

# 盐酸罗沙替丁醋酸酯在体大鼠肠吸收\*

孙璐,段颐珊,李雪怡,林宁

(湖北中医药大学药学院,武汉 430065)

**摘要** 目的 研究盐酸罗沙替丁醋酸酯(ROX)在大鼠肠的吸收动力学特征。方法 采用大鼠在体肠循环法,以双波长紫外-可见分光光度法测定灌流液中 ROX 浓度,考察不同浓度及不同肠段下 ROX 的吸收情况并测定吸收动力学参数。结果 在不同药物浓度下,ROX 小肠吸收速率常数间差异无统计学意义。在肠道各部位的吸收速率按十二指肠、空肠、回肠、结肠顺序下降,吸收速率常数分别为  $(3.87 \pm 0.12) \times 10^{-2}$ ,  $(2.53 \pm 0.18) \times 10^{-2}$ ,  $(1.43 \pm 0.10) \times 10^{-2}$ ,  $(0.91 \pm 0.15) \times 10^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 。结论 ROX 大鼠在体肠道吸收符合表观一级动力学过程,吸收以被动扩散为主,在整个肠段均有一定的吸收。

**关键词** 罗沙替丁醋酸酯,盐酸;吸收动力学;在体肠吸收;双波长法

中图分类号 R975;R969.1

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2017)08-0853-04

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2017.08.003

## Intestinal Absorption of Roxatidine Acetate Hydrochloric in Rats

SUN Lu, DUAN Yishan, LI Xueyi, LIN ning( College of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

**ABSTRACT Objective** To explore absorption kinetics of roxatidine acetate hydrochloric (ROX) in intestine of rats.

**Methods** The absorption kinetics and permeability of ROX under different concentrations and different intestinal segments were investigated by double wavelength spectrophotometry via the in situ perfusing method in rats. **Results** There was no significant difference in  $K_a$  of ROX under different concentrations. The absorption rate in rats descended in order of duodenum, jejunum, ileum and colon [ $(3.87 \pm 0.12) \times 10^{-2}$ ,  $(2.53 \pm 0.18) \times 10^{-2}$ ,  $(1.43 \pm 0.10) \times 10^{-2}$ ,  $(0.91 \pm 0.15) \times 10^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ ]. **Conclusion** The absorption of ROX in intestine complies with the passive transport mechanism and first order kinetics. ROX is well absorbed in the whole intestine.

**KEY WORDS** Roxatidine acetate, hydrochloric; Absorption kinetics; Intestinal absorption; Double wavelength spectrophotometry

盐酸罗沙替丁醋酸酯(roxatidine acetate hydrochloric, ROX)临床主要用于胃溃疡、十二指肠溃疡、吻合部溃疡、反流性食管炎、溃疡或胃炎的急性发作等胃酸分泌过多引起的消化系统疾病的预防与治疗<sup>[1-2]</sup>。作为新一代的  $H_2$  受体拮抗药,ROX 在消化性溃疡等疾病的治疗方面有明显的优势,不仅能抑制基础和刺激情况下的胃酸分泌,还可抑制胃蛋白酶的分泌,且对血清胃泌素和泌乳素等无明显影响,对消化系统的结构和组织具有保护作用<sup>[3]</sup>。ROX 不影响肝脏微粒体氧化酶的功能,因此不干扰其他药物在肝脏的代谢,故其有更为广阔的用药选择范围<sup>[4]</sup>。ROX 于

1986 年在日本首获批准上市<sup>[5]</sup>。目前 ROX 现已在很多国家上市使用,其市场前景可观。ROX 目前使用的剂型比较单一,且半衰期较短( $t_{1/2}$  约 0.74 h),一天需多次给药,在一定程度上降低患者的顺应性<sup>[3]</sup>。因此,ROX 缓释、控释制剂的开发具有重要的临床意义。小肠是药物口服吸收的主要部位,是决定药物疗效及生物利用度的关键部位,设计缓释、控释剂型的可行性与药物肠道吸收特性的研究密切相关<sup>[6]</sup>。对肠道吸收特性的研究是药物开发处方前研究的重要部分<sup>[7-8]</sup>。笔者尚未见 ROX 吸收动力学的研究报道,因此,笔者采用大鼠在体肠循环法,对 ROX 肠道吸收动力学进行研究,其有助于了解 ROX 在肠道的吸收情况,为 ROX 缓释、控释制剂的设计与研制奠定基础。

### 1 仪器与材料

**1.1 仪器** AMAPADA UV-3200 型紫外-可见分光光度计(上海美普达仪器有限公司);十万分之一电子天平(德国赛多利斯公司);HL-2 恒流泵(上海沪西分析仪器厂);pHS-3C pH 计(上海雷磁仪器厂);BP211D DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(郑州长城科工

收稿日期 2016-10-19 修回日期 2016-12-30

**基金项目** \* 湖北省教育厅科学技术研究项目(D20101801)

**作者简介** 孙璐(1992-),女,湖北天门人,在读硕士,主要从事药物新剂型与生物药剂学研究。E-mail: 603492143@qq.com。

**通信作者** 林宁(1957-),男,江苏无锡人,教授,学士,研究方向:药物新剂型与生物药剂学研究。E-mail: Lnhbz@163.com。

贸有限公司);SK2200H 型超声波清洗仪(上海科导超声仪器有限公司)。

**1.2 试药** 盐酸罗沙替丁醋酸酯(北京丰德医药科技有限公司,含量>99%,批号:150301);酚红(国药集团化学试剂有限公司,批号:20150424);戊巴比妥钠(中国医药集团上海化学试剂公司,进口分装,批号:F20141216);Krebs-Ringer 缓冲液(K 氏液,pH 值为 5)(自制);水为双蒸水;其他试剂均为分析纯。

**1.3 动物** 斯泼累格·多雷(SD)大鼠,雄性,体质量(250±50)g,购自华中科技大学同济医学院动物实验中心,合格证号:SCXK(鄂)2010-0009,动物使用许可证号:SYXK(鄂)2012-0068。实验动物由湖北中医药大学实验动物中心饲养。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的配制

**2.1.1 K 氏缓冲液的配制** 称取葡萄糖 1.40 g、氯化钙 0.37 g 置烧杯中,用适量双蒸水溶解,称取氯化钾 0.35 g、氯化镁 0.22 g、氯化钠 7.80 g、碳酸氢钠 1.37 g、磷酸二氢钠 0.32 g 依次加入另一烧杯中溶解,二者混合并定容至 1 000 mL,测定 pH 值为 7.4。用稀盐酸调节 pH 值至 5.0 左右。

**2.1.2 ROX 与酚红标准储备液的配制** ROX 标准储备液的配制:取 ROX 适量精密称定,置 100 mL 量瓶中,加 K 氏液溶解并稀释至刻度,摇匀,配制成 200  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的 ROX 标准储备液。酚红标准储备液的配制:取酚红适量精密称定,置 100 mL 量瓶中,加入少量双蒸水混悬,加入 1%碳酸钠溶液使溶解,再用 K 氏液定容至刻度,摇匀,配制成 100  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的酚红标准储备液。

**2.1.3 肠循环供试液的配制** 精密量取适量的 ROX 和酚红标准储备液,置 100 mL 量瓶中,用 K 氏液稀释定容至刻度;配制成 ROX 浓度分别为 10, 20, 40  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,酚红浓度均为 20  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的混合肠循环供试液。

**2.1.4 空白肠循环液的配制** 将配制好的 K 氏液,经肠循环装置,在已冲洗干净的大鼠肠道循环流过后收集,过滤,即得空白肠循环液。

**2.2 肠循环中酚红含量的测定** 药物在小肠被吸收的同时水分也被吸收,导致供试液体积减少,故不能用直接测定药物浓度的方法计算剩余药量。由于酚红不被小肠吸收,因此向供试液中加入定量的酚红,在一定间隔时间测定酚红浓度,就可计算相应的供试液体积,再根据测定的药物浓度,就可准确得出不同时间小肠中剩余药量或被吸收的药量<sup>[9]</sup>。

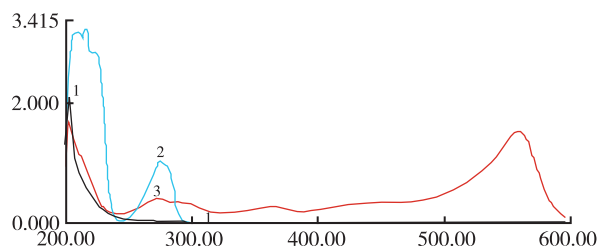
**2.2.1 标准曲线的绘制** 精密量取酚红标准储备液

1.0,2.0,3.0,4.0,5.0 和 6.0 mL 置于 10 mL 量瓶中;用空白肠循环液稀释定容至刻度,配制成含酚红 10,20,30,40,50 和 60  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的标准溶液。分别取 0.5 mL 上述酚红标准溶液于 10 mL 具塞试管中,各加入 0.2 mol  $\cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 5 mL,摇匀,用孔径 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过,弃去初滤液,取续滤液,以 0.2 mol  $\cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 溶液为空白,在波长 558 nm 处测定吸光度(A),以吸光度对酚红浓度 C( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )进行线性回归,求回归方程为: $A = 0.012 1C + 0.001 9 (R^2 = 0.999 5)$ 。结果表明,酚红在浓度范围 10~60  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  内有良好的线性关系。

**2.2.2 酚红浓度的测定** 从大鼠在体肠循环液不同时间点取样,将样品用孔径 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过后,分别移取 0.5 mL,加入 0.2 mol  $\cdot \text{L}^{-1}$  氢氧化钠溶液 5.0 mL。以 0.2 mol  $\cdot \text{L}^{-1}$  氢氧化钠溶液为空白,在 558 nm 处测定吸光度。将吸光度代入标准曲线方程求得酚红浓度。

### 2.3 肠循环液中 ROX 的含量测定

**2.3.1 紫外波长的选择** 分别量取 ROX、酚红标准储备液适量,用空白肠循环液稀释成适当浓度的溶液,以双蒸水为空白,在 200~600 nm 波长范围内进行扫描,紫外吸收光谱曲线见图 1。由图 1 可知,ROX 在 275 nm 波长处有最大吸收,但此处酚红也有吸收,而空白肠循环液基本无影响;酚红在 558 nm 处有最大吸收,而在 275 与 478 nm 处为等吸收;故在此两波长处,采用双波长法测定肠循环液中 ROX 含量。



1.空白肠循环液;2.ROX;3.酚红

图 1 紫外吸收光谱曲线

1.blank intestinal circulation fluid;2.ROX;3.phenol red

Fig.1 Curves of UV absorption spectrum

**2.3.2 标准曲线的制备** 精密吸取 ROX 标准储备液 0.1,0.5,1.0,2.0,3.0,4.0 mL 于 10 mL 量瓶中;用空白肠循环液稀释至刻度,配制成分别含 ROX 为 2,10,20,40,60,80  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的标准溶液,分别在 275 及 478 nm 处测定吸光度  $A_1$  与  $A_2$ ,计算  $\Delta A = A_1 - A_2$ ,以  $\Delta A$  对 ROX 浓度 C( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )进行线性回归,求回归方程为  $\Delta A =$

0.004 8C-0.004 7( $R^2=0.999\ 8$ )。结果表明,ROX 在浓度 2~80  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内有良好的线性关系。

**2.3.3 药物浓度的测定** 从大鼠在体肠循环液不同时间点取样,将样品用孔径 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过后,分别移取 4.5 mL 待测,以空白肠循环液为空白,分别在 275 及 478nm 处测定吸光度  $A_1$  与  $A_2$ ,计算  $\Delta A=A_1-A_2$ 。将吸光度( $\Delta A$ )代入标准曲线方程求得 ROX 浓度。

**2.3.4 精密度实验** 精密吸取 ROX 标准储备溶液适量,分别配制浓度为 2,10,20,40,60,80  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的标准溶液,按“2.3.3”项方法依次连续测定 5 次吸光度,并求得 ROX 浓度,计算 RSD 为 0.82%。

**2.3.5 稳定性实验** 精密吸取 ROX 标准储备溶液 5.0 mL,置 25 mL 量瓶中,用空白肠循环液稀释定容,配制成含 ROX 浓度为 40  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 供试品溶液,置 37  $^{\circ}\text{C}$  的恒温水浴锅中保温,分别在 0,1,2,3,4,5 h 取样,按“2.3.3”项方法测定 ROX 的吸光度,并根据回归方程求相应浓度,其 RSD 值为 1.36%。说明在实验过程中 ROX 稳定。

**2.3.6 加样回收率实验** 精密吸取 ROX 标准储备液 2.0 mL,置 10 mL 量瓶中,用空白肠循环液稀释定容,配制成含 ROX 浓度为 40  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的供试品溶液,分别加入相当于供试品溶液含量 80%,100%,120%的样品,按“2.3.3”项方法测定 ROX 的吸光度,并根据回归方程求相应浓度,测定其平均回收率为 99.96%,RSD 为 0.96%,均符合要求。

**2.4 大鼠在体小肠吸收实验**

**2.4.1 小肠吸收实验方法** 大鼠禁食、正常饮水 18~20 h;按剂量 40  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 腹腔注射 2%戊巴比妥钠溶液进行麻醉后,背位固定在手术台上,沿腹中线剪开腹腔;选取所需肠段,两端剪口,插管扎紧;用预热至 37  $^{\circ}\text{C}$  的 0.9%氯化钠溶液冲洗肠道,再通入空气排净 0.9%氯化钠溶液。先用预热至 37  $^{\circ}\text{C}$  的混合供试品溶液以 5  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$  流速循环 10 min,然后将流速调节为 2.5  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ;分别于不同时间点从供试液中分别取样 4.5 和 0.5 mL 作为 ROX 和酚红的待测液,随即补充同浓度酚红供试品溶液 5.0 mL;按前述双波长法(“2.3.3”项下)测定 ROX 的吸光度值( $\Delta A$ ),按照“2.2.2”方法测定酚红吸光度值  $A$ ,根据回归方程计算对应浓度,按文献[9]方法计算吸收速率常数( $K_a$ )与吸收百分率( $\rho$ )。以 ROX 剩余药量的对数对时间进行线性回归,观察发现  $C_t$ 与  $t$  显线性关系,因此其呈一级动力学吸收过程。其回归方程式为:  $\lg C_t = \lg C_0 - \frac{K_a}{2.303} \cdot t$  由回归方程

的斜率( $-\frac{K_a}{2.303}$ )计算吸收速率常数  $K_a$  值。

**2.4.2 不同浓度下药物摄取量与吸收速率常数** 取实验大鼠 15 只,采用完全随机化分成 3 组,对应 3 个不同浓度的肠循环供试液,每组 5 只。取预先配制的 ROX 浓度分别为 10,20,40  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,酚红浓度均为 20  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合肠循环供试液;选取小肠肠段为考察肠段,按“2.4.1”项方法操作,每隔 30 min 取样,共取 4 h。结果见表 1。用 SPSS19.0 版统计软件对吸收速率常数进行方差检验,结果表明,在不同浓度时, $K_a$ 间均差异无统计学意义( $P>0.05$ ),ROX 在 10~40  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内吸收量随浓度的增加而增加,而  $K_a$ 无显著变化,在此范围内无吸附饱和的现象,表明 ROX 吸收以被动扩散为主。

表 1 3 种浓度 ROX 的小肠吸收特征  
Tab.1 Intestinal absorption characteristics of ROX at three concentrations

ROX 浓度/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	$K_a$ / ( $\times 10^2\cdot\text{h}^{-1}$ )	$\rho$ / %
10	8.60±0.31	26.20±1.57
20	8.87±0.35	28.17±0.64
40	8.78±0.29	27.62±1.23

**2.4.3 不同肠段药物摄取量与吸收速率常数** 取实验大鼠 20 只,采用完全随机化分成 4 组,对应 4 个不同的考察肠段,每组 5 只。取 ROX 浓度为 40  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、酚红浓度为 20  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的供试品溶液。分别选取十二指肠、空肠、回肠及结肠为考察肠段,按照“2.4.1”项方法操作,每隔 30 min 取样,共取 4 h。结果见表 2。对不同肠段  $K_a$ 进行方差分析及两两间方差多重比较,结果显示差异有统计学意义( $P<0.05$ )。各肠段  $K_a$ 按十二指肠、空肠、回肠、结肠顺序依次下降,即十二指肠为 ROX 在小肠的最佳吸收部位。

表 2 4 个肠段 ROX 吸收速率常数及最大吸收率  
Tab.2 Absorption rate constant and maximum absorp-  
tivity of ROX through four different intestinal segments

考察肠段	$K_a$ / ( $\times 10^2\cdot\text{h}^{-1}$ )	$\rho$ / %
十二指肠	3.87±0.12	12.80±0.53
空肠	2.53±0.18	9.50±0.46
回肠	1.43±0.10	5.60±0.37
结肠	0.61±0.15	1.10±0.44



### 3 讨论

ROX 的最大吸收波长为 275 nm, 此处酚红也有吸收, 故笔者采用双波长等吸收消去法进行 ROX 含量的测定, 消除了酚红对 ROX 含量测定的影响。该方法操作简便, 结果准确。

ROX 的稳定性与溶液的 pH 值有关<sup>[10]</sup>。本文在预实验过程中, 通过调节溶液的 pH 值, 并参考 ROX 的合成过程, 综合考虑肠道生理环境, 确定供试肠循环液 pH 值约为 5.0 较为适合<sup>[11]</sup>。故本实验配制的 Krebs-Ringer 缓冲液, 首先采用标准方法配置 (pH 值为 7.4), 后用稀盐酸调节其 pH 值至约 5.0, 可维持 ROX 在实验过程中的稳定性, 与有关文献报道相符。

本实验中, 以循环液中剩余药量的对数  $\lg D$  对时间  $t$  作线性回归, 所得相关系数均  $>0.9$ , 线性关系较好; 提示 ROX 在大鼠小肠吸收符合表观一级动力学过程, 吸收以被动扩散为主<sup>[12]</sup>; 且在不同药物浓度环境下, 吸收速率常数间均差异无统计学意义。结果显示, 药物在不同肠段的吸收差异显著, 其吸收速率常数及吸收百分率按肠段的下移顺序逐渐减小, 但药物在整个肠段仍具有较好吸收, 提示缓释、控释制剂的吸收部位应尽量控制在小肠上半段, 此结果仍需进一步实验验证。

#### 参考文献

- [1] 刘鑫荣.  $H_2$ 受体阻滞剂——盐酸醋酸罗沙替丁[J]. 中国医院药学杂志, 1990, 10(3): 103-104.
- [2] HIROT K, KUDO M, HASH I H, et al. The efficacy of pre-anesthetic proton pump inhibition treatment for patient on long-term  $H_2$  antaonist therapy[J]. Anesth Analg, 2008, 101

- (4): 1038-1041.
- [3] 黄建权, 吕俊玲, 胡欣. 罗沙替丁醋酸酯药理作用与临床评价[J]. 中国新药杂志, 2014, 23(14): 1601-1605.
- [4] SASAKI M, NAKAYAMA M, NUMAZAWA S, et al. Cytochrome  $P_{450}$  enzymes involved in the metabolic pathway of the histamine 2( $H_2$ )-receptor antagonist roxatidine acetate by human liver microsomes[J]. Arzneimittelforschung, 2001, 51(8): 651-658.
- [5] MURDOC H D, MCTAVIS H D. Roxatidine acetate, a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and its therapeutic potential in peptic ulcer disease and related disorders[J]. Drugs, 1991, 42(2): 24-26.
- [6] 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.
- [7] 李煦颖. 青藤碱的肠吸收特性及药动学研究[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2010: 14-15.
- [8] 程志红, 宋定中, 袁杰, 等. 泽泻醇有效部位的大鼠在体肠吸收[J]. 中国医药工业杂志, 2015, 46(9): 985-990.
- [9] 林宁. 生物药剂学与药物动力学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2011: 367-371.
- [10] 北京四环制药有限公司. 盐酸罗沙替丁醋酸酯冻干粉针剂及其制备方法和其应用: 201210333516.9[P]. 2012-11-28.
- [11] 张辉, 罗沙替丁醋酸酯及其类似物的合成与抑酸活性研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2003: 78-81.
- [12] STEWART B H, CHAN O H, JEZY K N, et al. Discrimination between drug candidates using models for evaluation of intestinal absorption[J]. Adv Drug Deliv Rev, 1997, 23(1): 27-30.

## 关于外文字母使用正体的常用情况

①计量单位符号和国际单位制(SI)词头。②数学式中的运算符、指数和对数函数符号、特殊常数符号、缩写符号等。例如:  $\Sigma$ (连加),  $\ln$ (自然对数),  $\lg$ (常用对数),  $\lim$ (极限),  $\pi$ (圆周率),  $\max$ (最大值), pH 值, AUC(曲线下面积), RSD(相对偏差),  $t_{1/2}$ (半衰期)等。③生物学中亚族以上(含亚族)的拉丁文学名及定名人。④化学元素符号。⑤仪器、元件、样品等的型号和代号。⑥用作序号和编号的字母。例如: 附录 A, 组 B。⑦外文的人名、地名、书名和机关名以及缩略语、首字母缩写词等。