

为提高对科研人员管理的科学化水平,强化内部的人才竞争机制,促进人力资源的合理开发与利用,提升科研人员整体的创新能力,促进创新成果产出,建立吸引人才、留住人才、培养人才、使用创新人才机制,将任职资格分为初级、中级、高级等多种职级。晋级评估的关键是衡量科研人员的科研能力与创新能力、科研成果与创新成果。晋升依据与项目目标的完成质量和进度紧密相连,在保证项目高度完成的同时,有效激励人才能力的释放、团体整体能力的提高。

2.2 科研项目管理工具的运用:建立项目管理标准化工具与方法,使立项申请书、项目计划书、项目任务书、项目进度报告、项目评估报告等标准化模板,从项目的立项阶段、实施阶段到收尾阶段,实现全程的标准化项目管理^[6]。

为提高工作效率、有效传递科学管理项目信息,可使用适当的项目管理信息系统,使项目管理的工作流程实现信息化,系统功能模块包括项目计划、工作分解、制定工作计划、时间管理、费用管理、风险监控、人力资源管理等等。管理流程的自动化,既可提高工作效率,又能实现信息的有效共享与沟通,是实施项目管理不可或缺的工具^[7]。

3 结语

新药研发的高投入、高风险与长周期是全球新药研发机构需要共同应对的严峻挑战,将项目管理体系引入新药研发的管理,是解决这些难题的积极尝试,并显示出了一定优势。项目管理中成本管理、风险管理、进度管理等管理职能的实施,能有效控制成本、降低风险、增加效率,适用于药物研发的、科学、高效管理。相信,随着项目管理在新药研发管理中运用的日渐成熟,新药研发效率与效益势必会得到显著提升。

参考文献:

- [1] 柯丽芳,邓学芬,田兵权¹ 浅谈新药研发项目的风险及其应对策略[J] 消费导刊,2008(3):76
- [2] 施海燕. 制药企业新药研发能力整合战略[J] 新西部,2008(2):130-132
- [3] 邢花,李野,王鑫,等¹ 新药研发项目成本管理面临的问题及对策[J] 国际医药卫生导报,2008(1):120-122
- [4] 欧阳欢. 科研机构技术开发项目的管理探讨[J] 科技管理研究,2003(6):202-211
- [5] 马雪青. 制药企业创新药物研发的风险管理[J] 会计之友,2005(6):323-38
- [6] 于海,黄泰康,吴春福¹ 新药开发过程中的项目管理[J] 科技视野,2004(12):122-131
- [7] 白思俊. 中国项目管理知识体系与国际项目管理专业资质认证标准[M] 北京:机构工业出版社,2007

微透析技术在药动学和药物代谢研究中的应用

曹 岗¹,邵玉蓝¹,张 云^{1*},蔡宝昌^{1,2*}

(1 浙江中医药大学药学院,浙江 杭州 310053; 2 南京中医药大学 江苏省中药炮制重点实验室,江苏 南京 210049)

摘 要:微透析技术作为一项新兴技术,应用领域广泛,对其研究已渐成显学。该技术是药物代谢和药动学研究的重要工具,具有不可替代的作用及广阔的应用前景。概述微透析技术的基本原理及特点,并重点介绍了其在药物代谢和药动学研究中的应用。

关键词:微透析;药动学;代谢

中图分类号:R285 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2009)04-0663-04

Application of microdialysis in pharmacokinetics and metabolites studies

CAO Gang¹, SHAO Yu2lan¹, ZHANG Yun¹, CAI Bao2chang^{1,2}

(1 College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, China;

2 Jiangsu Key Laboratory of Chinese Materia Medica Processing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210049, China)

Key words: microdialysis; pharmacokinetics; metabolites

微透析(microdialysis)是一种在体取样技术(in vivo sampling technique),是在线透析技术的一个分支。/微透析一词起源于20世纪50年代后期,1958年Kalant首次用于描述一种同时透析和提取血液中的极性类固醇的方法。后来微透析技术发展成为一种新型的生物采样技术,最初主要用于研究脑内神经递质的释放,是神经生理学和神经化学的

重要研究工具之一,它可提供递质释放、摄取和代谢的必要信息。在麻醉或清醒的生物体上使用,特别适合于深部组织和重要器官的活体生化研究。近年来,由于微透析技术及其应用研究发展迅速,这项技术在国内也越来越受到人们的重视。目前微透析技术在中药以及针灸研究领域同样发挥着重要的作用。

* 收稿日期:2008-10-09

作者简介:曹 岗,男,在读研究生,专业方向中药制剂。Tel:15868486269 E-mail:caogang33@163.com

* 通讯作者 蔡宝昌 Tel:(025)51995100 E-mail:bccai@hotmail.com

张 云 Tel:(0571)87195888 E-mail:zhangyun16@163.com

1 微透析技术的基本原理及其系统组成

微透析技术不同于以往传统的研究手段,它是一种动态连续取样方法。简单地讲,微透析技术的原理就是创造一个“人造血管”^[1],使待测化合物在浓度差的作用下扩散而进出此“人造血管”。在体微透析技术首先在组织中植入具有半透膜的探头(probe)装置,透析液可透过水和小分子物质,体外微量灌注泵使一定的灌流液(perfusate)流经探头,透析膜两边存在一定的浓度梯度,物质沿浓度梯度逆向扩散。通常膜外浓度高于膜内浓度,可透过膜的小分子物质扩散进入透析管,并被微透析管内连续流动的灌流液不断带出,从而达到从活体组织中取样的目的^[2]。图1为在体微透析技术原理示意图。

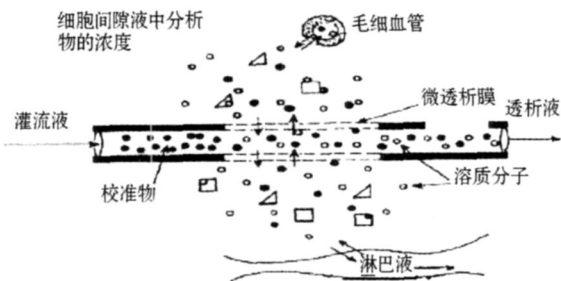


图1 微透析技术基本原理

Fig. 1 Principle of microdialysis

微透析系统一般由微透析探针、连接管、收集器、灌流液和微量注射泵组成。微透析探针是核心部件,通常是由一管式透析膜装于由钢、石英毛细管或塑料制成的双层套管构成。在微透析系统中,探针是最关键的部分,随着探针技术的不断发展,微透析技术各个领域中的应用也不断深入。目前常用的探针类型主要有以下几种:(1)同心圆形探针(主要用于脑部);(2)柔性探针(主要用于血液);(3)线性探针(主要用于肌肉、皮肤、肿瘤、肝等外周组织);(4)分流探针(主要用于胆管等流体)(图2)。一般根据不同组织生理特点和取样要求选择合适的探针类型。

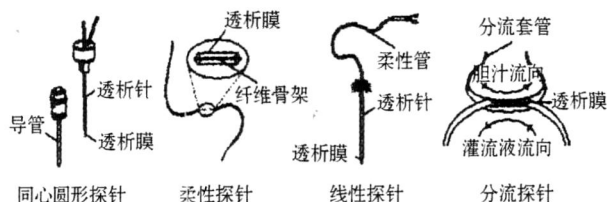


图2 典型的透析探针

Fig. 2 Typical microdialysis probe

2 微透析技术的特点

微透析技术是一种在体取样技术,具有以下几个方面的显著特点:(1)其最大优点是可在基本不干扰体内正常生命过程的情况下进行在体、实时和在体取样。(2)时间分辨性,可连续跟踪体内多种化合物量随时间的变化。(3)空间分辨性,取样无需匀浆过程,可真实代表取样位点目标化合物的浓度,同时在体内不同部位插入探针可研究目标化合物的体内分布。(4)作为一种给药途径,能将药物递送到指定位点,直接研究药物的疗效,避免了药物进入人体大循环系统所带

来的不良反应和危险。(5)通过透析膜对大分子物质截留,提供不含蛋白质、酶等大分子物质的游离态小分子化合物的样品,可不经预处理直接用于测定,且不会发生酶解,从而提高了样品稳定性,并可从容地进行分离和测定。(6)由于损伤小,可在清醒、自由活动的动物体内的多个器官以及同一器官的多个位点连续取样。

3 微透析技术在药物代谢和药动力学研究中的应用

3.1 研究药物向中枢神经系统(CNS)分布和转运:微透析技术在药动力学研究中的应用,最早主要用于研究药物向脑部的分布和转运,一方面是由于微透析技术最初开发就是用于神经化学方面的研究,另外也是由于早期微透析探针的刚性设计只适于脑内放置。脑微透析法比其他方法测定药物向脑组织分布和转运具有明显优点,如单一动物连续取样测定CNS中游离药物浓度具有极好的时间和空间分辨性,而且前微透析技术在测定有关药物时选择性好,不受代谢物的干扰。利用脑微透析取样技术研究药物分布和转运的各种定量方法在文献中已有全面介绍^[3]。

李菊等^[4]用微透析技术观察到丹参注射液和五菟颗粒剂可以减少脑缺血时海马细胞兴奋性氨基酸的释放,对脑组织起保护作用。而程敬君等^[5]应用脑内微透析技术动态观察,发现脑缺血后,细胞外液半胱氨酸、谷胱甘肽、兴奋性氨基酸及NO代谢产物浓度迅速升高,丹参可降低半胱氨酸、谷胱甘肽、兴奋性氨基酸及NO代谢产物水平,从而发挥脑保护作用。Zhu等^[6]使用微透析技术作为一种给药途径,研究了从中药石杉中提取的石杉碱对大鼠大脑皮层中乙酰胆碱和生物胺的影响。

3.2 研究药物在外周组织和器官中的药动力学

3.2.1 皮肤和皮下脂肪组织:微透析技术应用于皮肤研究已10余年,可直接测定体内内源性和外源性小分子或亲水性化合物在真皮细胞间液甚至皮下组织和肌内的浓度。通常组织中,游离药物的浓度决定药效,因而微透析技术非常适合皮肤的药动力学研究,可直接在人体皮肤上进行。微透析技术为皮肤生理代谢、病理生理、药物的经皮吸收及皮肤药动力学等领域的研究工作提供了新的方法和方向。以局部用药来避免全身不良反应是一种值得推荐的方法,但常难以明确是否有足够的药物进入组织内。微透析使其成为可能,并可帮助确定局部用非甾体抗炎药的剂量和剂型,从而产生有效的局部浓度。微透析在局部用药研究中的应用可能会促使对局部应用药物的效价比进行严格的重新评价。

王丹等^[7]采用在体微透析取样技术联用RP2HPLC的方法对大鼠皮肤中的葛根素进行了体内药动力学的考察,揭示了葛根素的探针回收率与传递率之间的关系。郑红等^[8]用LC2MS/MS与微透析技术联用,研究氧化苦参碱凝胶剂经皮给药后,在皮肤和血液中氧化苦参碱及其代谢物苦参碱的药动力学,揭示出氧化苦参碱经皮给药后存在生物转化过程。郑红等^[9]采用皮肤微透析取样技术,以及LC2MSD进行检测,考察分析青藤碱在靶组织中的生物转化情况,为进一步研究该药的代谢途径提供重要的化学及药理信息。

31 21 2 眼:利用微透析法可以获得药物在眼局部摄取、处置及从眼部消除的资料,解决了长期以来缺乏研究药物眼部处置有效方法问题。Rittenhouse等^[10]利用微透析技术测定在动物眼局部给予P受体阻滞剂心得安后眼房水中药物浓度,研究药物在眼部的吸收和处置。Anand等^[11]采用微透析技术研究了荧光素在兔眼玻璃体的药动学,提示探针植入手术没有危害视网膜的完整性,采用微透析采样技术建立了眼睛后段药动学研究方法。

31 21 3 骨骼肌: Palsmeier等^[12]采用微透析取样技术研究3-氨基-1,2,4-苯并三吡嗪-1,4-二氮氧化物(3-aminobenzotriazin-4,7-dioxide, SR24233)及其代谢物的体内分布,将微透析取样技术用于肌肉组织及肿瘤,SR24233为苯并三唑类化合物,对缺氧组织有较强的细胞毒作用。最近有文献报道^[13]利用微透析取样结合传统采血方法设计从血浆药物浓度预测肌肉组织中游离药物浓度的模型。

31 21 4 血液:微透析取样因能收集不含蛋白质的样品,并能长期持续地从静脉中取样而无体液损失而特别受到关注。吕文莉等^[14]采用微透析法测定大鼠iv灯盏花素脂质体或市售注射液后,血液、脑细胞外液及脑细胞内液的灯盏花素浓度,得到相应的药时曲线下面积:以药时曲线下面积的比值分别计算血脑屏障渗透系数及脑细胞膜渗透系数。凌家俊等^[15]以大鼠为实验对象,青藤碱iv给药,采用微透析技术采血,高效液相色谱法分析,研究青藤碱的药动学,发现青藤碱在大鼠体内的药动学过程为静注二室模型,分布相和消除相的半衰期分别为101.98 min和44.71 min。表明采用血液微透析技术进行青藤碱的药动学研究方法可行,与传统方法相比,具有明显的优势。张英丰等^[16]用微透析法测定青藤碱大鼠体外血浆蛋白结合率,结果表明采用微透析法进行青藤碱药动学研究是可行的。Tsai等^[17]研究了川芎嗪在大鼠脑纹状体及血液中的动态变化,HPLC-UVD直接分析透析液,结果显示川芎嗪在血液和脑纹状体的药动学符合二房室模型,并且呈现分布、消除快的特点,并且川芎嗪在两部位的AUC值说明其有比较高的血脑屏障渗透性,2 h内在脑组织的分布量是血液中的2倍多,与川芎嗪具改善中枢神经系统的能力相吻合。

31 21 5 胆汁: Tsai等^[18]同时应用3根微透析探针,从胆汁、血液和海马3个方面同步进行了黄芩素的药物动力学研究,并使用工具药)))环孢霉素A研究了P2糖蛋白对该药代谢的影响。Tsai等^[19]同时研究了小檗碱在大鼠血液、肝脏、胆汁的药动学,透析液用HPLC-UVD分析,药时曲线表明小檗碱在iv给药后20 min在肝脏和胆汁达到峰浓度,在胆汁的浓度明显高于在血液和肝脏的浓度,结果提示小檗碱可能在胆汁中排泄。

31 3 肝脏:利用微透析技术能够在少量动物通过集中取样获得较完整的药物代谢和药动学资料。利用微透析技术检测37例肝移植病人的移植肝代谢指标,发现有20例22次出现葡萄糖的升高,17次伴有乳酸/丙酮酸的升高,其中3例与缺血相关,2例是由于缺氧,1例是由于肝动脉血栓形

成;出现甘油升高的25例中有19例在术后1个月出现并发症(14例排斥反应,4例胆管炎,1例胆道梗阻),与没有甘油升高组有极显著性差异。虽然还需要进一步大量的研究证实,但毕竟预示了能从细胞水平预测并发症的可喜前景。如果肝移植术后早期,在出现临床征象之前,能及早地发现肝功能的异常变化,提示并发症的可能风险,在仍然处于可逆阶段进行内科或外科的干预,将有重大的意义^[20]。

31 4 肾:肾微透析技术可以对在体或离体肾内化学物质取样,其原理是肾细胞外液中可溶性分子能透过一种半透膜的微小孔径顺浓度梯度扩散,并被微透析管内连续流动的灌流液不断带出。该技术是研究肾内活性物质代谢及其与肾功能关系等的一种重要手段。

Nishiyama等^[21]在肾皮质中同时植入4根微透析探针研究肾局部缺血时肾组织间液中腺苷的代谢;在肾皮质和髓质中同时植入微透析探针可研究腺苷在肾内的生成部位及分布情况。Siragy等^[22]对维持5 d低盐(0.15%)、正常(0.128%)和高盐(4.0%)饮食的大鼠进行肾微透析,研究饮食性钠摄入变化对肾组织间液(renal interstitial fluid, RIF)中腺苷浓度的影响。测定肾皮质、髓质组织间液中腺苷浓度时,两根探针分别植入肾表面下1和4 mm,测得正常盐摄入大鼠肾皮质和髓质组织间液中腺苷浓度分别为(63±6) nmol/L、(157±6) nmol/L,其在肾皮质中明显低于髓质;低盐饮食大鼠肾皮质和髓质组织间液中腺苷浓度分别下降了62.6%和64.9%;而高盐饮食大鼠肾皮质和髓质组织间液中腺苷浓度与低盐饮食大鼠相比增加了181.2倍和181.9倍。实验表明:RIF中腺苷对饮食性钠摄入变化反应极为敏感。

4 结论与展望

微透析技术在药动学领域最早主要用于研究药物向CNS分布,最近报道的大量文献反映了微透析探针埋入其他各种不同组织应用的可行性。同时利用多个微透析探针可以在不同器官及同一器官不同部位取样,研究药物的组织分布,与传统方法相比,可以减少研究所需要的动物数量。工程科学、聚合物技术、理论药动学和生物分析化学学科的不断快速发展加快了微透析技术在药动学领域应用的发展。微透析技术除用于动物模型研究外,在人体的研究特别是临床应用方面正以较快速度发展。利用组织微透析直接测定靶组织中药物浓度为给药个体化提供了一种更有价值的方法;微透析技术对于阐明化疗晚期药物向靶组织和产生毒性组织的释药动力学也是一种极有用的方法。但是微透析技术仍有许多问题有待于进一步研究,如组织中探针植入造成的损伤对药物代谢和药动学的影响;水溶性差或蛋白结合率高的药物回收率低,造成测定困难,要求具有高灵敏度的检测方法;与组织具有良好相容性的新型探针材料的研究与开发。

虽然微透析有以上的众多优点,但也有明显的不足。微透析技术的探针的植入会造成局部轻微的损伤,特别是对急性实验可能有一定程度的影响。回收率的测定虽然种类繁多,但每种方法都不够完善,影响了实际浓度的计算。在检测浓度极低的生理活性物质时,由于采用的方法不同,结果

有时相差近一个数量级。微透析技术要求探头必须准确插在同一取样部位,因此不适合对很小的脑内神经核团采样。由于透析膜体积小,灌流液的流速低(一般 1~5 LL/min),难以秒为单位进行动态观察。

中医用药强调综合考虑疾病节律变化的特殊性和药物疗效的时相性。目前中药的研究,是以药效物质基础、药效作用机制为研究对象,以现代高科技手段为依托,研究越来越向微观深入,从器官、细胞、分子乃至基因水平揭示中药的有效成分和作用机制,思路多集中于某个化学单体与其所产生效用关系上。对药物吸收、分布、代谢的研究多采用传统的测定血、尿、便或组织匀浆中药物及其代谢产物浓度的方法,只能了解代谢的最终产物,不能反映中间过程的变化。而微透析的优势正是时间节点的可选择性。在中药研究中应用该技术能充分发挥其优势,勿需处死动物和制备组织匀浆,在不损失体液量的前提下从同一动物收集大量样本,不破坏机体完整性。避免了传统药物研究中因采血后血容量减少所造成对药物分布及消除的影响,以及因组织匀浆所致细胞隔室破坏对代谢研究结果的影响。微透析可完整提供每只动物的(药物浓度)时间动态变化的资料,获得有关药物代谢中间过程的信息,并减少实验动物数,其时间分辨性可使药动学资料更准确,对从动态层次上揭示中药的药效作用规律有重要意义。微透析技术在中药研究中的应用提供了药物分布的重要信息,是中药在靶组织(器官)中的代谢和分布研究的有力工具。这一技术将在中药药动力学和药物代谢学研究领域具有广阔的应用前景。随着微透析技术的不断发展和延伸,它必将给药学工作者在中药药物动力学和药物代谢学研究领域开辟出一片更为广阔的天地。

参考文献:

- [1] 夏爱晓,冯健,李范珠.微透析技术及其在经皮给药系统中的应用[J].中国医药工业杂志,2008,39(5):372-381.
- [2] Plock N, Kloft C. Microdialysis theoretical background and recent implementation in applied life sciences[J]. Eur J Pharm Sci, 2005, 25(1): 122-141.
- [3] Parsons L H, Justice J B Jr. Quantitative approaches to in vivo brain microdialysis[J]. Crit Rev Neurobiol, 1994, 8(3): 182-220.

- [4] 李菊,杨期东.微透析技术和丹参注射液对Wistar大鼠脑缺血时海马细胞外液兴奋性氨基酸释放的影响[J].中风与神经疾病杂志,1995,12(5):258.
- [5] 刘军,匡培根,吴卫平,等.脑缺血再灌注细胞外液兴奋性氨基酸与一氧化氮的变化及丹参的影响[J].中华老年心脑血管病杂志,2003,5(2):123.
- [6] Bur A, Joukhadar C, Klein N, et al. Effect of exercise on transdermal nicotine release in healthy habitual smokers[J]. Int J Clin Pharmacol Ther, 2005, 43(5): 239-243.
- [7] 王丹.微透析取样技术联用RP-HPLC的方法对大鼠皮肤中的葛根素的药代动力学研究[J].分析化学,2008,8(10):1391-1395.
- [8] 郑红,石力夫,胡晋红.青藤碱凝胶剂的制备及体外渗透性能研究[J].药物服务与研究,2006,6(4):271-273.
- [9] 刘明芳,东贵荣,阎成海.微透析技术及其在中药研究中的应用[J].中医药信息,2007,24(4):1213.
- [10] Rittenhouse K D, Peiffer R L Jr, Pollack G M. Evaluation of microdialysis sampling of aqueous humor for in vivo models of ocular absorption and disposition[J]. J Pharm Biomed Anal, 1998, 16(6): 952-959.
- [11] Anand B S, Atluri H, Mitral A K. Validation of an ocular microdialysis technique in rabbits with permanently implanted vitreous probes: systemic and intra-vitreous pharmacokinetics of fluorescein[J]. Int J Pharm, 2004, 281: 79-88.
- [12] 魏凤环.微透析采样技术在药动学研究中的应用及意义[J].中药材,2008,6,31(6):942-942.
- [13] 詹汉英,汤颖.微透析流动注射荧光法测定人体血液中的尿酸[J].西北大学学报:自然科学版,2006,36(5):762-772.
- [14] 吕文莉,李锦,平其能.微透析法测定灯盏花素脂质体大鼠血脑屏障渗透系数[A].第三届国际药物制剂论坛论文集[C].上海:第三届国际药物制剂论坛,2007.
- [15] 凌家俊,李锐,周莉玲.青藤碱微透析回收率测定方法的体外模拟实验[J].广州中医药大学学报,2005,(1):405-407.
- [16] 张英丰,周莉玲,李锐.微透析法测定青藤碱大鼠体外血浆蛋白结合率[J].药学报,2006,41(9):909-912.
- [17] Tsai T H, Liang C C. Pharmacokinetics of tramethylpyrazine in rat blood and brain using microdialysis[J]. Int J Pharm, 2001, 216: 62-66.
- [18] Tsai T H, Liu S C, Tsai P L, et al. The effect of cyclosporin A, a glycoprotein inhibitor, on the pharmacokinetics of baicalin in heart: microdialysis study[J]. Br J Pharmacol, 2002, 137(8): 131-141.
- [19] Tsai P L, Tsai T H. Simultaneous determination of berberine in rat blood, liver and bile using microdialysis coupled to high performance liquid chromatography[J]. J Chromatogr A, 2002, 961: 125-130.
- [20] 赵宁,程巧鹭.微透析技术在药动药效学结合研究中的应用[J].国际药学研究杂志,2008,35(2):100-106.
- [21] Nishiyama A, Kimura S, He H, et al. Renal interstitial adenosine metabolism during ischemia in dogs[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2001, 280: F232-F238.
- [22] Siragy H M, Linden J. Sodium intake markedly alters renal interstitial fluid adenosine[J]. Hypertension, 1996, 27: 402-407.

菊三七属植物化学成分和药理作用研究进展

陈磊^{1,2},王津江¹,宋洪涛^{1*},秦路平^{2*}

(11 南京军区福州总医院 药学科,福建 福州 350025; 2 第二军医大学药学院 生药教研室,上海 200433)

摘要:菊科菊三七属植物中含有生物碱、香豆素类、黄酮类、苯并呋喃及苯并吡喃衍生物等活性成分,具有良好的镇痛、止血、抗凝血、抗疟、抗炎、降血糖、抗肿瘤等药理活性。以国内外文献为依据,主要介绍了菊三七属植物的化学及药理研究状况,为进一步开展该属植物的化学成分和药理研究提供参考。

* 收稿日期:2008-12-09

基金项目:福建省科技计划项目(2008Y0086);福建省中医药科研项目(wzy0606)

作者简介:陈磊(1974-),博士研究生,研究方向为中药药效作用物质基础的研究。Tel: (0591) 22859972

E-mail: chen1974lei@sina.com

* 通讯作者 宋洪涛 Tel: (0591) 22859459 E-mail: sohoto@vip.sohu.com