

## · 制剂与质量 ·

## 全缘千里光碱体外透皮特性的研究

徐月红<sup>1</sup>, 徐莲英<sup>2</sup>, 蔡定国<sup>3\*</sup>

(1. 中山大学药学院 药剂实验室, 广东 广州 510080; 2. 上海中医药大学 药剂教研室, 上海 200032; 3. 海军 411 医院, 上海 200081)

**摘要:** 目的 研究全缘千里光碱的体外透皮特性, 为全缘千里光碱的抗肿瘤制剂设计提供依据。方法 采用 V-C 扩散池, 以裸鼠皮肤为渗透屏障, 渗透系数为指标, 采用 RP-HPLC 法测定全缘千里光碱, 考察氮酮、4% 聚山梨酯-80、8% 丙二醇的影响。结果 以水为释放介质, pH 6.8 PBS 为接收液, 其渗透系数为  $1.184 \times 10^{-2}$  cm/h。2% 氮酮、8% 丙二醇对它的增渗比分别为 2.8、1.5, 而聚山梨酯-80 却表现出阻碍作用。结论 全缘千里光碱适合制备成经皮给药抗肿瘤的新制剂, 并可据此实验优化其透皮给药新制剂的处方。

**关键词:** 全缘千里光碱; 促渗剂; 氮酮; 聚山梨酯-80; 丙二醇

**中图分类号:** R 283.6; R 286.02

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0253-2670(2004)09-0983-03

## Permeability of integerrimine in vitro

XU Yue-hong<sup>1</sup>, XU Lian-ying<sup>2</sup>, CAI Ding-guo<sup>3</sup>

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 2. Department of Pharmaceutics, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China; 3. No. 411 Hospital of Chinese Navy, People's Liberation Army, Shanghai 200081, China)

**Abstract:** **Object** The permeability of integerrimine was studied *in vitro* to design its anticancer preparations. **Methods** Villia-Chien diffusion cells were adopted as apparatus for *in vitro* skin permeation, nude mouse skins were used as permeation barrier and permeation coefficient (*P*) was calculated. The concentrations of integerrimine in samples were measured by RP-HPLC, and the effects of Azone, 4% Tween-80, 8% propylene glycol on it were studied. **Results** Its *P* is  $1.184 \times 10^{-2}$  cm/h with water solution as donor and pH 6.8 PBS as receptor. Its enhancement rate (ER) of 2% Azone and 8% propylene glycol is 2.8 and 1.5, while Tween-80 inhibits its penetration. **Conclusion** Integerrimine is a good candidate of antiskin cancer for transdermal drug delivery, and the optimal formulation can be designed according to the experiments.

**Key words:** integerrimine; permeation enhancers; Azone; Tween-80; propylene glycol

全缘千里光碱(integerrimine, NT)是从峨眉千里光 *Senecio faberi* Hemsl. 中提取的有效成分, 为细胞毒类抗肿瘤药物, 其结构与美国已进入 II 期临床的主治急性淋巴白血病的 *N*-O-去甲天芥菜碱(indicine-N-oxide)<sup>[1]</sup> 具相似性, 同为双稠吡咯环生物碱(pyrrolizidine alkaloids)。NT 的抗肿瘤作用明确, 但在国内外肿瘤临床上其应用受到限制, 主要是全身给药途径用药后经肝脏代谢产生吡咯, 对肝脏具蓄积的、不可逆的毒性作用。因此, 寻找新的给药途径, 拓展 NT 在肿瘤临床的应用具有重要意义。透皮给药制剂具有可避免胃肠道酶解和肝脏的首关

效应、降低不良反应、提高病人的顺应性及随时可中断给药等优点<sup>[2]</sup>, 为当今药剂学的研究热点。本实验对 NT 的体外透皮特性进行研究, 为制备 NT 透皮给药抗肿瘤的新制剂提供参考。

## 1 仪器与材料

HP1100 高效液相色谱仪, 改良 Franz 扩散池及 V-C 扩散池(中国科学院上海有机化学研究所定制), 501 超级恒温器(上海市实验仪器厂), 78—1A 磁力加热搅拌器(上海南汇电讯器材厂)。全缘千里光碱(integerrimine, NT, 又称千里光 A 碱)为课题组自制, 经 HPLC 面积归一化法测定其纯度在

\* 收稿日期: 2003-11-17

基金项目: 上海市科委科技攻关项目(02DZ19121)

作者简介: 徐月红(1970—), 女, 湖北武穴人, 副研究员, 博士, 1992 年和 1997 年毕业于沈阳药科大学药剂专业, 分别获学士和硕士学位, 2002 年毕业于上海中医药大学中药药剂专业, 获博士学位, 2004 年广州中医药大学博士后出站, 现任中山大学药学院药剂室副主任, 主要从事药物新剂型新技术研究。Tel: (020) 87331160 Fax: (020) 84038840 E-mail: lssxyh@zsu.edu.cn

95% 以上; 1, 2-丙二醇 (AR 级, 上海化学试剂一厂)、氮酮 (A zone, 福建寿宁美菲思生物化学品厂)、聚山梨酯-80 (Tween-80, 上海大众制药厂)。裸鼠, 雄性, 10 周龄, 中国科学院上海实验动物中心提供。

## 2 实验方法

2.1 体外透皮试验: 采用 V ilia-Chien 扩散装置, 将裸鼠皮肤固定于 V-C 扩散池的供给池和接收池之间, 使角质层朝向供给池, 渗透面积  $0.785 \text{ cm}^2$ , 供给池中加入释放液 5 mL, 接收池中加入接收液 5 mL。恒温水浴  $(32 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ , 搅拌速度  $100 \text{ r/min}$ , 定时于接收池中取样  $0.5 \text{ mL}$ , 并补充等量空白接收液。所取样品经 HPLC 分析。计算各时间点 ( $t$ ) 的实测浓度 ( $C_{n\text{测}}$ ), 并按下式进行数据处理:

$$C_{n\text{校}} = C_{n\text{测}} + 0.5/5 \sum_{i=1}^{n-1} C_i, Q = C_{n\text{校}} \times V/A, \\ P = J_s/C_0, ER = P_e/P$$

$C_{n\text{校}}$ : 校正浓度;  $Q$ : 单位面积累积渗透量;  $V$ : 接收液的体积;  $A$ : 扩散池横截面积;  $J_s$ : 稳态透皮速率, 以不同时间的  $Q$  对时间  $t$  作图, 斜率即是  $J_s$ ;  $P$ : 渗透系数;  $P_e$ : 增渗后的渗透系数;  $ER$ : 增渗比。

## 2.2 全缘千里光碱的 HPLC 测定

2.2.1 色谱条件: 色谱柱: Kromasil KR100-5  $C_{18}$  ( $250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$ ,  $2.5 \mu\text{m}$ ); 流动相: 甲醇-水-磷酸-三乙胺 ( $300:700:1:0.5$ , pH 2.7); 体积流量:  $1 \text{ mL/min}$ ; 检测波长:  $213 \text{ nm}$ 。

2.2.2 标准曲线的制备: 精密称取干燥至恒重的 NT 对照品  $8.69 \text{ mg}$ , 置  $50 \text{ mL}$  量瓶中, 用 pH 6.8 PBS 配制成  $173.8 \mu\text{g/mL}$  的贮备液。临用前精密吸取上述溶液  $0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 \text{ mL}$  于  $10 \text{ mL}$  量瓶中, 并用 pH 6.8 PBS 稀释至刻度, 摇匀, 备用。精密吸取上述溶液  $10 \mu\text{L}$ , 分别注入液相色谱仪, 按上述色谱条件进行测定, 以质量浓度对相应的峰面积作线性回归, 得标准曲线  $A = 3.0088 + 13.6070 C$ ,  $r = 0.9996$ , 表明 NT 在  $86.9 \text{ ng} \sim 1.2156 \mu\text{g}$  与峰面积线性关系良好。每次样品测定时采用外标两点进行校正。

2.2.3 精密度试验: 分别取  $17.38, 69.52, 121.56 \mu\text{g/mL}$  NT 对照品溶液各测定 7 次, NT 峰面积 RSD 分别为 2.34%、1.36%、1.02%。

2.2.4 加样回收率试验: 分别取贮备液  $1, 4, 7 \text{ mL}$  各 3 份, 用空白皮肤透过液稀释至  $10 \text{ mL}$ , 依法进行 HPLC 测定, 3 种质量浓度的平均回收率分别为 100.94%、101.80%、99.98% ( $n = 3$ )。

## 3 实验结果

3.1 NT 的溶解度测定: 配制 NT 过饱和水溶液

适量, 分别置 3 个改进 Franz 扩散池中, 以  $(32 \pm 0.5)^\circ\text{C}$  水外循环 24 h 后, 取上清液迅速滤过, 并取  $1 \text{ mL}$  分别用水稀释至  $10 \text{ mL}$ , 经 HPLC 分析, 计算 NT 在水中的溶解度为  $(1.49 \pm 0.0820) \text{ mg/mL}$ 。

3.2 NT 的油水分配系数测定: 分别取  $0.1010 \text{ mg/mL}$  NT 水溶液  $2 \text{ mL}$  置于 4 只  $20 \text{ mL}$  具塞试管中, 各加入  $2 \text{ mL}$  正辛醇, 旋涡混合  $5 \text{ min}$ , 再于  $(32 \pm 0.5)^\circ\text{C}$  水浴振荡 3 h 至分配平衡, 取水层 (下层) 进行 HPLC 分析, 并根据公式  $P = (C - C_w)/C_w$  计算得油水分配系数  $P = 6.39$  ( $n = 4$ )。

## 3.3 NT 的体外渗透特性研究

3.3.1 氮酮对 NT 渗透的影响: 分别以 0%、2%、5% 和 8% 氮酮<sup>[3]</sup>为促进剂, 以 NT 的过饱和水溶液为释放液 ( $n = 3$ ), 以 pH 6.8 PBS 为接收液, 进行渗透试验, 并于不同时间点取样进行 HPLC 测定, 见图 1。

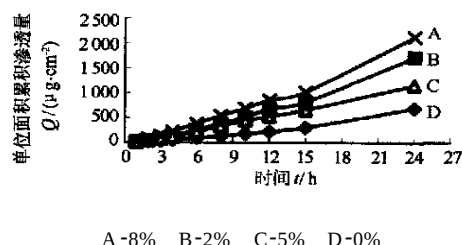


图 1 氮酮对全缘千里光碱的渗透促进作用

Fig. 1 Pemmeation enhancing effect of Azonon on integerrin ine

渗透动力学方程: 0%:  $Q = -64.20 + 24.66 t$ ,  $r = 0.9985$ ,  $J_s = 24.66 \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ ,  $P = 1.184 \times 10^{-2} \text{ cm/h}$ ; 2%:  $Q = -154.87 + 69.10 t$ ,  $r = 0.9974$ ,  $J_s = 69.10 \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ ,  $P = 3.318 \times 10^{-2} \text{ cm/h}$ ,  $ER = 2.8$ ; 5%:  $Q = -108.29 + 54.32 t$ ,  $r = 0.9987$ ,  $J_s = 54.32 \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ ,  $P = 2.608 \times 10^{-2} \text{ cm/h}$ ,  $ER = 2.2$ ; 8%:  $Q = -101.47 + 80.58 t$ ,  $r = 0.9998$ ,  $J_s = 80.58 \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ ,  $P = 3.870 \times 10^{-2} \text{ cm/h}$ ,  $ER = 3.3$ 。

从不同体积分数氮酮对 NT 渗透的作用可得出, 不同体积分数的氮酮对其渗透都有促进作用, 考虑成本和处方设计的需要, 选择低体积分数的氮酮即 2% 氮酮就可满足要求。

3.3.2 4% 聚山梨酯-80 的影响: 经过增溶预试验, 4% 聚山梨酯-80 对 NT 具增溶作用。以 4% 聚山梨酯-80 与上述试验同质量浓度的过饱和溶液为释放液 ( $n = 3$ ), 以 pH 6.8 PBS 为接收液进行渗透试验, 于不同时间点取样进行 HPLC 测定。结果见图 2。

渗透动力学方程:  $Q = -47.06 + 11.85 t$ ,  $r =$

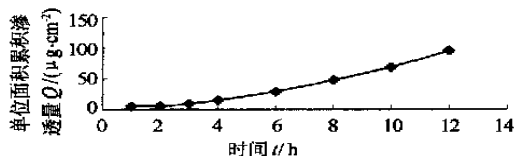


图 2 4% 聚山梨酯-80 对全缘千里光碱的渗透作用

Fig. 2 Effect of 4% Tween-80 on permeation of integerrin

0.998 1,  $J_s = 11.85 \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ ,  $P = 7.49 \times 10^{-3} \text{ cm/h}$ ,  $\text{ER} = 0.63$ .

与单纯过饱和溶液比较, 4% 聚山梨酯-80 对 NT 的渗透表现出阻碍作用, 使  $P$  减小。

3.3.3 8% 丙二醇的影响<sup>[3]</sup>: 以 8% 丙二醇与上述试验同质量浓度的过饱和溶液为释放液 ( $n=3$ ), 以 pH 6.8 PBS 为接收液, 进行渗透试验, 并于不同时间点取样进行 HPLC 测定。结果见图 3。

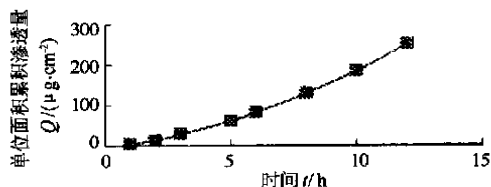


图 3 8% 丙二醇对全缘千里光碱的渗透作用

Fig. 3 Effect of 8% propylene glycol on permeation of integerrin

渗透动力学方程:  $Q = -110.62 + 29.78t$ ,  $r = 0.998 7$ ,  $J_s = 29.78 \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ ,  $P = 1.738 \times 10^{-2} \text{ cm/h}$ ,  $\text{ER} = 1.5$ 。从上述数据可得出 8% 丙二醇对 NT 的渗透表现为促进作用, 能使渗透系数增加。

#### 4 讨论

4.1 经测得全缘千里光碱在水中的溶解度为  $(1.497 2 \pm 0.082 0) \text{ mg/mL}$ , 表明作为一种脂溶性药物, 它仍具有一定的水溶性, 这种性质有利于对皮肤角质层的渗透。其适中的油水分配系数 6.39 也有利于皮肤给药<sup>[4]</sup>。

4.2 不同促进剂对药物的促透作用的考察是制备皮肤给药的剂型的处方前工作。本研究考察了 2%、5%、8% 氮酮对全缘千里光碱经皮肤渗透的促进作用, 发现不同体积分数的氮酮对它均有促透作用, 其 ER 分别为 2.8、2.2、3.3, 氮酮对全缘千里光碱促透作用与体积分数的关系有待进一步研究。

聚山梨酯-80 (Tween-80) 常被用来作为难溶性药物的增溶剂, 本研究考察了 4% 聚山梨酯-80 对全缘千里光碱渗透的影响。含 4% 聚山梨酯-80 的全缘千里光碱过饱和溶液的渗透系数是其原来的 0.63 倍, 表明 4% 聚山梨酯-80 对它的渗透起阻碍作用。主要原因可能是聚山梨酯-80 作为非离子型无刺激性的表面活性剂, 是一种张力活性剂, 它可通过增加药物在赋形剂中的溶解度, 从而降低角质层/赋形剂的分配系数和渗透系数<sup>[5]</sup>。丙二醇常作为难溶性药物的溶剂, 同时又是应用较广泛的渗透促进剂。实验证明, 8% 丙二醇对全缘千里光碱的增透比为 1.5。

4.3 通过对全缘千里光碱体外透皮特性的研究, 证实了它对皮肤具有一定的渗透性, 表明全缘千里光碱适合制备成透皮给药的新制剂, 并可据此实验优化其透皮给药新制剂的处方。

#### References

- [1] Yu C F. Study on bioactivity and pharmaceutical effect of pyrrolizidine alkaloids [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1989, 24(10): 585-587.
- [2] Zhen J M. *New Dosage Form of Transdermal Drug Delivery System* (经皮给药新剂型) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1997.
- [3] Luo M S, Gao T H. *Complete Collection of Pharmaceutical Excipients* (药剂辅料大全) [M]. Chengdu: Sichuan Science and Technology Publishing House, 1995.
- [4] Liang P W. *Percutaneous Drug Delivery System* (经皮给药新剂型) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1996.
- [5] Zhong J F. *Application of Surfactants to Pharmaceutical Science* (表面活性剂在药学中的应用) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1999.

(上接第 982 页)

化合物 VIII: 白色粉末 ( $\text{MeOH}$ ), mp 286~291, 根据 IR、EIMS、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$  数据确定为熊果酸。

#### References

- [1] Editorial Office of National Chinese Herbal Medicine Collection. *Collection of National Chinese Herbal Medicine* (全国中草药汇编) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1975.
- [2] Delectis Florae Republicae Popularis Sinicae, Agendae Academiae Sinicae Edita. *Flora Republicae Popularis Sinicae*

(中国植物志) [M]. Tomus 71. Beijing: Science Press, 1999.

- [3] Peng J N, Feng X Z, Li C Y, et al. Chemical investigation of genus *Hedyotis* II. Isolation and identification of iridoids from *Hedyotis chrysotricha* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1997, 32(12): 908-913.
- [4] Yu D Q, Yang J S. *Handbook of Analytical Chemistry Book* (分析化学手册, 第七分册) [M]. 2nd ed. Beijing: Chemical Industry Press, 1999.
- [5] Heller S R, Milne G W A. *EPA/NIH Mass Spectral Database* [M]. Washington: Government Printing Office, 1978.