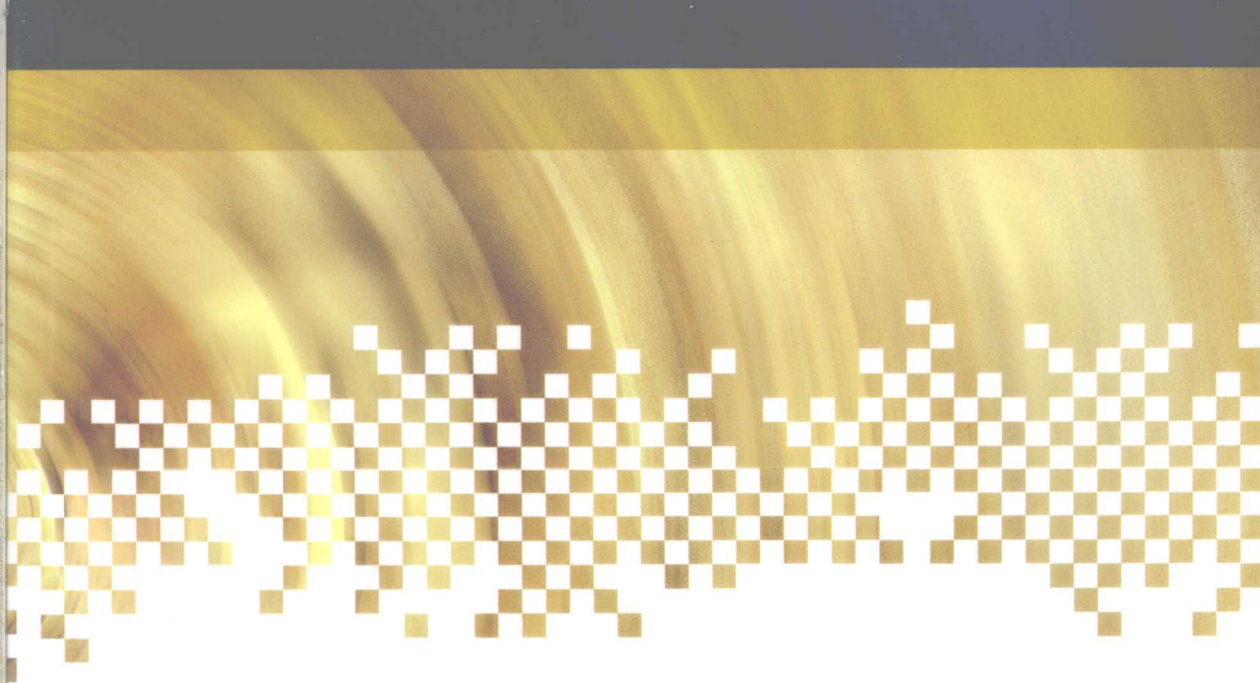




手性药理学与 手性药物分析

曾 苏 王胜浩 杨 波◎编著



科学出版社

www.sciencep.com

手性药理学与 手性药物分析

第二版

人民卫生出版社

手性药理学与手性药物分析

曾 苏 王胜浩 杨 波 编著

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书结合作者 10 多年的科学研究成果,对近年来手性药物药理学与手性药物分析学的研究理论和技术做了较全面的介绍。全书分为三篇共 15 章。第一篇重点阐述手性药理学、手性药物代谢动力学与手性毒理学的基本理论和研究方法;第二篇重点叙述手性药物分析的理论与方法;第三篇主要介绍手性药物研究和开发过程中的若干相关问题,包括手性药物对映体杂质分析、手性药物制剂递释的立体选择性作用、国内外手性新药的注册要求。

本书可供手性药理学与手性毒理学研究、手性药物分析、手性药物设计与研究开发、手性药物临床合理应用、手性新药审评等有关专业科研人员阅读,也可作为药学、药理学、化学和医学有关专业研究生及国家执业药师继续教育的学员的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

手性药理学与手性药物分析/曾苏,王胜浩,杨波编著. —北京:科学出版社,2009

ISBN 978-7-03-025012-4

I. 手… II. ①曾…②王…③杨… III. ①不对称有机合成—药理学
②不对称有机合成—药物分析 IV. R962 R914.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 119819 号

责任编辑:周 强 周巧龙 沈晓晶 / 责任校对:朱光光

责任印制:钱玉芬 / 封面设计:王 浩

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

独立印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2009 年 7 月第 一 版 开本:B5(720×1000)

2009 年 7 月第一次印刷 印张:22 1/4

印数:1—2 200 字数:438 000

定价:60.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

《手性药理学与手性药物分析》

编委会

主 编 曾 苏

副主编 王胜浩 杨 波

编 委 (按姓氏拼音排序)

邓桂凤	方颖颖	何俏军	黄文海	廖 勇
刘彦卿	沈水杰	盛 荣	王海钠	王味思
邢 峰	杨芬妍	尹丽娜	张雅雯	郑高利
朱狄峰	朱 虹			

前 言

临床上使用的药物中超过一半是手性药物,其中大部分以消旋体的方式给药。药物的作用过程涉及与生物体的相互作用,而手性是生物系统的基本特征,很多内源性大分子如酶、受体、血浆蛋白、多糖和离子通道等都具有手性特征,这些生物大分子是由 L-氨基酸或 D-糖类构成。手性药物对映体进入生物体内,将被作为不同的分子加以识别匹配,造成对映体在药效学、药物代谢动力学和毒理学方面均存在立体选择性。因此,若忽视了手性药物的立体化学因素,实验数据将失去临床意义并有被错误解释的危险,特别是在阐明不同类型患者的药物浓度与作用的关系时,对手性药物来说,只要有可能,就应该对其对映体分别研究它们的药效学和药物代谢动力学性质。在评价手性药物和研制手性新药时,应采用立体选择性实验方法对不同的对映体分别作出评价。同时,在对服用外消旋体药物进行治疗药物监测时,也应分别监测各对映体的血药浓度。分离生物体液中的对映体曾是分离科学上的难题之一,常规分析方法无法同时测定手性药物的两种对映体,但是要研究药物的手性生物转化及其机理,就必须建立能同时分离和测定手性药物中两种对映体的分析方法,使整个研究过程始终处于立体选择性的监控之中,保证实验结果的准确性与对映体的专属性。

目前,美国、加拿大、欧盟、日本和中国等已要求在申报具有手性的新药时,需呈报对映体的药理学、毒理学、药物代谢动力学和质量控制研究资料。因此,采用对映体选择性方法,研究手性药物各个对映体的药效学及作用机理、药物代谢动力学行为、手性药物的相互作用和毒理学,可以为临床合理使用手性药物、研制开发新手性药物或其对映体提供科学依据。

我们在国家杰出青年科学基金和国家自然科学基金等项目的资助下进行了 10 多年手性药物研究工作,积累了丰富的资料并取得了一系列科研成果,在《手性药物与手性药理学》(曾苏,2002)的基础上编写了本书。由于作者水平所限,书中难免存在不足甚至错误,我们诚恳地希望读者批评指正。

曾 苏 王胜浩 杨 波

2009 年 6 月于杭州

目 录

前言

第一篇 手性药理学与手性毒理学

第一章 药物的手性	3
第一节 手性理论	3
第二节 生命中的手性	4
第三节 手性药物的表示方法	5
参考文献	9
第二章 手性药物的药理学与毒理学	10
第一节 手性药物的作用机理	10
第二节 手性药物的药效学	21
第三节 手性药物的安全性	32
参考文献	37
第三章 手性药物代谢动力学	41
第一节 手性与吸收转运过程	42
第二节 手性与分布过程	45
第三节 手性与代谢过程	51
第四节 手性与排泄过程	59
第五节 手性转化	60
第六节 手性药物的生物利用度	61
参考文献	63
第四章 影响手性药物立体选择性作用的因素	65
第一节 给药途径	65
第二节 生理与病理状况	65
第三节 年龄和性别	66
第四节 种属和个体差异	67
第五节 遗传因素	68
参考文献	69

第五章 手性药物的相互作用	70
第一节 同一外消旋体药物中对映体之间发生相互作用	70
第二节 其他药物与外消旋体药物中某个对映体发生选择性的相互作用	73
第三节 手性药物相互作用的研究方法	75
参考文献	76

第二篇 手性药物分析

第六章 手性高效液相色谱法	81
第一节 手性衍生化试剂法	81
第二节 手性流动相添加剂法	89
第三节 手性固定相法	97
第四节 液质联用	112
参考文献	119
第七章 手性气相色谱法	123
第一节 手性衍生化试剂法	123
第二节 手性固定相法	127
参考文献	138
第八章 手性毛细管电泳和手性毛细管电色谱	141
第一节 手性毛细管电泳	141
第二节 手性毛细管电色谱	169
参考文献	196
第九章 手性超临界流体色谱	201
第一节 超临界流体色谱原理	201
第二节 SFC 中的流动相效应及大规模制备分离	206
第三节 SFC 在手性对映体分离中的应用	211
参考文献	214
第十章 手性核磁共振分析方法	220
第一节 原理	220
第二节 应用	231
参考文献	241
第十一章 圆二色谱法和旋光法	243
第一节 圆二色谱法	243
第二节 旋光法	255
参考文献	259

第十二章 手性免疫分析方法	261
第一节 原理	261
第二节 应用	271
参考文献	280

第三篇 手性药物研究

第十三章 手性药物对映体杂质分析	285
第一节 对映体杂质的分离	285
第二节 对映体杂质的合成	299
第三节 药物杂质对映体的构型确证	302
参考文献	307
第十四章 手性药物制剂递释的立体选择性作用	310
第一节 手性药物制剂中对映体体内外选择性作用机理	310
第二节 控释给药系统体外对映体选择性释放	315
第三节 控释给药系统在大鼠体内的对映体选择性释放	322
参考文献	327
第十五章 手性新药的注册要求	330
第一节 手性新药的药理学和毒理学技术要求	330
第二节 手性新药的质量控制技术的要求	334
参考文献	343

第一篇 手性药理学 与手性毒理学

第一章 药物的手性

分子中的结构基团在空间排列不同的化合物称为立体异构体。立体异构体可分为两大类:在空间上不能重叠,互为镜像关系的立体异构体称为对映体(enantiomer)。这一对化合物具有手性(chirality),其来源是希腊语 chiro(手),就像人的左右手一样呈镜像关系。反之,不成对映关系的立体异构体称为非对映体(diastereomer)。早在 1904 年 Lord Kelvin 就阐明了手性的定义,即分子或化合物与其镜像不能重合的现象^[1]。手性是用来表达化合物分子结构不对称性的术语。手性分子属于有机物同分异构现象中的立体异构,图 1-1 表示了有机物同分异构现象。

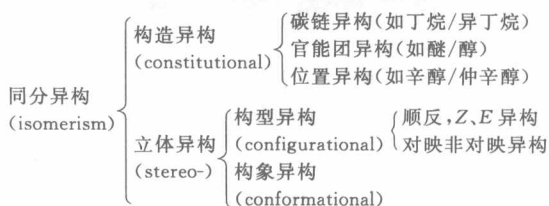


图 1-1 有机物同分异构现象

研究表明,常用药物中大约 60% 具有 1 个或 1 个以上手性中心,而美国药典所列出的 3000 多种药物中约 50% 属于手性药物。在我国,临床使用的许多药物也是手性化合物,而且许多中草药的有效成分都具有手性中心。

第一节 手性理论

手性药物(chiral drug)是指分子结构中含有手性中心或不对称中心的药物,它包括单一的立体异构体、2 个或 2 个以上立体异构体的混合物,分子中若含有 n 个手性中心,将产生 2^n 个立体异构体,其中有 2^{n-1} 对对映体。那些不是对映体的立体异构体称为非对映体(diastereomer)。其他的手性因素还有手性硫原子、手性磷原子、手性平面、手性轴;另外叔胺和取代联苯具有不稳定的手性因素(图 1-2)。

自然界中特别是生物体中,手性化合物的两个对映体存在量是不同的,有些仅仅是单一对映体存在。例如,构成蛋白质的氨基酸均为 L-氨基酸,而组成多糖和核酸的单糖则是 D-单糖。许多其他天然存在的手性小分子也主要以对映体中的一种存在,这种现象称为手性优择(chiral preference)^[2]。手性优择使得作为生命

活动重要基础物质的生物大分子或其组成单元如核酸、蛋白质、多糖等以及其他如受体、离子通道等具有不对称的性质,也使得酶只催化特定手性底物的反应,受体仅与特定手性的小分子化合物结合等。

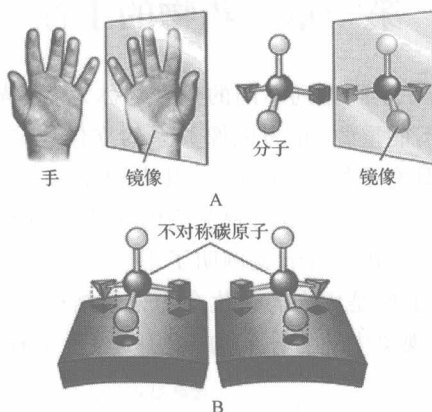


图 1-2 药物的手性

A. 对称平面; B. 碳原子作为手性中心

第二节 生命中的手性

1848 年 Louis Pasteur 指出:几乎全部天然有机物分子,即生命的基本组成成分是不对称的……这也就是生命物质与非生命物质成分之间唯一的分界线。

生命的基本物质是核酸和蛋白质。核酸和蛋白质以及糖原、淀粉、纤维素、磷脂等都有右手螺旋结构(可用右手螺旋方法判断),螺旋形分子均是不对称分子,而它们的单体如核苷酸和氨基酸等,也都是不对称分子。已经发现的氨基酸有 20 多种,除了最简单的甘氨酸以外,其他氨基酸都有另一种手性对映体。检验氨基酸手性的最好方法就是,让一束偏振光通过它,使偏振光发生左旋的是左旋氨基酸,反之则是右旋氨基酸。通过这种方法的检验,人们发现了一个令人震惊的事实,那就是除了少数动物或昆虫的特定器官内含有少量的右旋氨基酸之外,组成地球生命体的几乎都是左旋氨基酸,而没有右旋氨基酸。生命是一个高度组织化并高度有序的体系,为了生成这样的体系,就只能有一种对映体作为形成生物分子的空间结构,如组成生命蛋白质的氨基酸都是 L 型,组成核酸的核糖和脱氧核糖分子都是 D 型。光学活性是生命有序性和组织化的基础。由 100 个谷氨酸组成的 α -聚谷氨酸大分子,组成单元具有同一旋光性的,就只能生成一种 α -聚谷氨酸。相反,若这 100 个氨基酸分子是 L 型和 D 型的混合物,则这 100 个氨基酸组成的聚合分子的异构体将有 2100 个之多,这样的分子根本不能构成高度有序的生命分子。生物体

内有机物的旋光特点,从低等生物到高等哺乳动物都普遍存在。这一特征成为区分生物与非生物的显著标准,也以此来判断陨石上的氨基酸是来自生命体还是非生命体。

自然界中同手性的起源是一个长期未能解开的谜:无生命物质通常含有相同数量的左手性和右手性分子,那么为什么有生命物质却几乎全部是由左手性的氨基酸和右手性的糖组成的? 生命学说著名代表人物 Wald 认为“从消旋化合物中选择一种光学异构体,有利于高级有序结构的形成。至于究竟是两种光学异构体中的哪种,则是‘适者生存’的结果”。Saghatelian 等^[3]在 2001 年《自然》杂志上报道认为这种同手性可能是由自复制的缩氨酸决定的,该物质决定了在类似的生物分子之间具有一个统一的取向。但是直到现在,生命起源仍是四大基本科学难题之一,生物分子的对称性破缺问题则是生命起源研究的头号难题。

目前,世界单一对映体形式手性药物的销售额持续增长,单一对映体药物制剂的市场份额从 1996 年 27% 增加到目前约 61%。销售额在前 10 位的单一对映体“重磅炸弹级”药物是 Pfizer 公司的阿托伐他汀钙(atorvastatin calcium)、Merck 公司的辛伐他汀(simvastatin)、Bms 公司的普伐他汀(pravastatin)等。*Chirality* 杂志报道,生产一个单一异构体所带来的收益已经达到 8 亿美元^[4]。1999 年手性药物市场销售额第一次超过 1000 亿美元,单一异构体手性药物销售额达到 1170 亿美元,2000 年达到 1320 亿美元,2001 年达到 1472 亿美元,2002 年达到 1600 亿美元,2005 年达到 1720 亿美元,2010 年可望超过 2500 亿美元^[5]。这一发展趋势的内在驱动力来自于单一对映体手性药物巨大的且仍在不断增长的市场需求。手性药物的不断增加改变着化学药物的构成。人们对于效果更好、毒副作用更小的药品和新化学实体(new chemical entity, NCE)的需求,推动着手性技术的发展,手性药物大量增长的时代正在来临。

第三节 手性药物的表示方法

手性是由分子的三维取向所引起的。当药物分子结构中四面体碳原子上连接的 4 个原子或基团互不相同时,该原子就称为手性中心或不对称中心,相应的药物则称为手性药物。药物的手性一般是由碳原子的 sp^3 杂化中心的存在而引起的。分子的三维结构称为构型。药物的构型表示方法一般分为 Fischer 惯例及 Cahn-Ingold-Prelog 规则两种。

1. 左旋体和右旋体

能使偏振光的偏振面按顺时针方向旋转的对映体称为右旋体(dextrorotatory),在药名前用 *d*-或(+)-表示。反之则称为左旋体(levorotatory),在药名前加 *l*-或(-)-表示。外消旋体(racemate)则是由等量的左旋体和右旋体构成,因此没有旋

光性。在其药名前用(*dl*)-或(±)-表示。这种表示方法直观地反映了对映体之间光学活性的差别,但是不能提供药物分子三维空间排列或绝对构型的信息。

旋光度反映手性药物的光学活性,它与比旋光度的关系是 $\alpha = [\alpha]_t^c L$, 式中, α 为旋光度; $[\alpha]$ 为比旋光度; t 为测定温度; λ 为测定波长; c 为被测药物的质量浓度(g/mL); L 为被测药物溶液的厚度即光路长度(dm)。

2. Fischer 惯例

19 世纪末,为了表示手性化合物的构型,Fischer 将尽可能多的手性化合物与一个标准化合物的构型相关联,用这个方法推导这些化合物的构型。当时 Fischer 选择了甘油醛为标准化合物。在 Fischer 投影式(Fischer projection)中,将右旋甘油醛的不对称碳原子置于纸平面上,醛基(—CHO)置于碳原子的上方,羟甲基(—CH₂OH)置于碳原子的下方;另外,把羟基(—OH)置于碳原子的右边,氢(—H)置于碳原子的左边,它们都取向在纸平面的前方。Fischer 把这个构型指定为甘油醛的 D 构型(D configuration),用大写字母 D 表示。与它相反的 L 构型的镜像对映体是用大写字母 L 来表示。这样,右旋的甘油醛被指定为具有 D 构型,称为 D-甘油醛,而左旋的甘油醛被指定为具有 L 构型,称为 L-甘油醛(图 1-3)。如果将各个基团写成通式替代,则许多可以与甘油醛互相转化的化合物或结构上

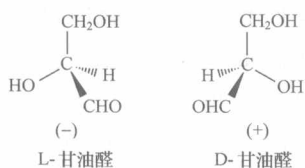


图 1-3 D-和 L-甘油醛

相关的化合物的构型就可以由甘油醛的构型推导出来。如(+) - 乳酸和(-) - 乳酸就分别冠以 L 构型和 D 构型。虽然在当时尚不知道其绝对构型(absolute configuration)的情况下,把右旋的甘油醛人为地指认为 D 构型。直到 1951 年, Bijroet 用 X 射线测定了右旋酒石酸铷钠的绝对构型,旋光化

合物的构型才得以确定,巧合的是人为规定的甘油醛的构型与实际的完全符合,右旋体确实具有 D 构型,当初的选择完全是巧合。Fischer 投影式也可用于氨基酸。Fischer 惯例的优点是,它能对许多天然化合物的立体化学做出系统的表述。这些惯例迄今仍在碳水化合物和氨基酸中应用。但其局限性也是显而易见的。D、L 命名法除了在多手性中心的化合物上有困难外,后来又发现许多化合物如萜类、甾体在结构上与模型参照化合物甘油醛相差甚远,难以关联。而且,主链的选择正确与否也十分重要。当主链以不同的方式排列时,同一化合物就可能被指定为不同的构型。

3. Cahn-Ingold-Prelog 规则

为了完整清晰地描述一个手性中心(连接 4 个基团)的绝对三维取向,20 世纪 50 年代建立了一个称为卡恩-英戈尔德-普雷洛格(Cahn-Ingold-Prelog, CIP)规则的系统。这个规则是以连接手性中心的 4 个基团的大小顺序规则为基础的。按此规则,用前缀 R 或 S 来明确表示分子中不对称中心的绝对构型。这些优先顺序规

则为：①较高原子序数的原子排在较低原子序数原子的前面，对同位素原子而言，较高相对分子质量的同位素排在前面，如 $I > Br > Cl > F > OH > NH_2 > CH_3 > H$ 等^[6]；②如果两个或多个相同的原子直接连接在不对称原子上，按相同的顺序规则对侧链原子进行比较。烷基的顺序是叔基 > 仲基 > 伯基，有优先取代基的基团有最高的优先权，对于连接杂原子的基团可以应用类似的规则；③对于多重键，以双键或叁键连接的原子对它所连接的原子做一次或二次重复，这些规则也适用于芳族体系；④对于取代的烯基，*Z* 构型的基团比 *E* 构型的基团优先。

R、*S* 系统具体命名方法是：将手性中心连接的取代基按基因大小顺序依次排列， $a > b > c > d$ ，把 *d* 作为手性碳原子四面体的顶端，*a*、*b*、*c* 为四面体底部的 3 个角，从四面体底部向顶端方向看，若保持从大到小基团按顺时针方向排列，称为 *R* 构型 (rectus, 右)，若为逆时针方向排列则称为 *S* 构型 (sinister, 左)。如果将 *R*-*S* 系统命名比喻为驾驶汽车的方向盘就很形象，也就容易理解了。以这个规则来观察前述的乳酸、丙氨酸、甘油醛，不难看出它们的绝对构型可认定如下：*D* 构型的甘油醛和乳酸为 *R* 构型，天然的氨基酸如丙氨酸则是 *S* 构型。用 *R*、*S* 命名系统来表达分子中的不对称碳原子的绝对构型，优点是比较可靠，已被广泛接受，如麻黄碱与伪麻黄碱 (图 1-4)。

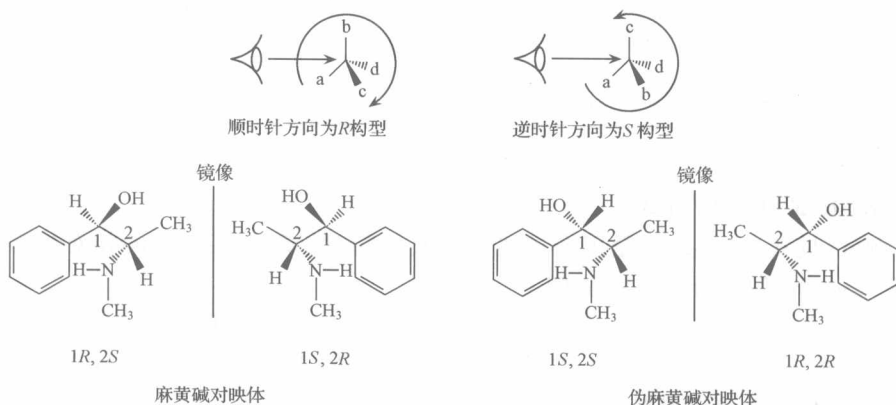


图 1-4 麻黄碱和伪麻黄碱的 Cahn-Ingold-Prelog 命名

4. 立体异构体、非对映异构体和对映体

立体异构体 (stereoisomer) 其分子由相同数目和相同类型的原子组成，是具有相同的连接方式但构型不同的化合物。

非对映异构体 (diastereoisomer) 对于分子中具有两个或多个不对称中心，并且其分子互相不为镜像的立体异构体，常简称为“非对映体”。

对映体 (enantiomer) 为分子互相不可重合镜像的立体异构体。

5. 外消旋、内消旋和外消旋化

外消旋(racemic)以外消旋体或两个对映体的等量混合物存在,也以符号(±)表示。

内消旋化合物是指分子内具有两个或多个不对称中心但又有对称面,因而不能以对映体存在的化合物。内消旋化合物用前缀 *meso*-表示。酒石酸有两个不对称中心,因此有一对对映体和一个内消旋体(图 1-5),共有 3 个立体异构体。酒石酸之所以有内消旋体,是因为它的两个手性碳原子所连接基团的构造完全相同。当这两个手性碳原子的构型相反时,它们在分子内可以互相对映,因此,整个分子不再具有手性。内消旋酒石酸(C)和有旋光性的酒石酸(A)或(B)是非对映体,它不仅没有旋光性,并且物理性质也相差很大(表 1-1)。

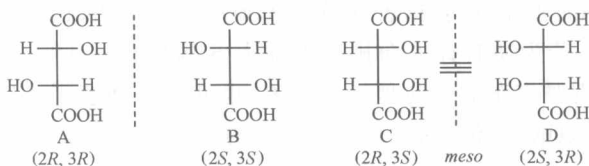


图 1-5 酒石酸的一对对映体和内消旋体

表 1-1 酒石酸的物理性质*

酒石酸	熔点/℃	$[\alpha]$
(A)右旋	170	+12°
(B)左旋	170	-12°
(C)内消旋	146	0

* 外消旋体熔点, 206℃。

6. 顺式/反式和赤式/苏式体

顺式/反式(*syn/anti*)是用来描述两个取代基对于环上某平面的相对构型的前缀。*syn* 指同侧, 而 *anti* 指异侧。

赤式/苏式(*erythro/threo*)由碳水化合物的命名而来, 用来表述相邻立体中心的相对构型。赤式异构体指在 Fischer 投影式中相同或相似取代基在垂直链的同侧; 苏式异构体指位于异侧(图 1-6)。

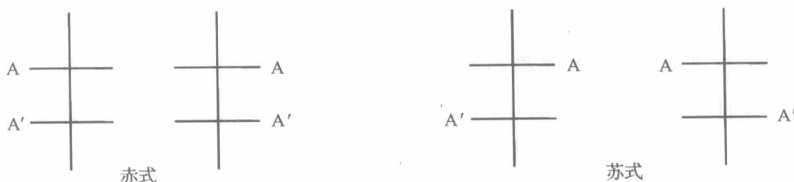


图 1-6 赤式和苏式

(杨 波 何俏军 朱 虹)