



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

全国高等医药院校药学类实验双语教材

QUANGUO GAODENG YIYAO YUANXIAO YAOXUELEI

SHIYAN SHUANGYU JIAOCAI

生物药剂学 实验与指导

〔主编 刘建平〕

EXPERIMENT AND
GUIDE FOR
BIOPHARMACEUTICS



中国医药科技出版社

普通高等教育“十一五”国家级规划教材
全国高等医药院校药理学类实验双语教材

生物药剂学实验与指导

Experiment and Guide for Biopharmaceutics

主 编 刘建平
主 审 朱家璧
编 委 (以姓氏笔画为序)
王 柏 汤 玥
刘建平 郑春丽

中国医药科技出版社

内 容 提 要

生物药剂学与药物动力学是药学中的分支学科。本书内容涉及药物的吸收转运、蛋白结合、透皮扩散、代谢消除等动态过程和生物利用度、生物等效性原理和实验方法,以及常用的药动学程序应用等,重点放在基本理论、基础知识和基本技能的理解与掌握。

本教材属于全国高等医药院校药理学类实验双语教材丛书系列,可供药理学相关专业使用,亦可作为研究生和药剂工作者的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

生物药剂学实验与指导/刘建平主编. —北京:中国医药科技出版社, 2007.9

普通高等教育“十一五”国家级规划教材. 全国高等医药院校药理学类实验双语教材

ISBN 978-7-5067-3758-6

I. 生… II. 刘… III. 生物药剂学—实验—双语教学—医学院校—教材 IV. R945-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2007)第146679号

美术编辑 陈君杞

责任校对 张学军

版式设计 郭小平

出版 中国医药科技出版社

地址 北京市海淀区文慧园北路甲22号

邮编 100082

电话 责编:010-62235640 发行:010-62244206

网址 www.cspyp.cn www.mpsky.com.cn

规格 787×1092mm¹/₁₆

印张 7³/₄

字数 181千字

印数 1—3000

版次 2007年10月第1版

印次 2007年10月第1次印刷

印刷 北京市昌平区百善印刷厂

经销 全国各地新华书店

书号 ISBN 978-7-5067-3758-6

定价 13.00元

本社图书如存在印装质量问题请与本社联系调换

全国高等医药院校药学类规划教材常务编委会

名誉主任委员 吴阶平 蒋正华 卢嘉锡

名誉副主任委员 邵明立 林蕙青

主任委员 吴晓明 (中国药科大学)

副主任委员 吴春福 (沈阳药科大学)

姚文兵 (中国药科大学)

王温正 (中国医药科技出版社)

刘俊义 (北京大学药学院)

朱依淳 (复旦大学药学院)

张志荣 (四川大学华西药学院)

朱家勇 (广东药学院)

委 员 (按姓氏笔画排列)

王应泉 (中国医药科技出版社)

叶德泳 (复旦大学药学院)

毕开顺 (沈阳药科大学)

吴 勇 (四川大学华西药学院)

吴继洲 (华中科技大学同济药学院)

李元建 (中南大学药学院)

杨世民 (西安交通大学药学院)

陈思东 (广东药学院)

姜远英 (第二军医大学药学院)

娄红祥 (山东大学药学院)

曾 苏 (浙江大学药学院)

秘 书 罗向红 (沈阳药科大学)

徐晓媛 (中国药科大学)

浩云涛 (中国医药科技出版社)

高鹏来 (中国医药科技出版社)

编写说明

经教育部和全国高等医学教育学会批准，全国高等医学教育学会药学教育研究会于2004年4月正式成立，全国高等医药院校药学类规划教材编委会归属于药学教育研究会。为适应我国高等医药教育的改革和发展、满足市场竞争和医药管理体制对药学教育的要求，教材编委会组织编写了“全国高等医药院校药学类规划教材”。

本系列教材是在充分向各医药院校调研、总结归纳当前药学教育迫切需要补充一些教学内容的基础上提出编写宗旨的。本系列教材的编写宗旨是：药学特色鲜明、具有前瞻性、能体现现代医药科技水平的高质量的药学教材。也希望通过教材的编写帮助各院校培养和推出一批优秀的中青年业务骨干，促进药学院校之间的校际间的业务交流。

参加本系列教材的编写单位有：中国药科大学、沈阳药科大学、北京大学药学院、广东药学院、四川大学华西药学院、山西医科大学、华中科技大学同济药学院、复旦大学药学院、西安交通大学药学院、山东大学药学院、浙江大学药学院、北京中医药大学等几十所药学院校。

教材的编写尚存在一些不足，请各院校师生提出指正。

全国高等医药院校药学类

规划教材编写办公室

2004年4月16日

序

实验教学是高等药学院校最基本的教学形式之一，对培养学生科学的思维与方法、创新意识与能力，全面推进素质教育有着重要的作用。飞速发展的科学技术，已成为主导社会进步的重要因素。高等药学院校必须不断更新教学内容，以学科发展的前沿知识充实实验课程内容。

近年来，中国药科大学坚持以研究促教改，通过承担教育部“世行贷款——21世纪初高等教育教学改革项目”及立项校内教改课题等多种方式，调动了广大教师投身教学改革的积极性，将转变教师的教育思想观念与教学内容、教学方法的改革紧密结合起来，取得了实效。此次推出的国家“十一五”规划教材——药学专业双语实验教学系列，是广大教师长期钻研实验课程教学体系，改革教学内容，实现教育创新的重要成果。他们站在21世纪教育、科技和社会发展趋势的高度，对药学专业实验课程的教学内容进行了“精选”、“整合”和“创新”，强调对学生的动手能力、创新思维、科学素养等综合素质的全面培养。这套教材具有以下的特点：

1. 教材将各学科的实验内容进行了广泛的“精选”，既体现了高等药学教育“面向世界、面向未来、面向现代化”，也考虑到我国药学教育的现状与实际；既体现了各门实验课程自身的独立性、系统性和科学性，又充分考虑到各门实验课程之间的联系与衔接，有助于学生在教学大纲规定的实验教学学时内掌握基本操作技术，提高动手能力，养成严谨、求实、创新的科学态度。

2. 教材中新增的综合性、设计性实验有利于学生全面了解和综合掌握本门实验课程的教学内容。这一举措既满足了学生个性发展的需要，更注重培养学生分析问题、解决问题的能力 and 创新意识。

3. 教材中适当安排一些反映药学科发展前沿的实验，有利于学生在掌握实验基本技术的同时，对药学科的新进展、新技术有所了解，激发他们学习药学知识与相关学科的兴趣。

4. 教材以实践教学为突破口，采用双语体系编写，为实验课程改革构建数字化、信息化和外语教学的平台，有利于提高学生的科技英语水平。通过我校多年的药学科系列实验课程双语教学实践，证明学生完全能够接受此套教材的教学。

国家十一五规划教材——药学专业双语实验教学系列教材的陆续出版，必将对推动我国高等药学教育的健康发展，产生积极而深远的影响。由于采用双语体系编写药学教学实验丛书尚属首次，缺乏经验，在内容选择及编写方法上的不妥之处，在所难免。欢迎从事药学教育的同行们批评赐教。

吴峻明

(中国药科大学校长、博士、教授、博士生导师)

Preface

Experimental teaching is one of the most fundamental teaching means in pharmaceutical colleges, playing an important role in training scientific thoughts and methods, creative consciousness and ability of the students as well as in promoting quality-oriented education in all-round way. Fast-advancing science and technology has come to be an important factor in dominating social progress. Teaching materials must be updated continually in pharmaceutical colleges, especially enriching the materials of experimental courses with the most advanced knowledge in the subject.

In recent years, China Pharmaceutical University have been stressing the promotion of teaching reform on the basis of research, succeeding in stimulating teachers' enthusiasm for teaching reform by various means such as undertaking the project of teaching reform in higher education at the beginning of 21st century sponsored financially by World Bank and entrusted by the Ministry of Education as well as approving and ratifying internal programs on teaching reform. Meanwhile, it yields fruits to integrate the transforming of teachers' educational ideology into the reform of teaching materials and methods. This series of textbook of national "11th five" planning-bilingual pharmaceutical experimental teaching series, is an important achievement made through studying teaching system of experimental courses for long, reforming teaching materials and carrying out educational innovation of all the teachers concerned.

Meeting the new demands for education, science and technology and social growth, they select, integrate and innovate the teaching materials of pharmaceutical experimental courses, stressing the overall cultivation of comprehensive qualities, including experimental ability, creative thought and scientific attainments. This set of textbook possesses the following features:

1. These textbooks make an extensive "selection" of the experimental materials of each subject, reflecting the goal of facing the world, facing the future and facing the modernization in higher pharmaceutical education, and taking into account the status quota and reality of our pharmaceutical education; meanwhile embodying the individuality, systematicness and scientificness of each experimental courses, which helps the students to grasp basic techniques of operation within the class hours of *experimental teaching pre-*

scribed by teaching syllabus and to improve their experimental ability and finally to cultivate a scientific approach of precision, practicality and creation.

2. The comprehensive designing experiments newly supplemented in the textbooks help the students to learn totally and grasp comprehensively the teaching materials of the experimental courses, which not only meets the students' needs for individual development but also trains their ability to analyze and solve problems and cultivates their creative consciousness.

3. Some experiments representing the latest development in pharmacy are properly included in the textbooks, which helps the students to learn about new advance and technology in pharmacy and to further arouse their interests in studying pharmacy and relevant subjects while grasping some basic techniques of experiment.

4. The textbooks take experimental teaching as starting point and are compiled in a system of bilingualism and aim to set up a platform of digitalization, information and foreign language teaching for the purpose of reforming experimental courses, which serves to enhance the students' level of technological English. It has been proved that the students have no difficulty being adapted to the teaching of this set of textbook through many years of bilingual teaching practice carried out in a series of pharmaceutical experimental courses of our university.

The successive publishing of the series of textbooks used for bilingual pharmaceutical experimental teaching-the national "11th-five" planning textbooks, will surely produce good and far-reaching influence in promoting the sound development of higher pharmaceutical education of our country. Since it is the first time that we have compiled this series of textbook of pharmaceutical teaching experiment in a bilingual system, we lack experience and thus some defects in choice of materials and way of compilation are inevitable. Experts engaged in pharmaceutical education are welcome to give any criticisms and advice.

Wu Xiaoming

Ph. D, prof. , and supervisor of doctoral candidates
President of China Pharmaceutical University

前 言

生物药剂学与药物动力学是药学中的分支学科，其研究原理和方法在新药设计、新剂型和新制剂开发、药物质量评价和临床合理用药中发挥愈来愈重要的作用。该学科在国内已作为独立课程开设，但至今尚无系统完整的生物药剂学实验教材。

本实验教材根据高等医药院校实验教学的新的发展的需要，适应生物药剂学的教学要求与学科发展，内容涉及药物的吸收转运、蛋白结合、透皮扩散、代谢消除等动态过程和生物利用度、生物等效性原理和实验方法，以及常用的药动学程序应用等，重点放在基本理论、基础知识和基本技能的理解与掌握。

本教材是全国高等医药院校药学类实验双语教材丛书中的一本，可供药学类相关专业使用，亦可作为研究生和药剂工作者的参考书。采用本教材时，可根据实验时数适当取舍。

本教材是中国药科大学药物制剂研究所教师多年辛勤耕耘的结晶，参加本书编写的主要人员有：朱家璧、刘建平、王柏、汤玥、郑春丽。浙江大学药学院梁文权教授对书稿中部分实验进行了审核，另外，在本书的内容设计和编写整理中，颜圣、李素春、郑文杰、胡振中、张诚琛、肖旖旎、刘峰峰、杨奕等同学参与部分工作，在此一并表示感谢。

由于编者编写水平有限，本书中难免存在不足之处，谨请专家、读者批评指正！

刘建平

2007.8.23

目 录

CONTENT

实验一 法莫替丁 (FM) 大鼠在体小肠吸收	(1)
Experiment 1 Absorption of Famotidine (FM) in Rat Small Intestine	(5)
实验二 磺胺甲基异噁唑 (SMZ) 表观油水分配系数对小肠吸收的影响	(11)
Experiment 2 Effects of the Apparent O/W Partition Coefficient of Sulfamethocazole (SMZ) on its Absorption in the Rat Small Intestine	(16)
实验三 吡哌拉新两种晶型的制备和溶解性质研究	(21)
Experiment 3 The Preparation and Solubility of the Crystalline Forms of Indolacin ...	(24)
实验四 氨茶碱透皮贴剂的体外经皮渗透实验	(27)
Experiment 4 In Vitro Transdermal Permeation of Aminophylline Transdermal Delivery System	(30)
实验五 药物的蛋白结合及竞争作用的研究	(34)
Experiment 5 Drug - Protein Binding and Interaction between Drugs	(38)
实验六 美托洛尔 (METO) 的体外代谢与抑制	(43)
Experiment 6 In Vitro Metabolism and Inhibition of Metoprolol in Rat Liver Microsomes	(49)
实验七 氨茶碱家兔体内药动学参数和绝对生物利用度测定	(58)
Experiment 7 Estimation of Pharmacokinetics Parameters and Absolute Bioavailability of Amino - phylline in rabbits	(64)
实验八 盐酸环丙沙星胶囊剂体内药动学参数及相对生物利用度测定	(71)
Experiment 8 The Determination of Pharmacokinetic Parameters and Relative Bioavailability in Vivo of Ciprofloxacin Capsules	(76)
实验九 药物动力学单隔室模型模拟实验	(82)
Experiment 9 Simulation of One - Compartment Model	(86)
实验十 药物动力学实验数据的处理	(91)
Experiment 10 The Processing of Pharmacokinetics Data	(95)
实验十一 生物等效性分析	(99)
Experiment 11 Bioequivalence Assessment	(103)

实验一 法莫替丁 (FM) 大鼠在体小肠吸收

【目的和要求】

1. 掌握大鼠在体肠管回流的基本操作和方法。
2. 学习应用在体小肠回流法求算药物的吸收速度常数 (k_a)、半衰期 ($t_{1/2}$) 以及吸收率 (单位时间单位面积吸收量) 等参数。

【基本概念和实验原理】

小肠是药物胃肠道给药的主要吸收部位。小肠分十二指肠、空肠和回肠, 小肠表面有环状皱襞和绒毛突起, 绒毛上还有许多微绒毛, 有效吸收面积很大。由于被动转运速度与表面积成正比, 故小肠既是药物被动吸收的主要部位, 又是药物主动吸收的特殊部位。

本实验采用动物大鼠在体循环流动法, 根据法莫替丁供试液 (含法莫替丁和酚红) 中, 酚红为大分子络合物, 不被小肠吸收, 而法莫替丁可被小肠吸收, 同时小肠能吸收或排泄水分子等特点, 测定不同时间酚红的浓度, 根据浓度变化计算出不同时间供试液的体积, 从而计算法莫替丁浓度, 即可估算不同时间药物的吸收速率。

【材料与仪器】

1. 仪器

恒流泵、紫外分光光度计、分析天平、恒温水浴、红外线灯、玻璃插管 (10ml)、移液管 (50, 5, 2, 1 和 0.5ml)、锥形瓶 (100ml)、烧杯 (500ml)、注射器 (20ml 和 1ml)、眼科剪刀, 眼科镊子, 普通中号镊子, 小剪刀, 手术刀片等。

2. 材料

1mol/L NaOH, 生理盐水, Krebs - Ringer 磷酸缓冲液 (pH 7.4, 每 1000ml 内含氯化钠 7.8g、氯化钾 0.35g、氯化钙 0.37g、碳酸氢钠 1.37g、磷酸二氢钠 0.22g、氯化镁 0.22g、葡萄糖 1.4g), 戊巴比妥钠溶液 (10mg/ml, 大鼠麻醉用, 每 100g 体重腹腔注射 0.4ml), FM, 酚红等。

3. 动物

大鼠, 体重约 200g, 实验前禁食一夜 (自由饮水)。

【实验内容】

一、供试溶液的配制

1. FM 溶液 (100 μ g/ml): 精密称取 FM 25mg 和酚红 5mg, 加 Krebs - Ringer 缓冲液使溶解 (必要时微热), 并稀释到 250ml, 即得。
2. 酚红液 (20 μ g/ml): 精密称取酚红 5mg, 加 Krebs - Ringer 缓冲液使溶解, 并稀释到

250ml, 即得。

二、大鼠在体肠管回流操作

1. 大鼠麻醉

将大鼠用戊巴比妥钠溶液 (40mg/kg) 作腹腔注射麻醉, 背位固定于固定台上。

2. 小肠两端插管

沿腹部正中中线切开腹部 (约 3cm), 在十二指肠上部和回肠下部各插入细玻璃管一支, 并用手术线扎紧插入端, 另一端分别接橡皮管 (如图 1-1 所示)。

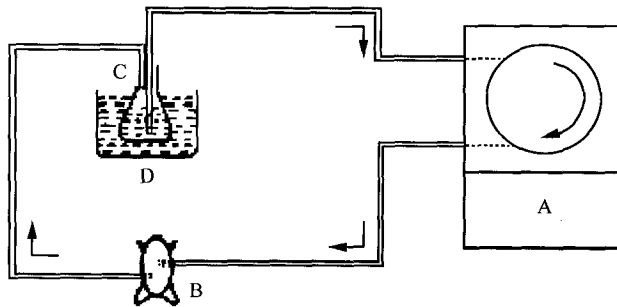


图 1-1 大鼠在体肠管回流装置

A. 恒流泵 B. 大鼠 C. 贮液瓶 D. 水浴

3. 洗涤肠管

将 37℃ 生理盐水经十二指肠上部玻管缓慢注入肠管, 洗去肠管内容物, 充分洗涤后送入空气使洗涤液尽量流尽。

4. 肠管回流

按图 1-1 装置进行肠管回流实验。即吸取 FM 溶液 50ml 置贮液瓶中, 开动恒流泵进行循环流动, 药液从十二指肠上部入肠管, 经回肠下部流入贮液瓶中。先以 5ml/min 的流速回流 10min, 然后将流速调节为 2.5ml/min, 再循环流动 120min。

5. 取样

回流开始后 10min, 从贮液瓶取样两份, 一份 1ml, 另一份 0.5ml, 分别作为药物和酚红的零时间样品。其后每隔 10 min 亦同样取样两份, 每次取样后应立即补充 1.5ml 酚红溶液 (20 μ g/ml)。取样至 120min 后停止回流。测定样液中法莫替丁和酚红的浓度。停止回流后, 取出回流小肠段冲洗后剖开, 平铺于坐标纸上, 沿小肠边剪下坐标纸, 冲洗后晾干, 烘干精密称重。剪取 10 倍 (10cm²) 坐标纸精密称重后, 即求得小肠浆膜总面积 (cm²)。

三、定量方法

1. 法莫替丁的测定

FM 标准曲线 精密称取 FM 12.5mg, 至 100ml 容量瓶中, 用 Krebs - Ringer 缓冲液稀释至刻度, 摇匀, 作贮备液用。精密量取 FM 贮备液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 至 25ml 容量瓶中, 各加 5ml 浓度为 30 μ g/ml 的酚红溶液, 用 Krebs - Ringer 缓冲液稀释至刻

度, 得 FM 浓度为 2.5、5.0、7.5、10.0、12.5、15 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的标准溶液。以 Krebs - Ringer 缓冲液为空白, 分别在 284nm 及 265nm 处测定 A_1 与 A_2 值, 计算 $\Delta A = A_1 - A_2$ 。

样液中 FM 的测定 分别精密吸取样液各 1ml, 适当稀释后, 按上述方法测定吸收度。根据标准曲线计算样液中 FM 浓度。

2. 酚红的测定

精密吸取样液 0.5ml, 加入 1mol/L NaOH 5ml 摇匀, 用 1mol/L NaOH 作为空白对照液, 在 550nm 处测定吸收度。按标准曲线计算酚红的浓度。

四、数据处理

1. FM 的标准曲线

将 FM 的浓度及相应的吸收度填入表 1-1, 并按最小二乘法进行线性回归, 得到标准曲线方程。

表 1-1 FM 标准溶液的浓度及吸收度

C ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
ΔA

回归方程: $C =$

回归系数: $r =$

线性范围: ~ $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

2. FM 的小肠吸收

计算样液中 FM 和酚红的浓度, 并填入表 1-2, 计算循环液体积和法莫替丁剩余量。

表 1-2 FM 小肠吸收试验数据

取样时间 (min)	酚红		循环液体积 (ml)	FM		FM 剩余量 (X , μg)	$\lg X$
	A_p	C_p ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		A_s	C_s ($\mu\text{g}/\text{ml}$)		
循环前	/	$C_{P0} = 20$	$V_0 = 50$	/	$C_{S0} = 10$	$X_0 = C_{S0} V_0 = 500$	
$t_0 = 0$	A_{P0}	C_{P0}	$V_0 = \frac{C_{P0} V_0}{C_{P0}} = \frac{20 \times 50}{C_{P0}}$	A_{S0}	C_{S0}	$X_0 = C_{S0} V_0$	
$t_1 = 10$	A_{P1}	C_{P1}	$V_1 = \frac{[C_{P0} V_0 + (20 - C_{P0}) \times 1.5]}{C_{P1}}$	A_{S1}	C_{S1}	$X_1 = C_{S0} V_1 + 1.5 C_{S0}$	
$t_2 = 20$	A_{P2}	C_{P2}	$V_2 = \frac{[C_{P1} V_1 + (20 - C_{P1}) \times 1.5]}{C_{P2}}$	A_{S2}	C_{S2}	$X_2 = C_{S2} V_2 + 1.5 (C_{S0} + C_{S1})$	
...
t_n ($n \geq 1$)	A_{Pn}	C_{Pn}	$V_n = \frac{[C_{P(n-1)} V_{(n-1)} + (20 - C_{P(n-1)}) \times 1.5]}{C_{Pn}}$	A_{Sn}	C_{Sn}	$X_n = C_{Sn} V_n + 1.5 \sum_{i=0}^{n-1} C_{Si}$	

以 FM 剩余量的对数 $\lg X$ 对时间 t 作图, 得一直线。说明 FM 的小肠吸收为一级动力学过程。根据直线斜率求出吸收速度常数 (k_a):

$$k_a = \text{斜率} \times 2.303$$

根据 k_a 求出吸收半衰期 ($t_{1/2}$):

$$t_{1/2} = 0.693/k_a$$

根据下式计算单位时间 (h) 的吸收率:

$$R_1 = \frac{X_0 - X_{1h}}{X_0} \times 100\% \text{ 或 } R_1 = \frac{X_0 - X_{2h}}{2X_0} \times 100\%$$

式中, X_0 为零时间点 FM 剩余量, X_{1h} 为 1h 时 FM 剩余量, X_{2h} 为 2h 时 FM 剩余量。

最后根据小肠面积, 计算单位时间 (h) 单位面积 (cm^2) 的吸收速率 (R_2):

$$R_2 = R_1/A$$

式中, A 为小肠浆膜总表面积。

【实验指导】

一、预习要求

1. 了解消化管吸收试验法——大鼠在体小肠循环流动法。
2. 复习有关的生理解剖知识, 熟悉小肠插管操作。
3. 熟悉 FM 及酚红的测定方法和原理。

二、操作要点和注意事项

1. 小肠插管时, 将十二指肠上部剪一小缺口, 插入直径为 7 mm 的玻璃管, 回肠下部则插入直径为 5 mm 玻璃管。插管后, 将小肠小心放回腹腔, 注意维持完整的小肠血液供应。在鼠腹部切口部位覆盖生理盐水纱布, 并用红外线灯维持体温在 37℃。

2. 洗肠管时, 用 150 ~ 200ml (37℃生理盐水) 沿十二指肠插管缓慢注入肠管, 冲洗去肠内脏物, 冲洗速度要缓慢, 以免把小肠胀破。

3. 药液先以 5ml/min 的流速循环流动, 10min 后, 将流速调节为 2.5ml/min, 并开始计时作为零时间点, 然后再循环流动 120min。

4. 由于小肠存在黏膜皱襞、绒毛及微绒毛等结构, 因此很难测定吸收性黏膜的真实表面积。大多数情形下, 单位表面积的吸收是根据膜表面积求得的。

三、思考题

1. 胃肠道中哪一部位是药物吸收的最佳部位? 为什么?
2. 解释酚红在本实验中的作用, 本法可否用于其他药物的小肠吸收研究?
3. 生理因素对药物吸收有何影响?

参考文献

- 1 平其能. 药剂学实验与指导. 北京: 中国医药科技出版社, 1994
- 2 梁文权. 生物药剂学与药物动力学. 北京: 人民卫生出版社, 2003
- 3 高申, 钟延强等. 法莫替丁肠吸收研究. 第二军医大学学报, 2000, 21 (10): 913 ~ 916

Experiment 1 Absorption of Famotidine (FM) in Rat Small Intestine

Purposes

1. To master the basic operations and method of in situ intestinal circulation technique.
2. To learn how to calculate the absorption rate constant, the absorption half – life and the average rate of absorption per unit area per unit time according to the in situ intestinal model.

Introduction

The small intestine is the most important site for drug absorption in the gastrointestinal tract. It includes the duodenum, jejunum, and ileum. The outstanding anatomical feature of the small intestine is the tremendously large epithelial surface area through which drug absorption can take place. The large epithelial surface area results from the existence of folds in the intestinal mucosa, villi and microvilli. The microvilli, together with the villi and folds, provides an immense surface area available for absorption. As the rate of passive transport is proportion to the surface area, so the small intestine is the main site for drug absorption by passive transport (especially the duodenum), also a special site for drug absorption by active transport.

In this experiment, the absorption of FM is evaluated using an in situ rat intestinal circulation technique. This technique assesses the quantity of FM absorbed based on the disappearance rate of the drug from the intestinal lumen solution. Phenol red is dissolved in the drug solution to indicate any volume change of the lumen solution. This dye is reported to be virtually unabsorbed, and it acts as a marker to detected gain or loss of water by the lumen.

Materials and Instruments

1. Equipments

Peristaltic pump, spectrophotometer model, analytical balance, thermo – stable water bath, infrared lamp, L – shaped glass cannula, centrifuge tube (10ml), pipette (50, 5, 2, 1 and 0.5ml), conical flask (100ml), beaker (500ml), syringe injector (20ml and 1ml), eye scissors, eye forceps, normal medium forceps, small scissors, operating blade.

2. Materials

All of the chemicals employed in this experiment are analytical grade unless otherwise specified. 1mol/L sodium hydrate, saline, Krebs – Ringer buffer solution (NaCl, 7.8g/L; KCl, 0.35g/L; CaCl₂, 0.37g/L; NaHCO₃, 1.37g/L; NaH₂PO₄, 0.22g/L; MgCl₂, 0.22g/L; glucose, 1.4g/L; pH7.4), Sodium pentobarbital solution (10mg/ml, for the anesthesia of rat, 0.4ml/100g i. p.), FM (pharmaceutical grade), Phenol red.

3. Test animals

Rats weighting about 200g are fasted for 12h prior to surgery with free access to drinking water.

Procedures

1. Preparation of Test Solutions

(1) FM solution (100 μ g/ml, contain 20 μ g/ml phenol red): Dissolve 25mg of FM, 5mg of phenol red in Krebs – Ringer buffer solution to make 250ml.

(2) Phenol red solution (20 μ g/ml): Dissolve 5mg of phenol red in Krebs – Ringer buffer solution to make 250ml.

2. Intestinal Absorption Procedure

(1) Anesthetization

The rats are anesthetized prior to surgery with sodium pentobarbital solution (40mg/kg intraperitoneally). The anesthetized rats are clamped in place and body temperature is kept at 37 $^{\circ}$ C by a lamp.

(2) Surgery

The small intestine is exposed by a midline abdominal incision, and two L – shaped glass cannulas are inserted through small slits at the duodenal and ileal ends, as illustrated in Figure 1 – 1. The cannulas are secured by ligation with suture, and the intestine is returned to the abdominal cavity to aid in maintaining its integrity.

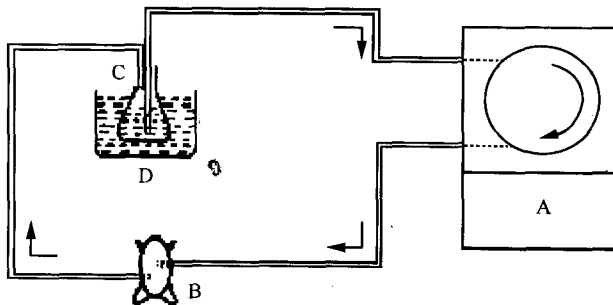


Fig. 1 – 1 The device of in situ intestinal circulation in the experiment

A. peristaltic pump B. rat C. liquid storage flask D. water bath

(3) Rinse