 $\overline{MS}^n$),应用范围更加广泛,无疑是研究复杂样品分离分析的强大武器。

应该再补充一下:现代 NMR 与现代分离方法联用(如 HPLC/NMR 等)的效能,也同样呈现出诱人向往的现实和前景。

随着应用数学和计算机科学技术的飞速发展,人工神经网络(artificial neural networks, ANN)技术经过近半个世纪的发展,已成为非常具有吸引力的研究热点。

ANN 技术是模仿人脑神经系统对信息进行加工处理。具有巨量并行处理、信息处理过程和存储过程统一等优点。ANN 技术具有自组织、自学习和容错能力,在处理非线性问题方面具有较大的优势。因此,本书将 ANN 列为专章是有着普遍意义的。书中先着重介绍了 ANN 的历史、现状和发展前景,ANN 的最基本模型 M-P 模型以及各种学习算法和特点。继之,系统介绍了感知器神经网络、MADLINE 神经网络、BP 神经网络、Hopfield 网络、随机型神经网络、ART 神经网络、自组织特征映射神经网络、对向传播神经网络和模糊神经网络的基本拓扑结构和学习算法,以及各自的特点。感知器神经网络结构简单,编程容易,但它难以对非线性问题进行分类。MADLINE 神经网络在一定程度上解决了感知器神经网络非线性不可分的局限性,但仍具有分类能力较差的缺点。BP 神经网络是目前在药物分析领域中应用最广泛的神经网络,在多组分分析、模式识别、实验优化等方面都有成功应用的实例,但其较长的学习时间和陷入局部最小的缺陷是亟待解决的问题。Hopfield 网络作为一种联想记忆器在知识的处理和表达方面应有一席之地。随机型的神经网络克服了 BP 神经网络陷入局部最小的弱点,但带来了更长的学习时间和较长的学习周期的缺点。ART 神经网络,更好地借鉴了人脑的特点,网络的稳定性和功能都更加强大,更符合现时的需要,在模式识别领域中更是大有可为,是现代药物分析领域中亟待开发的一块土地。模糊神经网络作为模仿模糊控制器的一种神经网络,随着模糊技术的应用和发展,作用日益明显。由于模糊神经网络更好地模仿了现实世界中的模糊现象,同时又具有自学习功能,所有这些都为陷入低潮的专家系统带来了新的活力。最后,还就 ANN 技术在现代药物分析领域中的应用现状进行了小结,期望读者能够抓住时机迎头赶上。

全书的最后一章是:药物代谢产物的研究与分析。实际上,一个药物的质量优劣、应用时是否合理、应用后是否安全有效,最终还应以药物进入体内的“命运”来判断,也就是药物及其代谢产物的研究与分析。

药物及其代谢产物的研究主要是研究药物分子在体内的转运和转化的规律,而这些规律直接关系到药物在体内的相互作用、治疗成效,以及毒副反应等等诸多方面。因此,药物代谢产物的研究已列为新药研究的重要途径之一。当前,许多天然药物中的活性成分被视为体内代谢的母体化合物,人们期待从它们的代谢产物中找到药理作用更强的、具有开发价值的新药。此外,了解药物在体内的结构变化规律,在药物设计的过程中也就可以有针对性地对药物分子进行必要的结构修饰、改造或控制,甚至利用药物在体内的转化特点,指导设计药动学性质优良的药物。总之,对药物代谢产物的研究,无论是新药开发,还是指导临床合理用药,均具有极为重要的意义。

近二十年来,由于新技术和新的测试仪器的不断问世,大大促进了药物代谢产物的研究。药物代谢产物的研究已经成为当前药学科学中最为活跃的前沿领域之一。由于我国在这一领域中的研究起步较晚,与国际水平有较大差距,相关经验和参考资料也较匮乏。为此,我们列为专章进行较为详细的研讨。

通过全书七章的论述,如果能使广大读者感到“哪里对现代药物分析的方法和技术运用得及时恰当,哪里就可能对新药的研究与开发以及药物的合理应用打开一个可喜而崭新的局面”这种预期是可以考虑或接受的话,继而,能够逐步创造条件付诸实施,让现代药物分析这门学科为现代药学科学事业做出应有的贡献,那么,这将是全体作者的最大欣慰和期盼。

目录

绪 论.....	(1)
第一章 手性药物的液相色谱分析.....	(1)
第二章 高效毛细管电泳分析.....	(103)
第三章 近红外光谱分析.....	(200)
第四章 现代核磁共振光谱.....	(244)
第五章 现代质谱法.....	(347)
第六章 人工神经网络.....	(499)
第七章 药物代谢产物的研究与分析.....	(575)

第一章 手性药物的液相色谱分析

刘文英 周 炜 狄 斌

1 引言	(4)
1.1 手性药物的现状	(4)
1.1.1 对映体的药效学差异	(4)
1.1.2 对映体的药动学差异	(5)
1.2 手性药物专业术语	(6)
1.3 手性药物拆分方法	(7)
1.3.1 拆分机理	(7)
1.3.2 拆分方法	(7)
1.4 体内手性药物测定方法	(8)
1.4.1 体内手性药物测定的必要性	(8)
1.4.2 体内手性药物测定前的预处理方法	(8)
1.4.3 测定方法	(9)
1.4.3.1 用非手性聚合衍生化试剂分析体液中药物	(9)
1.4.3.2 用手性聚合衍生化试剂分析体液中药物	(9)
1.4.3.3 用非手性聚合试剂直接分析对映体药物	(10)
2 手性药物薄层色谱拆分法	(11)
2.1 概述	(11)
2.2 手性固定相拆分法	(11)
2.2.1 纤维素及其衍生物为载体	(11)
2.2.1.1 应用示例一 氟比洛芬对映体拆分法	(12)
2.2.1.2 应用示例二 卡洛芬对映体拆分法	(14)
2.2.2 β -环糊精(β -cyclodextrins, β -CD)键合相	(15)
2.2.3 手性配体交换色谱固定相	(17)
2.2.3.1 应用示例 丹酰氨基酸对映异构体的分离	(18)
2.2.4 酸、碱或手性试剂浸渍型手性固定相	(20)
2.3 手性流动相拆分法	(20)
2.3.1 添加手性离子对试剂	(21)
2.3.1.1 应用示例一 DIOL F ₂₅₄ HPTLC 法拆分 β -肾上腺素受体阻滞剂普萘洛尔和烯丙洛尔的正相 TLC 拆分法	(21)
2.3.1.2 应用示例二 8 种含苯基- α -氨基醇类药物对映体的 TLC 拆分法	(22)
2.3.2 添加 β -CD 及其衍生物	(24)
2.3.2.1 应用示例一 辛可宁和辛可尼丁非对映异构体在聚酰胺薄层上的分离	(25)

2.3.2.2 应用示例二 奎宁 (Quinine) 和奎尼丁 (Quinidine) 等非对映异构体在 RP-TLC 上的分离	(25)
3 手性药物高效液相色谱拆分法	(27)
3.1 手性药物高效液相色谱 (HPLC) 拆分法的分类与比较	(27)
3.1.1 分类	(27)
3.1.2 三类手性分离方法的比较	(27)
3.2 手性衍生化 (CDR) 法	(28)
3.2.1 手性衍生化拆分原理	(28)
3.2.2 手性衍生化试剂及其反应条件	(28)
3.2.2.1 手性试剂和反应产物具有足够的光学纯度和稳定性	(28)
3.2.2.2 手性试剂和反应产物在衍生化反应和色谱条件下应稳定	(28)
3.2.2.3 溶质分子至少须有一个功能团供衍生	(28)
3.2.2.4 反应产物在色谱分离时应显示高柱效	(28)
3.2.3 手性衍生化试剂的种类	(29)
3.2.3.1 羧酸衍生物类	(29)
3.2.3.2 胺类	(36)
3.2.3.3 异硫氰酸酯 (ITC)、异氰酸酯 (IC) 类	(37)
3.2.3.4 萘衍生物 (NAD) 类	(42)
3.2.3.5 光学活性氨基酸类	(45)
3.2.3.6 固相衍生化试剂	(48)
3.3 手性固定相拆分法	(48)
3.3.1 吸附型手性固定相	(49)
3.3.1.1 手性聚合物固定相	(50)
3.3.1.2 氨基酸型手性固定相	(64)
3.3.2 电荷转移型手性固定相	(68)
3.3.2.1 应用示例一 电荷转移型手性固定相拆分螺烯和双螺烯外消旋体	(72)
3.3.2.2 应用示例二 萘基乙脲键合硅胶手性固定相 HPLC 法拆分苯甲酰胺衍生物对映体	(72)
3.3.2.3 应用示例三 Pirkle 型手性固定相 HPLC 法拆分化合物对映体	(76)
3.3.3 模拟酶 (移植型) 手性固定相	(76)
3.3.4 配体交换手性固定相	(76)
3.3.4.1 聚苯乙烯型手性配体固定相	(77)
3.3.4.2 聚丙烯酰胺型手性配体固定相	(78)
3.3.4.3 聚丙烯酸酯型手性配体固定相	(79)
3.3.4.4 聚乙烯胺型手性配体固定相	(79)
3.3.4.5 聚乙烯吡啶型手性配体固定相	(80)
3.4 手性流动相拆分法	(83)

3.4.1 配体交换型手性添加剂 (chiral ligand-exchange complexes, CLEC)	(83)
3.4.1.1 原理	(84)
3.4.1.2 影响拆分的因素	(87)
3.4.1.3 应用示例 流动相添加 <i>L</i> -脯氨酸-Cu(II) 分离 <i>D</i> -和 <i>L</i> -型丹酰氨基酸	(88)
3.4.2 环糊精添加剂	(90)
3.4.2.1 原理	(90)
3.4.2.2 影响分离的因素	(91)
3.4.2.3 应用	(93)
3.4.2.4 应用示例 丹酰氨基酸对映体的分离。	(93)
3.4.3 手性离子对添加剂	(94)
3.4.3.1 原理	(94)
3.4.3.2 影响拆分的因素	(94)
3.4.3.3 应用示例 手性流动相方法拆分山莨菪碱异构体	(94)

第一章

手性药物的液相色谱分析

1 引言

1.1 手性药物的现状^[1~4]

20 世纪初, 对手性药物对映体 (enantiomers) 间存在不同的药理作用已有所了解, 但深入的研究是近十多年以来才开始的。随着科学技术的发展, 从药物对映体的药动学研究中获得了大量结果, 表明药物对映体具有不同的药动学和药效学。

手性药物在天然和半合成药物以及合成药物中数量分布情况如下面括号中数字所示:

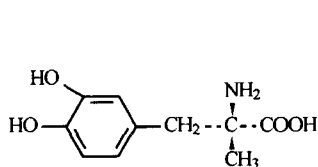
$$\begin{array}{l}
 \text{药物 (1992)} \left\{ \begin{array}{l}
 \begin{array}{l} \text{天然和半合成药物 (556)} \\ \text{合成药物 (1436)} \end{array} \left\{ \begin{array}{l}
 \begin{array}{l} \text{非手性 (achiral) 药物 (9)} \\ \text{手性 (chiral) 药物 (547)} \end{array} \left\{ \begin{array}{l} \text{单一消旋体 (537)} \\ \text{外消旋体 (10)} \end{array} \right. \\
 \begin{array}{l} \text{非手性药物 (857)} \\ \text{手性药物 (579)} \end{array} \left\{ \begin{array}{l} \text{单一异构体 (73)} \\ \text{外消旋体 (506)} \end{array} \right.
 \end{array} \right.
 \end{array}
 \right.
 \end{array}$$

综观临床应用的的手性药物, 除天然和半合成药物外, 人工合成的含手性药物仍以外消旋体供药为主。临床应用的外消旋体药物数量约占合成药物的 35%, 而约占全部合成手性药物的 87% 以上。但并不说明这是正常的, 在外消旋体药物中各对映体间的药理活性通常具有较大差异。有时两个对映体的药理作用是相加的, 但更多的情况是一种对映体有活性, 而另一种则没有活性或活性很低, 甚至有较大的毒性。究竟以纯对映体还是以外消旋体供药, 应视不同的手性药物的具体情况而定。

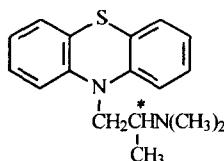
1.1.1 对映体的药效学差异

对映体的药效学差异, 在质与量上都因药而异, 可归纳为四大类: ①治疗作用完全依赖一种异构体, 如抗高血压药 α -甲基多巴 (α -Methyldopa) (1) 为 S (-) 体; ②药理作用的差别不大, 定性、定量都相近, 如异丙嗪 (Promethazine) (2); ③药理作用的特

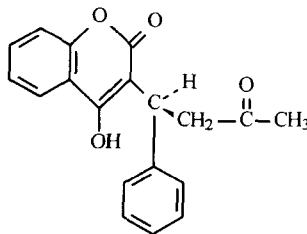
性相似，但反应强度有明显差别。大部分的对映体药物都属于这一类，如抗凝血药华法令（Warfarin）（3）、普萘洛尔（Propranolol）（4）等；④药理及（或）毒理作用存在“质”的区别，如拉贝洛尔（Labetalol）为一兼有 α 和 β -受体阻滞作用的抗高血压药，其 *R*, *R* 体（5）具有非选择性的 β -阻滞活性，*S*, *R* 体（6）则具有 α -阻滞活性，其药效为综合效应。氯胺酮（Ketamine）（7）为一有特点的广泛应用的麻醉和镇痛药，但存在产生幻觉等副作用。研究发现，*S*（+）体作用比 *R*（-）体强 3~4 倍，而毒副作用明显与后者有关。沙利度胺（Thalidomide 反应停）（8）的两个对映体对小鼠的镇静效价相近，但只有左旋体及其代谢物才有胚胎毒及致畸作用。



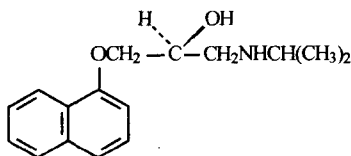
(1)



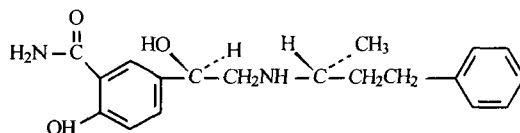
(2)



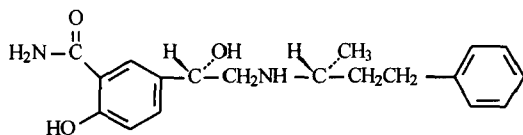
(3)



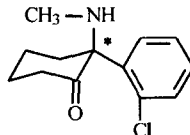
(4)



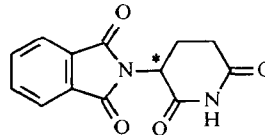
(5)



(6)



(7)



(8)

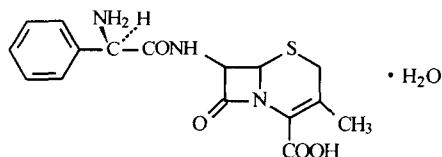
对映体的药效学差别，将对合理用药与新药开发产生重要影响。纯异构体将可发展为副作用较小的新药。

1.1.2 对映体的药动学差异

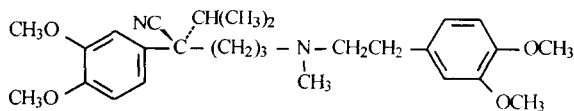
药物以外消旋体供药时，其体内药动学上的立体选择性将直接影响药物的药效和毒副反应的产生。

吸收 药物在体内吸收，一般可分为被动吸收和主动吸收。前者不存在立体选择性，而后者因有酶、蛋白质等参与，因而存在立体选择性。头孢氨苄（Cephalexin）（9）的吸收是主动过程，动物实验表明，口服后仅 *R*（+）体被吸收。此外，普萘洛尔的 *R*（+）体可增加其 *S*（-）体的生物利用度。

蛋白结合 药物和蛋白的结合是立体选择性的。酸性药物通常和人体血浆蛋白结合；碱性药物则通常结合于 α_1 酸性糖蛋白。华法令的 $S(-)$ 体体外抗凝活性为其 $R(+)$ 体的 6~8 倍，但体内仅为 2~5 倍，这主要是由于 $S(-)$ 体与白蛋白的结合率较 $R(+)$ 为高。由此提示，为完整评价异构体的药效，必须考虑蛋白结合因素。



(9)



(10)

代谢 药物的立体选择性代谢和清除对手性药物的药效有较大影响。近年对维拉帕米 (Verapamil) (10) 的代谢研究发现其存在立体选择性： $S(-)$ 体较 $R(+)$ 体清除率高 10 倍，且前者的首过效应亦明显，故静注和口服外消旋体时，其 $S(-)$ 体的相对血药浓度有较大差异，这可直接影响其疗效。随后又有肝病患者口服维拉帕米的首过效应失去立体选择性的报道， $S(-)$ 体的体内相对血药浓度较高。

1.2 手性药物专业术语^[5,6]

近年来，为解决外消旋药物所带来的一系列问题，许多发达国家的法规机构正在逐步发布有关立体异构体和药物开发的导向性指南或政策报告，以使制药企业的决策者对未来开发手性药物的形势有更加清楚的认识。加拿大健康防护部门在 1993 年 11 月公布了有关手性药物开发的简要指南，欧共体则于 1994 年 5 月发布了有关手性药物开发的最终指南。美国 FDA 向联邦政府递交了“FDA 开发新立体异构体药物的政策报告”，并于 1992 年 5 月在联邦注册处备案。

FDA 这份政策报告首先引进了一些常用专业术语和名词的定义。在这个领域中最常用的词是立体异构体 (stereoisomer)，它是具有确定的原子组成和键合方式，但原子在三维空间排列成不同的分子。立体异构体通常包括一个或一个以上的手性中心 (chiral center)。它们的单个对映体 (individual enantiomers) 之间可以互成镜像 (mirror image)，这些化合物是 FDA 政策报告关注的主要焦点。立体异构体也包括几何异构体 (geometric isomers) 和非对映异构体 (diastereoisomer，相互之间不成镜像的异构体)。非对映异构体和几何异构体在大多数情况下化学性质和药理性质都存在较大差异，一般无需手性技术即可得到分离。这样除了少数药物由于在体内发生相互转化的特例外，大多数药物都是作为单独化学实体进行处理和开发的。

对于具有最高活性或亲和性的对映异构体，又称为优对映体或强效体 (eutomer; aff eu)；而具有最低活性或亲和性的对映异构体称为劣对映体或低效体 (distomer; aff dis)。两者的比率称为优劣对映体比率 (eudismic ratio; aff eu/aff dis)。例如，强效非选择性 β -受体阻滞剂噻吗洛尔 (Timolol) 的优对映体为 $S(-)$ 体，活性为 $R(+)$ 体的 80~90 倍。

1.3 手性药物拆分方法^(7,8)

为了评价药物对映体的生物学活性, 检查其光学纯度, 有必要发展快速、准确、灵敏、简便、分离性能好的药物对映体测定方法。近年来, 药物对映体的研究, 尤其是拆分和定量方法的研究已取得了很大进展。这些方法在制药工业和药理学研究中发挥了极其重要的作用。其主要用途有: ①生物体液中药物对映体的分离分析, 各对映体的药物动力学及体内处置过程; ②药物对映体的制备, 给实验室和临床提供纯的对映体, 以进行单个对映体的药理学评价; ③药物对映体的质量控制分析。

1.3.1 拆分机理

手性药物拆分前的对映体通常以镜象存在, 即以外消旋体形式存在。用常规分析和制备方法不能将其拆分, 需引入不对称(即手性)环境。

对映体拆分方法很多, 主要可分为两大类。一类称非色谱法, 另一类称色谱法。一般说来无论用哪一种方法分离, 其基本原理大多数是基于把对映体的混合物转换成非对映异构体, 然后利用它们在化学或物理化学性质上的差异使之分开。

常用的非色谱分离法主要是结晶法, 也包括微生物或酶的消化。但是, 这些方法耗时较长, 过程繁复, 而且也不能制备较纯的对映体, 因此, 难以被现代化工业所普遍接受。目前已倾向于大量采用色谱法。1988年6月在巴黎召开的第1届国际手性分子分离会议上, 就有90%的文章是涉及到色谱的。色谱已成为对映体拆分的一个主要工具, 包括薄层色谱、气相色谱、液相色谱、超临界流体色谱和电泳在内的几乎所有色谱和准色谱手段都已涉足到对映体拆分这一领域。

不管哪一种色谱, 为了使对映体转化为化学和物理化学性质不同的非对映体, 多宜提供一种手性源, 使欲拆分的对映体(样品)、手性作用物(比如固定相)和手性源之间形成一个非对映异构分子的络合物。为了形成这样一种分子络合物, 分子之间要有一种同时相互存在的作用力, 以保持分子的空间定位。Dalglish认为至少要有三个作用力, 其中一个要有立体选择性, 可以是吸引的, 也可以是排斥的。这就是在对映体拆分理论中颇为流行的“三点手性识别模式”。Pirkle等从这一原理出发合成了一系列的手性固定相, 证明了三点的生命力, 从而为对映体拆分理论的发展起了很大的推动作用。

1.3.2 拆分方法

对映体化合物之间除了对偏振光的偏转方向恰好相反外, 其理化性质是完全相同的, 因而难于分离。传统的拆分方法, 如分步结晶法、酶消化法等, 具有很大的局限性, 特别难于进行微量分离和测定。20世纪60年代前后, TLC法和GC法逐渐用于对映体化合物的拆分。TLC法是半定量性质的, 对于测定光学纯度是一种简易、快速和价廉的方法; 用GC法拆分对映体可通过手性试剂衍生化形成非对映体衍生物或使用手性固定相, 但是这两种方法只能拆分类型不多的化合物, 如氨基酸衍生物、拟除虫菊酯杀虫剂和糖类衍生物等, 而且需要较复杂的样品处理步骤, 制备分离也难以进行。20世纪80年代初, 随着大量商品化HPLC用手性固定相(chiral stationary phase, CSP)的问世以及对手性识别机