

對行為的神經化學產生研究興趣，起初是受 chlorpromazine 治療效果及 LSD 迷幻作用的發現所推動者；在近幾年的進展尤為快速，特別著重控制正常及異常行為之 chlorpromazine (例如 NE 及 DA)、serotonin acetylcholine (ach) GABA 及 enkephalins 等機轉的研究。行為毒理學是研究化合物的行為毒性之一門學問，為自行為藥理學分開發展而來；研究方向着重於工業及環境污染對行為改變(暫時性與永久性)的鑑定，以及對新藥或未予測試過的化合物中樞神經毒性的評估。

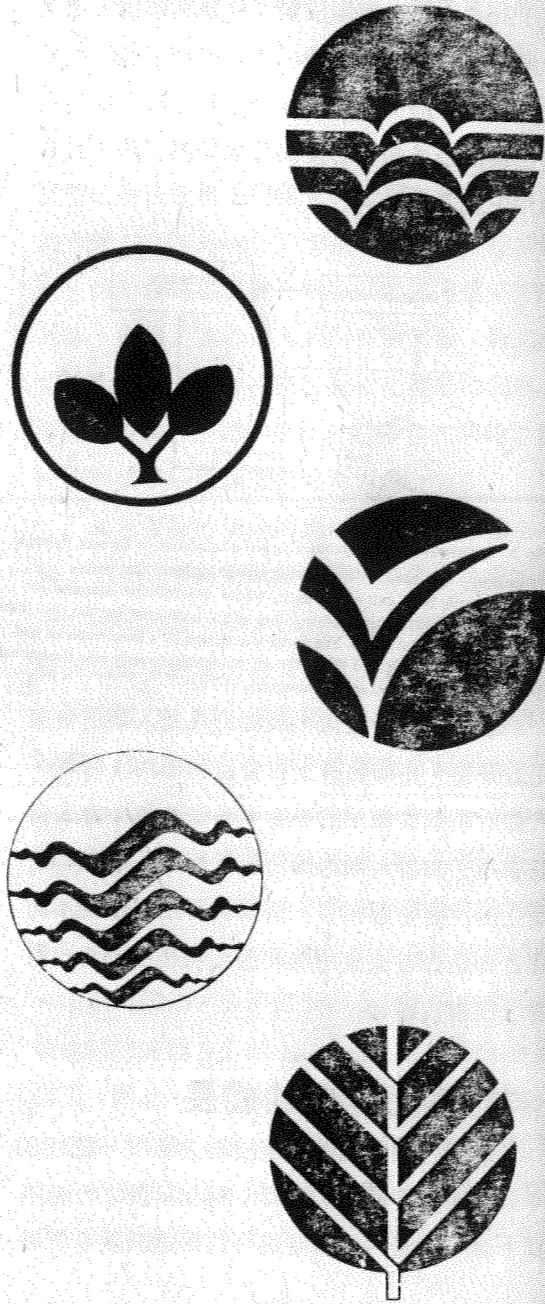
目前行為藥理學已穩定地趨近於心理學與藥理學的方法及觀念的統合。這兩學科已成為從事這項研究的必修課程。根據現況它仍在快速地成長與擴張，我們可以預期幾年後，以往已存在的觀念可以再精研出來，更會開創更新的研究興趣門徑。特別是近兩三年來，已更加重視對人體的研究，且已使得行為藥理學的基本原理擴展到臨床行為藥理學( clinical psychopharmacology )的研究上。

在我國生物學界，對行為藥理學的研究發展仍處在萌芽階段。但是旅居歐美各國的中國人，特別是從台灣出國深造的學者專家，從事行為藥理研究工作的人員很多，尚且在學術成就上均有出類拔萃的貢獻，如果能延攬這些學人歸國指導，則行為藥理學在我們中華民國必能迅速地生根開花結果。

### 主要參考文獻

- (1) Pickens, R. Behavioral Pharmacology: A Brief History. In T. Thompson & P. B. Dews (Eds.), Advances in Behavioral Pharmacology. New York: Academic Press, 1977.

- (2) Weiss, B. & Laties, V. G. (eds) (1975) Behavioral Toxicology, Prentice-Hall, New York.



## 藥品鑑定學

### 領域外的

### 分析法(I)

陳勝智

- 本院藥品鑑定副教授
- 日本東京大學部碩士

#### 緒言：

藥品鑑定學是研究醫藥品分析法的一門科學。其領域內，包含有很多物理的或化學的分析法，用來作藥品的品質管制，或其它藥學方面的研究。這些方法，大多是屬簡單易於操作

的方法。

在此領域之外，尤其在生化學、生理學方面，有幾種藥師所未或少被採用（在藥典中，未載或少採用）的分析方法。這些方法，大多數是超微量分析法，有極高的感度。惟有利用這些方法，才能做生物體內成分（生體成分）的分析，來進行生化學，生理學，分子藥理學等方面的研究。“生體成分”這個名詞，初看讓人有隔行（和藥師無關）的感覺，其實，生體成分還包括維生素，激素以及為了治療而進入人體的藥物及其代謝物。所以，發展生體成分分析法，或研究生體成分在體內的變化，都對藥師有著很深切的關係。

筆者蒙院方補助赴日進修，以開發高感度肝功能檢查法為目標，接觸了超微量分析法。此外，在一起的其它研究人員也都從事超微量分析法的研究，因此對各種超微量分析法得有機會學習和觀摩。鑑於它們的有用性、重要性，故提出來向未來的藥師們，做一個簡單的介紹。

首先解釋一下“超微量”的定義。一般，檢體的用量大於0.1公克（g）是“大量”（藥品鑑定學中的通用檢體量約在0.3~1.0公克之間）；0.01~0.1公克是“半微量”；0.001~0.01公克是“微量”；小於0.001公克才算“超微量”。在生體成分分析方面，往往所需要測定的分量，在檢體中，只有相當於檢體的千分之一或更少，故要能檢出千萬分之一公克左右或以下的量的分析法才能符合生體成分分析的需要。

據筆者所知，能符合此需要且已發展的分析法，有氣相色層分析法（gas chromatogra-

phy, GC，採用電子捕獲型檢出器可測定零點幾個 ng， $10^{-10}$  公克的成分），Mass fragmentography (MF)，螢光分析法，高速液體層析法（以螢光檢出器或電化學檢出器檢出），chemiluminescence（化學發光法），bioluminescence（生物發光法），enzymatic cycling, radiochemical analysis 等幾種方法。因氣相色層分析法及高速液體層析法（HPLC）在藥學已廣泛採用不擬介紹外，本文將對上述的其它方法的原理，特點等做簡單說明。如欲作更詳細的研究，請參看本文介紹的專書。

### (I) Mass fragmentography:

由於微量定性分析上的需要，科學家一直想要利用氣相色層分析法的優越分離和質譜分析法（mass spectrometry, Ms）對化學結構的可靠解釋和推斷，來確認混合物中的微量成分。自1964年，Ryhage 及 Biemann 發表了把此二法所使用的儀器連接在一起的裝置（molecular separator）之後，GC-MS（氣相色層質譜分析儀器或分析法）即成了目前分析化學上相當重要的工具或方法。

另一方面，若以MS當做氣相色層分析儀的檢出器，又可使GC-MS成為另一種分析法。1966年 Sweeley 等製作多重離子檢出器（accelerating voltage alternator），並利用它測定未經分離的混合物中的成分含量。其後，1968年 Hammer 等也利用此裝置做 chlorpromazine 之血中代謝物研究，並把這分析法命名為 mass fragmentography (MF)。從此MF即成為藥物動力學等方面

研究的利器。

### 應用上的原理及特性：

由於化合物的分子構造不同，經電子撞擊後生成的碎片（fragments）也不同，其所得到的質譜（mass spectrum）當然也不相同。為方便於說明，把下述假設理想化，簡單化。設有A（分子量210）和B（分子量250）的兩個化合物，因分子上的基團造成理化性質上的相似，也造成以GC分析時，具相同的滯留時間（peak 出現在同一位置，如圖1之peak 1）。這種情形，用一般的檢出器來做GC分析，當然無法得到A或B的確實含量。但若使用MS為檢出器，選定適當的 fragment 來檢出則可分別予以定量。就上例，以 $m/e$  210（A分子被打掉一個電子的質量）來檢出，則只有A被檢出，不受B的干擾；相反地，以 $m/e$  250，則B可不受A干擾地精確定量。圖中 peak 2 是具不同滯留時間的另一化合物，分子量應 $\geq 210$ ，但不是A或B的 fragment。

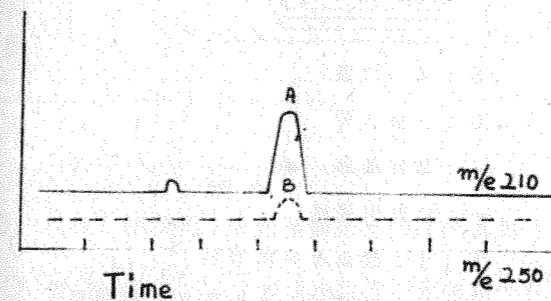


圖1 層析圖

由上述，可知MF是一特異性很高的分析法。另一方面，在感度上也不遜於使用電子捕獲型檢出器的GC，一般使用MF可測定 p mole

（ $10^{-12}$  mole）乃至 f mole（ $10^{-15}$  mole）的微量，是感度很高的分析法。

### 應用：

1. 能用GC來分析的化合物或混合物，才能用此法分析。
2. 適用於生體微量成分或醫藥品代謝研究的分析。
3. 適用於環境化學，公害問題上的研究分析。

### (II) 螢光分析法 (Fluorometry)

在檢體上照射以特定波長的光，該檢體中電子激發後放出螢光，由測定螢光強度，可推得產生螢光成分之含量，此即螢光分析法。此種分析法，早在1945年以前已被應用，但由於對螢光的不太了解，以及沒有好的螢光計，此法未獲廣泛的信賴。但由於後來螢光計的一再改良，準確度大大提高，目前已廣泛用於微量分析。

### 螢光分析法和吸光分析法的比較：

1. 特異性 檢體必須含有能產生螢光之成分並照射適當波長的光，才會發出螢光，且照射光的波長比螢光短，而短多少則與分子構造有關。螢光體具有二個光譜，激動光譜（excitation spectrum）及螢光譜（emission spectrum）。由於同時具相同吸光特性的兩個化合物，不一定都會發螢光，或產生同一波長的螢光。相反地，雖有相同的螢光，但其激發光之波長不一定相同，螢光分析法的特異性要比一般吸光法高很多。

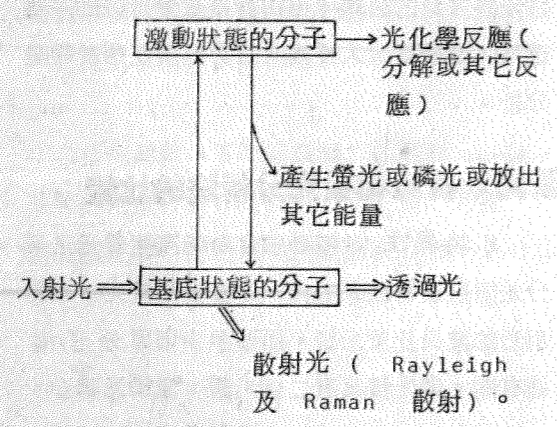
於該  
 (請  
 多  
 此  
 (請  
 西  
 上  
 祇  
 都  
 而  
 理  
 物  
 (請  
 世  
 校  
 讀  
 因  
 爲

**2. 感度** 吸光法的測定是利用對照液的透過光量和檢體溶液的透過光量的比，故感度有限(例如，把光源的強度再提高也提不高感度)。而螢光分析法則直接測定所發出的螢光強度，只要能提高光源的能量及檢出器的感度，就可提高此分析法的感度。由於儀器的進步，用此法已可測定  $1 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$  的溶液。故其感度要比吸光法高出  $10 \sim 1000$  倍。

**3. 再現性** 由於受光源的安定性，電源的安定性等種種影響，使螢光分析法的再現性(一般指量的再現性)不如吸光法。但儀器的進步，現多已能克服。

**光吸收與發光：**

用光照射分子之後，分子對外界或本身所發生的變化雖隨分子之不同而異，但大致不外乎發生下列之一的過程或變化。



其中產生螢光的機構，以有機分子為例用圖 2 說明之。

分子被激發光照射之後，電子由  $S_0$  的基底狀態遷移到  $S_1, S_2, S_3$  等單一激發狀態 (excited singlet state)，遷移到  $S_2, S_3$

之電子做無放射遷移，回到  $S_1$  狀態，由  $S_1$  的最低振動能位回到基底狀態而放出螢光。由於螢光都是由第一能階之單一激發狀態 ( $S_1$ ) 的最低振動能位發生，故螢光的波長要比吸收光(激發光)的波長長。有很多化合物可從  $S_1$  移到  $T_1$  (稱為本系跨越) (intersystem crossing) 而後放出磷光 (phosphorescence) 回到基底狀態。由圖 2 知，磷光的波長要比其螢光的波長長些(波長的光能量低)。

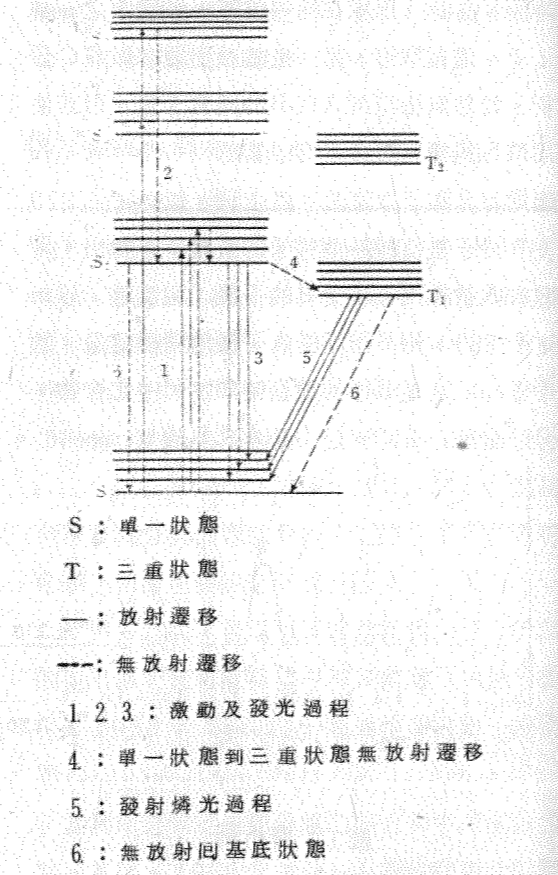


圖 2 光的吸收，螢光，磷光的概念圖  
 ※ 電子在單一狀態 (Singlet state) 是成對而自轉 (Spin) 的方向相反，三重狀態 (triplet state) 則是不成對或 Spin 相同的狀態。

**螢光分析的含量測定原理：**

由 Lambert - Beer's law 可導出螢光強度 (F) 和螢光物質的濃度 (C) 有如下的關係： $F = \phi I_0 \epsilon C l$  (1)

但  $\phi$  — fluorescence efficiency, 和波長無關的常數。  
 $I_0$  — 入射光。  
 $\epsilon$  — 克分子吸光度 (molar absorptivity); 在波長和溶媒一定時，是一個常數。  
 $l$  — 貯液槽厚度。

因 F 與 C 成正比，故由螢光強度可測定螢光物質的量。

**螢光的其它特性**

① 由 (1) 式知螢光強度與 molar absorptivity 成正比，所以激發光光譜應該是吸收光譜的複製品 (圖 3)。

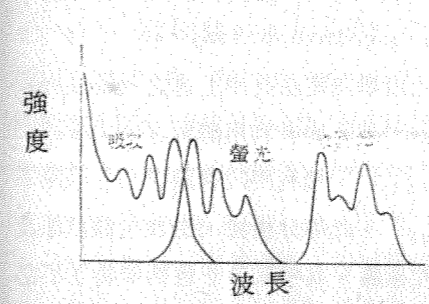


圖 3 吸收 (激發光) 螢光及磷光光譜之模式圖

② 吸光法中，吸光度大小與入射光強弱無關，(對某一化合物的一定濃度的溶液而言入射光與透過光之光度成正比，吸光度或透過率永遠不變) 但由 (1) 式知，螢光強度與入射光成正比。故由光源強度的增大及螢光檢出器的感度的提高，都可提高螢光分析法的感度；而吸光法則否。

③ 離螢光強度與螢光物質的濃度成正比。但是濃度高過某一限度，反而有消光 (螢光減弱) 的現象。此稱為濃度消光，為多種消光現象中的一種。

④ 螢光光譜與激發光的波長無關。大多的化合物可用幾種不同波長的激發光來激動產生螢光，但其螢光波長形狀都相同。

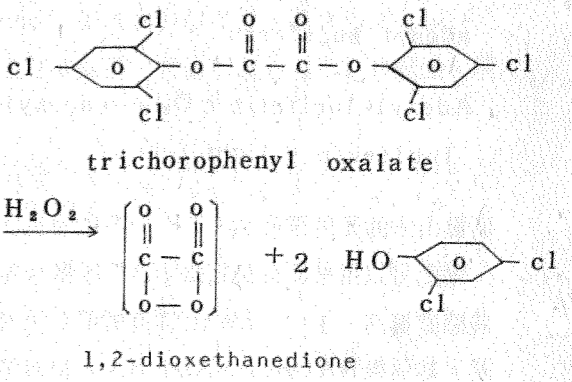
**應用：**

(1) 螢光分析法除可用於螢光物質之測定外，也可用於能誘導產生螢光體的非螢光物質的分析。

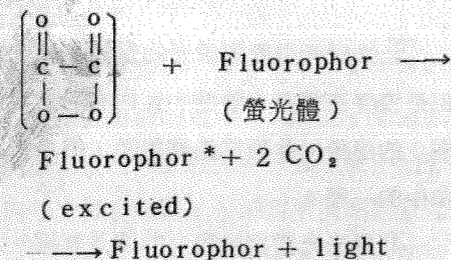
(2) 可與 HPLC 配合，使感度提高。

(3) 可應用到酵素分析。酵素把非螢光性基質 (substrate) 轉變成螢光物質，再予以測定。可供微量酵素的活性度分析。

(4) 化學發光分析法——此法可說是螢光分析法的一支，目前尚在研究階段，但成為高感度分析法的可能性極高。在螢光分析法中，要使用激發光當光源來照射螢光物質，而在化學發光法則不用光源，是利用化學反應時發放出來的能量來發光。於下就介紹去年由東京大學藥品分析化學教室所開發的氨基酸超微量分析法。

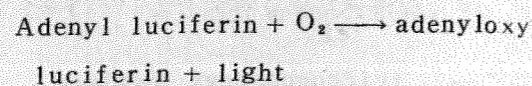
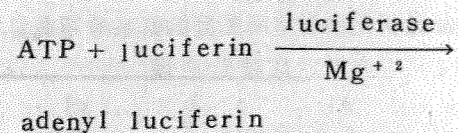


於該  
(是  
多才  
此。  
(註  
西好  
上，  
祇能  
都淨  
而「  
理」  
物」  
(註  
世紀  
較高  
因為



TCPO 經  $\text{H}_2\text{O}_2$  分解後，生成 1,2-dioxethanedione，此不安定中間產物立即自行分解放出能量傳給螢光體，螢光體因而被激動放出螢光。此種利用化學反應發出來光的波長和用激動光照射發放出者相同。用此法配合 HPLC，可做  $50 \text{ f mole}$  的定量 ( $50 \times 10^{-15} \text{ mole}$ )。

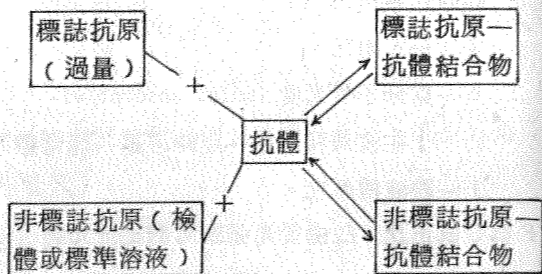
⑤ 生物發光分析法——此法與化學發光分析法很類似，但不同的是此法要靠酵素來促進反應，也因為如此，要有一定的基質才能發光。所用的酵素通稱之為 luciferase，其基質則稱為 luciferin。已發現自然界有多種 luciferase 及 luciferin。酵素不同，基質隨之不同，反應也就不同。以螢火蟲的 luciferase 及其 luciferin 為例以式子說明如下(此發光機構即螢火蟲本身在自然界的發光機構)：



所發出來的光的強度與 ATP 或氧的量成正比，因此可以用來測微量組織中 ATP 的含量。其感度很高， $10^{-15} \text{ mole}$  濃度的測定沒有問題，其他像 NADH，NADPH，FMN 等也

可用其他酵素和基質來定量。

⑥ Fluoroimmunoassay ——是把螢光分析法用於免疫學測定法的分析方法。所謂免疫學測定法是利用抗體抗原反應的方法。其原理可用圖 4 來說明。圖中的五種成分於一定時間內可達平衡。



標誌抗原：用螢光物質或酵素或放射性元素 labeling 過之抗原，成分和欲測定的非標誌抗原相同。

圖 4 原理

非標誌抗原的量可由標誌抗原剩下的量或標誌抗原——抗體結合物的量來測知。此法中抗原的標誌 (labeling)，若是以螢光物質標誌，此法即是 fluoroimmunoassay。

有關免疫學測定法除用上述之 fluororimmunoassay 外，尚有利用酵素之 enzyme immunoassay，和利用放射線之 radioimmunoassay。此等分析法，由於抗體抗原反應的特異性極高，其中成分 (包括藥物) 不必經過分離操作即可定量，甚為方便，故為研究生體成分變化的重要方法。

### 結語

因篇幅的關係，有關酵素分析法及放射化學測定法部分，將於本誌的下期繼續介紹。

## 酒精脫癮者臨床上

顯示特徵  
與  
如何處理

·劉尚浩·

前言：最近報紙上刊載著製造假酒的新聞由此可知喝酒的人越來越多，但往往不知喝多了酒會引起不良後果，尤其在想戒除喝酒是一件不易的事，所以特別提出與大家一起研究討論，如何使用藥物來抑制後遺症。

吾人知道一般人所喝的酒精飲料大部分在胃腸道吸收，約 20% 由胃吸收，80% 由腸吸收，且在 2~3 小時就收完全，而酒精吸收後大約 95% 以上在肝代謝，少量未受氧化經由腎及肺排泄，酒精在肝內經 alcohol dehydrogenase 及 Microsomal Drug metabolizing enzyme system 代謝為 acetaldehyde，酒精氧化後形成的 Acetaldehyde 能進入 Mitochondria 經由 aldehyde dehydrogenase 之作用變成 Acetate 同時產生 NADH 使 Mitochondria 內的 NADH 增加 NADH/NAD 比例提高，抑制 Krebs cycle 之進行，加上 Acetaldehyde 本身對 live 乃其他器官之 Mitochondria 的機能有抑制作用，使 Krebs 更加受阻。且 FFA (Free Fatty acid) 之  $\beta$ -oxidation 減損使 Acetyl CoA 也無法進入 Ketone bodies 增加，引起中毒，所以可知長期喝酒的人，其對人體生理上生化上有很大影響，且常引起此病變，例如 live cirrhosis (肝硬化) 雖然 alcohol 對人體有耐受性，但久也成 addiction 成癮，當產生 addiction 要戒除是很困難，往往戒除後，常會引起心理不正常現象，所以今所要討論重點就在此。

一般對於 withdrawal 脫癮者 treatment 可分三種 Acute, Subacute 及 Chronic 三種 Phase, Acute treatment Phase 可分成四個階段：

Stage (一) Psychomotor agitation, autonomic hyperactivity (tachycardia, hypertension, hyperhidrosis) 和 anorexia Somnia。

Stage (二) Hallucination ——聽覺、視覺、觸覺性或三者合併發生，很少包含嗅覺。