

呼出气体中药物动力学研究初探：以桉树油为例

Veronika Pospisilova
TOFWERK, Thun, Switzerland

在线、无损的分析呼出气体是近年来药物动力学研究领域的一个新兴方向，因其结果的实效性和无创采集方式等优点。相对于耗时的血检、尿检等分析方式，通过实时获取呼出气体中富含的挥发性或者弱挥发性有机物信息，研究人员可以对人体内部的代谢过程‘略窥一斑’，从而进一步深入了解内用/外用药物在人体内的代谢途径和分布。从某种角度来说，这跟中医诊断手法中的‘望闻问切’中的‘闻’的理念相一致。其实，执法部门早已经认识到了即时呼吸监测的优势：呼气式酒精检测仪早已广泛应用于酒驾查处中。能有效准确的检测出人体呼出气体中除乙醇之外的化学组分信息，给生物医药、疾病诊断、个性化医疗等领域都会带来新的突破。Vocus 化学电离-飞行时间质谱仪 (CI-TOF) 正是这样一款利器，可快速定量检测呼出气体中的数百种痕量物种，瞬时捕捉人体代谢过程的快速变化。

实验设计

本次设计实验中，征集了三位身体健康成人志愿者，他们在口服 300 毫克的桉树油胶囊(Gelomyrtol, Alpinamed)后，于 24 小时内不定时的到 Vocus CI-TOF 仪器前呼气来检测他们的呼出气体成分。桉树油是常用的能缓解呼吸道发炎的辅助性药物之一。外部胶囊壳在肠胃道溶解之后，桉

树油被吸收并进入血液循环系统。通过肺泡内血液和气体交换，桉树油和其挥发性代谢物进入呼吸系统继而排出体外。由此可知，基于呼出气体的相关物种浓度可以推导出这些物质在血液中的相应浓度变化。

每个志愿者的呼出气体在口服胶囊之前 15 分钟和吞服后每 15-30 分钟用 Vocus CI-TOF 进行分析。呼出气体样品不做样品预处理，单纯通过一个呼出气体进样装置进入到仪器内部。值得注意的是，该 Vocus CI-TOF 是在水合离子 (H_3O^+) 和铵根离子 (NH_4^+) 这两种电离模式进行自动切换，后一种电离模式更加适合检测高氧化态物种。实验中仪器数据采集频率是 2Hz，即每秒获得两张全谱图。

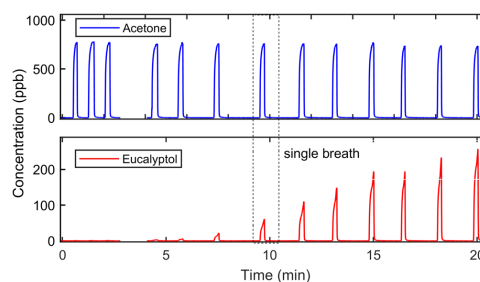


图 1. Vocus CI-TOF 测得的呼出气体中丙酮和桉叶油醇的浓度数值 (单位为 ppb)。虚线圈内标出的是单次呼气动作。图中时间零点对应的是服用桉叶油胶囊后三小时。

结果

图 1 展示了某个志愿者连续 13 次的呼出气中的丙酮和桉叶油醇浓度变化。丙酮是体内脂肪分解的代谢物，因此是呼出气体中的常见物种。桉叶油醇（1,8-桉树脑）是桉树油中的主要活性物种。本案例中桉叶油醇浓度是通过配套的液体校准装置（Liquid calibration system）获得的标定曲线进行的定量。

图 2 中展示的是分别在 NH_4^+ 离子模式和质子转移反应模式（ H_3O^+ ）下口服桉叶油胶囊前后的志愿者呼出气体在仪器上呈现的全谱图。明显看到口服动作之前浓度最高的物种为丙酮和异戊二烯。口服胶囊五小时后， NH_4^+ 模式测量到谱图出现了强度很高的峰，分别为 m/Q 172.17、 m/Q 154.16 和 m/Q 137.13 三个位置的峰。这些峰分别对

应着桉叶油醇分子（ $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$ ）和单萜烯（ $\text{C}_{10}\text{H}_{16}$ ），例如 α -蒎烯， β -蒎烯，蒎烯或者柠烯等。值得注意的是，柠烯不是桉叶油本身的常见成分，也不是其常见代谢物种。我们进一步在 NH_4^+ 模式下对桉叶油醇的标准样品进行了测试，发现在 $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{NH}_4^+$ （154.16 Th）测到的信号浓度只有桉叶油醇母离子的不到 2%，这充分说明桉叶油醇可能的碎片对单萜烯的定量分析影响可以忽略不计。相反的，在 PTR（ H_3O^+ ）模式下测量桉叶油醇标样时，谱图中最高的峰为 137 质荷比（ $\text{C}_{10}\text{H}_{17}^+$ ），而桉叶油醇母离子（ $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{O}^+$ ）则相对强度较小。这也是铵根（ NH_4^+ ）模式相对于 PTR（ H_3O^+ ）模式的优点之一：去除了分子碎片可能对结果分析带来的不确定性。

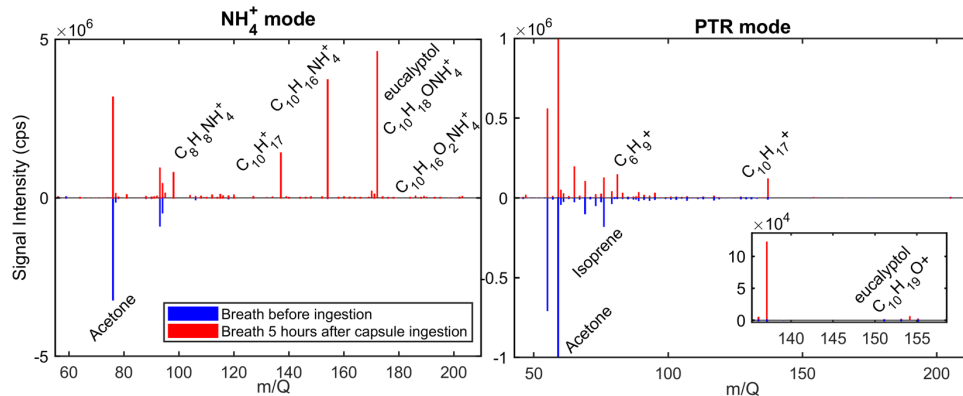


图2. 分别在 NH_4^+ 和 PTR（ H_3O^+ ）模式下服用胶囊前后的志愿者呼出气体在 Vocus CI-TOF 仪器呈现的全谱图

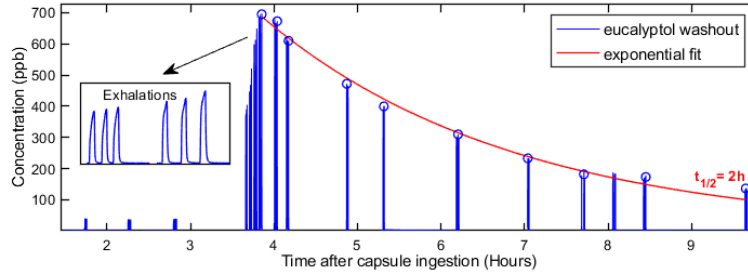


图3. 10小时内某志愿者呼出气体中桉叶油醇浓度的衰减曲线。每隔15-30分钟，志愿者会在仪器上进行呼出气体检测。为了更好的统计数据，每个时间点志愿者会连续进行三次实验。

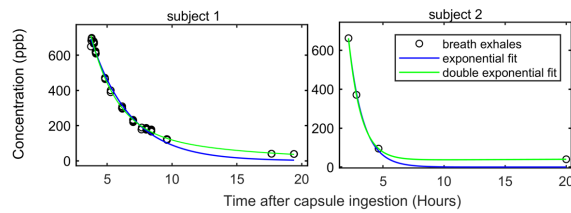


图4. 两位志愿者（1号和2号）口服胶囊后呼出气体中桉叶油醇浓度的衰减曲线。

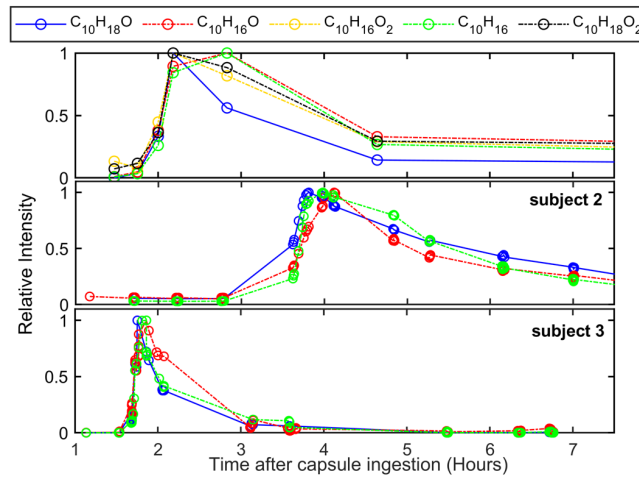


图5. 桉叶油醇($C_{10}H_{18}O$)，单萜烯($C_{10}H_{16}$)和可能的氧化代谢物($C_{10}H_{16}-18O1-2$)浓度随着口服后时间的变化曲线图。实线代表的是桉叶油醇母离子，而虚线代表可能的代谢产物。图中的数据是经过标准化处理，从而更好的比较峰值出现时间点的差异。

图 3 中可以观察到某志愿者呼出气体中桉叶油醇浓度在口服胶囊前后，共 10 小时内的变化趋势。检测到的浓度峰值约为 700 ppb，通过指数曲线拟合之后，衰减常数为 0.33 h^{-1} 。这个志愿者第二天重复了这个实验，测到的桉叶油醇浓度峰值为 650 ppb，衰减常数为 0.25 h^{-1} 。取平均值之后，可以得知桉叶油醇在这个志愿者体内的半衰期约为 2.3 小时。如前所述，呼出气体测得的浓度是跟血液中的浓度是相互对应。在 4-5 个半衰期之后，桉叶油醇的浓度应该只有峰值的百分之三，对人体的作用可以忽略不计了。在本案例中，经过差不多 8 个半衰期之后，呼出气体中测到浓度仍为 45 ppb（相当于峰值的 7%）。这也意味着我们需要一个包含快速和相对慢些的指数衰减模型才能更准确的模拟出桉叶油醇在人体内的代谢衰减趋势。在图 4 中我们分别对两个志愿者的数据进行了单指数和双指数曲线拟合。测得的数据表明了

人体内桉叶油醇衰减速率要慢于单指数衰减趋势，也就意味着，在口服大概两天后，桉叶油醇在志愿者呼出气体内的浓度才会恢复到检测前的状态。

图 5 给出了三位志愿者呼出气体中检测到的物种浓度随口服后时间的变化。桉叶油醇浓度达到峰值的时间点因人而异，在服用后两小时到四小时之间出现。文献报道中桉叶油醇的主要代谢物分别为 dehydrocineol ($\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$), oxocineol $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_2$ 和 hydroxycineole ($\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_2$) (1-3)。进一步说，Vocus CI-TOT 所检测到的个体差异化也恰恰证明了该技术在在线无损药物动力学研究领域的巨大潜力和广阔应用场景。

Contact
ptrtofms.cn
china@tofwerk.com
©TOFWERK 2020

References

1. M. Duisken, F. Sandner, B. Blomeke, J. Hollender, Metabolism of 1,8-cineole by human cytochrome P450 enzymes: identification of a new hydroxylated metabolite. *Biochim Biophys Acta* 1722, 304-311 (2005).
2. K. Horst, M. Rychlik, Quantification of 1,8-cineole and of its metabolites in humans using stable isotope dilution assays. *Mol Nutr Food Res* 54, 1515-1529 (2010).
3. G. J. Pass, S. McLean, I. Stupans, N. Davies, Microsomal metabolism of the terpene 1,8-cineole in the common brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*), koala (*Phascolarctos cinereus*), rat and human. *Xenobiotica* 31, 205-221 (2001).