

· 药物研究 ·

盐酸异丙嗪在大鼠单向肠灌注模型吸收特性^{*}

张瑞涛,徐媛,赵军,张旻,王庆伟

(第四军医大学唐都医院药剂科,西安 710038)

摘要 目的 研究盐酸异丙嗪在大鼠肠道不同部位的吸收特性,为新的制剂研发提供依据。方法 建立大鼠在体单向肠灌注模型,采用高效液相色谱(HPLC)法测定 25, 50, 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 盐酸异丙嗪在肠道不同部位浓度变化,计算吸收速率常数(K_a)和表观吸收系数(P_{app})。结果 十二指肠段和回肠段随着盐酸异丙嗪浓度增加,同一肠段的 K_a 和 P_{app} 都显著增加;在盐酸异丙嗪 50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时空肠段 K_a 为 $(28.00 \pm 0.02) \times 10^{-2} \text{min}^{-1}$ 和 P_{app} 为 (9.64 ± 0.22) , 均为最大,结肠段随着浓度增加, K_a 和 P_{app} 没有显著变化。结论 异丙嗪在各个肠段都有吸收,十二指肠和回肠段较为明显,其他肠段则较低,吸收大小依次是十二指肠>回肠>空肠>结肠,盐酸异丙嗪在小肠段吸收较好,符合肠道吸收特性。

关键词 异丙嗪, 盐酸; 肠灌注; 肠道吸收

中图分类号 R974.2; R969.1

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2017)10-1099-04

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2017.10.003

Intestinal Absorption Characteristics of Promethazine Hydrochloride in Rat Single-pass Intestinal Perfusion Model

ZHANG Ruitao, XU Yuan, ZHAO Jun, ZHANG Yang, WANG Qingwei (Department of Pharmacy, Tangdu Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, China)

ABSTRACT Objective To study the absorption characteristics of promethazine hydrochloride in different parts of rat intestine, provide evidence for the development of new preparation. **Methods** Rat single-pass intestinal perfusion model was established. By using high performance liquid chromatography (HPLC), 25, 50, 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ promethazine hydrochloride concentration changing in different parts of the intestine was detected. Through the relevant calculation, the absorption rate constant (K_a), and the apparent absorption coefficient (P_{app}) were obtained. **Results** With the concentration increase of promethazine hydrochloride in duodenal and ileal segments, the K_a and P_{app} increased significantly in the same part. K_a was $(28.00 \pm 0.02) \times 10^{-2} \text{min}^{-1}$ and P_{app} was (9.64 ± 0.22) in the jejunum were the highest when the promethazine hydrochloride concentration was 50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. As the concentration increased in colon, there were no significant changes in K_a and P_{app} .

Conclusion Promethazine hydrochloride is absorbed in various intestinal segments, most obviously in duodenum and ileum, the absorption order is duodenum>ileum>jejunum>colon. Promethazine hydrochloride is absorbed most in the small intestine, in line with the intestinal absorption characteristics.

KEY WORDS Promethazine hydrochloride; Intestinal perfusion; Intestinal absorption

盐酸异丙嗪(promethazine hydrochloride)是一种常见的抗组胺 H_1 受体拮抗剂类止咳药物,具有明显的抗过敏和较强的镇静作用,因为其不良反应比较小,临床应用较为广泛^[1]。盐酸异丙嗪属于吩噻嗪类药物,口服后药动学研究比较明确,但是,在盐酸异丙嗪的研究中,有必要对药物在口服之后体内的吸收情况进行预

测。小肠是药物吸收的主要部位,对于药物在小肠部位的吸收研究方法很多,在体肠实验中,单向灌注模型^[2]使用简单,且吸收速率较为稳定,与人体具有良好的相关性^[3-4]。鉴于盐酸异丙嗪在肠道吸收特性笔者尚未见报道,本实验采用大鼠在体单向肠灌注模型,采用高效液相色谱(HPLC)法测定灌流液中盐酸异丙嗪的含量^[5-6],从而考察不同浓度盐酸异丙嗪在肠道不同区段的吸收情况,对盐酸异丙嗪在体吸收动力学进行研究,报道如下。

1 材料

1.1 实验动物 雄性 SD 大鼠,体质量 200~220 g,由第四军医大学实验动物中心提供,动物合格证号:医动字第 08-005 号,实验动物生产许可证号:SCXK(军)2007-007。大鼠分笼喂养,室温 $(23 \pm 2)^\circ\text{C}$,相对湿度 40%~60%,光照/黑暗 12 h 交替,自由获取标准饲料

收稿日期 2016-08-18 修回日期 2016-11-22

基金项目 * 国家自然科学基金面上项目(81272175);

1226 重大专项(AWS16J018)

作者简介 张瑞涛(1988-),男,陕西铜川人,药师,硕士,研究方向:药动学,电话:029-84777648, E-mail: 20691227@qq.com。

通信作者 王庆伟(1969-),男,陕西乾县人,副主任药师,博士,研究方向:药动学。电话:029-84777648, E-mail: wqwlyx@163.com。

和饮水,实验前禁食 12 h,不禁水。

1.2 主要仪器与试剂 高效液相色谱仪(安捷伦 1200,VWD 紫外检测器);高速冷冻离心机(Thermo Fisher 公司);蠕动泵(河北保定兰格恒流泵有限公司,型号:BT100-1F);超纯水器(美国 Millipore 公司);恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司,型号:DK-98-11);CP225D 电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司,感量:0.01 mg);超声波清洗器(浙江昆山禾创超声仪器有限公司,型号:KH 5200DV);涡旋振荡器(德国 IKA 公司)。盐酸异丙嗪(天津市希恩思生化科技有限公司,批号:P58421B2S,纯度:99%);苯巴比妥(江苏森萱医药化工有限公司,批号:744809,纯度:98%);酚红(天津市天新精细化工开发中心,批号:20131203,纯度:98%);甲醇,乙腈色谱级;其他试剂市售分析纯。Krebs-Ringer 试剂,简称 K-R 液,称取氯化钠 7.8 g,氯化钾 0.35 g,碳酸氢钠 1.37 g,磷酸二氢钠 0.32 g,氯化镁 0.02 g,葡萄糖 1.4 g,加水定容至 1 000 mL,即可得到 pH 值为 7.4 的 K-R 试液。

2 方法与结果

2.1 溶液的配制 盐酸异丙嗪溶液的配制:精密称定盐酸异丙嗪 10 mg,空白 K-R 液稀释成 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 作为储备液(将盐酸异丙嗪 10 mg 置于 100 mL 量瓶,空白 K-R 液定容至刻度)。酚红溶液的配制:精密称取酚红 10 mg,用空白 K-R 液稀释成 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 作为储备液(将酚红 10 mg 置于 100 mL 量瓶,空白 K-R 液定容至刻度)。

2.2 色谱条件 Intersil® ODS-3 C_{18} 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-磷酸二氢钾($0.02 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)=30:70;流速:1 mL·min⁻¹,检测波长:249 nm,柱温:30 ℃,进样量 20 μL 。色谱峰见图 1。

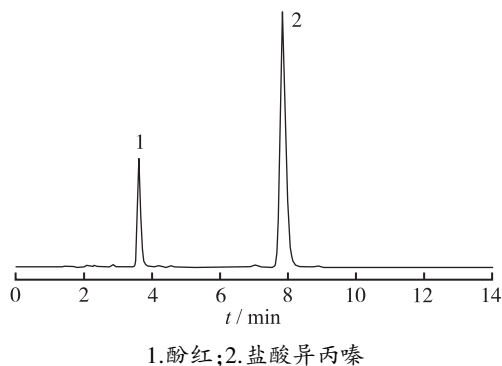
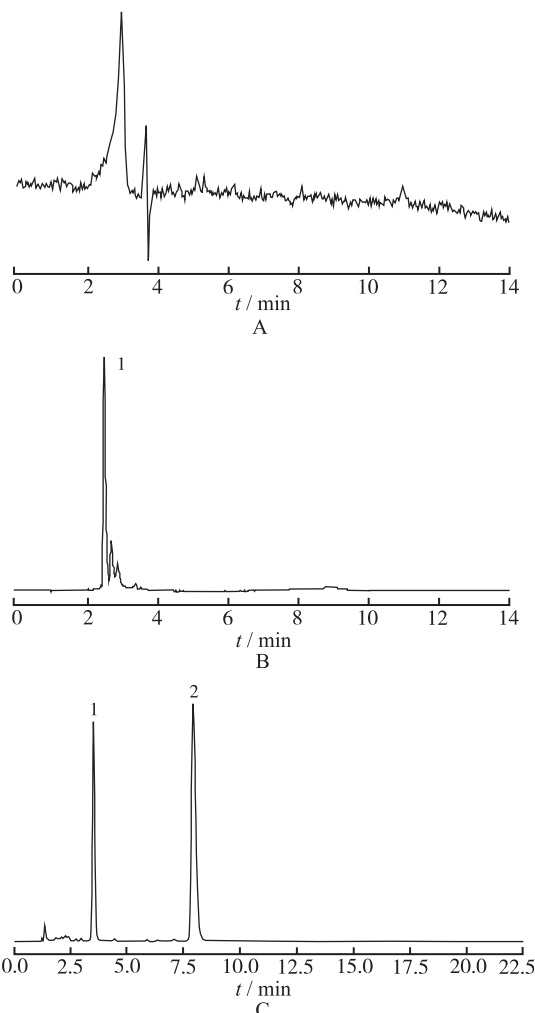


图 1 盐酸异丙嗪和酚红 HPLC 图

1.phenolsulfonphthalein;2.promethazine hydrochloride

Fig.1 HPLC chromatogram of promethazine hydrochloride and phenolsulfonphthalein

2.3 空白实验 比较空白 K-R 液,盐酸异丙嗪,酚红及样品中各自的色谱峰,发现没有内源性干扰。见图 2。



A.空白 K-R 液;B.空白肠灌注液;C.肠灌注后的供试液;1.酚红;2.盐酸异丙嗪

图 2 3 种溶液 HPLC 图

A .blank K-R liquid; B.blank intestine perfusion liquid; C. sample of intestine perfusion liquid; 1. phenolsulfonphthalein; 2. promethazine hydrochloride

Fig.2 HPLC chromatogram of three kind of solution

2.4 标准曲线的绘制 ①精密量取盐酸异丙嗪储备液适量,用空白 K-R 液稀释配制成异丙嗪浓度为 200, 100, 50, 10, 5, 1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 系列浓度,12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液,经孔径 0.45 μm 滤膜滤过,HPLC 进样 20 μL 测定。以盐酸异丙嗪浓度为横坐标(X),盐酸异丙嗪峰面积为纵坐标(Y),线性方程: $Y=94.599X-15.436$, $R^2=0.9991$ 。结果表明盐酸异丙嗪在 1~200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 线性关系良好。②精密量取酚红储备液适量,用空白 K-R 液配制酚红浓度为 100, 50, 25, 10, 5, 1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 系列浓度,12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取

上清液,经孔径 0.45 μm 滤膜滤过,HPLC 进样 20 μL 测定。以酚红浓度为横坐标(X),酚红峰面积为纵坐标(Y),线性方程: $Y=23.971X-0.864\ 1,R^2=0.999\ 2$,结果表明酚红在 $1\sim100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 线性关系良好。

2.5 回收率和精密度实验 精密量取盐酸异丙嗪储备液适量,稀释为 $10,20,40\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 各 6 份,于同一日内测定 6 次和 3 d 内分别测定,按照上述样品处理办法,计算日内精密度和日间精密度。按照加入浓度和 HPLC 测定的浓度,进行峰面积比较,从而计算盐酸异丙嗪的回收率。实验结果表明,日内精密度和日间精密度 RSD 均 $<7.1\%$,提取回收率为 $(95.6\pm1.34)\%$ 。见表 1。

表 1 盐酸异丙嗪回收率和精密度实验结果
Tab.1 Result of recovery and precision of promethazine hydrochloride

浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	日内精密度	日间精密度	回收率/ %
	($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)		
10	9.64±1.21	9.82±3.42	94.13±4.23
20	19.57±1.13	18.76±2.51	93.11±3.78
40	39.86±1.02	37.36±4.11	95.38±4.27

2.6 稳定性实验 精密量取盐酸异丙嗪储备液适量,稀释为 $10,20,40\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 各浓度 6 份,分别置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、常温($25\text{ }^{\circ}\text{C}$)与 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中,均在 $0,2,4,8,12,24\text{ h}$ 取样进行检测含量,考察样品的稳定性。实验结果表明盐酸异丙嗪在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、常温与水浴 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 中, 24 h 内稳定性都较好,RSD 均小于 4% 。见表 2。

表 2 盐酸异丙嗪在不同浓度和温度下的稳定性
Tab. 2 Stability of promethazine hydrochloride in various concentration and temperature

浓度	$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1},\bar{x}\pm s,n=6$		
	$4\text{ }^{\circ}\text{C}$	常温	$37\text{ }^{\circ}\text{C}$
10	9.83±1.23	9.76±2.31	9.52±3.21
20	19.85±1.67	19.76±2.51	18.97±1.31
40	39.29±2.31	38.81±3.54	38.96±2.42

表 3 盐酸异丙嗪在各个肠段与灌流管孵育 2 h 的剩余率
Tab.3 Residue of promethazine hydrochloride in intestinal segments after 2 h incubation in perfusion pipe

					% , $\bar{x}\pm s$, $n=3$
浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	十二指肠段	空肠段	回肠段	结肠段	灌流管
10	94.2±1.2	95.2±3.1	96.4±5.1	97.5±2.8	95.3±4.2
20	94.4±2.3	94.1±2.3	97.2±4.3	98.1±3.9	93.7±4.1
40	93.1±2.2	96.5±3.1	96.3±2.2	97.5±3.7	96.1±3.7

2.7 大鼠单向在体肠灌流模型的建立 SD 大鼠隔夜禁食(自由饮水),腹腔注射质量浓度 10% 苯巴比妥 $1\text{ mL}\cdot(200\text{ g})^{-1}$ 麻醉,将大鼠固定在板子上面,四肢用橡皮筋固定,用剪刀从腹部打开腹腔,分离出小肠(十二指肠为距离幽门 1 cm 处开始,长 10 cm ;空肠为距离幽门 15 cm 处开始,长 10 cm ;回肠为距离盲肠以上 20 cm 处开始,往下 10 cm ;结肠段为盲肠往下 1 cm 开始,取 10 cm 。)在每段肠道的开始端插入管子,在结尾处开口插入管子。用蠕动泵同时将含有盐酸异丙嗪和酚红的肠灌流液体灌入各个肠段,首先用 0.9% 氯化钠溶液以 $2\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 流速快速灌流肠段,清洗完毕后,更换为含有盐酸异丙嗪和酚红的肠灌流液,流速更改为 $0.2\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,平衡 10 min ,每隔 10 min 收集一次液体,总共收集 120 min ,最后测定灌流肠段的长度和内径,收集样品之后以 $12\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min ,取上清液,经孔径 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜滤过,HPLC 进样 $20\ \mu\text{L}$ 测定。

2.8 灌流管对药物吸附 手术剪取大鼠新鲜小肠段约 20 cm ,剖开并用 0.9% 氯化钠溶液冲净,置正常大鼠空白肠循环液中, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中孵育,分别加入盐酸异丙嗪溶液,使终浓度分别为 $10,20,40\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,分别于 $0,2\text{ h}$ 取样,测定不同时间点药液中盐酸异丙嗪的含量,计算其降解残存百分率实验。结果表明灌流管和肠壁对盐酸异丙嗪基本没有物理吸附作用。结果见表 3。

2.9 数据处理 由于肠道对灌流液的溶剂有吸收,会导致实验结果的偏差,因此,采取酚红质控法对灌流液的流入和流出的体积进行校正,消除其体积变化给实验结果带来的影响。在体大鼠单向肠灌流实验中所计算吸收速率常数(K_a)和表观吸收系数(P_{app})的计算公式分别为:

$$K_a=\left(1-\frac{C_{\text{pro,out}}}{C_{\text{pro,in}}}\frac{C_{\text{pr,in}}}{C_{\text{pr,out}}}\right)\frac{Q}{V},P_{\text{app}}=\frac{-Q\ln\left(\frac{C_{\text{pro,out}}}{C_{\text{pro,in}}}\frac{C_{\text{pr,in}}}{C_{\text{pr,out}}}\right)}{2\pi rl}$$

公式中: $C_{\text{pro,in}}$ 和 $C_{\text{pro,out}}$ 分别为肠道进出口灌流液中异丙嗪的浓度($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), $C_{\text{pr,in}}$ 和 $C_{\text{pr,out}}$ 分别为肠道进出口灌流液中酚红的浓度($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$); l 和 r 分别

为灌流肠段的长度 (cm) 和横截面半径 (cm), Q 为灌流速度 ($0.2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$); V 为灌流肠段体积 (cm^3)。

2.10 不同浓度盐酸异丙嗪吸收情况 分别考察盐酸异丙嗪在每个浓度 ($25, 50, 100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 条件下, 在大鼠各个肠段的吸收参数的差异性。实验结果显示不同浓度盐酸异丙嗪在十二指肠、空肠、回肠及结肠的吸收参数差异有统计学意义。十二指肠段和回肠段随着浓度的增加, 同一肠段的 K_a 和 P_{app} 都显著增加, 高浓度没有饱和性, 表明在十二指肠段和回肠段没有自身浓度抑制作用; 而空肠段在中浓度即可以发现 K_a 和 P_{app} 即达到最大值, 然后随着浓度的增大, 反而变小, 表明随着盐酸异丙嗪浓度的增大, 启动某种机制, 进行抑制作用; 结肠段随着浓度的增加, K_a 和 P_{app} 一直没有显著变化, 几乎保持不变, 表明结肠段具有吸收饱和性。结果见表 4。

表 4 不同浓度盐酸异丙嗪的吸收参数

Tab.4 Absorption parameter of different concentration of promethazine hydrochloride $\bar{x} \pm s, n=3$

浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	$K_a / (\times 10^{-2} \text{ min}^{-1})$			
	十二指肠	空肠	回肠	结肠
25	20.39±0.05	20.67±0.01	18.30±0.13	18.40±0.02
50	17.16±0.01	28.00±0.02	22.34±0.23	16.10±0.10
100	24.50±0.02	13.70±0.02	24.55±0.02	16.50±0.02

浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	$P_{\text{app}} / (\times 10^{-2})$			
	十二指肠	空肠	回肠	结肠
25	7.00±0.21	7.10±0.06	5.83±0.45	8.90±0.20
50	6.90±0.11	9.64±0.22	7.02±0.74	5.90±0.30
100	7.32±0.08	5.52±0.16	7.45±0.08	8.01±0.33

3 讨论

药物胃肠道吸收动力学研究一般是在将药物制成

处方制剂前需要研究的重要组成部分, 它能够指导人们针对药物的吸收机制和吸收部位而选用相应的剂型。研究结果显示, 盐酸异丙嗪在低浓度时, 各个肠段吸收速率常数没有明显差异; 而表观吸收速率结肠段较回肠段明显增大, 空肠段和十二指肠段接近。盐酸异丙嗪中浓度时, 空肠段吸收速率常数明显增大, 十二指肠段和结肠段出现变小, 回肠段变大的幅度没有空肠段明显; 表观吸收速率则较低浓度变化较大。盐酸异丙嗪高浓度的条件下, 各段表观吸收速率变化不明显。从整体数据来看, 异丙嗪在各个肠段都有吸收, 十二指肠和回肠段较为明显, 其他肠段则较低, 吸收大小依次是十二指肠>回肠>空肠>结肠, 盐酸异丙嗪在小肠段吸收较好, 符合肠道吸收特性, 今后的制剂研究中可考虑将其制备为微乳、脂质体、磷脂复合物等制剂, 提高其口服吸收度, 提高生物利用度。而针对其吸收窗较长的特点, 可考虑将其制成缓、控释制剂。

参考文献

- [1] 涂逸君. 盐酸异丙嗪在临床上的应用[J]. 中国医刊, 2003, 38(1): 50-51.
- [2] 杜秋, 狄留庆, 单进军, 等. 在体单向肠灌流模型研究瑞香素的大鼠肠吸收特性[J]. 药学学报, 2009, 44(8): 922-926.
- [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): 988-991.
- [4] 刘睿, 刘志东, 张伯礼, 等. 丹酚酸 B 大鼠在体肠吸收研究[J]. 中国新药杂志, 2008, 17(10): 852-854.
- [5] 彭芳玲, 阳利龙, 龙荣, 等. HPLC 测定盐酸异丙嗪糖浆中盐酸异丙嗪的含量[J]. 儿科药学杂志, 2008, 14(2): 39-40.
- [6] 刘圆圆, 孙建绪, 李迎, 等. 高效液相色谱法测定盐酸异丙嗪咖啡因片的含量及溶出度[J]. 国际药学研究杂志, 2016, 43(2): 392-397.

关于体质量指数的国际单位制的主单位正确使用说明

体质量指数 (body mass index, BMI), 其定义为体质量除以身高的 2 次方, 即 $I_{\text{bm}} = m/h^2$ 式中 I_{bm} 为体质量指数, m 为体质量, h 为身高。由定义式显见 I_{bm} 的国际单位制 (SI) 主单位应为 $\text{kg} \cdot (\text{m}^2)^{-1}$; 然而几乎在所有出现体质量指数的单位场合, 都将其单位表示为“1”, 把它作为纯数, 这是一个概念性错误应予以纠正。例如“BMI<25 属于体质量正常”改为“BMI<25 $\text{kg} \cdot (\text{m}^2)^{-1}$ 属于体质量正常”。另外, 把体质量指数称为“体质指数”“体重指数”都是不规范的表达。