

构建系统性药动学实验教学体系及实施体会

邹豪,鲁莹,陈琰,马光大,高中,钟延强(第二军医大学药学院,上海 200433)

摘要 目的:通过近年来的教学实践,拟构建系统性药动学实验教学体系。方法:分析现阶段各医药院校药动学教学的不足,提出系统性药动学实验教学体系,建立药动学模拟实验(体外循环法)、基础实验(大鼠在体小肠吸收实验)和综合性实验(血药实验、尿药实验)三个实验教学层次,构建以创新能力培养为主线的实验教学新模式。结果:通过系统性药动学实验教学体系的规划,阐明了系统性药动学实验教学体系的特色和优点。结论:系统性药动学实验教学体系的构建是符合教学需要的。

关键词 药动学,实验教学,体系

中图分类号:R932

文献标识码:B

文章编号:1006-0111(2007)02-0107-03

现今,在国内药学高等院校均开设了药动学实验课。开设目的是为了使学生学员在理论课的基础上,通过药动学实验课进一步掌握药物的吸收、分布、代谢和排泄的过程和特点,明确药动学参数的意义,能比较系统地掌握药动学研究的方法与程序。使学生认识到药动学是为新药设计、临床合理用药及药物制剂生物等效性等提供理论依据的一门科学。

药动学近年来的发展和应用,日益证明了它在药学领域中所占的特殊重要地位。首先,药动学作为一门用数学分析手段来处理药物在体内的动态过程的科学,具有重大的理论价值,是“数学药学”的重要组成部分,它的基本分析方法已经渗透到生物药剂学,临床药剂学,药物治疗学,临床药理学,分子药理学,生物化学,分析化学,药剂学,药理学及毒理学等多种科学领域中,已成为这些学科的最主要和最密切的基础,推动着这些学科的蓬勃发展。同时,药动学还有着极为广泛的实用意义,它的发展将对现有药物的客观评价、新药的能动设计、改进药物剂型、提供高效、速效、长效、低毒副作用的药剂,特别是对于临床指导合理用药,通过药动学特征的研究,按照临床治疗所需有效血药浓度选择最适剂量,给药周期,负荷剂量的计算,以及连续用药是否会在体内发生蓄积,设计最优给药方案等具有重大的实用价值。总之,药动学已成为一种新的有用的工具,已被广泛地应用于药学领域中的有关学科,成为医药研究人员和广大医药工作者都需要了解和掌握的学科。

但是,现阶段各院校的药动学实验课程比较单一,即测定模型药物的有效血药浓度,计算有关药动

学参数,通过实验基本掌握药动学研究方法。

2004年,我们已经在国内首先开展体外循环法模拟药动学实验^[1],该实验以 Dr. D. Bourne(美国 OUHSC 大学药学院)的教学实验方法为参考,结合本校实验条件的实际情况,将几个重要的药动学实验完全实现了体外模拟。

随着 01、02 级药学本科学员踏上工作岗位,许多学员反馈的信息表明我们的实验教学改革的,该方法充分调动学生实验的主动性和积极性,形成可以独立操作、独立分析、独立思考的实验过程。但是,许多好的建议随之而来,有学员认为药动学实验需要涵盖更多的在体吸收实验、组织分布实验、血浆蛋白结合实验、排泄实验、结构转化试验、对药物代谢酶活性的影响等科研中经常会开展的实验。

基于实践的需要,为使药动学实验的系统化和实用化,对已有的实验教学模式需要进行系统改革。我们在药学本科教学中,建立了药动学模拟实验(体外循环法)、基础实验(大鼠在体小肠吸收实验)和综合性实验(血药实验、尿药实验)3个实验教学层次,构建以创新能力培养为主线的实验教学新模式。

1 系统性药动学实验教学体系的内容

1.1 药动学模拟实验 开展体外循环法模拟药动学实验,主要包括体外循环法模拟单室模型静脉注射(One-compartment models; iv bolus)、体外循环法模拟单室模型静脉零级滴注(One-compartment models; zero-order input)、体外循环法模拟单室模型一级吸收(One-compartment models; first-order input)。

单室模拟装置为带有两个出口的烧杯^[2],烧杯相当于体循环系统。当把药物(用酚红液代替)注入烧瓶中后,用蠕动泵将水以一定的流速注入烧瓶

作者简介:邹豪(1975-),男,博士。Tel:(021)25070393;
E-mail:mrzou@sina.com

中,药物不断地从两支管中清除,两支管清除的药量可看做肾脏清除和非肾脏清除的药量。具体操作为:①将约 250 mL 的常水倒入烧杯中,开动磁力搅拌器。用蠕动泵以每分钟大约 6~8 mL 的流速将常水注入烧杯中,搅拌数分钟,使进入烧杯中的水量同由两支支管中排出的量相等。用橡皮管与夹子控制其中一个支管的流速,使得液体连续滴出,另一个支管间歇流出液体。②用移液管将烧杯中的水取出 10 mL,然后用移液管将 0.1% 酚红供试液 10 mL 加入烧杯中并记时,此时间记为 t 。以后每隔 10 min 自烧杯中吸取 0.5 mL 供试液作为“血药样品”供测定用,同时定量收集不同时间内由一支管流出的试液作为“尿药样品”供测定用。药物的消除速度常数可以用“血药样品”,也可从尿排泄数据来求算。

1.2 药动学基础实验 大鼠在体小肠吸收实验,采用“在体循环法”(In situ intestinal absorption)和“单向灌注法”(Single-pass intestinal perfusion technique),评价药物在肠道的吸收。需要掌握肠道插管技术、腹腔麻醉技术等。

药物经口服给药的主要吸收部位在小肠。一种药物能否口服吸收,除了本身理化性质的影响外,主要取决于肠黏膜的构造以及肠内酶、肠上皮细胞对药物的代谢及屏障作用。因此研究药物在肠内吸收和代谢的特点是口服药物开发的重要环节。肠吸收的实验方法主要有在体肠回流法(intestinal backflow *in vivo*)、肠襻法(intestinal loops)、分离肠黏膜法(isolated mucosa)、外翻囊法(everted sacs)和 caco-2 细胞(human colon adenocarcinoma cells)模型法等^[3]。

肠吸收实验方法,将实验前禁食 18 h 的大鼠称重后,按 0.4 mL/100g 的剂量腹腔注射戊巴比妥钠溶液(10 g/L)麻醉大鼠,麻醉后将大鼠背位固定于手术台板上,保持 37 °C 体温,沿腹部正中中线切开腹部(约 3 cm)。对需要考察的部位,在两端剪切后插管,结扎,先用少量 37 °C 的生理盐水冲洗肠段,再用空气将生理盐水排净。取供试液(预热至 37 °C) 100 mL,以 5 mL/min 循环 10 min 后,将流速调为 2.5 mL/min,分别于回流 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 h 取样 2 mL,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,同时补充等量的等温酚红溶液,分别测定主药和酚红的浓度。

分段考察的各肠段区间如下:十二指肠段自幽门 1 cm 处开始往下 10 cm 止;空肠段自幽门 15 cm 起往下 10 cm 止;回肠段自盲肠上行 20 cm 开始往下 10 cm 止;结肠段从盲肠后端开始往下 10 cm 止。整肠段考察自十二指肠上端起起到回肠下端止。

吸收百分率通过测定实验前后供试液中药物浓度的变化计算药物总量的减少值,求算小肠对药物的吸收量。由于小肠在吸收药物的同时也吸收水分,因此在供试液中加入不被肠壁吸收的酚红后,根据酚红浓度的变化校正供试液体积的变化。药物的吸收百分率按下式计算:

$$X\% = \frac{C_0 V_0 - (C_0' V_0 - C/C_1') \times C_1}{C_0 V_0} \times 100\%$$

式中: C_0 为药物的初始浓度; C_1 为不同时间回流液中的药物浓度; C_0' 为酚红的初始浓度; C_1' 为不同时间回流液中的酚红浓度; V_0 为供试液初始体积。根据酚红浓度计算出供试液的体积,根据每一时间段药物浓度和供试液体积的变化计算出肠循环液中的剩余药量 X ,以 $\ln X$ 对取样时间作图得一直线,由直线的斜率求出吸收速率常数(K_a)。

1.3 药动学综合性实验 血药法是生物药剂学和药动学的基本实验之一。本实验要求掌握药动学和生物利用度的实验设计药动学参数的求算方法以及对结果的评价。以氨茶碱为目标药物,采用高效液相色谱法测定其有效血药浓度^[4],采用 3 P97 计算机软件计算有关药动学参数,具体结合给药途径(口服、注射)等不同进行比较。

1.3.1 实验材料准备 药品:氨茶碱注射液 25 mg/mL;氨茶碱片剂 100 mg/片。家兔:身体健康,体重 2.5 kg,共 6 只,分为静脉和口服给药 2 组,每组 3 只。实验前禁食至少 12 小时。

1.3.2 给药 静脉注射:按每公斤体重 15 mg 剂量,从兔耳缘静脉缓慢注入,要求 2 min 注完。口服给药:按每只家兔 100 mg 剂量,取氨茶碱 1 片,2 人协作给药。1 人坐好,将兔躯干夹与两腿之间,左手抓住双耳,固定头部,右手抓住前肢。另 1 人将开口器横放于兔口中,将舌头压在开口器下面,固定开口器。用镊子夹住药片,从开口器中间的洞孔中送入咽部,用 20 mL 水冲服下。

1.3.3 取样 静脉注射:分别与给药前和给药后 0, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 8, 12 h, 取耳静脉血 0.5 mL,待其凝固,离心分离血清,取血清 50 μL 并加入 100 μL 蒸馏水,充分混匀,待测定。口服给药:于给药后 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 8, 12 h, 取耳静脉血 0.5 mL,待其凝固,离心分离血清,取血清 50 μL 并加入 100 μL 蒸馏水,充分混匀,待测定。

1.3.4 血药浓度测定 兔血浆离心 5 min, 500 r/min, 50 μL 血清 + 340 μL 氯仿旋涡提取离心 5 min, 3500 r/min, 取氯仿层、氮气流下挥干有机溶媒残留物 + 流动相 100 μL 溶解离心 2 min, 3500 r/min 取上清液 10 μL 进样。 (下转第 120 页)

括住院费、药费、检查费、其它治疗费等,因此,读者在应用此结果是也需注意。

参考文献:

- [1] 邓大君,鄂征. 胃癌病因:人 N-亚硝酰胺暴露[J]. 世界华人消化杂志,2000,8(3):250.
- [2] Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer[J]. World J Gastroenterol,2006,12(3):354.
- [3] 张钧. 药物经济学概论[J]. 药学实践杂志,1995,13(1):

3.

- [4] 宋秉鹏,丁玉峰. 药物经济学概述[J]. 药物流行病学,1996,5(3):179.
- [5] 陈洁,张钧,张丹,等. 药物经济学[M]. 成都科技大学出版社,2000,63-64.
- [6] Hejna M, Wohrer S, Schmidinger M, et al. Postoperative chemotherapy for gastric cancer[J]. Oncologist,2006,11(2):136.

收稿日期:2006-12-25

(上接第108页)

取样品 10 μ L, HPLC 进样测定。色谱条件:150 \times 5 mmID, C₁₈, 5 μ m; 分析流动相:甲醇:水 = 40:60 (V/V), 流速 1 mL/min; 检测波长:273 nm, 灵敏度 0.02 AUFS, 室温下操作。

2 系统性药动学实验教学体系的主要特色

2.1 体外循环法模拟药动学实验是国内首先采用的教学手段,直观清晰地描述了体内一级消除的过程,有利于学员理解药动学过程。

2.2 大鼠在体小肠吸收实验是药动学科研中的常用手段,该实验的开设将科研工作中的方法应用于实验教学,体现实验教学改革系统化和实用化特色。

2.3 综合性实验 血药实验结合了剂型、给药途径的不同,进行有针对性的比较,体现了综合性、设计性的要求。

3 系统性药动学实验教学体系的实施体会

3.1 重视模拟活动好奇也是学生的天性,在教学中,创设一些模拟活动。如:教学“药动学房室模型”时设置模拟实验,有助于培养学生的发散思维能力,模拟单室静注,模拟单室口服,可以使学生提出双室的问题,在联想中达到迅速理解,使课堂焕发出生机与活力。

3.2 重视合作交流活动合作交流是系统性药动学实验教学体系的教学理念,在设计性实验中“合作”是自主学习的重要形式,教学时以同桌或小组

为单位合作学习,互相交流,在交流中引导学生注意倾听别人的意见。在教学中教师要多给学生提供交流的机会,多留给学生合作学习的空间,充分满足学生的活动欲望。使学生在合作中学到知识,在交流中解决问题,找到方法。

3.3 重视评价活动在整个药动学学习过程中,评价活动是重要的一环,它是对知识、对问题的反馈。药动学参数的评价是一个比较抽象又比较复杂的统计学分析。在综合性实验的结果探讨时,教师需要引导学生对评价的重视程度,从统计学可信的角度对实验数据进行分析,使得学生在将来的研究工作中能够合理的应用各种药动学参数的评价方法。

4 结论

本文设计和建立药动学模拟实验(体外循环法)、基础实验(大鼠在体小肠吸收实验)和综合性实验(血药实验、尿药实验)三个实验教学层次,是以创新能力培养为主线的实验教学新模式的体现。

参考文献:

- [1] 邹豪,管菲,马光大,等. 浅谈药动学教学思路的更新[J]. 药学实践杂志,2005,23(3):173.
- [2] University of Oklahoma-College of Pharmacy: <http://www.boomer.org/c/p1/>.
- [3] 沈凯,王景田. 药物肠吸收实验研究方法进展[J]. 中国新药杂志,2003,12(12):988.
- [4] 杨积平,裕海明. 反相高效液相色谱法测定氨茶碱人体血药浓度[J]. 安徽医药,2006,10(4):263.

收稿日期:2007-01-29