

- [7] Morady F, *Ann. Intern. Med.*, 96(3) : 337~343, 1982
- [8] 医药工业—国外动态, 1979 (7)
- [9] *U. S. Pharmacopia*, 1980, p. 259
- [10] Philip J. Podrid, *J. clin. Pharmacol.*, 24(7) : 313, 1984
- [11] 徐世淞编: 药物临床评价 (I), 1981, 上海科技文献出版社
- [12] Desai J. et al, *Cir.*, 59 (2) : 236, 1979
- [13] Befeler B. et al: *Am. J. Cardiol.*, 31 : 119, 1973
- [14] Josephson ME, et al: *Am. Heart J.*, 86 (6) : 771, 1973
- [15] Lisalo, et al: *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 17(3) : 325, 1984
- [16] Adreas P. Niardaos: *Am. Heart J.*, 92 (1) : 57, 1976
- [17] Janice B. Schwartz, et al: *Druys*, (21) : 23~45, 1981
- [18] Paul N. Yu, *Cir.*, 59 : 215, 1979
- [19] Martin Burk, et al, *clin. Pharmacol. Ther.*, (34) : 331~340, 1983 (sep)
- [20] 齐春来: 《新药与临床》, 3(5) : 41, 1984
- [21] Nicholson MJ. et al, *Am. J. Cardiol.*, (43) : 1053, 1979
- [22] Terry B. et al, *Am. J. Cardiol.*, (44) : 391, 1979
- [23] 陈全林: 心血管药物十讲, 1982, 重庆出版社
- [24] G. John Digregorio, et al: *J. Pharmac. Sci.*, 71 (22) : 211~213, 1982
- [25] Danilo P. et al, *Am. Heart J.*, 92(4) : 522, 1976
- [26] 李俭春: 《中华心血管杂志》, 8(4) : 260, 1980
- [27] K. L. Liem, et al, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 18(2) : 226, 1984
- [28] 李汉令: 《山东医学院学报》, NO. 4 : 1~5, 1983
- [29] 陈国良等: 《中国医院药学杂志》, 3(1) : 5~7, 1983

同位素在药学研究中的应用

解放军202医院 李 氏

一、概 述

同位素用于生物学研究的基本依据, 是其化学性质和相应的普通元素原子的一致性, 使生物细胞难以区别。作为“放射性示踪剂”的同位素以特有的方式和速度进行蜕变, 放出射线。由于它不受任何化学、物理作用的影响, 又具有特异能谱, 因此可利用现代工具和方法测出放射性同位素的位置和数量。

近年来, 放射性同位素及其标记物在医药上应用的品种有1500多个, 医用发生器已有100多种。国内五十年代试制了第一批放射性核素, 如胶体 ^{198}Au 等33种, 六十年代后放射性同位素已能逐渐自给, 并研制了第

二代放射性药物及放射性药盒, 并用回旋加速器生产了一批短寿命同位素等。七十年代成功的研制了地高辛等分析药盒及标记了一些药物。进入八十年代后, 生产放射源数十种, 体内、体外用药近百种, ^{14}C 、 ^3H 、 ^{32}P 标记数百种, 而且国内有许多单位已能单独进行药物的同位素标记。随着放射性同位素的不断开发, 其测量手段和方法也日益增多, 主要有:

1. 闪烁计数法: 包括晶体闪烁计数、 γ 能谱测定、液体闪烁计数等。

2. 放射自显影: 利用放射同位素的电离幅射对核子乳胶的感光作用, 显示样品中放射物的定位、分布和定量。近年来这种技

术已应用在细菌细胞质、膜、核及染色体等功能活动的研究，与电镜、组织化学技术配合，进入了亚细胞和分子水平的研究。

3. 放射免疫分析：在药理学的研究中已建立了RIA测定的药物有百余种，对于研究药物的生物利用、吸收、代谢、排泄、生物效应及药物治疗的临床监测发挥了重要作用。

4. 活化分析：把原来无放射性的样品经中子照射，使其中的普通元素变成具有特征放射性的产物，然后进行鉴定和测量。这种“放射化”分析灵敏度高，应用范围广，可进行多元素分析，在不损伤标本的情况下测其成分，快速、简便、易于实现自动化，但设备复杂。

5. 质谱：利用稳定性同位素标记药物或植物有效成分，可进行人体药动学研究。

目前同位素在药学上的应用非常广泛，主要有：药物及中草药有效成分标记及药动学研究；药物的检测和剂型改革；药效学及分子药理学研究；中草药中微量元素分析及辐照灭菌贮存等方面，对于某些重大基础理论问题的探讨发挥了促进作用。目前，一门新兴的学科——放射药学正在形成和发展。

二、中草药有效成分的标记方法、应用及其进展

国内从六十年代以来，即开始了用放射性核素标记中草药有效成分的研究。近年来，随着核技术的迅速发展和标记化合物的大量合成，有力推动了中草药的研究。

进行放射性同位素示踪试验，首先要有适当标记化合物。合成放射性标记化合物应：①选择适当的核素；②标记在适当的位置；③选择适当的标记方法。一般可供选择的核素有： ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、 ^{32}P ；其中 ^3H 和 ^{14}C 是最常用的核素，适用范围广泛，半衰期长，实验中不必作衰变校正，射线能量低，使用安全。如果药物分子中含有磷或硫，可以合成 ^{32}P 和 ^{35}S 的标记化合物，由于半衰

期短，应作衰变校正，如： $\text{NaH}^{35}\text{SO}_3^-$ 穿心莲内脂， ^{35}S -丹参酮II A磺酸钠。

选择标记位置时应使示踪原子不易从母核分子中脱落，但当研究特定代谢途径时则可例外。在国内，应用放射性同位素标记中草药有效成份或有效单体的方法，主要有三种：即交换法、化学合成法、生物合成法。一般根据有效成份的化学结构，物化性质和研究要求进行选择。

1. 交换法：是同一元素的放射性原子与有效成份的非放射性原子之间进行交换反应的过程。

标记法最常用的同位素是 ^3H ，氚标记的原料是氚气和氚水。交换法又可分为三种。

催化交换法是将所需标记的药物用居里级氚化溶液和催化剂放在一起，在高温反应几小时或几天后制备氚标记的有效成份或药物。如长春碱、喜树碱、羟基喜树碱等。

气体曝射法是在密闭的反应器中，利用氚的 β 衰变所产生的能量使氚原子引入分子中，如秋水仙碱、斑蝥素。

气液交换法是一种新方法，简单快速，有较高的放化纯度和产率，并可进行定位标记，如三尖杉酯碱。

2. 化学合成法：定位标记中草药的有效成分，一般采用合成法，以 ^{14}C 标记物为主。标记位置可按代谢示踪研究的要求设计，可以核反应堆直接得到的 ^{14}C -二氧化碳为原料，逐步合成 ^{14}C 标记化合物。如 ^{14}C 鱼腥草素、 ^{14}C 汉防己甲等。

3. 生物合成法：利用动物、植物、微生物作为生物合成的基础，用带有放射性原料如： $^{14}\text{CO}_2$ 、 $\text{H}_2^{32}\text{PO}_4$ 等作为养料培育之后，再从这些生物体内分离所需要的放射性标记的化合物，该法常用于上述二种方法难以完成或目前不能制备的化合物或有效成份，如 ^{14}C 皂甙类。

近年来标记方法的发展趋势:

1. 新的标记方法: 其方法要标记费用低, 具有适用的比活度, 标记周期短, 才有竞争力。近几年来开展的新方法, 如微波标记、放电曝射、自曝射、激光和熔融法等技术正在进行研究和探索。

2. 定位标记: 应用放射性同位素标记中草药有效成份, 应当标记在适当的稳定的位置, 否则在实验过程中或进入体内后, 常会离开有效成份而失去标记作用。

3. 双标记: 在同一结构上进行二种不同元素的标记, 对于研究药物在体内的代谢尤为重要。

4. 开展稳定性同位素标记: 如氘标记, 稳定性同位素标记在人体药代动力学研究方面将发挥重要作用。

5. 提高比活性: 近年中草药研究迅速发展, 药理研究逐渐从器官、细胞水平进入分子水平, 所以要求相应的提高标记物的比活性, 一般要从毫居/mM提高到居里/mM。同时还要注意放射性标记化合物由其本身的辐射作用而引起的分解效应: 制备后应尽快使用, 缩短贮存时间, 减少辐射分解。

三、同位素示踪技术在药动力学研究中的应用

药动力学研究要求有准确、灵敏度高和特异性强的微量测定方法。通常的方法是电泳层析分离和光谱分析, 但是药物在体内的浓度降至 10^{-9} g以下时则难以测定。采用放射性标记药物示踪及放射免疫分析则可提高灵敏度, 能测量 10^{-14} ~ 10^{-18} g的药物。近年来, 利用同位素示踪技术研究中草药有效成份的药动力学取得了显著成绩, 如阐明有效成份在不同时间的血浆中浓度及动力学参数; 体内各器官、组织的吸收、分布和空间位置的动态变化; 药物在体内化学结构的改变和在体内的定位、控制及调节; 影响药物代谢的因素以及排泄的全部历程。

应用放射性同位素技术研究药物的药动

学有三种基本方法:

1. 将药物给予动物后, 于不同时间采血、称取组织、收集粪尿、分离原形药物及代谢产物, 经消化处理后作放射性测量, 常用液体闪烁计数仪, 结合层析、电泳、光谱等技术可较快确定原药及代谢物。

2. 放射自显影: 在体内引入药物后, 将动物整体切片、组织切片和电镜超薄切片的放射自显影。通过颗粒、光密度计数作相对定量测定; 可研究药物在整体、组织和细胞内的分布情况。

3. 放射免疫分析: 将非放射性药物给予人或动物后, 采集血、尿、或组织, 将其提取液加入标记药物和对该药物免疫后的抗血清, 混匀、培育、吸附、离心、过滤分离抗原-抗体复合物, 测其放射性, 查标准曲线即得样品中药物含量。

目前国内主要以 ^3H 、 ^{14}C 标记中草药有效成分以研究它们的药理学, 有4个方面:

1. 吸收实验: 放射性同位素示踪可以作药物的整体吸收实验, 可直接观察药物在胃、肠道的吸收情况。也可按照临床选定的途径给药后, 在不同时间测定血、尿、粪中的放射性水平, 与静脉注射比较, 确定药物的吸收速率及生物利用度。

2. 分布实验: 动物在给予标记药物后不同时间处死, 切取所需组织。用适当的方法测量放射性比度, 可定量测定药物的分布和积蓄情况。一般测定心、肝、脾、肺、脑、肾、胃、肠、肌肉、脂肪、血、肾上腺、性腺等, 还可测定受孕动物胎仔中的分布。

整体放射自显影可全面地了解标记药物在体内的分布情况。显微放射自显影可观察药物在组织、细胞水平的定位分布情况, 如油酸在艾氏腹水癌细胞中分布。如使用电镜自显影技术可进一步观察药物在亚细胞的定位分布, 这是药理工作中值得推广的新技术。

3. 排泄实验: 示踪实验可对药物的排

泄途径作较全面的研究,用代谢笼分别收集尿粪进行测定,确定药物的主要排泄途径,亦可进行药物肠—肝循环实验,如香荚兰醛。

4. 代谢实验:尿、粪中排出的标记物经提取、层析等方法可分离出代谢产物,进一步用已知化合物对照,或用质谱、核磁共振等确定代谢物的结构,如咖啡酸代谢实验。

放射性同位素示踪技术由于其独特的优越性而应用临床前药物动力学研究,但它也有局限性,因为测量是物理性的,特异性较差,不能区分药物的原形和代谢物,另外动物实验与人体有一定的差异,所以在分析实验结果时应注意这些问题。

现将国内应用放射性同位素标记中草药有效成分的药动力学研究的主要成就简述如下:

1. 抗肿瘤药物:近年来,国内标记抗肿瘤有效成份者较多。一般是从一种有效成分开始研究其一系列衍生物对肿瘤细胞的选择性分布及体内过程。例如: ^3H -喜树碱、 ^3H -羟基喜树碱的研究。另外,尚有 ^3H -高三尖杉酯碱、 ^3H -斑蝥羟胺、 ^3H -靛玉红、 ^3H -油酸、 ^3H -藤黄毒素、 ^3H -秋水仙酰胺、 ^3H -冬凌草甲素、 ^3H -海参酸性粘多糖、 ^3H -莪术醇、 ^3H -马蔺子甲素等。

2. 治疗心血管疾病的药物: ^{14}C -川芎嗪的研究证实其可通过血脑屏障,在脑干分布较多。 ^{35}S -丹参酮ⅡA磺酸钠是丹参治疗冠心病的有效成份,其药动力学已阐明。强心甙类由于毒性大,用量小,代谢物量少,以往代谢研究甚少,自应用同位素技术后(尤其是放免分析),大大推动了强心甙类代谢研究,如:地高辛、洋地黄甙等。此外还利用强心甙对红细胞摄取 ^{86}Rb 的抑制能力,测定强心甙的浓度。

3. 神经系统药物:东莨菪碱和樟柳碱的研究证实:前者较后者吸收快而完全,在

脑内分布也明显高于后者。另外此类尚有 ^{14}C -汉防己甲素、 ^3H -四氢大麻酚、青阳参甙元、灯盏乙素、海轮碱等。

4. 生殖系统药物:证实了棉酚胃肠道吸收慢、体内作用时间长,对睾丸选择性差、主要经粪便排出。 ^3H -芫花的药动力学亦已阐明。

5. 抗寄生虫药物:青蒿素的研究阐明了其抗疟作用快和易于复发的原因,同时为治疗脑型疟疾和杀灭红细胞内期原虫提供了依据。

6. 其它类:如穿心莲内酯、鱼腥草素、吡啶甙、南瓜子氨酸、去氧胆酸、五味子酯甲等。

几年来,中草药有效成份的药动力学研究取得了一定成绩,并仍在深入广泛的应用:就从已完成的研究内容来看,绝大多数是研究植物有效成分在体内的吸收、分布和排泄,而在体内过程的控制与调节和药物在体内的具体代谢途径的研究,目前还进行的尚少。特别是药物的理化性质对代谢的影响,给药途径、机体机能状态、环境因素的变化对代谢的影响,如何分离中间代谢产物加以进一步研究考察从中寻找生物活性的药物,是今后努力的方向。

四、同位素在药效学研究中应用

同位素用于药物的药效及作用原理研究具有灵敏、精确、可靠的判断指标,特别是观察药物对体内微量活性物质动态变化的影响具有独特优点。研究方法有:①将标记前体掺入核酸、蛋白质及脂质等,观察药物对其生物合成的影响;②向机体内引进内源性物质的标记化合物,观察其在体内的释放及分布;③利用标记物观察药物对机体组织通透性的影响或利用某些同位素对组织有特殊亲和力以作为药效学或毒理学的判断指标;④用饱和和分析法测定药物对体内生物活性物质含量的影响。按其药理作用分述如下:

1. 抗肿瘤药物:利用 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P

等同位素掺入核酸、蛋白质，以研究抗癌药对癌细胞生化合成的影响，如：鸦胆子、油酸、木兰醇提取物对 ^3H -TdR掺入艾氏腹水癌细胞DNA合成的影响；应用显微放射自显影研究抗癌药物的作用原理，如油酸在癌细胞中作用定位，鸦胆子油乳剂，多相脂质体130对癌细胞杀伤动力学研究。

2. 作用于中枢神经系统药物：将标记高比活性吗啡类激动剂或拮抗剂与脑匀浆混合培育，根据立体特异性结合证实了阿片受体的存在。阿片受体放射自显影证明受体聚集处是初级传入纤维末梢上，与各个脑区内啡肽的分布呈平行关系。

3. 作用于心血管及血液系统的药物： ^{86}Rb 示踪实验通过测定心脏对 ^{86}Rb 摄取能力的大小，可反映出药物对心肌营养性血流量的影响，适用于筛选药物。 ^3H -TdR掺入法可用于研究中草药对急性心肌缺氧时小鼠各脏器细胞DNA的合成速度。应用 ^{14}C -5-HT和 ^3H -5-HT标记血小板，研究中草药抗血小板聚集原理也取得了一定进展。

4. 作用于消化系统药物：用 ^{14}C -亮氨酸掺入肝脏转氨酶的蛋白质中，可研究五味子降酶与抑制肝内SGPT酶活性的关系，并可进一步研究其有效成份在肝脏亚细胞中定量分布，以探讨其防治实验性肝病的原理。

5. 影响免疫功能及cAMP代谢的药物：利用测定药物对人体淋巴细胞DNA合成影响的方法可进行药物筛选，并阐述药物的免疫作用，如五味子油乳剂、豆磷脂对人体淋巴细胞DNA合成均有明显促进作用。

利用竞争性蛋白结合法测定cAMP，采用放射免疫分析法测定cGMP可阐明一些药物的扶正固本作用，如五味子对小鼠血浆、肝组织cAMP水平的影响。利用胶体 ^{198}Au 掺入法可进行药物对巨噬细胞吞噬功能影响的研究。

6. 抗菌消炎及抗寄生虫药物：小檗碱能显著抑制 ^{14}C -TdR掺入肺炎球菌多聚体，从而可有助于抗菌作用研究。应用 ^{32}P 掺入试验证明，川楝素的驱蛔作用在于使蛔虫兴奋和ATP分解加速。

7. 作用于生殖系统的药物：在棉酚的抑精作用研究中，用竞争蛋白结合分析法测定血浆睾丸酮含量变化，发现药物不影响睾丸间质细胞。又证明棉酚对 ^3H -TdR掺入大鼠睾丸DNA有作用，而对 ^3H -TdR掺入RNA无作用。氨基酸掺入实验证实棉酚对精子细胞蛋白质活性有抑制作用。

五、小 结

综上所述，同位素技术在药学的应用十分广泛，尤其在药动学、分子药理学、肿瘤药理学、免疫药理学等方面加速了研究进展。

随着标记方法及技术的进步、双标记、多标记有效成分、电镜自显影、放射免疫分析、中子活化分析、稳定性同位素、低能软 β 射线多道液体闪烁测量、带电粒子激发X射线发射等技术的发展，同位素在药学中应用会更加深入。

(参考文献19篇，略)