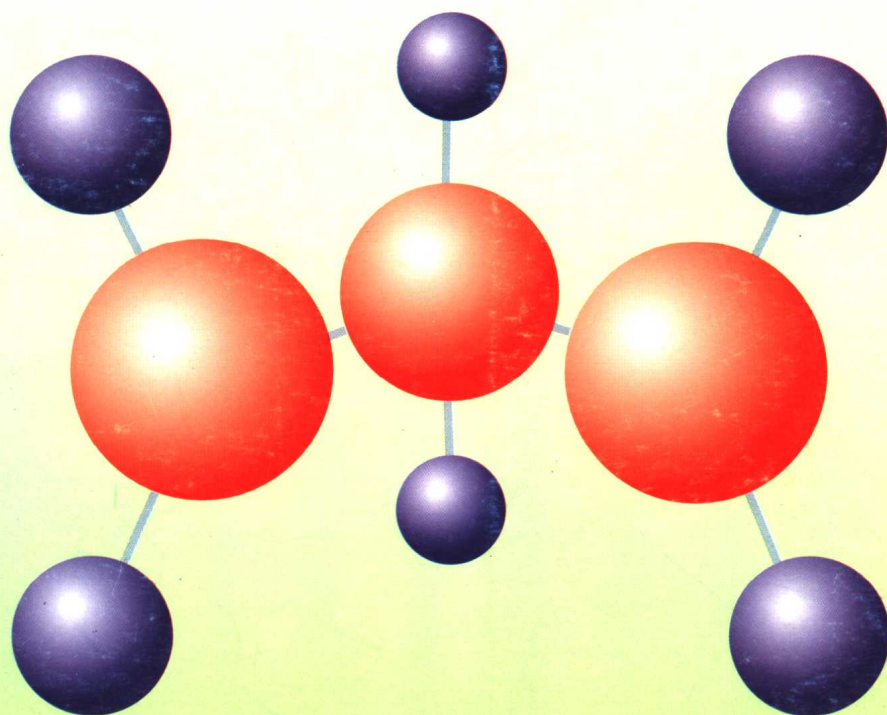


BIOPHARMACEUTICAL ANALYSIS

体内药物分析

姚彤炜 编著



浙江大学出版社

体内药物分析

BIOPHARMACEUTICAL ANALYSIS

姚彤炜 编著

浙江大學出版社

内 容 简 介

本书主要阐述体内药物分析的意义、任务和特点,体内药物的存在状态和代谢类型;介绍体内药物分析前的预处理方法,体内药物分析方法的设计与评价,以及体内药物的分析方法,包括光谱法(比色法、紫外法、荧光法)、免疫分析法(放射免疫分析、酶免疫分析和荧光免疫分析等)与目前应用最广泛的色谱法(高效液相色谱法、气相色谱法、毛细管电泳法、手性色谱法、色质联用技术)。本书适合于药学专业研究生、本科生、大专生和药物分析、临床药学、临床药理学及有关专业人员学习和参考。

图书在版编目(CIP)数据

体内药物分析=BIOPHARMACEUTICAL ANALYSIS/姚
彤炜编著. —杭州:浙江大学出版社,2001.1
ISBN 7-308-02422-9

I. 体... II. 姚... III. 体内-药物分析
IV. R917

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2000)第 34852 号

责任编辑 周奕青

出版发行 浙江大学出版社

(杭州市浙大路 38 号 邮政编码 310027)

(E-mail: zupress@mail. hz. zj. cn)

(网址: <http://www.zjupress.com>)

排 版 浙江大学出版社电脑排版中心

印 刷 浙江大学华家池印刷厂

开 本 787mm×1092mm 1/16

印 张 14

字 数 335 千字

版 次 2001 年 1 月第 1 版

印 次 2001 年 1 月第 1 次印刷

印 数 0001—1000

书 号 ISBN 7-308-02422-9/R·081

定 价 17.00 元

前 言

随着药学事业的发展,临床药学、临床药理学等学科得到了迅速的发展,但要开展上述学科的研究工作,首先遇到的和必须解决的问题是建立生物样本中微量药物及其代谢物的分离、分析工作。体内药物分析学科的兴起和建立,为上述学科提供了实验手段和技术基础,利用这些手段和技术进行临床治疗药物监测,指导临床合理用药,评价新药、新老剂型的生物利用度与生物等效性,阐明药物毒副反应与药效等。

我们在为药学专业本科生、研究生,以及浙江省医学继续教育和执业药师继续教育开设的《体内药物分析》课程的教学过程中和从事药物代谢的研究工作中积累了大量资料,编写了这本教材。全书分为十章,第一章介绍体内药物分析的意义、任务与特点,强调了体内药物分析在新药研制、临床合理用药中的重要作用。第二章介绍药物在体内的两个变化——物理变化和化学变化,为体内药物分析方法设定的科学性和样品预处理的必要性提供依据。第三章介绍体内药物测定前的预处理。第四章扼要介绍体内药物常用分析方法,以及方法设计的一般考虑和实验步骤,详细介绍了评价一个分析方法的主要效能指标。第五章至第七章分别详细介绍了体内药物分析的常用方法:光谱法、免疫分析法和色谱法。第八章至第十章分别介绍了体内药物分析中的新技术:手性色谱法、毛细管电泳法和联用技术(包括 GC/MS, LC/MS, 柱切换 HPLC 和毛细管电泳免疫分析)。

本教材内容力求反映当代体内药物分析的技术水平,介绍最新的文献资料。为帮助学生理解,便于自学,本书介绍了大量应用实例,并在每章后面附有思考题,供学习参考。本书第三章和第八章由曾苏编写,其他内容由姚彤炜编写。由于作者水平有限,难免有疏漏和错误,不当之处恳请读者批评指正。

此书编写过程中得到了校、院领导和药物分析教研室老师的大力支持和帮助,尤其是曾苏教授为编写本书提供了有关质谱、色谱等方面的文献资料,特致衷心的感谢。

作 者

2000年2月于杭州

目 录

第一章 绪 论	(1)
第一节 体内药物分析的性质、意义和任务	(1)
第二节 体内药物分析的对象与特点	(20)
第二章 药物在体内的存在状态与生物转化	(22)
第一节 药物在体内的存在状态	(22)
第二节 药物代谢	(28)
第三章 生物样品与样品预处理	(42)
第一节 常用生物样品	(42)
第二节 样品预处理	(46)
第四章 体内药物分析方法及方法的设计与评价	(68)
第一节 分析方法	(68)
第二节 分析方法的设计与评价	(69)
第三节 应用实例	(74)
第五章 光谱法	(79)
第一节 比色法	(79)
第二节 可见-紫外分光光度法	(82)
第三节 荧光法	(91)
第六章 免疫分析法	(95)
第一节 概 述	(95)
第二节 放射免疫分析	(101)
第三节 酶免疫分析	(104)
第四节 化学发光免疫分析	(106)
第五节 荧光免疫分析	(107)

第七章 色谱法.....	(110)
第一节 气相色谱法.....	(110)
第二节 高效液相色谱法.....	(120)
第八章 手性色谱法.....	(139)
第一节 手性药物.....	(139)
第二节 手性色谱学.....	(145)
第三节 手性色谱法在体内药物分析中的应用.....	(154)
第九章 毛细管电泳法.....	(165)
第一节 概 述.....	(165)
第二节 分离模式.....	(171)
第三节 仪器装置.....	(177)
第四节 毛细管电泳法在体内药物分析中的应用.....	(180)
第十章 联用技术.....	(186)
第一节 色谱-质谱联用技术	(186)
第二节 柱切换高效液相法.....	(204)
第三节 毛细管电泳免疫分析.....	(210)
参考文献.....	(213)

第一章 绪 论

第一节 体内药物分析的性质、意义和任务

一、体内药物分析的性质

体内药物分析(biopharmaceutical analysis 或 bioanalysis of drugs), 又称体液药物分析、生物药物分析, 是随着临床药学、临床药理学的发展和需要而建立起来的一门新兴学科, 旨在通过各种分析手段, 了解药物在体内的数量和质量的变化的, 获得药物代谢动力学的各种参数、药物在体内的生物转化、代谢的方式和途径等信息, 从而为药品生产、临床医疗、实验研究等方面对所研究的药物作出估计与评价, 以及对药物的改进与发展作出贡献。

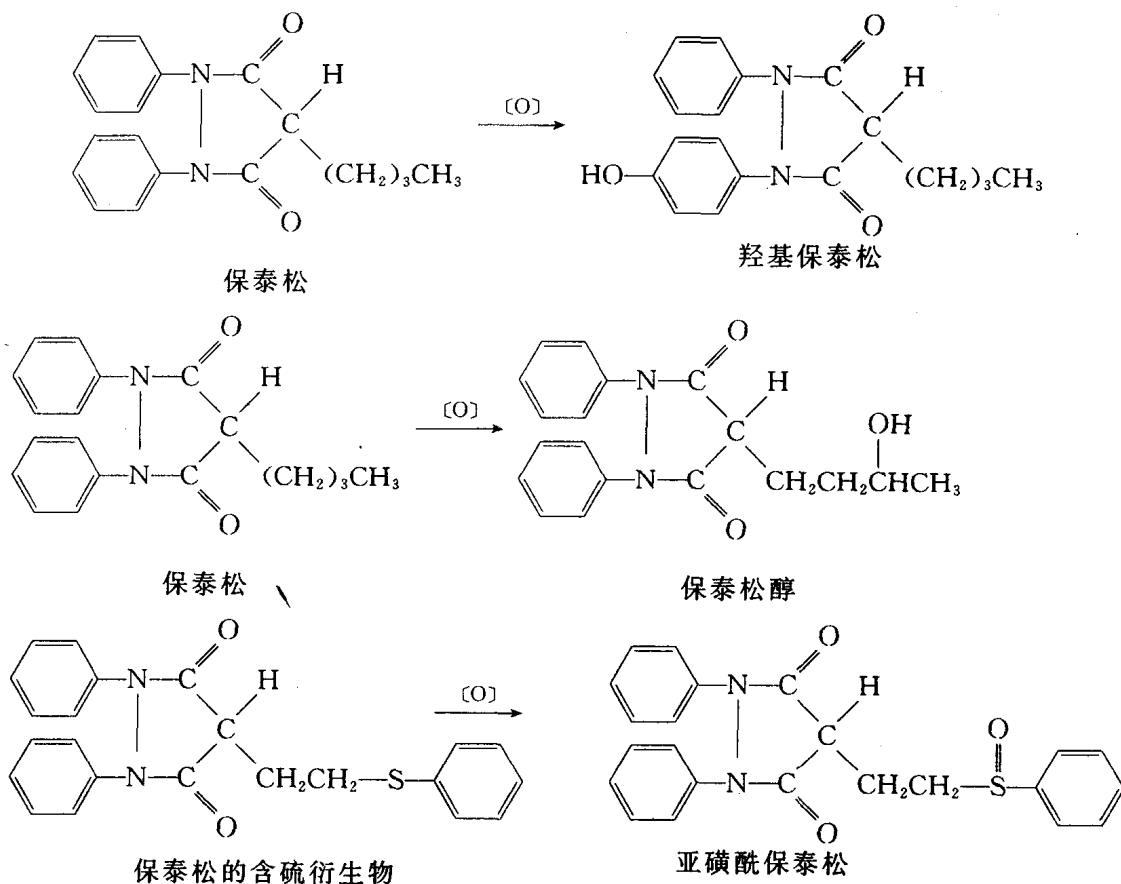
二、体内药物分析的意义

(一) 体内药物分析在新药评价和新药开发中的意义

随着医药工业的迅速发展, 人们在长期的医疗实践和药品生产中认识到, 要达到药物使用的安全、合理、有效, 首先要从管理上、生产技术上对药品进行全面质量管理, 从而从物质上充分保证药品质量。但仅仅做到这一点是不够的, 大量事实证明, 如无深入的临床药理学和临床药学研究给新药以确切的评价, 要做到临床安全、合理、有效地用药将会遇到许多困难。因此, 加强药物在机体内作用机理的研究, 包括药物的药代动力学研究和制剂的生物利用度研究, 以了解和阐明药物结构、理化性质、剂型及生产工艺与药物疗效、血药浓度、药理作用、体内转化等关系, 已成为评价药品质量的重要内容和依据。我国于1985年7月颁布了《新药审批办法》, 规定申报新药必须提供有关药代动力学研究资料。通过分析测定人体或动物体内各种体液、组织中药物及其代谢物的浓度和服药后两者浓度随时间的变化情况。经数学处理, 求出各种动力学参数, 如血药浓度的峰值、达峰浓度的时间、药-时曲线下面积、表观分布容积、消除速率常数、半衰期、生物利用度等, 定量地说明体内药物浓度与生物效应、临床疗效的关系, 药物结构与药理作用的关系, 以及药物代谢途径和作用机理等。

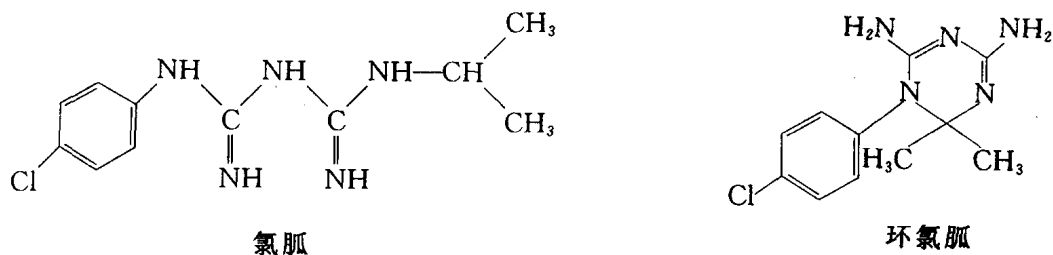
同时, 药物代谢研究的结果, 又往往为设计和发现新药提供新的信息。有部分药物, 其生物转化后的代谢产物较原型药物活性更高, 因此, 可利用药物代谢的知识来设计新药或对原有药物进行结构改造, 从而产生具有新的作用特点的药物, 或作用更强、疗效更好、毒副作用更小的新药, 以满足临床需要。例如, 保泰松是一种具有抗风湿、退热、止痛等活性的药物, 也

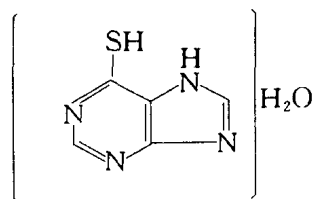
能阻止肾小管重新吸收尿酸。人们在研究其代谢时发现,代谢物之一羟基保泰松比保泰松作用还强,但对肠胃道的刺激作用比保泰松小;另一代谢物保泰松醇虽没有抗风湿作用,但保留了排尿酸的作用。在处理保泰松醇的侧链时,发现含硫的衍生物有显著的排尿酸作用。其中之一,保泰松的 4-苯硫乙基类似物,通过亚砷生成反应被代谢产生更有效的排尿酸作用的药物亚磺酰保泰松(sulfinpyrazone):



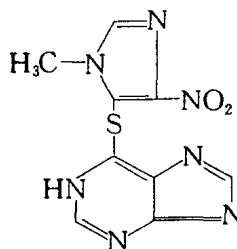
又如氯胍的活性型代谢物环氯胍,由于体内排泄过快,作用不持久,作为疟疾预防药每周给药需数次,经比较环氯胍的各种低溶性盐,发现环氯胍的双萘水杨酸盐,即双萘羟酸环氯胍是一种长效疟疾预防药,一次肌内注射可维持数月。抗白血病药 6-嘌呤硫醇(疏嘌呤)在体内可被氧化脱硫,在保护 6-SH 基后,找到了免疫抑制剂硫唑嘌呤。

普鲁卡因具有酯结构,在体内很快被血浆和肝中酯酶水解,用酰胺键来代替酯键,即得到普鲁卡因酰胺,其在体内的水解速度大大下降。

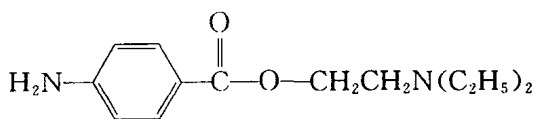




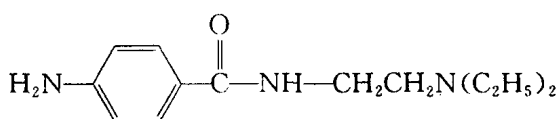
6-巯嘌呤
(抗肿瘤药物)



硫唑嘌呤
(免疫抑制剂)



普鲁卡因



普鲁卡因酰胺

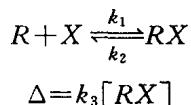
根据代谢的反应规律和活性产物结构,还可以反推设计生物前体,以获得新的化合物。

对药物及其制剂的体内药代动力学研究,往往也是设计新剂型的基础,如各种缓释剂、肠溶剂、微囊剂、皮肤剂、控释剂等。

显然,要开展药物代谢动力学研究,首先要解决的问题就是体内微量药物及其代谢物的分离分析方法。因此,体内药物分析已成为新药研究中不可缺少的重要组成部分。

(二)体内药物分析在临床合理用药中的意义

医药界在很长一段时间内,曾错误地认为随着药物剂量的增加,血药浓度也会按比例升高,并与药理作用强度直接相关。因此,当临床上未达到预期疗效时,医生常是加大服药剂量,但有时会出现意想不到的后果,导致药物中毒反应。事实上,当药物进入体内后,大多数药物借助血液分布到作用部位或受体部位,当血药浓度达到一定水平时,才能产生相应的药理效应。药物在体内的药理作用强度和类型取决于药物与特异受体的相互作用。这种作用服从质量作用定律。根据“占领假说”,药物(X)与受体部位(R)结合形成络合物(RX)后,所发生的作用强度(Δ)与 RX 量(或浓度)成比例,即:



在平衡时

$$\frac{[R][X]}{[RX]} = \frac{k_2}{k_1} = K_x$$

上式中 K_x 为络合物的解离常数,如果 $[R_T]$ 代表总的受体浓度,则由于 $[R_T] = [R] + [RX]$,

$$\frac{([R_T] - [RX])[X]}{[RX]} = K_x$$

可重排为

$$\frac{[RX]}{[R_T]} = \frac{[X]}{K_X + [X]}$$

设 Δ_{\max} 为这个系统在全受体被占领时所能产生的最大反应, 于是

$$\Delta_{\max} = k_3 [R_T]$$

那么,

$$\frac{\Delta}{\Delta_{\max}} = \frac{[RX]}{[R_T]}$$

因此,

$$\Delta = \frac{\Delta_{\max} [X]}{K_X + [X]} \quad (1)$$

这是大家熟悉的双曲线函数, 在 $[X]=0$ 时, $\Delta=0$, X 变成很大时, Δ 即接近 Δ_{\max} , 在求得最大反应的半值时,

$$\frac{\Delta}{\Delta_{\max}} = \frac{[X]}{K_X + [X]} = \frac{1}{2}$$

因此获得最大反应半数时所需的 (X) 浓度即等于 K_X 。如将方程式(1)倒写就可以得出直线方程式:

$$\frac{1}{\Delta} = \frac{K_X}{\Delta_{\max}} \cdot \frac{1}{[X]} + \frac{1}{\Delta_{\max}} \quad (2)$$

当作用强度的倒数 $1/\Delta$ 对药物量的倒数 $1/[X]$ 作曲线时, 斜率为 K_X/Δ_{\max} , 截距为 $1/\Delta_{\max}$ (见图 1-1), 此为双倒数作图法 (或称为 Lineweaver-Burk 作图)。

药物浓度向左是增大, 因此 y 轴处于 $1/[X]=0$ 时, 相当于药物无限大的浓度, 这时受体全部被占领。从 y 的截距得到 $1/\Delta_{\max}$ 。由于从方程式(2)所得到的斜率为 K_X/Δ_{\max} , 故 K_X 通过斜率可以算出, 但更简易方法是像图上那样将直线向下向左伸展, 于是 x 的截距将为 $-1/K_X$ 。

可见药理作用的强度与到达作用部位或受体部位的药物浓度及受体数量有关, 并且与受体-药物间的亲和性有关。一般情况下受体的数量与其对药物的亲和性是相对稳定的, 只有在少数情况下才会发生变化, 如疾病、预先使用的其他药物等。因此可以认为, 作用部位活性药物浓度直接与药物的药

理作用强度有关。直接测定作用部位的药物浓度是很困难的, 由于药物可以从细胞外液进入作用部位与受体结合, 而细胞外液中的药物浓度又与血浆中药物浓度处于平衡状态, 所以血浆中药物浓度可以间接地作为药物作用部位浓度的指标。虽然近年的研究发现有一些例外, 但就大多数药物而言, 药物的药理作用强度取决于血药浓度。

药代动力学的研究证明, 许多药物的疗效和毒性往往与血药浓度有关。例如: 水杨酸的血药浓度和疗效毒性关系密切, 它的有效血药浓度为镇痛 $50 \sim 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 抗风湿 $> 250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 抗炎 $350 \sim 400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 但在 $550 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上时会出现中毒反应, $1600 \sim 1800 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时可致死。因此, 血药浓度测定在拟定给药方案上的重要意义已在国际上得到公认, 成为新药研究和某些药物剂量个体化时必要的参考材料。研究还表明, 不同种属的动物, 只要血药浓度相同, 便可取得极相似的药理效应。有些药物的有效剂量种属间的差别

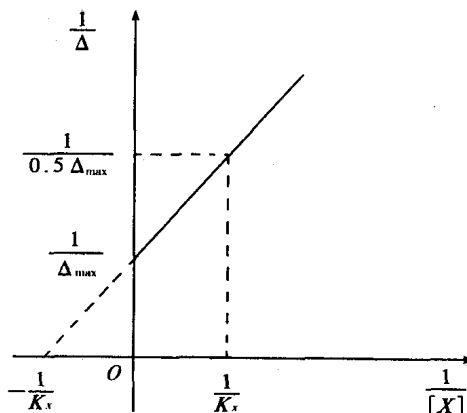


图 1-1 双倒数作图法

很大,但其有效血药浓度却非常接近,如保泰松,在兔和人体抗炎作用的有效剂量分别为 $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 及 $5 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,相差数十倍,但有效血药浓度都在 $100 \sim 150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右。而另一些药物,同种属中的个体欲获得相近的血药浓度,剂量相差可达数十倍,即存在着“化学上等价而生物学上不等价”的问题。一个典型的例子是三环类抗抑郁药去甲丙咪嗪,病人每天服用同样的剂量,直到达到稳定的血浆浓度,11名受试病人中血药浓度水平相差三倍以上(图 1-2)。这是因为药物进入体内到产生一定的血药浓度,要经过一系列的过程(包括吸收、分布、代谢、排泄),而这一系列过程会受到多种因素影响。这些因素可概括为机体因素、药物因素和环境因素。

1. 机体因素

病人机体是影响血药浓度的重要因素,也是研究药物剂量个体化的基础。

(1) 生理因素 生理因素包括年龄、性别、妇女妊娠等。年龄不同,机体的生理功能有所变化,例如新生儿及婴幼儿的肝、肾功能及其他脏器发育不全,影响药物的吸收、分布、代谢及排泄,药物的某些药动学参数与成人不同,不同年龄小儿的这些参数也有差异(见表 1-1)。随着年龄的增长,老年人机体各系统、器官的组织形态与生理生化功能发生了特征性的变化,如胃酸分泌减少、胃排空减慢、血中白蛋白浓度降低、肝肾血流量减少、肝微粒体酶活性下降等,这些机体变化影响到药物在体内的过程,表现为药物吸收、分布、代谢、排泄等方面的不同。表 1-2 列出了某些药物在老年人和成年人之间的半衰期差别。

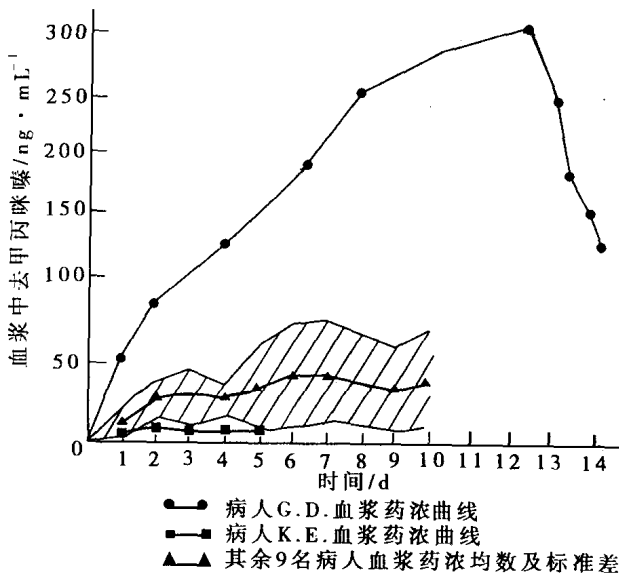


图 1-2 去甲丙咪嗪在 11 名病人血浆中的浓度

表 1-1 经氧化消除的药物在新生儿和成人中的血浆半衰期 (h)

	新生儿(N)	成人(A)	N/A
氨基比林	30~40	2~4	>1
戊巴比妥	17~60	12~27	>1
丁哌卡因	25	1.3	>1
咖啡因	95	4	>1
卡马西平	8~28	21~36	≈1
地西泮	25~100	15~25	>1
吲哚美辛	14~20	2~11	>1
哌替啶	22	3~4	>1
茶碱	24~36	3~9	>1

妇女因激素水平影响生理功能,使药物在吸收、蛋白结合率、分布容积及代谢方面与男性有所不同。例如,心梗后的病人使用普萘洛尔 $80 \text{ mg}(\text{tid})$,用药 5 次后,妇女的血药浓度明显高于男性(约 80%)。在健康的年轻志愿者中,普萘洛尔的 $t_{1/2}$ 和分布容积在男性和女性间具有可比性,男性的消除率(经侧链氧化作用)及葡萄糖醛酸化作用分别比女性高 137% 和 52%。又如苯二氮草类药物也具有明显的性别相关差异,女性服用此类药物的 $t_{1/2}$ 通常比男

表 1-2 一些药物在成年人和老年人中的半衰期差异

药 物	成年人		老年人		半衰期比值 (老年人/成年人)
	年龄组	半衰期 ($t_{1/2}$ /h)	年龄组	半衰期 ($t_{1/2}$ /h)	
1. 抗生素类					
磺胺甲噁唑	24	1.75	81	3.02	1.72
青霉素 G(iv)	25	0.55	77	1.0	1.82
普鲁卡因青霉素(im)	25	10	77	18	1.80
阿莫西林(iv)	(青年人)	1~1.5	89	2.67	2.67~1.78
头孢唑啉	24~33	1.57	70~88	3.15	2.01
头孢拉定	24~33	0.53	70~88	1.2	2.26
双氢链霉素	27	5.2	75	8.4	1.62
卡那霉素	20~50	1.78	70~90	4.70	2.64
四环素	27	3.5	75	4.5	1.28
多西环素(iv)	20~28	11.9	42~55	17.7	1.49
奈替米星	54	2.3	74	5.0	2.17
2. 安定药					
地西洋	30	32	65	70	2.19
氟氮草	25	10.1	69	16.2	1.6
硝西洋	21~38	28.9	66~89	40.4	1.4
奥沙西洋	25	5.1	53	5.6	1.1
氟甲噁唑	27	6.15	70	6.34	1.03
3. 心血管药					
普萘洛尔(po)	29	3.58	80	3.61	1.01
(iv)	29	2.53	80	4.23	1.67
美托洛尔	23	3.5	67	5.0	1.43
地高辛	27	51	72	73	1.43
奎尼丁	23~34	7.25	60~69	9.7	1.34
利多卡因	24	1.34	65	2.33	1.74
4. 镇痛药					
吗啡(iv)	26~32	29	61~80	4.5	1.55
阿司匹林	21	2.38	77	3.71	1.56
安替比林	27	12.5	79	16.8	1.34
氨基比林	25~30	3.85	65~85	8.25	2.14
吲哚美辛	20~50	1.53	71~83	1.73	1.13
对乙酰氨基酚	24	1.82	81	3.03	1.64
保泰松	26	81	78	105	1.30
5. 其他					
异戊巴比妥	20~40	22.8	>65	86.6	3.8
苯巴比妥	20~40	71	>70	107	1.51
生胃酮	<40	16.3	>65	22.9	1.4
异烟肼(快乙酰化者)	<35	1.4	>65	1.5	1.07
(慢乙酰化者)	<35	3.7	>65	4.2	1.14
华法林	31	37	76	44	1.19
米帕明	<65	19	>69	23.8	1.25

性要长,年轻女性(<40岁)服用地西洋后,体内分布容积及总消除率都较年龄相当的男性高。奥沙西洋和替马西洋经与血浆蛋白结合代谢,由于男性的结合率高于女性,所以女性的排泄率低于男性(1:1.5)。Lane HY 等对 162 名中国住院精神分裂症病人的 clozapine 及其代谢物 norclozapine(代谢物 1)和 clozapine-N-oxide(代谢物 2)的治疗药物监测数据进行分析,考察了年龄、性别、剂量对药物及其代谢物的血药浓度影响,结果见表 1-3。

表 1-3 年龄、性别、药物剂量对 clozapine 及其代谢物的血药浓度影响 (%)

药物或代谢物	血药浓度增加百分率		
	年龄每增加 1 岁*	女性比男性**	日剂量增加 1 mg***
clozapine	1.1	34.9	0.31
代谢物 1	1.0	36.3	0.27
代谢物 2	1.0	无	0.16

* 平均年龄 33.8±9.3 岁; ** 女性:男性=83:79; *** 日剂量 100~900 mg, 平均 379.5±142.2 mg。

表 1-3 中数值显示,年龄每增加 1 岁,clozapine 与两个代谢物的血药浓度均增加 1%,与男性相比,女性病人的 clozapine 和代谢物 1 的血药浓度高约三分之一,日剂量每增加 1 mg,药物与代谢物的血药浓度增加 0.2%~0.3%。

妊娠期妇女的药动学参数与非妊娠期妇女相比有明显变化,且随妊娠月份进展,药动学参数的变化也越来越大。妊娠时机体内形成了一个复杂的多房室单位,除母体本身外,还加上胎盘和胎儿,生理上产生了较大变化,这些变化皆能影响药物的作用与代谢。

(2)病理因素 胃、肠道疾病影响药物的吸收,肝脏疾病影响药物代谢,肾脏疾病影响药物的排泄。肝脏是药物的主要代谢器官,如果发生障碍,药物在体内的代谢就受到抑制,可使药效发生改变,甚或加剧其毒性反应,尤其是以肝脏代谢为主要消除途径的药物,影响更大。肾脏是许多药物及代谢产物的主要排泄器官,肾脏有疾病时对药物和活性代谢物药理作用强度及维持作用时间均有明显影响。例如,王明霞等比较了老年肾功能正常患者与老年肾功能受损者单次静脉滴注 400 mg 乳酸环丙沙星(CPFX)注射液后的药代动力学,结果见表 1-4。表中值表明两组间有明显差异,老年肾损害患者的消除率显著下降、半衰期显著延长,因此,临床用药需慎重,注意减少剂量。

表 1-4 肾功能正常与损害患者静滴 CPFX 后的药代动力学参数**

药代动力学参数	正常组	对照组
α/h^{-1}	6.10±3.80	1.87±1.15
β/h^{-1}	0.239±0.105	0.12±0.04
$t_{1/2\alpha}/h$	0.16±0.11	0.46±0.21*
$t_{1/2\beta}/h$	3.23±1.17	5.98±1.80*
K_{21}/h^{-1}	0.97±0.69	0.63±0.11
K_{12}/h^{-1}	3.74±2.64	1.03±1.02
K_{10}/h^{-1}	1.63±2.77	0.33±0.09
$AUC/h \cdot \mu g \cdot mL^{-1}$	11.2±4.89	36.3±17.1
$Cl/L \cdot h^{-1}$	35.2±9.20	12.5±4.83*
V_{ss}/L	190.5±86.6	73.1±24.3*

* 与肾功能正常组相比 $P < 0.05$; ** $\bar{x} \pm s, n=5$ 。

表 1-5 列出了正常人和肾功能不良者的部分常用药物血浆半衰期变化。

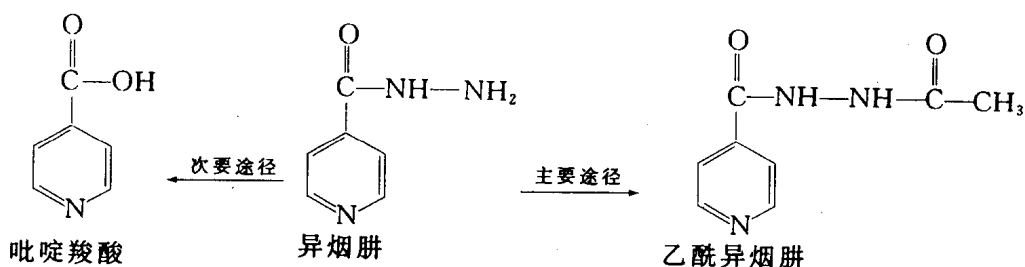
表 1-5 正常人和肾功能不良者的部分药物血浆半衰期变化

(h)

药 物	血浆半衰期	
	正常	肾功能不良
青霉素 G	0.5	7.11
头孢噻啉	1.5	20~23
四环素	8.5	57~108
卡那霉素	3.0	72~96
链霉素	2.5	52~100
多黏菌素 E	1.5~27	72~96

(3) 遗传因素 种族之间及同种族个体之间药物代谢酶活性有先天差异,影响药物代谢能力,用药个体代谢有快型和慢型之分。例如,体内乙酰基转移酶活性差异,可将用药个体划分为乙酰化代谢快型和慢型。通常用尿中异烟肼及其代谢物乙酰异烟肼浓度比率(MR)来衡量。

异烟肼是用来治疗结核的药物,在体内通过 N-乙酰基化代谢,少量被水解:



$$MR = \frac{\text{乙酰异烟肼} (\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})}{\text{异烟肼} (\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})}$$

$MR \geq 5$ 为乙酰化代谢快型, $MR \leq 3$ 为代谢慢型, MR 在 3~5 之间可作为代谢中间型。

又如氧化代谢酶(细胞色素 P450)活性差异,也可将用药个体分为氧化代谢快型(EMs)和氧化代谢慢型(PMs)。例如,S-美芬妥因羟化酶即细胞色素 P450C19 慢代谢的发生率存在着明显的种族差异,在西方白种人中 PMs 发生率为 3%~5%,而东方人中为 12%~22%。已知该酶参与了 10 多种药物的代谢,口服同等量药物后,EMs 和 PMs 体内血药浓度有显著差异,从而影响疗效,并与药物毒性和副作用密切相关。通常以美芬妥因为探针药物,进行 P450C19 表型分型测定。计算尿中两对映体浓度比值,以 S/R 比值 0.95 为分界线,进行快慢代谢分型, $S/R > 0.95$ 的为慢型代谢者(PM), $S/R < 0.95$ 的为快型代谢者(EM);或测定 S-美芬妥因羟化指数(S-MP/4'-OH-MP, HI),以 $\lg HI \geq 1.5$ 为快慢代谢分型界线, $\lg HI \geq 1.5$ 为 PM。

另一个具氧化代谢多态性的酶是细胞色素 P450D6。它可催化抗心律失常药、 β -受体阻断剂、抗高血压药、三环类抗抑郁药等 30 多种药物的代谢。当这种酶发生基因缺陷时,经其介导的药物代谢就受到了抑制,使血药浓度升高,导致毒副作用发生或疗效改变。P450D6 通常用右美沙芬作为探针药,进行代谢分型测定。

2. 药物因素

(1) 剂型因素 多年来认为药物制剂的化学上等价即意味着药理上等价,许多药典仅规定化学等价。近年来,由于药代动力学研究,已认识到制剂的处方不同、剂型不同,可影响药

物的吸收,从而引起药物效应速度、反应强度以及作用维持时间发生很大变化。在剂型因素中最主要的就是药物的溶解速度,因为固态药物只有溶解后才能被胃肠上皮细胞吸收。影响药物制剂溶解速度的因素有药物本身的粒子大小,粒子越小总表面积就越大,药物与溶剂接触面也增大,溶解速度就快。药物的晶型也是影响药物溶解速度的因素,晶型不同其溶解度也不同,一般无定型药物比结晶型药物溶解度大。制剂的辅料、制造工艺的不同,也可影响药物的生物利用度,因此对于安全范围较窄的药物,如地高辛片剂,不同厂生产,甚至应用同厂不同批号的制剂,都有可能明显影响血药浓度。图 1-3 表明由四个志愿者摄入四种不同剂型

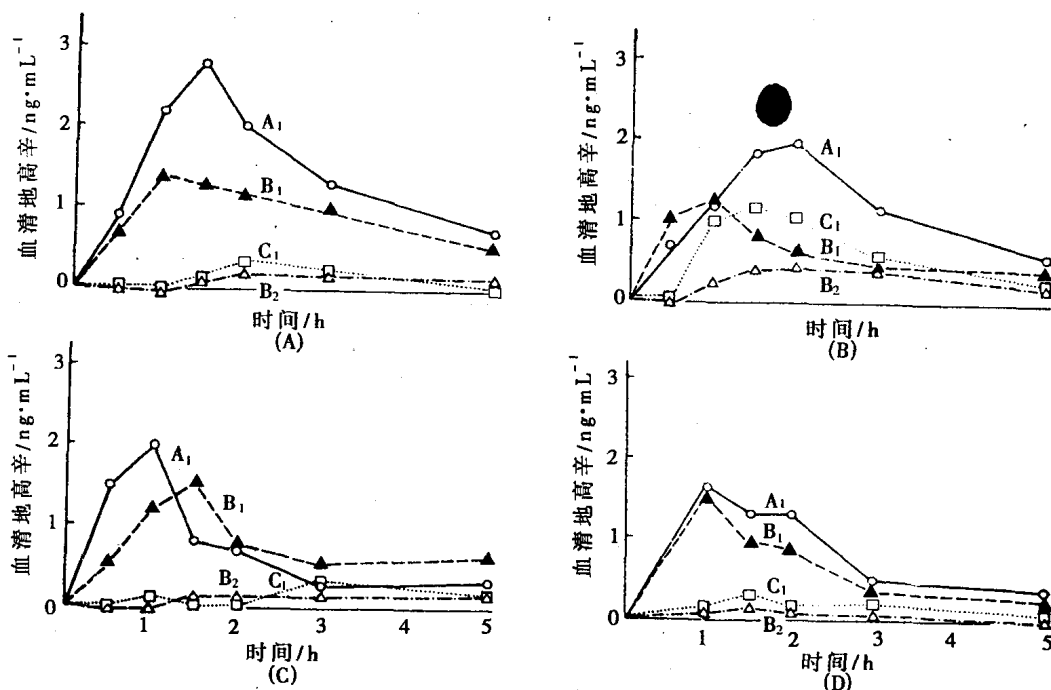


图 1-3 (A)、(B)、(C)、(D)四个人对四种地高辛产品吸收的差别

的地高辛所测出的血清浓度有显著差别。所有制剂均与所规定药物含量的标准是一致的,由于制剂 B₂ 与 C₁ 明显地次于 A₁ 及 B₁,而且人与人之间有显著差别,所以认为每个病人的强心甙剂量必须个别决定。

又如 1968 年澳大利亚发生苯妥英钠胶囊中毒事件,原因是制药厂将乳糖替代硫酸钙作为填充剂。由于乳糖能增加苯妥英钠在胃肠液中的溶解速度,以致吸收过快过多,形成血药浓度过高而发生中毒。

(2)手性药物对映体相互作用 目前常用的处方药中约 25% 的药物是外消旋体混合物,许多药物的对映体之间在药理、毒理、临床疗效方面有较大差异,这种差异体现在只有一个对映体产生生理活性。一般认为外消旋体中 50% 为杂质(指另一对映体),不但没有期望的活性,而且可能产生意料不到的别的药理或毒理作用,即手性药物两对映体间可能发生相互作用,它包括药效学相互作用和药动学相互作用,对映体之间有拮抗作用,也可产生协同作用。例如 S-美沙酮,通过竞争受体结合位置,显著减弱其手性异构体的缩瞳作用和对呼吸的影响。药效学相互作用的另一个例子是多巴酚丁胺,其左旋体为 α 受体激动剂,对 β 受体激动作用较轻微,而右旋体为 β 受体激动剂,对 α 受体激动作用较轻微,因此消旋体给药能增加心肌收缩力,但不加快心率和升高血压。手性药物对映体在药动学上的相互作用主要表

现在吸收、分布、代谢、排泄过程中的竞争性抑制作用和受体酶等对两对映体的选择性作用。例如,华法林在人体肝脏微粒体中非活性体 R-体竞争性地抑制药理活性强的 S-体的羟化代谢,而 S-体只是 R-体的弱抑制剂。当西咪替丁与华法林合并用药后能抑制 R-华法林代谢,从而间接地抑制了 S-华法林的羟化代谢,导致抗凝作用增强。抗心律失常药普罗帕酮,R-体可减弱 S-体的代谢消除。由于两对映体的钠通道阻滞作用相同,而 S-体可产生 β 阻滞作用,因此两对映体的相互作用结果,导致服用消旋体普罗帕酮比服用等量 S-体表现出更明显的 β 受体阻滞作用和不同的药动学参数,见表 1-6。

表 1-6 服用普罗帕酮消旋体或单个对映体后的药动学参数

药动学参数	服用消旋体		服用对映体	
	S-体	R-体	S-体	R-体
$CL(\text{mL} \cdot \text{min}^{-1})$	920±300	1460+480	2521±1450	1279±348
$t_{1/2}(\text{h})$	4.6±1.9	3.3±1.9	2.7±0.9	4.2±1.0
$C_{ss}/D(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1})$	3.3±1.1	2.1±0.8	1.4±0.8	2.3±0.7
$t_{max}(\text{h})$	1.9±0.5	2.0±1.0	2.0±1.0	1.6±0.5
$C_{max}/D(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1})$	5.2±1.7	3.5±1.4	2.6±1.4	3.4±1.3

3. 环境因素

环境因素主要指影响药物在体内吸收、分布、代谢、消除的各种化学物质和合并用药,如肝药酶的诱导剂、抑制剂。在合并用药中,如果一种药物能诱导或抑制另一种药物的代谢酶,就可使后者的代谢加快或减慢,引起血药浓度变化。抑制药物代谢酶活性的药物有胺碘酮、氯霉素、环丙沙星、诺氟沙星、培氟沙星、替马沙星、西咪替丁、雷尼替丁、氟丙噻、右丙氧芬、双硫仑、别嘌醇、红霉素、丙咪噻、异烟肼、美托洛尔、甲硝唑、咪康唑、去甲替林、口服避孕药、奋乃静、伯氨喹、丙磺舒、普萘洛尔、丙戊酸钠、苯磺唑酮、甲硫达嗪等,当以上药物与其他药物联合应用时,往往可使并用药物的正常代谢受阻、血药浓度升高、药效增强,可能产生中毒危险。而巴比妥类、卡马西平、格鲁米特、灰黄霉素、甲丙氨酯、扑米酮、苯妥英、利福平、螺内酯等则是肝药酶的诱导剂,可加速合并用药的代谢,使药效降低,同时也可使前体药物向活性药物转变加速。如环磷酰胺本身并无抗癌作用,只有经肝药酶代谢生成醛磷酰胺后才有抗癌活性。苯巴比妥为酶诱导剂,可加速这个过程,使醛磷酰胺血药浓度在短时间内增加过高,从而发生毒性反应。

联合用药时,药物的相互作用可以是单向的,也可以是双向的,一种药物可以促进其他药物的吸收,如甲氧氯普胺等胃动力药可使胃中的其他药物迅速入肠,使肠道吸收增加。许多药物进入体内后可与血浆蛋白可逆性结合。当两种药物合用时,对血浆蛋白结合发生竞争,结合力强的置换出结合力弱的,使后者血中游离药物浓度升高。联合用药时,一种药物也可使另一种药物的排泄量减少,导致血药浓度增加。以上种种均是药物相互作用引起的。此外,大气污染、食品、食品添加剂、烟、酒等均可因含有的某种化学成分影响药物在体内的过程,导致血药浓度变化。

此外,人体的昼夜节律、营养状态、精神状态对药物的作用也有影响。如不同时间给予正常人口服消炎痛,早晨(7时)服药与下午(7时)服药相比,早晨服药所得血药浓度高得多,其峰值血药浓度较一天内其他时间服药时要高 20%,而下午服药则要低 20%。营养不良的病人对药物作用较敏感,精神忧郁的病人对药物反应较重。

综上所述,影响血药浓度的因素很多,同一种给药方案难以对每一个病人都达到理想的

治疗效果。因此,为达到用药安全、合理、有效,必须设计个体化给药方案,这就需要进行治疗药物监测(therapeutic drug monitoring, TDM),以血药浓度为指标,达到个体化用药。

显然,要开展上述药物的体内研究和临床实际工作,首先要解决的问题也是建立体内微量药物及其代谢物的分离分析方法。

早在 20 世纪 70 年代国外就有学者提出,“体液中药物测定已成为药物分析工作者的一种重要任务”,“历史必将证明体液中药物浓度的定量技术是药理学中最大进展之一”,“药物动力学的成熟,同样依赖于体液中灵敏及合适的分析方法的发展”。可以认为,临床药理学和临床药理学的发展,给药物分析学科提出了新的要求;同样,体内药物分析方法学的完善与提高成为上述学科的实验手段和赖以建立的技术基础。

此外,药物滥用、吸毒、运动员服用兴奋剂以及公安司法部门进行的法医毒物分析,均涉及到体内药物(毒物)分析。例如,安眠镇痛药中的巴比妥类、吩噻嗪类、苯二氮草类药物,生物碱类中的阿片、颠茄、乌头、马钱子等,还有异烟肼、强心甙等,这些物质既是药物,也是毒物,监测的对象也是以生物体液为主,所以体内药物的分离分析方法,对滥用药物病人的求治,中毒病人的抢救,公安部门的破案均起到了重要作用。

三、体内药物分析任务

体内药物分析的任务概括起来,主要有本身分析方法学的研究,在治疗药物的监测、药代动力学研究以及人群代谢多态性研究中的应用和体内内源性物质的测定。

(一)本身分析方法学的研究

进行分析方法学研究,提供合理的最佳分析条件,估计、评定各种方法能达到的灵敏、专属、准确程度,探讨各种方法应用于体内药物分析中的规律性问题,为临床药学的研究提供准确、灵敏、快速的分析方法。

例 1:张丹等人应用 HPLC 法测定了人血浆中氧氟沙星(OFLX)的含量。

(1)色谱条件 μ Bondapak C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 10 μ m); 流动相: 甲醇-0.025 mol · L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(42 : 58, 磷酸调 pH 值至 2.5); 流速: 1 mL · min⁻¹; 检测波长: 295 nm; 温度: 室温。

(2)样品处理 精取血浆样品 0.5 mL, 置 5 mL 具塞离心试管中, 加入内标溶液 50 μ L (内含非那西汀 50 μ g), 甲醇 1.5 mL, 混旋 10 min, 离心(3 000 r · min⁻¹)10 min。吸取上清液经 0.45 μ m 滤膜过滤后, 置 75~80℃ 水浴上, 通空气流, 挥干。残渣用 100 μ L 甲醇溶解, 混旋 10 min, 离心(3 000 r · min⁻¹)10 min。取上清液 20 μ L, 在上述色谱条件下分离测定。记录色谱图, 量取 OFLX 峰面积与内标峰面积。图 1-4 为含有内标的血浆样品和空白血浆样品色谱图。

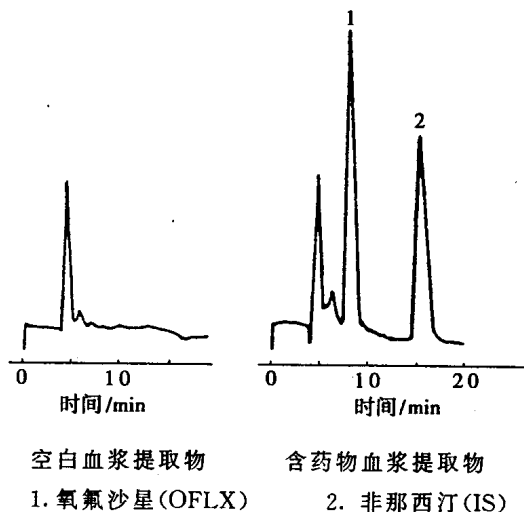


图 1-4 血浆样品色谱图