

(2%利多卡因)、溶液组(2%盐酸利多卡因)比较差异均具有统计学意义($P<0.05$), 以上结果表明中、高剂量的微乳凝胶的镇痛效果较凝胶好。这主要是由于微乳凝胶不仅提高了微乳的黏度, 改善微乳与皮肤的黏附性和涂展性, 还增加了局部滞留时间和药物的经皮渗透量^[5,13-14]。

皮肤刺激性实验结果表明, 高剂量的微乳对正常完整皮肤有轻度刺激性, 高剂量的微乳凝胶对正常完整皮肤没有刺激性, 但高剂量的微乳及微乳凝胶对破损皮肤均有轻度刺激性, 这表明利多卡因微乳凝胶有更好的安全性。原因是微乳凝胶可克服微乳因水分易蒸发导致表面活性剂浓度升高, 皮肤刺激性增强^[15]。

综上所述, 利多卡因微乳凝胶局部外用制剂表现出较好的镇痛作用, 表明利多卡因经皮吸收效果良好, 开发其为一种局部经皮给药制剂具有一定的临床应用价值。

REFERENCES

[1] 陈新谦, 金有豫, 汤光. 新编药理学[M]. 第17版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 327-335.
[2] RICHARDS D, ARONSON J. Oxford Handbook of Practical Drug Therapy(牛津临床药物治疗手册) [M]. ZHAI S D, translation. Beijing: people's medical publishing house, 2006: 690-694.
[3] ZHANG S Q, TIAN Q P. Preparation of high solubilizable Microemulsion of naproxen and its solubilization mechanism [J]. Int J Pharm, 2012, 426(1-2): 202-210.
[4] WU H, RAMACHANDRAN C, WEINER N D, et al. Topical transport of hydrophilic compounds using water-in-oil nanoemulsions [J]. Int J Pharm, 2001, 220(1/2): 63-75.

[5] 吴晓辉, 刘玉玲. 微乳作为经皮给药载体的研究进展[J]. 中国药学杂志, 2006, 41(22): 1681-1685.
[6] XU Z. The investigation of naproxen gel-microemulsion transdermal delivery system and its preliminary pharmacodynamics evaluation [D]. Shanxi: Shanxi Medical University, 2010.
[7] HUANG S Z, HU P, MA G X, et al. Study on Anti-gout Effects of Fubitong Capsules [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2014, 31(3): 290-293.
[8] MAO L, ZHANG L, LIU Q, et al. Study on analgesic effects of alcohol extract of root of *Jasminum sambac*(L.) Ait [J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2014, 32(3): 641-644.
[9] YE Y, LI M Y, GUO Y. Virtual analysis of interaction of resveratrol oligomer with Fos/Jun and its analgesic activity in mice [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2014, 23(1): 80-85.
[10] ZHANG Q Q, LIU P, YU S M, et al. Effect of Xianghuahuru gels on mammary hyperplasia rats [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2014, 31(6): 647-650.
[11] JIN W. The preparation of liposomal gel of nano-silver and its quality evaluation and in vitro antimicrobial activity and safety evaluation [D]. Shanxi: Shanxi Medical University, 2013.
[12] 国家食品药品监督管理局. 化学药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则[S]. 2005.
[13] GANNU R, PALEM C R, YAMSANI V V, et al. Enhanced bioavailability of lacidipine via microemulsion based transdermal gels: Formulation optimization, *ex vivo* and *in vivo* characterization [J]. Int J Pharm, 2010, 38(1/2): 231-241.
[14] SOLIMAN S M, ABDEL MALAK N S, EL-GAZAYERLY O N, et al. Formulation of microemulsion gel systems for transdermal delivery of celecoxib: *In vitro* permeation, anti-inflammatory activity and skin irritation tests [J]. Drug Discov Ther, 2010, 4(6): 459-471.
[15] SAHOO S, PANI N R, SAHOO S K. Microemulsion based topical hydrogel of sertaconazole: formulation, characterization and evaluation [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2014(120): 193-199.

收稿日期: 2014-09-14

不同内酯型比例 9-硝基喜树碱对胆汁排泄的影响

陆姗姗¹, 胡蓉蓉¹, 顾薇¹, 陈军¹, 杨希雄^{2*} (1.南京中医药大学药学院药物制剂研究室, 南京 210023; 2.荆楚理工学院靶向抗肿瘤药物湖北省协同创新中心, 湖北 荆门 448000)

摘要: 目的 考察 9-硝基喜树碱(9-nitrocamptothecin, 9-NC)不同形式(内酯型或羧酸盐型)给药对胆汁排泄的影响。方法 建立 HPLC 测定胆汁中 9-NC 浓度的方法, 比较不同内酯型比例的 9-NC 溶液以 $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量静脉注射后大鼠胆汁中原形药物的排泄量。结果 静脉注射 100%, 75%, 50%, 25%, 0%内酯型比例的 9-NC 在 8 h 内的胆汁累积排泄百分数分别为 $(7.03 \pm 2.23)\%$, $(13.36 \pm 0.83)\%$, $(22.68 \pm 4.83)\%$, $(28.01 \pm 6.71)\%$, $(32.65 \pm 2.82)\%$ 。结论 9-NC 羧酸盐型更易经胆汁途径排泄。

基金项目: 湖北省自然科学基金项目(2012FFA083); 湖北省教育厅自然科学类重点科研项目(D20114301); 江苏省教育厅高校青蓝工程资助项目(苏教师(2014)23号)

作者简介: 陆姗姗, 女, 硕士生 Tel: 15996311969 E-mail: shizhe_lu@163.com *通信作者: 杨希雄, 男, 博士, 教授 Tel: (0724)2355813 E-mail: yxixiong163@163.com

关键词: 9-硝基喜树碱; 内酯型; 羧酸盐型; 胆汁排泄

中图分类号: R943; R965.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2015)04-0446-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.04.015

Effect of Different Lactone Percentage of 9-nitrocamptothecin to Biliary Excretion

LU Shanshan¹, HU Rongrong¹, GU Wei¹, CHEN Jun¹, YANG Xixiong^{2*} (1.Laboratory of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2.Hubei Collaborative Innovation Center of Targeted Antitumor Drug, Jingchu University of Technology, Jingmen, 448000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effect of administered 9-nitrocamptothecin(9-NC) forms (lactone or carboxylate form) on biliary excretion. **METHODS** The accurate HPLC method was developed for quantifying 9-NC in bile samples of rats. Then the ratios of cumulative excretion in bile were determined at different time following intravenous administration of 4 mg·kg⁻¹ 9-NC solution with different lactone percentages to rats. **RESULTS** Following injection of 9-NC solution of 100%, 75%, 50%, 25% and 0% lactone ratios, the ratios of cumulative excretion in bile to the dose were determined to be (7.03±2.23)%, (13.36±0.83)%, (22.68±4.83)%, (28.01±6.71)%, (32.65±2.82)%, respectively. **CONCLUSION** 9-NC in carboxylate form is easily excreted in bile compared to lactone form.

KEY WORDS: 9-nitrocamptothecin; lactone; carboxylate; biliary excretion

喜树碱(camptothecin, CPT)类药物的六元内酯环结构是其抑制拓扑异构酶 I (Topo I)活性从而发挥抗肿瘤作用的关键部位,内酯环水解开环成羧酸盐型后的活性则会降低至内酯型的十分之一^[1]。9-硝基喜树碱(9-nitrocamptothecin, 9-NC)是一种半合成喜树碱类衍生物,与其他喜树碱类药物一样,9-NC的内酯型结构的稳定性直接决定它的抗肿瘤活性,但内酯型在体内极易转变为羧酸盐型^[2],因此考察这2种形式在体内的转变规律和药动学特征对于最大限度地发挥9-NC的抗肿瘤效果具有重要意义。

目前的研究表明,胆汁排泄是9-NC原型药物的主要排泄途径之一^[3],本研究在建立胆汁中9-NC HPLC基础上比较了不同内酯型比例(100%, 75%, 50%, 25%, 0%)的9-NC溶液静脉注射给药后在大鼠体内的胆汁排泄情况,力求通过比较考察不同给药形式(内酯型或羧酸盐型)对9-NC原形药物排泄的影响。

1 仪器与材料

1.1 仪器

LC-20A 高效液相色谱仪(日本岛津); Micro CL21R 微量冷冻高速离心机(Thermo-fisher 公司); XW-80A 旋涡混合器(上海沪西分析仪器厂有限公司); BS124S 电子分析天平(赛多利斯公司); PHS-3CpH 计(上海雷磁公司)。

1.2 材料

9-NC 标准品(内酯型,美国 Sigma 公司,批号:

1001103364); 9-NC(内酯型,武汉兴银河化工有限公司,纯度>99%,批号:20101105); 喜树碱(湖北李时珍药业有限公司,纯度>99%,批号:110322); 乙腈(Tedia 公司,色谱纯); 甲醇(Tedia 公司,色谱纯)。

1.3 动物

SD 大鼠,230-280g,♂,由上海斯莱克公司提供,许可证号:SCXK(沪)2007-0005。

2 方法

2.1 色谱条件

色谱柱: Merck C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)(默克公司); C₁₈ 预柱(10 mm×4.6 mm, 江苏汉邦科技有限公司); 流动相: 乙腈-0.1%三乙胺(冰醋酸调 pH 6.5)(30:70); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 进样量: 20 μL; 柱温: 40 °C; 检测波长为 370 nm。

2.2 胆汁样品处理

精密吸取大鼠胆汁样品 100 μL, 加入内标(10 μg·mL⁻¹ 喜树碱甲醇溶液)70 μL, 加入冰甲醇-乙腈(1:1, -20 °C)230 μL, 涡旋混匀 1 min, 12 000 r·min⁻¹ 离心 3 min, 取上清液适量加入冰醋酸酸化(冰醋酸和上清液为 1:9), 酸化后进样测定。

2.3 标准曲线的制备

采用混合溶剂(二甲基亚砜:聚乙二醇 400:无水乙醇:0.01 mol·L⁻¹ 枸橼酸为 2:2:3:3)溶解 9-NC 配制成 9-NC 溶液(内酯型)^[4]。

取 9-NC 溶液(内酯型)用大鼠空白胆汁稀释到浓度分别为 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 μg·mL⁻¹,

按“2.2”项下方法处理后进样，以胆汁中 9-NC 浓度(C)为横坐标，以内酯型与内标峰面积比(Y)为纵坐标，用加权(1/C²)最小二乘法进行回归运算，求得回归方程： $Y=0.043\ 991+0.000\ 171C$ ， $r=0.997\ 6$ ，线性范围为 0.5~100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.4 方法学考察

2.4.1 回收率试验 取大鼠空白胆汁加入 9-NC(内酯型)溶液配成低、中和高(0.5, 5, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)3 个浓度的胆汁样品各 3 批，按“2.2”项下方法处理后测定，每批测定 5 次，计算方法回收率。同法处理后测定，计算浓度，与加入实际浓度比较，计算绝对回收率。

2.4.2 精密度试验 取大鼠空白胆汁加入 9-NC(内酯型)溶液配成低、中和高(0.5, 5, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)3 个浓度的胆汁样品各 3 批，分别于 1 d 内和连续 3 d 按“2.2”项下方法处理后测定，每批测定 5 次，计算日内和日间精密度。

2.5 胆汁排泄实验

将 9-NC 溶于二甲基亚砜中制成 5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓溶液，临用前加入聚乙二醇 400、无水乙醇和不同 pH(分别为 3.50, 6.24, 6.64, 6.98, 9.25)的缓冲液稀释，使得药液中二甲基亚砜：PEG400：无水乙醇：缓冲液为 2：2：3：3，30 $^{\circ}\text{C}$ 超级恒温水浴放置 12 h 后使用，即得内酯型比例分别为 100%，75%，50%，25%和 0%的 9-NC 溶液(9-NC 总浓度为 1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)^[5]。

大鼠 30 只，随机分为 5 组，每组 6 只，实验前禁食 12 h，i.p.注射 10%水合氯醛麻醉后，实施胆管插管手术，按 4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量尾静脉注射不同内酯型比例(100%，75%，50%，25%，0%)的 9-NC 溶液，分别收集 0~0.5, 0.5~1, 1~2, 2~4, 4~6, 6~8 h 的胆汁样品，记录体积，按“2.2”项下方法处理后测定药物浓度，并计算原形药物的累积排泄百分率。

3 结果

3.1 分析方法专属性

取大鼠空白胆汁、一定浓度的 9-NC 溶液加入空白胆汁、大鼠给药后的胆汁样品，按“2.2”项下方法处理并分析，获得相应色谱图见图 1，结果显示，内源性物质不干扰 9-NC 的测定。

3.2 方法学考察

低、中和高(0.5, 5, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)3 个浓度的方

法回收率分别为(106.9±5.79)%，(99.40±5.37)%，(101.5±2.56)%；绝对回收率分别为(99.23±5.00)%，(97.93±7.60)%，(95.63±9.95)%；日内 RSD 分别为 12.02%，1.69%，3.40%；日间 RSD 分别为 7.85%，1.32%，2.10%($n=5$)。

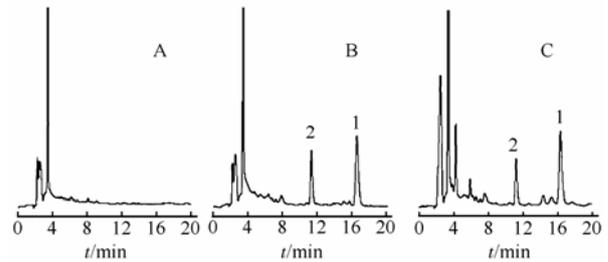


图 1 9-NC 的大鼠胆汁样品 HPLC 图

A-空白胆汁；B-空白胆汁+9-NC 标准品(10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)+喜树碱；C-给大鼠静注 100%内酯型 9-NC(4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)后 1~2 h 胆汁样品；1-9-NC；2-内标 CPT。

Fig.1 HPLC chromatograms of 9-NC in bile samples

A-blank bile B-biliary sample spiked with 9-NC 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; C-biliary sample 1~2 h after i.v. administration of 4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 100% lactone ratio of 9-NC to a rat; 1-9-NC; 2-CPT.

3.3 静脉注射不同内酯型比例的 9-NC 溶液后胆汁中原形药物的排泄

大鼠静脉注射不同内酯型比例(100%，75%，50%，25%，0%)的 9-NC 溶液后大鼠胆汁中 9-NC 的累积排泄曲线见图 2。由图 2 可见，随着给药内酯型比例的降低，胆汁的 9-NC 原形药物累积排泄百分数均呈上升趋势。静脉注射 100%，75%，50%，25%，0%内酯型比例的 9-NC 溶液在 8 h 内的胆汁累积排泄百分数分别为(7.03±2.23)%，(13.36±0.83)%，(22.68±4.83)%，(28.01±6.71)%和(32.65±2.82)%。可见，羧酸盐型比例越高，胆汁排泄量越大，提示极性更强的羧酸盐型与内酯型相比更易从胆汁排泄。

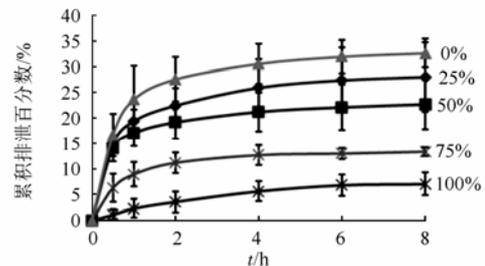


图 2 静脉注射不同内酯型比例 9-NC 溶液后大鼠胆汁中 9-NC 总量的累积排泄百分数($n=5$)

Fig. 2 Cumulative bile excretion percentage of total 9-NC after i.v. administration of 9-NC solutions with different ratios to rats($n=5$)

4 讨论

由于 9-NC 内酯型和羧酸盐型活性不同,一般在体内血浆和组织样品的分析检测中需要同时测定 9-NC 内酯型浓度和羧酸盐型浓度^[2,4]。但研究表明 9-NC 在体外空白胆汁中的内酯稳定性很差,内酯型平衡比例<4%,在胆汁收集过程中内酯型浓度和比例可能会发生变化,因此,在胆汁排泄实验中只测定了 9-NC 的总浓度^[3]。

胆汁排泄的药物必须具有一定的极性基团,只有化学结构中具有羧基、磺酸基或铵离子等极性功能基团的原形药物才有可能直接从胆汁中排出。因此,9-NC 羧酸盐型更易从胆汁中直接排泄,随着内酯型比例的降低,9-NC 胆汁排泄量增加^[6]。但内酯型比例是否同时会影响 9-NC 在肝中的代谢从而改变胆汁排泄量还有待于进一步研究。本实验发现,随着 9-NC 内酯型比例的降低,胆汁排泄呈上升趋势,而相对分子质量>300 的芳香族阴离子易从胆汁排泄,具有羧基的原形药物有可能从胆汁中直接排出^[6],因此,9-NC 很可能绝大部分是以羧酸盐的形式从胆汁中排出的。本实验室此前的研究也发现,与内酯型相比,9-NC 羧酸盐型更易从肾脏经尿液排泄^[7]。

过去一般认为羧酸盐型为低效形式,进一步的研究提示,由于可以相互转化,羧酸盐型可以作为内酯型的贮库,待内酯型消除后再转换为内酯型,

并且羧酸盐型与血浆蛋白结合率远高于内酯型,更易在血液循环中存在。但研究表明,羧酸盐型更易于从胆汁排泄,因此其作为内酯型贮库的可能性有限。

REFERENCES

- [1] HERTZBERG R P, CARANFA M J, HOLDEN K G, et al. Modification of the hydroxyl lactone ring of camptothecin inhibition of mammalian topoisomerase I and biological activity [J]. *J Med Chem*, 1989, 32(3): 715-720.
- [2] CHEN J, PING Q N, GUO J X, et al. *In vitro* and *in vivo* stability of 9-nitrocamptothecin lactone form in rats [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2005, 40(10): 888-892.
- [3] CHEN J, PING Q N, LIU M L, et al. Biliary excretion of 9-nitrocamptothecin after intravenous administration of 9-nitrocamptothecin liposomes to rats [J]. *Chin J New Drugs (中国新药杂志)*, 2007, 16(17): 1365-1368.
- [4] SCOTT D O, BINDRA D S, STELLA V J. Plasma pharmacokinetics of the lactone and carboxylate forms of 20(s)-camptothecin in anesthetized rats [J]. *Pharm Res*, 1993, 10(10): 1451-1457.
- [5] CHEN J, HU R R, YANG X X, et al. Antitumor efficacy, toxicity and pharmacokinetics of 9-nitrocamptothecin: role of lactone ratio [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2013, 72(4): 925-929.
- [6] LIANG W Q. *Biopharmaceutics and pharmacokinetics (生物药剂学与药物动力学)* [M]. 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2003: 150.
- [7] HU R R, CHEN J, YANG X X, et al. Pharmacokinetics and urinary excretion of 9-nitrocamptothecin following intravenous administration of lactone and carboxylate forms to rats [J]. *Chin Hosp Pharm J (中国医院药学杂志)*, 2013, 33(3): 171-175.

收稿日期: 2014-07-15

硬脂醇半乳糖苷修饰吉西他滨纳米脂质体的制备及处方优化

李季, 郭伟英* (辽宁医学院药学院, 辽宁 锦州 121001)

摘要: 目的 制备硬脂醇半乳糖苷修饰的盐酸吉西他滨纳米脂质体(18-GGNL), 并采用响应面法优化其处方工艺。方法 用硫酸铵梯度法制备 18-GGNL, 以包封率为评价指标, 运用 Box-Behnken 响应面设计法对处方进行优化, 并对其包封率、形态、粒径、稳定性和体外释放度进行综合评价。结果 得到最优处方为磷脂与胆固醇的质量比为 3.10:1, 硫酸铵浓度 $0.19 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 脂物比为 20.99:1, 所得的优化脂质体平均包封率为 $(70.8 \pm 0.95)\%$, 平均粒径为 $(89.5 \pm 5.3) \text{ nm}$, 粒径分布较窄, 稳定性好且具有缓释特性。结论 以硫酸铵梯度法制备的 18-GGNL 理化性质良好。

关键词: 硬脂醇半乳糖苷; 盐酸吉西他滨; 纳米脂质体; 硫酸铵梯度法; Box-Behnken 响应面法

中图分类号: R943 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2015)04-0449-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.04.016

作者简介: 李季, 女, 硕士生 Tel: 018241651513 E-mail: lij000214@163.com *通信作者: 郭伟英, 男, 硕士, 教授 Tel: 13941627032 E-mail: wyguo@163.com