

生物药剂学和药物动力学

实 验 讲 义

湖南医学专科学校

谭 军

湖南医学专科学校药剂教研室

一九八九年十二月

一、乙酰水杨酸片溶出速率的测定

二、单室模型数据处理

三、双室模型数据处理

四、血药法测定药物药理学参数

五、氯苯磺血药浓度测定方法实验

实验三 实验三 目录

一、乙酰水杨酸片溶出速率的测定

二、单室模型数据处理

三、双室模型数据处理

四、血药法测定药物动力学参数

五、氨茶碱血药浓度测定方法实验

实验一 乙酰水杨酸片体外溶出速度测定

一、实验目的

通过乙酰水杨酸片体外溶出速度的测定，了解制剂生物利用度的体外测定方法。

二、实验指导

片剂服用后，在消化道中需要经过崩解和溶解两个过程，然后才为机体所吸收。崩解后的粒子还不能直接被机体吸收。故崩解时限的检查只能控制整个释放过程的最初阶段。特别在加入辅料的情况下测得的崩解度，不太符合实际的生理现象。故对难溶性药物只用崩解度作为片剂吸收性的指标，就不能完全反映制剂的内在质量。为了更有效地控制固体制剂的内在质量，除了测定体内血药或尿药浓度（最能真实反映吸收情况）外，目前一些国家的药典收载了一种与体内结果相关的体外测定方法——溶出速度测定

（Dissolution rate determination）。我国药典85年版也收载和规定了有关溶出度的内容。

片剂溶出速度测定是指药片在适当的介质中崩解后，主药的溶出速度和程度。近代生物药剂学研究指出，一般溶解度小于 $0.1 \sim 1 \text{ g} / 100 \text{ ml}$ 的药物，其体内吸收受溶出速度的控制。故目前都用溶出速度来控制难溶性药物固体制剂的质量。本实验测定乙酰水杨酸片的溶出速度，乙酰水杨酸微溶于水（ 25°C 时溶解度为

0.33 g / 100 ml)。

测定溶出速度的仪器种类较多，85版药典收录了转兰法，循环法和搅拌浆法，本实验采用转兰法。

一、乙酰水杨酸标准曲线的绘制

精密称取乙酰水杨酸结晶(分析纯)250 mg，悬浮于250 ml 蒸馏水中，在40~50℃水浴中加热，振荡溶解，冷却后，稀释至500 ml。

精密吸取1 ml，2 ml，3 ml，4 ml，5 ml 分别置于50 ml 容量瓶中，加25 ml 蒸馏水，用0.1 N 氢氧化钠溶液调节PH至9~10，在沸水浴中加热5分钟，冷却后，用0.1 N 盐酸调节PH至3~4，加5滴硫酸铁铵指示液，用蒸馏水稀释至刻度，摇匀，在530 nm 波长处测定吸收度，绘制乙酰水杨酸的标准曲线。

二、乙酰水杨酸片的含量测定

取20片乙酰水杨酸称重(每片含乙酰水杨酸0.3 g)，研细称取相当于0.3 g 乙酰水杨酸的细粉，将细粉悬浮于约400 ml 蒸馏水中，在温度40~50℃水浴内充分搅拌使乙酰水杨酸溶解，冷却后，补加蒸馏水至500 ml，过滤。

取滤液5 ml，置50 ml 容量瓶中，加25 ml 蒸馏水……
(后面的操作方法同一)

三、乙酰水杨酸片体外溶出速度的测定

操作方法：

① 调节恒温水浴于37℃±1℃，转兰转速为100转/分。

② 取0.1 N 盐酸1000 ml 为释放介质，预热至37℃，

于恒温水浴中保温。

③ 取乙酰水杨酸片一片精密称重。装入转篮中，将转轴与马达接好，开动马达，当溶液接触到药片，开始计时，隔一定时间（见表）取样进行含量测定。

④ 定时吸样，每次吸取 10 ml，同时补入介质 10 ml。将 10 ml 样品过滤，精密吸取滤液 5 ml 置 50 ml 容量瓶中，加蒸馏水 25 ml，用 0.1 N 氢氧化钠溶液调节 pH 9~10……（方法同上）。 (0000)

⑤ 每组共测 3 片阿司匹林。

四、结果处理

1、记录

时 间	① 片重 (g)		② 片重 (g)		③ 片重 (g)	
	$\bar{M}$	$\mu\text{g/ml}$	$\bar{M}$	$\mu\text{g/ml}$	$\bar{M}$	$\mu\text{g/ml}$
2'						
4'						
6'						
10'						
15'						
20'						
30'						
40'						

2、释放百分率计算：

$$\text{释放百分率} = \frac{\mu\text{g/ml} \times \text{稀释倍数} \times 10^{-6}}{\text{片重} \times \text{百分含量}} \times 100$$

累积释放百分率 时间	样品	①	②	③	均值
2'					
4'					
6'					
10'					
15'					
20'					
30'					
40'					

3、绘制乙酰水杨酸片体外累积释放曲线。

4、乙酰水杨酸片30分钟释放百分率。

注：中国药典85版规定乙酰水杨酸片在30分钟时的溶出速率，不得少于标示量的80%。

实验二 单室模型数据处理(口服)

一、实验目的

通过对口服单室模型药物所得血药浓度的数据进行处理,掌握用残数法在药物动力学中求单室模型参数的方法。

二、实验指导

药物动力学是研究药物被机体吸收后在体内的量变规律,用数学公式及模型来模拟和阐明药物在体内的血药浓度随时间变化的“经时过程”。因此掌握以血药浓度测定所得到的原始数据,用恰当的模型和数学方法对所得数据进行处理,是了解药物动力学原理所必须掌握的步骤和方法。

在血药浓度数据处理方法中,残数法是常用的一种方法(又名残差法 剩余法)。是在药物动力学中,把一条血药浓度曲线分解成它的各种指数成分的通用方法,从而得到表征这种药物在体内经时过程公式中的有关参数。

三、数据处理

某药物口服 500mg 后,以一级动力学吸收,且在体内具有单室模型的特征。在不同时间里所测得的血药浓度数据见下表:

时 间(h)	0.5	1.0	2.0
血 药 浓 度 (mg/ml)	5.36	9.95	17.18
4.0	8.0	12.0	18.0
25.78	29.78	26.63	19.40
24.0	36.0	43.0	72.0
13.26	5.33	2.56	0.49

注: $F = 1$

按上表中血药浓度的对数对时间作图, 将得到一条二项指数曲线, 其后段化直为一条斜率是 $-K/2.303$ 的直线。设直线外推至 0 时间的截距 A 等于 $\log KaFX_0/V(Ka-K)$ 。

将吸收相中从外推直线上找到的各测定时间上的浓度, 减去该时间的真实浓度, 可得到一组残数浓度值, 于是以残数浓度的对数对时间作图, 可得到一条以 $-Ka/2.303$ 为斜率, 以 $\log KaFX_0/V(Ka-K)$ 为 0 时间截距的直线。故应用残数法能够将已知的血药浓度—时间曲线分解为它的两个指数成分, 进而逐步地按有关公式可逐一求出该模型的各种药物动力学参数。

按上表中所得的 $C-t$ 时间数据, 首先在半对数纸上作图, 结果得到如图所示的图形。从后段直线(消除相)中, 可通过最小二乘法处理, 进行线性回归求出斜率 b 和截距 a 。

t	t^2	c	$\log c$	$t \log c$
2.4				
3.6				
4.8				
7.2				
$\Sigma t =$	$\Sigma t^2 =$		$\Sigma \log c =$	$\Sigma t \log c =$
$(\Sigma t)^2 =$				
$a =$		$b =$		

得出 a 和 b 后，按下式将该直线进行外推，求出外推浓度。

$$\log c = a + bt$$

将外推至各测定时间上的浓度，减去该时间的真实血药浓度，可得到一组残数浓度值。

时 间 (t)	血药浓度 $\mu\text{g} / \text{ml}$	外 推 值 $\mu\text{g} / \text{ml}$	剩 余 值 $\mu\text{g} / \text{ml}$
0.5	5.36		
1.0	9.95		
2.0	17.18		
4.0	25.78		
8.0	29.78		
12.0	26.63		
18.0	19.40		
24.0	13.26		
36.0	5.88		
48.0	2.56		
72.0	0.49		

从残数浓度中(即剩余值)再用最小二乘法处理,进行线性回归,求出斜率 $b_{\text{残}}$ 和截距 $a_{\text{残}}$,得回归方程。

$$\log c_{\text{残}} = a_{\text{残}} + b_{\text{残}} t$$

根据上述数据处理结果,即可分别求出该药物口服后药物动力学的各种参数。

K12303-b

$$K = 2.303 \cdot b$$

$$t_{1/2} = 0.693 / K$$

$$K_a = 2.303 \cdot b_{残}$$

$$t_{1/2} K_a = 0.693 / K_a$$

$$\log M = a$$

$$V = K_a F X_0 / (K_a - K)$$

$$T_m = \frac{2.303 \log(K_a / K)}{K_a - K}$$

$$C_m = \frac{F X_0}{V} e^{-K \cdot t_m}$$

注: $F=1$

四、计算结果

该药物在体内的药物动力学参数为:

K	K _a	V _d	T _m
t _{1/2} K	t _{1/2} K _a	M	C _m

实验三 双室模型数据处理(静注)

一、实验目的

通过对静脉注射双室模型药物所得血药浓度的数据进行处理,掌握用残数法在药物动力学中求双室模型各种参数的方法。

二、实验指导

在实验二的数据处理方法中,已基本掌握了运用残数法逐步求单室模型参数 K 、 K_a 、 V_d 等。本实验在此基础上,用残数法中的最小二乘法进行线性回归,逐步求出双室模型中的 α 、 β 、 A 、 B 等,再计算出 K_{12} 、 K_{21} 、 V_c 等有关参数,具体方法可参考实验二的内容。

三、数据处理

某药物静注 1.0g 后,在体内的经时过程符合双室模型特征,在不同时间里所测得的血药浓度数据见下表:

时 间 (h)	0.165	0.5	1.0		
血 药 浓 度 ($\mu\text{g/ml}$)	65.03	28.69	10.04		
1.5	3.0	5.0	7.5	10.0	
4.93	2.29	1.36	0.71	0.38	

一)、将不同时间里所得的血药浓度数据,在半对数坐标纸上作图。

二)、用剩余法计算出A、B、 α 、 β 后进一步算出K、 K_{12} 、 K_{21} 、 K_{10} 、 V_c 等参数。

其中:

$$K_{21} = \frac{A\beta + B\alpha}{A + B}$$

$$K_{10} = \frac{\alpha\beta}{K_{21}}$$

$$K_{12} = \alpha + \beta - K_{21} - K_{10}$$

$$V_c = \frac{X_0}{A + B}$$

$$V_d = V_c K_{10} / \beta$$

$$t_{1/2\beta} = 0.693 / \beta$$

$$t_{1/2\alpha} = 0.693 / \alpha$$

三) 按照药物在体内的c-t关系式:

$$c = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t}$$

求出相应时间里血药浓度的计算值(预测值)

四、处理结果

一)、该药物在体内的药物动力学参数为:

A	B	α	β	V_c
K_{12}	K_{21}	$t_{1/2\alpha}$	$t_{1/2\beta}$	V_d

二) 该药物静注后不同时间里血药浓度的实测值与计算值见下表: 求相关系数 r 。

时 间 (h)	0.165	0.5	1.0	1.5
实 测 值				
计 算 值				
3.0	5.0	7.5	10.0	

实验四 血药法测定药物动力学参数

一、实验目的

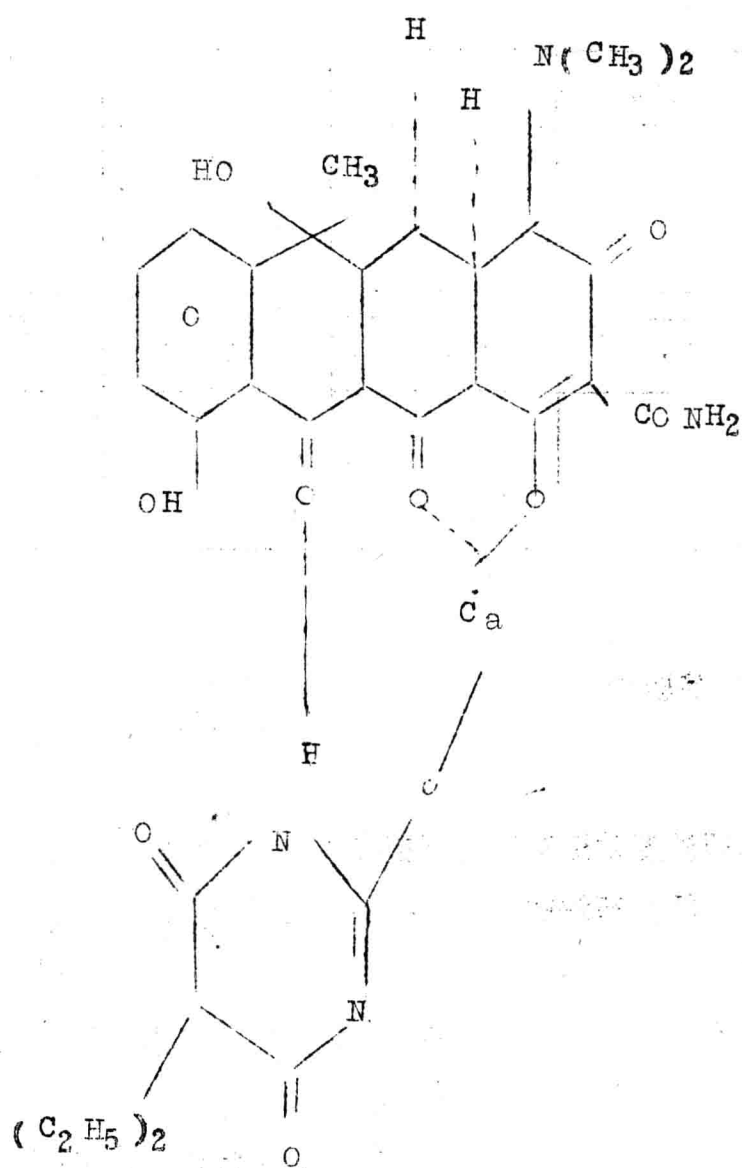
掌握用血药浓度法测定药物制剂在家兔体内动力学参数的原理和方法, 同时了解血药法的特点和生物利用度的求算。

二、实验指导

血药法测定药物动力学参数的原理见教材, 本试验采用家兔静脉注射四环素, 用荧光法进行测定。

根据Kohn荧光分析法, 四环素在PH 9时钙离子和巴比妥形成络合物, 此络合物用乙酸乙酯提取后, 在一定波长的光激发后可产生强烈荧光, 此荧光强度与四环素浓度呈线性关系, 因而可用此法进行四环素定量测定。

四环素 巴比妥络合物



三、实验方法

一) 试剂配制

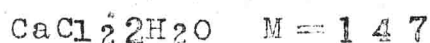
1、盐酸四环素标准液的配制:

精密配制 $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度的盐酸四环素溶液。

2、含 1.8 N 三氯乙酸和 0.16 M 氯化钙溶液



$$1.8 \text{ N} = 29.4 \% (\text{CCl}_3\text{COOH})$$



$$0.16 \text{ M} = 2.4 \% (\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O})$$



$$0.16 \text{ M} = 1.8 \% (\text{CaCl}_2)$$

3、 0.9 M 巴比妥钠溶液

$$\text{巴比妥钠} \quad M=206.2 \quad 0.9 \text{ M} = 18.6 \%$$

二)、实验步骤

1、血样收集:

取家兔一只, 称重, 取空白血 6 ml , 然后于兔耳缘静脉注射 1 ml 盐酸四环素溶液 (含盐酸四环素 0.05 g), 准确记录给药时间。以后在给药后的 $15'$ 、 $30'$ 、 $45'$ 、 1 、 2 、 3 、 4 、 6 、 8 小时各采血 3 ml , 于 5 ml 离心管中离心 10 分钟, (3000 rpm), 将上层血浆转移至另一试管置冰箱保存以进行血药浓度的测定。

2、血样处理:

精密吸取血清 1 ml 于 10 ml 离心管中, 加水至 5.5 ml 然后加入 1 ml 含有 1.8 N 三氯乙酸和 1.6 M 氯化钙水溶液, 使蛋白质沉淀 (可用小玻璃棒搅匀), 离心 10 分钟 (3000 rpm), 精密吸取上清液 4 ml , 加到含有 4.0 ml 乙酸乙酯