

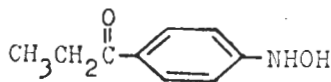
## 对羟胺苯丙酮的药物动力学与药效学

刘兰廷<sup>1</sup>、黄如衡 (军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

**提要** 对羟胺苯丙酮 (PHAPP) 在  $\lambda_{\text{激发}} 330 \text{ nm}$  发射  $450 \text{ nm}$  有强的磷光, 其寿命为  $0.9 \text{ s}$ 。PHAPP 在小鼠与兔为一室型动力学特点。  $t_{1/2}$  小鼠为  $25 \text{ min}$ , 兔为  $62.8 \text{ min}$ 。PHAPP 药效学(高铁血红蛋白形成) MetHb 生成, 小鼠  $1 \text{ min}$  达高峰,  $t_{1/2}$  为  $5.8 \text{ min}$ , 兔  $30 \text{ min}$  达高峰,  $t_{1/2}$  为  $65 \text{ min}$ , 与血药有逆时针曲线关系。PHAPP 对小鼠抗 NaCN 中毒的剂量降低系数为  $2.0$ 。

**关键词** 对羟胺苯丙酮; 发光; 药物动力学; 药效学; 高铁血红蛋白; 氰化钠

对羟胺苯丙酮(*p*-hydroxylaminopropiophenone, PHAPP)是抗氰药对氨基苯丙酮的代谢产物<sup>(1)</sup>, 其结构式为:



*p*-Hydroxylaminopropiophenone (PHAPP)

前文<sup>(2)</sup>报道兔给对氨基苯丙酮(PAPP)后高铁血红蛋白(MetHb)形成与血药浓度之间有滞后现象, 与文献(1)报道 PAPP 在体内需先经肝微粒体酶转化为 PHAPP 后才能使血红蛋白(Hb)氧化为高铁血红蛋白然后产生抗氰作用的机理相一致。关于 PHAPP 的药物动力学与药效学未见文献报道。本文用自己合成的 PHAPP 观察其药物动力学与药效学及其抗氰化钠中毒的效价。为进一步阐明 PAPP 的抗氰化物中毒的机理及寻找新抗氰药提供参考。

1987年5月11日收稿 1988年1月15日接受

<sup>1</sup> 现在广州第一军医大学防护教研室, 广州 510515

## 材料与方 法

PHAPP<sup>(3)</sup>以PAPP为原料。在48%四氟硼酸(HBF<sub>4</sub>)中(保持0-5℃),加NaNO<sub>2</sub>重氮化,滤集重氮盐,滴加入有悬浮铜粉的NaNO<sub>2</sub>液,得对硝基苯丙酮。经硅胶柱分离纯化(以苯为洗脱剂)。最后用锌粉在NH<sub>4</sub>Cl存在下还原得PHAPP。为淡黄色结晶。mp 92-94℃,产率为25%,C, H, N元素分析合格,红外光谱在3300 cm<sup>-1</sup>处出现羟基峰,质谱分子离子峰为165,碎片峰符合分子裂解产物结构。薄层层析为单点。配成10 mg/ml乙醇液备用。

其他试剂与设备同前文<sup>(2)</sup>。

**动物** 小鼠♀♂不限,体重20±SD 2g,兔♂体重2.0±0.5 kg,均本院动物场繁殖供应。

**高铁血红蛋白测定** 用双波长法<sup>(4)</sup>测定

## 结 果

**PHAPP的磷光性质** PHAPP配成1 μg/ml于不同溶剂中测磷光光谱<sup>(5)</sup>,以讯噪比(S/N)=2计算最小检出量,用斜率法<sup>(6)</sup>测磷光寿命,如表1 PHAPP在50%乙醇中磷光比较强,以不同量的PHAPP在50%乙醇中测磷光强度如图1。

Tab 1. Effect of solvents on phosphorescence properties of *p*-hydroxylaminopropiophenone (PHAPP, 1 μg/ml)

Solvent	Wave length (nm)		Sensitivity (ng/ml)	Life time (s)
	excit	emis		
HCL(0.1 mol/L)	256	418	500	0.22
NaOH(0.1 mol/L)	310	445	5	0.8
HCl(0.1 mol/L); ethanol (1:)	292	424	50	0.24
Ethanol (50%)	330	450	5	0.9
NaOH(0.1mol/L); ethanol(1:1)	320	450	5	1.14

相对磷光强度与PHAPP量成线性关系。

**血中PHAPP的测定** 小鼠全血0.1 ml加

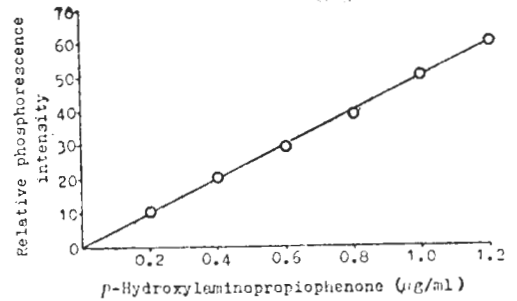


Fig 1. Relationship between the concentration of *p*-hydroxylaminopropiophenone and relative phosphorescence intensity

入不同量PHAPP为血样,取血样20 μl,加0.2 ml无水乙醇,放置5 min后离心(1700×g) 5 min,用上述条件测上清液磷光强度。3次实验相对磷光强度与PHAPP量成线性关系,直线回归方程为:

$$Y = 41.9 X - 2.47 \quad [1]$$

$$r = 0.996, n = 3$$

式中X为PHAPP量(μg),Y为相对磷光强度。

**PHAPP的药动力学** 小鼠、兔im PHAPP 10 mg/kg后不同时间采血(小鼠摘眼球采血,兔自耳缘静脉采血),用上法测血药浓度,结果如图2血药浓度在YEE-8100微机处处理,为一室型,血药表达式为:

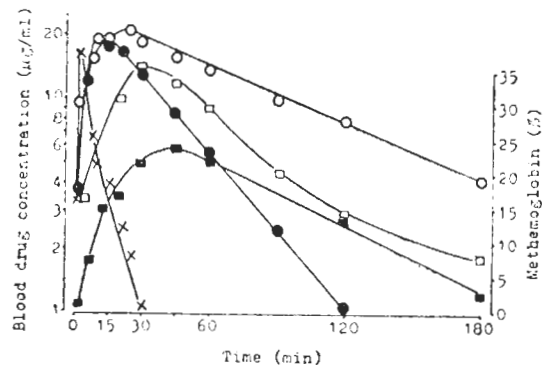


Fig 2. Time course of *p*-hydroxylaminopropiophenone in blood of rabbits (○) and mice (●) after im 10 mg/kg, n=5, and the time course of methemoglobin concentration in mice (×) and rabbits (□) after im PHAPP 10 mg/kg and PAPP 10 mg/kg in rabbits(■).

$$\text{小鼠}(\bullet): C_{(\mu\text{g}/\text{ml})} = 47.3 \exp(-0.0275 t) - 44.3 \exp(-0.192 t) \quad [2]$$

$$\text{兔}(\circ): C_{(\mu\text{g}/\text{ml})} = 42.8 \exp(-0.0120 t) - 38.6 \exp(-0.270 t) \quad [3]$$

药物动力学参数计算如表 2。

Tab 2. Pharmacokinetic parameters of *p*-hydroxylaminopropiophenone in animals.  $n=5$ ,  $\bar{x} \pm \text{SD}$

Parameters	Rabbits	Mice
$C_0$ $\mu\text{g}/\text{ml}$	$42.8 \pm 3.0$	$47.3 \pm 3.7$
$K$ $\text{min}^{-1}$	$0.012 \pm 0.004$	$0.0275 \pm 0.0023$
$G$ $\mu\text{g}/\text{ml}$	$38.6 \pm 1.9$	$44.3 \pm 0.8$
$K_a$ $\text{min}^{-1}$	$0.270 \pm 0.036$	$0.192 \pm 0.055$
$t_{1/2}(K_a)$ min	$2.57 \pm 0.41$	$3.86 \pm 1.31$
$t_{1/2}(K)$ min	$62.8 \pm 19.1$	$25.4 \pm 2.1$
$t_{\text{peak}}$ min	$12.3 \pm 1.5$	$10.0 \pm 1.4$
$C_{\text{peak}}$ $\mu\text{g}/\text{ml}$	$36.4 \pm 4.0$	$28.1 \pm 1.7$
$V$ L/kg	$0.236 \pm 0.020$	$0.213 \pm 0.016$
AUC $\mu\text{g} \cdot \text{min} \cdot \text{ml}^{-1}$	$3788 \pm 1376$	$1554 \pm 238$
Cl $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$	$3.0 \pm 1.2$	$6.8 \pm 0.92$

从表 2 可见小鼠和兔的动力学室型相同, 但参数相差较大, 如消除  $t_{1/2}$  小鼠为 25 min, 而兔为 62.8 min, 相差 2 倍多。

**PHAPP 的药效学** 小鼠, 兔 im PHAPP 10 mg/kg 后不同时间采血, 测 MetHb 浓度 (%), 以 MetHb 浓度对时间作图(见图 2)。

MetHb 百分浓度随时间变化的动力学方程为:

$$\text{兔: } C_{(\text{MetHb}\%)} = 65.6 \exp(-0.0105 t) - 56.9 \exp(-0.098 t) \quad [4]$$

$$\text{小鼠: } C_{(\text{MetHb}\%)} = 44.0 \exp(-0.119 t) \quad [5]$$

小鼠 MetHb 形成快, 1 min 就达高峰, 未能观察到形成期, 同时小鼠 MetHb 的下降也快, 消退  $t_{1/2}$  为 5.8 min, 兔 MetHb 有形成相, 高峰在给药后 30 min, 浓度也高, 达 45.3%, 消退  $t_{1/2}$  长为 65 min (比小鼠的  $t_{1/2}$  长 10 倍), 两种动物差异大。

**血药与 MetHb 百分浓度关系** 兔(5 只)

im PHAPP 10 mg/kg 后不同时间采血, 同时测血药与 MetHb 含量。血药浓度与 MetHb 百分浓度在双对数纸上作图(图 3), 为一逆时针回线, 说明 MetHb 形成有滞后现象。在血药高峰前后均有直线段, 直线方程分别为:

$$\text{血药高峰前 } \ln(\text{MetHb}\%) = 3.17 + 1.03 \ln C \quad [6]$$

$$\text{血药高峰后 } \ln(\text{MetHb}\%) = 3.61 + 1.31 \ln C \quad [7]$$

上两式分别用指数式表示为:

$$\text{血药高峰前 } \text{MetHb}\% = 23.7 C^{1.04} \quad [8]$$

$$\text{血药高峰后 } \text{MetHb}\% = 36.8 C^{1.31} \quad [9]$$

利用上两式关系, 当测出 MetHb% 或血药浓度就可计算另一个浓度。

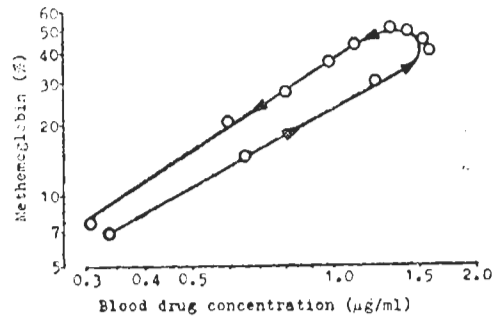


Fig 3. Relationship between blood drug concentration and MetHb concentration. A counter-clockwise hysteresis loop indicating equilibrium delay of MetHb formation. The arrows indicate the time sequence of observations.

**PHAPP 与 PAPP 药效学比较** 在上文<sup>(2)</sup>中兔给 PAPP 后 MetHb 浓度比血药推迟, 而给 PHAPP 也同样有滞后现象。为比较两药的差异, 另取兔(5 只) im PAPP 10 mg/kg 后不同时间测高铁血红蛋白形成(见图 2)。MetHb 形成的时间过程方程为:

$$C_{(\text{MetHb}\%)} = 59.7 \exp(-0.0145 t) - 62.9 \exp(-0.0615 t) \quad [10]$$

从图可见给 PHAPP 的兔形成 MetHb(%)高, 高峰出现早, 给 PAPP 的, 形成 MetHb(%)低且推迟, 半形成 MetHb 期分别为: 7.1 min 与 11.3 min, 高峰推迟说明 PAPP 形成 PHAPP

需要一定时间。

**PHAPP 直接形成 MetHb** 观察 PHAPP 能否直接与血红蛋白作用生成 MetHb。取正常小鼠全血 0.1 ml, 分别加入 PHAPP, PAPP, DMAP (dimethylaminophenol, 二甲氨基苯酚, 是另一个有效抗氰药), 作用 10 min 后分别测 MetHb, 结果如表 3。

Tab 3. Formation of methemoglobin (MetHb) *in vitro* by 3 antidotes

Drug in blood ( $\mu\text{g/ml}$ )	MetHb (%) formation		
	PAPP	PHAPP	DMAP
2	-	16.5	-
5	0	21.6	25.1
10	0	27.7	30.3
50	0	48.5	35.7
100	0	71.6	72.4
300	0	-	81.5

PAPP = *p*-aminopropiophenone; PHAPP = *p*-hydroxylaminopropiophenone; DMAP = dimethylaminophenol

上表可见 PAPP 不能与红血球中 Hb 作用生成 MetHb, 说明 PAPP 的抗氰作用是先在体内转化为 PHAPP 后才有效, 这也说明 PAPP 形成 MetHb 有滞后现象的原因。

**PHAPP 的抗氰化钠中毒效价** 小鼠分成 5 组, 每组 8 只, 先 im PHAPP 10 mg/kg 1 min 后给 NaCN sc 中毒。NaCN 剂量为 9.0, 10, 11, 12, 13 mg/kg (氰化钠对小鼠  $\text{LD}_{50}$  = 5.5 mg/kg), 观察 24 h 内小鼠存活情况, 对照小鼠给 NaCN 9 mg/kg sc 中毒 (未给 PHAPP) 后, 全部死亡, 结果如表 4

Tab 4. Antidotal potency of im *p*-hydroxylaminopropiophenone to sc NaCN poisoning in mice after 24 h.

NaCN (mg/kg)	PHAPP (mg/kg)	Survival/Tested	
		Expt I	Expt II
9.0	0	0/8	0/8
9.0	10	7/8	8/8
10.0	10	6/8	6/8
11.0	10	4/8	4/8
12.0	10	3/8	3/8
13.0	10	1/8	1/8

从表 4 可见 PHAPP 有较好的抗氰化钠中毒效果, 其剂量减低系数 (dose reduction factor DRF, 即小鼠在中毒前给与不给 PHAPP, 对 NaCN 中毒的  $\text{LD}_{50}$  剂量比) 为 2.0 与 DMAP (DRF = 1.8, 于泽钦 1985 年未发表资料) 相近。

## 讨 论

从兔与小鼠在体内形成 MetHb 的时间过程不同, 其原因之一可能由于细胞内还原酶活力不同<sup>(7,8)</sup> (小鼠高而兔较低), 人红细胞中还原酶活力比较低, 因此 MetHb 浓度维持时间较长, 由此预测 PHAPP 对人的抗氰作用时间较长。

2  $\text{LD}_{50}$  NaCN 中毒, 对照小鼠在 5-10 min 内死亡。而先给 PHAPP 预防的死亡小鼠, 其死亡时间推迟到 1-4 h。这可能与小鼠红细胞中还原酶多有关, 产生的 MetHb 被还原而下降, 另外生成的 MetHb-CN 也可能离解, 重新放出  $\text{CN}^-$ , 引起重复中毒。在用 PAPP 预防的小鼠, 由于 PAPP 不断的代谢生成 PHAPP, 从而维持 MetHb 的有效浓度, 也有效的纠正了 MetHb-CN 的离解, 少量的  $\text{CN}^-$  则可以被缓慢代谢成无毒的硫氰化合物而排出体外, 因此减少死亡率或推迟死亡时间。若在 PHAPP 治疗过程中, 再添加硫代硫酸钠, 促使 NaCN 转化消毒, 是有意义的。

PHAPP 在兔体内吸收快, 但在 MetHb 的形成仍有滞后现象, 其原因可能有: (1) 与红细胞膜通透性有关; (2) 也可能 PHAPP 与兔血红蛋白作用速度较慢; (3) 兔红球中还原酶少, 生成的 MetHb 不易分解有关, 因此兔给 PHAPP 后 MetHb 不仅高峰时浓度高且维持时间久。

**致谢** PHAPP 的合成得到纪庆娥教授指导, 抗氰化钠中毒效价得到于泽钦副教授的指导。

## 参 考 文 献

- 1 Graffe W, Kiese M, Rauscher E. The formation *in vivo* of *p*-hydroxylaminopropiophenone

from *p*-aminopropiophenone and its action *in vivo* and *in vitro*. *Naunyn Schmiedebergs Arch Exp Pathol Pharmacol* 1964; 249 : 168

- 2 刘兰廷、黄如衡. 对氨基苯丙酮在兔体内的药物动力学和药效学. 中国药理学报. 1988; 9 : 178
- 3 DeFeo FG, Fitzgerald TJ, Doull J. Synthesis and biologic activity of *p*-hydroxylaminopropiophenone. *J Med Chem* 1972; 15 : 1185
- 4 刘兰廷、黄如衡. 高铁血红蛋白简易测定法. 军事医学科学院院刊 1986; 10 : 229

- 5 黄如衡、徐旭. 磷光技术的改进. 同上 1986; 10 : 129
- 6 黄如衡. 简易磷光寿命测定方法. 同上 1983; 7 : 359
- 7 Agar NS, Harley JD. Erythrocytic methemoglobin reductases of various mammalian species. *Experientia* 1972; 28 : 1248
- 8 Stolk JM, Smith RP. Species differences in methemoglobin reductase activity. *Biochem Pharmacol* 1966; 15 : 343

*Acta Pharmacologica Sinica* 1988 Jul; 9 (4) : 380-384

## Pharmacokinetics and pharmacodynamics of *p*-hydroxylaminopropiophenone

LIU Lan-Ting, HUANG Ru-Heng

(Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850)

**ABSTRACT** *p*-Hydroxylaminopropiophenone (PHAPP), the metabolite of *p*-aminopropiophenone, is a direct methemoglobin former. PHAPP phosphoresces strongly in alcohol with excitation at 330 nm, emission at 450 nm and with a lifetime of 0.8 s.

Following im PHAPP 10 mg/kg to mice and rabbits, the blood drug concentration were determined by phosphorimetric method, and the pharmacokinetic parameters were calculated. PHAPP is a one-compartment drug and the blood drug concentration may be calculated by the following equations:

$$C_{\mu\text{g}/\text{ml}} = 47.3 \exp(-0.0275t) - 44.3 \exp(-0.192t) \quad (\text{for mice});$$

$$C_{\mu\text{g}/\text{ml}} = 42.8 \exp(-0.012t) - 38.6 \exp(-0.270t) \quad (\text{for rabbits}).$$

The blood drug level declined rapidly in mice with a  $t_{1/2}$  of 25 min, but decreased slowly with a  $t_{1/2}$  of 63 min in rabbits.

The pharmacodynamics of PHAPP were measured as the rate of MetHb formation (%), after im PHAPP 10 mg/kg to rabbits

or mice. The MetHb, in mice, was formed rapidly and reached the peak concentration within 1 min, and then dropped steeply with a  $t_{1/2}$  of 5.8 min. On the contrary, the MetHb in rabbits decreased slowly with a  $t_{1/2}$  of 66 min. The hysteresis of MetHb formation in rabbits (i.e., the peak concentration time of MetHb formation was later than that of peak drug concentration) was observed. Before and after the peak drug concentration, the MetHb (%) may be calculated from drug concentration by equation I and II, respectively.

$$\text{I } \ln(\text{MetHb } \%) = 3.17 + 1.03 \ln C;$$

$$\text{II } \ln(\text{MetHb } \%) = 3.61 + 1.31 \ln C.$$

The dose reduction factor (DRF) of PHAPP against NaCN poisoning in mice was 2.0, which is similar to that of dimethylaminophenol (DRF = 1.8).

**KEY WORDS** *p*-hydroxylaminopropiophenone; pharmacokinetics; pharmacodynamics; methemoglobin; sodium cyanide; luminescence