

铝	对参与尿酸的形成和亚硫酸盐及醛类氧化的酶功能很重要。	肉类、谷类、豆类。	正式建议量尚未确定,但需要量要考虑低点,成人为0.15~0.5毫克。
硒	在动物酶系统和血液正常机能的运转中起重要作用。	各种饮食可提供足够量的硒,如鱼、肉、面包、谷类制品、瘦肉、牛乳、肝、海产品。	人类的需要量明确建立,但50到200微克已足够。
锌	为组织修复和骨骼的正常发育所必需。也是某些激素包括胰岛素的组成部分。对细胞代谢有用。	蛋类、整粒谷类或强化谷类制品。	11岁以上者为15毫克,怀孕及哺乳妇女分别应增加5和10毫克。

数据是按照国家研究委员会和国家科学院食品营养局1980年报告中推荐的规定食物允许量以及估算的安全充分摄入量整理。

[Pharmacy Times《药学报》, 50(1): 38~39, 1984(英文)]

衣淑珍译 张紫洞校

## 体内药物分析

解放军290医院药局 郭涛

临床药学的开展,特别是药物动力学的深入研究,使“给药方案个体化”、“治疗药物监测”的工作越来越重要,但却给药物分析工作提出了新的课题——生物体内药物分析(下称体内药物分析)。国外近年文献、文章很多,有的国家已将这方面内容编入药分教科书<sup>[1、2]</sup>。国内这方面专著也逐渐增加<sup>[3~5]</sup>。本文仅作简要介绍。

体内药物分析即对进入生物体(包括人和动物)的体液、组织及器官内的药物及其代谢物或受药物影响而发生某些变化的内源性物质(如激素等)进行定性、定量分析。

### 一、为什么要进行体内药物分析?

1、可以选择最佳的给药剂量与给药方案,做到合理用药。以往临床上对同种病患者,给予同样剂量的药物,可是治疗效果却差别很大。例如对癫痫发作患者施以同

样剂量苯妥因的治疗,过去认为每日300mg可以控制症状,而实际却不然。有人观察了200例结果能控制发作者占28.5%,测得血药浓度为10~20mg/L;无治疗效果者占60%,测得血药浓度<10mg/L;而有11.5%患者出现中毒症状,血药浓度>20mg/L<sup>[6]</sup>。这就说明不能简单地依据表观剂量来推算机体的效应。要保证药物安全、有效,必须对患者体液、尤其是血液中药含量进行测定。根据药物动力学和药效学的研究表明:机体对药物的反应与作用部位药物浓度有关。所以根据个体病人的体液药物浓度监测后,制订给药方案是合理的。对治疗指数小的药物,如地高辛、奎尼丁、利多卡因等,治疗血药浓度范围狭,与中毒浓度又相当接近,对肝肾功能不全病人的用药更有必要。因此,近年来国外已开展“给药方案个体化”、“治疗

药物监测”工作。

2、有利於阐明药物作用机理。某种药物或其制剂在体内行为即吸收、分布、代谢及排泄等过程如何，过去医师与药师主要靠自己的临床经验估计，而现代药学研究，通过测定药物的各种动力学参数，如血药浓度—时间曲线下面积（Area Under the Curve）、生物半衰期（biologic half-life）、清除率（Clearance）、生物利用度（bioavailability）等来阐明药物作用机理；新药设计也要了解该药物在体内转运过程、作用原理和药物动力学的有关参数。故研究药物动力学的最基本手段之一，就是进行体内药物分析。

3、药物管理问题。目前，药品普遍存在严重滥用现象，而且会造成社会不良影响（如吸毒、运动员滥用药物等）。此外药物中毒也时有发生，这些也需要进行体内药物分析，尔后进行治疗。许多国家药典已将生物利用度作为评价药物质量的重要内容和依据。而生物利用度的研究也离不开体内药物分析所提供的数据和信息。

## 二、体内药物分析的作用及特点

1、治疗药物浓度监测中体内药物分析的作用应该是：

（1）为临床药学研究提供数据和分析方法；

（2）应用於临床药物浓度的监测；

（3）药物代谢动力学中应用；

（4）受药物影响的体内内源性物质（endogenous substances）测定；

（5）为药品管理和新药设计提供数据和信息。

2、分析特点。体内药物分析首要任务是为临床药学和临床实际工作提供分析数据，这就决定了其独特的分析方法。

（1）样品必需净化。供分析的样品来自不同生物体，组成复杂，干扰物质多。如体液和组织中的内源性物质的成分可与药物

结合，且干扰测定。因此测定前通常需进行不同程度分离、纯化，方可进行测定。

（2）样品浓缩。一般而言，能供分析的样品量较少，其中所含药物或其衍生物的量更少，实际进行的是微量分析，最低检出量达 $10^{-1} \sim 10^{-3} \mu\text{g}$ ，甚至更低。另外样品不易重新获得，所以经净化后的样品还应进行必要浓缩。

（3）方法要简便、快速和准确。样品若系临床药物浓度监测的分析，由於工作量大，故分析方法越简单越好；若为有关科研提供数据，则要准确性高；若与中毒解救有关，则要求越迅速越佳。

（4）还需有一定为检测服务的仪器设备。

总之，体内药物分析首要的是建立适合於体内样品中药物的灵敏性高、选择性好、准确可靠的分析方法。目前常用色谱法、分光光度法、免疫测定法等。

## 三、体内药物分析样品种类、采集与制备

1、样品种类及采集。可供分析的样品不外乎来源於人或动物的体液、各种组织和器官，如血液、唾液、乳汁、胆汁、脊髓液、泪液、精液及尿液等〔3~6〕，现仅介绍常用几种：

（1）血样：药物在体内作用部位浓度与药效直接相关，而且大多数药物在体内又是通过血液运转到作用部位。血药浓度理所当然可作为药物在作用部位浓度的指标。

所谓血样是指全血、血浆或血清，一般情况下血浆分离快、易得，且药物在血浆中浓度与红细胞中浓度成正比，故最常用。只有测定药物在两者内分配比（如测定平均分布於细胞内和细胞外成分）时宜用全血。血清成分更接近於组织液化学成分，测定其中有关成分含量比全血更能反映机体情况，亦常用。

血样应当等药物在血液中分布均匀后

取,这样才能代表整个血药浓度。动物直接取动脉或心脏血最理想;人目前多取静脉血。取血时宜用玻璃质量好的注射器,不用塑料器皿(因其与药物可能产生吸附或析出增塑剂),以免影响结果。转移血样时压力不可过大,避免挤压过度使血球破裂。

血浆系全血加入抗凝剂后,离心分取。目前最常用的抗凝剂是肝素,它是从牛、羊或猪的肠粘液中提得的一种含硫酸的粘多糖。肝素是生物体内正常生理成分,一般不会干扰分析,用量为1 ml血样加0.1~0.2 mg(约为20 IU)<sup>[6]</sup>。其他抗凝剂还有能与Ca<sup>++</sup>结合的EDTA、枸橼酸盐、氟化钠、草酸等,但必需考虑到它们与被测组分发生反应或干扰某些药物的测定。

(2) 尿样:尿样也是体内药物分析常用样品。因为尿药浓度测定主要用于剂量回收、药物代谢、药物尿清除率和生物利用度等研究。且样品收集简单、易为受试者所接受。

尿药浓度波动较大,所以测定一段时间内排入的药物总量。

尿液主要含尿素、无机盐,其数量常受饮食和新陈代谢影响。尿本身又是一种细菌培养基,样品获得后应立即测定。如来不及测定应冷藏或加适量甲苯(100 ml尿液加1 ml)作防腐剂。

药物在尿液中多以原药、代谢产物或它们的结合物存在,如与葡萄糖醛酸结合物。故测定前应作必要分离。

(3) 唾液<sup>[3~5,7]</sup>:采用唾液作为体内药物浓度监测和其他研究样品,近来日渐增加。主要是因为某些药物在唾液中的浓度与在血浆中浓度呈相关性。唾液是由腮腺、颌下腺、舌下腺及唇、腭腺分泌的,药物在唾液中的浓度相当于血浆中游离(不与蛋白结合)药物浓度。故测定唾液中药物浓度有独特治疗价值。

唾液在嗽口后15分钟,由自然流出或舌

头在口腔搅动后流出而收集得,亦可采取口嚼石蜡片、维生素C或酒石酸等法收集,日收集量约为1~1.5升<sup>[5,8]</sup>。然后离心(2000~3000转/分)一刻钟,取上清液供分析用。

唾液中药物浓度低,一般血浆药物浓度为60 μmol/L时,唾液中仅有几个μmol/L,故测定方法要求灵敏度高。本法仅适于地高辛、苯妥因等少数药物。

2、样品的制备。此步对体内药物分析很重要,主要是排除干扰,提高分析灵敏度。

(1) 除蛋白(Deproteinising):对血样(全血、血浆、血清)和尿液分析,首先要进行除去蛋白,否则在分离过程中起泡而影响测定及含量;样品中游离药物和药物——蛋白结合物处于平衡状态,既要测定药物总浓度,即应使药全部游离出来;再者蛋白质会使仪器污染。

除蛋白方法:①用乙腈、甲醇、乙醇、丙酮等有机溶剂(乙腈较常用),或中性盐类(硫酸铵、氯化钠等)脱水沉淀;②使用酸性沉淀剂如三氯乙酸、钼酸、磷钨酸、水杨酸、苦味酸等与蛋白质阳离子结合,形成不溶性盐类沉淀;③用滤器将蛋白质滤除。

(2) 萃取法(Solvent Extraction):经除蛋白后的样品,有时需进一步净化和浓缩,常用萃取法。目前常用液-液萃取法。此法尤适于离子型在有机溶剂中溶解度小的酸、碱性药物。水相pH对萃取不同酸碱性药物和除去杂质非常重要。pH的选择与被测组分pKa直接相关,pH = pKa时,被萃取组分有50%以结合形式存在。一般说来,对碱性药物水相pH宜比pKa高1~2 pH单位;对酸性药物则低1~2 pH单位。具体可借助Henderson-Hasselbach方程式计算<sup>[8]</sup>。

(3) 酶解法(Enzyme digestion):

当测定以内脏器官(如肝脏)制成的匀浆样品及某些对酸碱不稳定或强蛋白结合的药物时,常用此法使药物析出,再用溶剂提取。本法可避免药物因高温降解或因酸而破坏,常用的酶是枯草菌溶素(Subtilisin),系一种细菌性蛋白水解酶, pH7.0~11.0, 温度在50~60°C时活力最强。

(4) 辄合物水解处理(Hydrolysis of conjugates): 由于药物在血浆或尿液中,常与某些内源性物质结合。如与葡萄糖醛酸(含-OH、-COOH基团药物)结合成甙,与硫酸(含酚-OH、芳胺、醇类)结合成酯。这些样品应在测定前进行酸或酶水解,使药物游离出来,再以有机溶剂提取,酸用量、浓度和水解温度等条件应通过实验确定。

(5) 衍生化(Derivatization)处理: 当生物样品需用色谱法分析时,应预先作化学衍生化处理,这样可使被测组分增加挥发的蒸气压,改善稳定性、降低色谱法温度。衍生化处理作用: ①使被分析药物具有能被分离的性质; ②增加对检测器灵敏度; ③分离异构体,增加稳定性和挥发性。

常用衍生化法: 硅烷化、烷基化、酰化,其中以硅烷化法最常用。

#### 四、体内药物分析中常用测试方法简介

体内药物浓度测定数据准确和可靠性,直接影响到药物动力学参数准确性,关系到临床用药的调整。因此建立适当分析方法是关键问题。现在常用的分析技术情况是(1) GC法目前应用最多, HPLC法发展较GC法晚,但日益受重视,占第二位; (2) 免疫学法,应用范围亦很广,尤其RIA法; (3) Fluor法也较常用<sup>[9]</sup>。下面将RIA法与Fluor法简要介绍:

1、放射免疫测定法(Radio Immuno Assay)。本法利用免疫化学中抗原—抗体反应原理建立并应用放射性同位素测量的微量分析方法。1960年R.S.Yalow和S. A.

Berson从人血浆中测定微量胰岛素首先创立了RIA法,至1968年本法成功地测定了血浆中洋地黄甙浓度而迅速发展起来。除测定强心甙外,还用于巴比妥类、生物碱、维生素、激素和抗生素等体内药物测定。

RIA法基本原理是利用标记抗原(Ag\*)与未标记抗原(Ag)和特异抗体(Ab)发生竞争作用来测定抗原(药物)浓度。

免疫反应中, Ab对Ag、Ag\*无选择性,即具有相同亲和力,相结合机率相等。就是说,标记抗原与未标记抗原和抗体产生竞争性结合。如果我们将要测定的抗原先行标记,然后再将一定量的标记抗原、抗体和未标记抗原(Ag,待测物)相混合,在抗体量不足时则Ag\*、Ag都要与Ab发生竞争性结合。当Ag浓度增大,则Ag\*·Ab浓度相应下降,而Ag·Ab浓度增加。

此方法选择性强、灵敏度高、用样品量少。尤其目前RIA试剂已有商品化试剂盒,操作更简便、实用。国内北京化工厂已生产出地高辛试剂盒。有关RIA分析法报导文章很多,都详细介绍了方法等<sup>[10~12]</sup>。

2、荧光分光光度法(Spectrofluorimetry)。本法为发射光谱法的一种,利用物质受一定波长光照后,在极短时间内发射出较照射光波长更长的荧光。可以根据荧光颜色、激发和发射光谱以及荧光强度进行定性、定量。灵敏度(可检 $10^{-7}$ ~ $10^{-9}$ g/ml)比吸收光谱法高100倍<sup>[5, 13]</sup>。

总之有关体内药物分析方法很多,但还有待发展,需要药学工作者去探索研究,不断加以完善。

#### 参 考 文 献

- [1] K.A.Connors: A Textbook of Pharmaceutical analysis 3rd ed, 1982
- [2] 坂口武一: 药品分析化学,第5版,1973
- [3] 南京药学院药分教研室: 体内药物分析,人民卫生出版社,1982

〔4〕四川医学院药学系分析教研室编：体内药物分析，1983

〔5〕沈阳药学院药分教研室：体内药物分析，1983

〔6〕孙嘉奎编：药物与制剂分析，沈阳药学院药分教研室，1984。

〔7〕王国祥：内蒙古药学，3（2）：24，1984

〔8〕郭涛：内蒙古药学，3（1），1984

〔9〕Wolfgang Sadee et al: Drug Level Monitoring, 1980

〔10〕付利成：药物分析杂志，3（6）：367，1983

〔11〕J.W.Munson: Pharmaceutical Analysis, Modern Methods Part A, 1981

〔12〕凌树森：药学通报，19（2）：35，1984

〔13〕南京药学院主编：药物分析，人民卫生出版社，1980



## · 文摘 ·

### 锂 与 双 氯 灭 痛

双氯灭痛对锂的影响的药代动力学曾在5名正常受试者中作了研究。

每个受试者服用硫酸锂片(330mg, 1~2次/日)相当于12mEq/天, 直至锂的浓度达到稳态血浆浓度。双氯灭痛(50mg, 3次/日)连用7~10天。

结果表明, 双氯灭痛可使锂的肾清除率减少23%, 同时使锂的血浆浓度增加26%。对肌酐清除率、钠和钾的清除率均无影响。而当服用双氯灭痛后, 发现尿中前列腺素E<sub>2</sub>的排泄率减少50~60%。

作者认为, 这种现象可能是两种药物相互作用所致。并指出, 在他们的研究中发现消炎痛也同双氯灭痛一样, 能够减低锂的肾清除率, 从而导致锂的血浆浓度增加。因而, 患者用锂和非甾醇类消炎药治疗时, 即可增加锂中毒的危险性。

#### 评论

锂的血浆浓度取决于其吸收和消除的量。锂与绝大多数药物不同, 它非经肝脏代谢, 因而锂的清

除率完全取决于肾脏的功能。所以, 任何能改变锂经肾脏消除的药物, 当与锂并用时均可能有问题。

已知肾脏前列腺素是氯、钾、钠等肾电解质排泄的主要介质。显然, 肾脏前列腺素同样是锂排泄的必须物质。双氯灭痛为一种前列腺素合成抑制剂(类似消炎痛), 作者认为, 锂与该药并用, 能使锂在肾脏的排泄率减少; 这与双氯灭痛对前列腺素的影响有关。试验结果已表明, 双氯灭痛给药期间, 尿中前列腺素E<sub>2</sub>的浓度减低。

假如作者提出的这个药物相互作用的机理是正确的话, 那么, 我们即可认为其他许多具有前列腺素合成抑制剂特性的药物同样可以减少锂的肾清除率; 因而有可能增加锂的血浆浓度和毒性。

〔AJP《澳大利亚药学杂志》, 64(755): 117, 1983(英文)〕

苏开仲译 魏文树校

#### 本刊特约代销处:

- 1、北京西城区医药卫生学校秘书处(北京市西城区护国寺西巷57号, 电话: 667190)
- 2、中华医学会、中国药学会上海分会(上海市北京西路1623号)
- 3、福州军区军医学校药理教研室(福州市梅峰)