

DISCUSSION

脑内的 β-内啡肽能神经元主要存在于下丘脑基底部和延髓孤束核, 后者的肽能神经元可能在心血管功能的调节中起重要作用. 本工作应用 β-内啡肽抗血清, 中和了烫伤大鼠脑脊液和脑内过量的 β-内啡肽, 有良好的抗休克效果, 提示中枢系统的 β-内啡肽, 在烫伤休克的发生发展中, 起重要作用. 这一结果, 与 Sandor P 等在出血性休克与内源性阿片肽关系的研究结果⁽⁸⁾相类似.

大鼠烫伤后 β-内啡肽含量上升达到高峰的时间⁽⁴⁾和外周静脉注射 β-内啡肽抗血清的抗休克效果达到最佳的时间⁽²⁾都在烫伤或给药后 1 h, 在时间上与本实验结果是一致的. 应激时体内内源性阿片肽的大量释放, 可能在保护机体上有积极意义. 本工作表明, 过早应用 β-内啡肽抗血清, 其抗休克效果并不是最佳的, 提示 β-内啡肽在烫伤休克后的作用, 不是单纯的加重休克, 在早期可能有其积极的一面. 这对进一步认识应激时内源性阿片肽在体内的作用无疑是有帮助的.

REFERENCES

1 Holaday JW, Faden AI. Naloxone reversal of

endotoxin hypotension suggests role of endorphins in shock. *Nature* 1978; 275: 450

2 Gao GC, Lin BC, Wang CH, Zhu HN. The effect of anti-β-endorphin intravenous injection of serum on scald shock in rats. *Chin J Appl Physiol* 1988; 4: 301

3 Gao GC, Zhu YX, Wang CH, Lin BC. Effect of intravenous administration of anti-dynorphin A serum and large dose of naloxone on scald shock in rats. *Chin J Exp Surg* 1988; 5: 19

4 Gao GC, Lin BC, Sun K, Wang CH. The role of β-endorphin in experimental burnshock. In: Cros J, Meunier J-C, Hamon M, eds. *Progress in Opioid Research*. Oxford: Pergamon, 1989: 631-8. (Cros J, Meunier J-C, Hamon M, eds. *Advances in the Biosciences*; vol 75)

5 Wang CH, Zhu YX, Lin BC, Zhao XL. Changes in immunoreactive substance dynorphin A₁₋₁₃ levels in pituitary and brain areas in burned rats. *Acad J Second Milit Med Coll* 1987; 8: 9

6 Laubie M, Schmitt H, Vincent M, Remond G. Central cardiovascular effects of morphinomimetic peptides in dogs. *Eur J Pharmacol* 1977; 46: 67

7 Zhu YX, Guan XB, Cui RY, Zhu HN, Zhang CL. Preparation of β-endorphin antiserum and development of its radioimmunoassay. *Acad J Second Milit Med Coll* 1986; 7: 332

8 Sandor P, de Jong W, Wiegant V, de Wied D. Central opioid mechanisms and cardiovascular control in hemorrhagic hypotension. *Am J Physiol* 1987; 253 (3): H507

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1991 Sep; 12 (5): 437-440

十八甲基炔诺酮左旋体与消旋体的人体皮肤体外渗透率¹

陈国神、龚赛君、周蓉蓉、谢先吉 (浙江省医学科学院药物研究所, 杭州 310013, 中国)

Transdermal permeability of *l*- and *d*-norgestrel through human skin *in vitro*¹

CHEN Guo-Shen, GONG Sai-Jun, ZHOU Rong-Rong, XIE Xian-Jie
(Institute of Materia Medica, Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China)

Received 1990 Jul 19 Accepted 1991 Mar 23

¹ Project supported by the Funds for the 7th Five-Year Plan Key Project of China, No 75650106, and WHO/HRP No 88815

ABSTRACT Transdermal permeability of *l*-norgestrel (*l*-NG) and *d*-norgestrel (*d*-NG) at 6 skin regions with and without stratum corneum was

investigated by using Valia-Chien double-compartment permeation cells. The permeation rates and accumulative amounts within 72 h *in vitro* were measured by HPLC. The results showed that the permeation rates of *dl*-NG through intact skin were significantly higher than those of *l*-NG ($P < 0.01$). For the skins without stratum corneum, the permeation rates and permeation amounts of *l*-NG and *dl*-NG were higher than those for the intact skin ($P < 0.01$), but no significant difference was seen between *l*-NG and *dl*-NG. Hence the stratum corneum played an important role of rate-limiting barrier in the skin permeation of *l*-NG and *dl*-NG. It is possible that the difference in permeability between *l*-NG and *dl*-NG is related to their partition coefficients.

KEY WORDS norgestrel; skin absorption; cutaneous administration; permeability

摘要 在 Valia-Chien 双室渗透池中比较了 6 个部位完整及除角质层皮肤的 *l*-NG 和 *dl*-NG 的渗透率。其渗透率和 72 h 体外累积渗透量用 HPLC 法测定。结果：*dl*-NG 在完整皮肤的渗透率明显高于 *l*-NG ($P < 0.01$)。对于除角质层皮肤，*l*-NG 和 *dl*-NG 的渗透率和渗透量高于完整皮肤 ($P < 0.01$)，但 *l*-NG 与 *dl*-NG 间无显著差异。证实角质层是阻碍 *l*-NG 和 *dl*-NG 皮肤渗透的主要限速屏障。导致 *l*-NG 与 *dl*-NG 渗透率差异的原因可能与分配系数有关。

关键词 炔诺孕酮；皮肤吸收；皮肤给药；渗透性

十八甲基炔诺酮(norgestrel, NG)是一个十分有效的孕激素类合成药物⁽¹⁾。临床上使用的是其左旋体(*l*-NG)和消旋体(*dl*-NG)。构效关系研究证明,只有与天然甾体激素构型相同的左旋异构体才有抑制排卵的生理活性,其右旋体(*d*-NG)无活性,而 *dl*-NG 的活性仅为 *l*-NG 的一半⁽²⁾。在人体内,*l*-NG 的 $t_{1/2}$ 明显低于 *d*-NG 和 *dl*-NG,且代谢形式也不相同⁽³⁾。

随着含避孕药物的透皮控释系统的研究开发^(4,5), NG 对映异构体的皮肤渗透特性已引起人们的普遍关注和兴趣。本文首次报道了 *l*-NG 和 *dl*-NG 二种药物在人体 6 个不同部位皮肤的体外渗透率及其差异,并探讨了 *l*-NG 和 *dl*-NG 的主要渗透屏障。

MATERIALS AND METHODS

高效液相色谱仪(LC-6A, 岛津); ODS 色谱柱(6.0×150 mm); Valia-Chien 渗透池; *l*-NG (北京制药厂); *dl*-NG (扬州制药厂); PEG 400 (进口分装); 甲醇(HPLC 试剂, 上海吴泾化工厂)。

HPLC 分析方法 流动相为甲醇-水(75:25)的混合溶液, 流速 $1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温 30°C , 检测波长 242 nm, UV 检测器量程 0.04 AUFS, 进样量 $20 \mu\text{l}$ 。用外标法定量, 按下述公式计算药物的皮肤渗透量: 渗透量 ($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$) = (样品峰面积 / 标准品峰面积) × 标准品浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) × 渗透池容量 (ml) / 渗透池口面积 (cm^2)。

由稳态累积渗透量对时间线性回归拟合所得的斜率, 求得该次实验的稳态渗透速率。

本法线性范围: $0.5 - 1.0 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$, 相关系数 $r = 0.9999$, 回收率 $101.73 \pm 1.14\%$, 变异系数 1.12%。

完整皮肤和除角质层皮肤的制备 取自同一人体不同部位的新鲜皮肤(健康男性, 成人, 突然死亡后 4 h 内取皮), 按文献⁽⁶⁾方法处理, 于 -30°C 保存备用。自取皮到实验一般不超过 3 个月。

皮肤渗透试验 将不同部位的皮肤分别紧缚于 Valia-Chien 渗透池⁽⁷⁾各对接受室与供给室之间, 角质层(或去角质层面)面向供给室, 用弹簧夹把两室的双口固定。供给室内注入 40% PEG 400 生理盐水溶液(40% PEG 400 · NS)的 *l*-NG 或 *dl*-NG 饱和溶液(4 ml), 接受室内注入 40% PEG · NS (4 ml), 控制渗透池夹层内的水温在 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$, 电磁搅拌速度 500 rpm。按规定间隔时间取出接受室内全部释放液, 同时加入同容量 40% PEG 400 · NS, 继续渗透释放, 直至 72 h。整个试验中接受室介质始终保持“漏槽”状态。每一部位皮肤均于同组(5 对)渗透池中进行试验。

用 HPLC 法测定释放液中的 *l*-NG 或 *dl*-NG 渗透量(Fig 1), 并计算渗透速率.

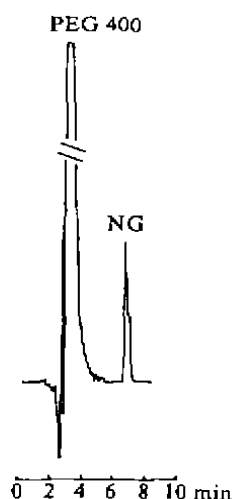


Fig 1. HPLC of *l*-NG (*dl*-NG) transdermal permeation sample.

RESULTS

l-NG 和 *dl*-NG 在不同部位完整及除角质层皮肤的体外渗透试验 6 个不同部位: 胸、腹、臀、背、大腿、上臂内侧皮肤的渗透速率比较见 Tab 1.

结果表明, 对于完整皮肤, 不论何部位, *dl*-NG 的皮肤渗透速率均明显大于 *l*-NG, 有非常显著差异 ($P < 0.01$). 又 *l*-NG 和 *dl*-NG 的渗透速率, 均以胸、腹部为大, 而

背、大腿较小, 不同部位间有非常显著差异 ($P < 0.01$). 而对于去角质层皮肤, *l*-NG 与 *dl*-NG 在 6 个部位的皮肤渗透速率基本接近, 均无显著差异 ($P > 0.05$), 但 6 个部位间的渗透速率, 仍有显著差异.

l-NG 和 *dl*-NG 在不同部位完整及除角质层皮肤的 72 h 累积渗透量比较 结果表明, 对于不同部位的完整皮肤, *dl*-NG 明显高于 *l*-NG ($P < 0.01$) 而对于除角质层皮肤, 这种差异基本消失(Fig 2).

DISCUSSION

本研究发现, *l*-NG 与 *dl*-NG 在完整皮肤的渗透速率与渗透量明显不同. 我们参照文献⁽⁷⁾方法测定了它们在皮肤-40% PEG 400 · NS⁻¹ 间的分配系数, 发现两者有很大的差异. *dl*-NG 明显大于 *l*-NG 分别为 2.2207 与 1.3746. 推测, 两者皮肤分配系数的不同, 是导致它们渗透率差异的主要原因, 这一结果也与文献^(8,9)报道中, 分配系数可作为药物渗透性能的比较指标的观点一致.

药物的透皮吸收过程是相当复杂的, 包括药物溶出、扩散、分配、形成贮库、代谢, 最后经由毛细血管渗透至体循环⁽¹⁰⁾. 直接测定药物的在体皮肤吸收是困难的. 然而, 采用离体皮肤的渗透模型, 通过测定渗透速率及渗透量等参数可以预测药物的经皮吸收特性.

Tab 1. Permeation rates of *l*-NG and *dl*-NG through human skins with and without stratum corneum of different body regions ($\text{ng} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$) *in vitro*. $n=5$. $\bar{x} \pm \text{SD}$. ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$ vs chest; ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$ vs abdomen.

	Intact skin		Skin without stratum corneum	
	<i>l</i> -NG	<i>dl</i> -NG	<i>l</i> -NG	<i>dl</i> -NG
Chest	47.8 ± 7.3	74.3 ± 1.1	656.5 ± 65.3	753.4 ± 81.9
Abdomen	35.9 ± 4.9**	65.5 ± 4.1	742.4 ± 141.3	858.1 ± 85.0
Hip	28.7 ± 4.3***	58.6 ± 1.1***	644.7 ± 18.2	704.7 ± 70.6
Arm	34.5 ± 6.1***	51.0 ± 7.6**	591.5 ± 53.3**	675.4 ± 60.8**
Back	26.6 ± 3.4**	39.3 ± 6.2**	562.9 ± 17.1***	598.0 ± 95.5***
Thigh	25.3 ± 3.6**	35.3 ± 6.3**	476.0 ± 46.4**	581.6 ± 59.9***

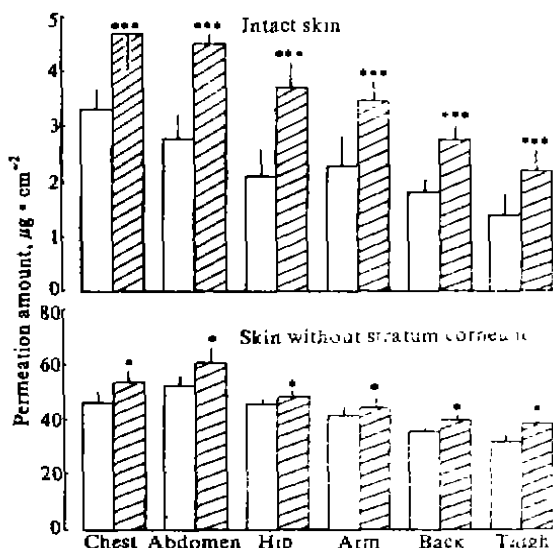


Fig 2. Cumulative amounts of l-NG (▨) and d-NG (□) through human skins with and without stratum corneum of different body regions over 72 h *in vitro*. $n=5$. $\bar{x} \pm SD$. * $P>0.05$, *** $P<0.01$ vs l-NG.

在体外渗透实验中，为了使所得结果尽可能正确地反映人体的吸收状况，最好是采用人的皮肤。由于新鲜人皮来源十分有限，故一般均将新鲜人皮采样后低温贮藏备用。如果药物渗透的主要屏障是角质层，皮肤冷藏后一般不会影响其通透性，因为角质层本身含水甚少。有人用 $^3\text{H}_2\text{O}$ 试验证明，新鲜皮肤与经低温贮藏(-20℃)数天、半月、直至一年的皮肤，其渗透性能几无差异⁽¹¹⁾。n-alkanols在冷藏前后的皮肤的渗透动力学也无区别⁽¹²⁾。本实验采用健康人死亡后4h内取样并立即冷藏的皮肤，故不会影响炔诺孕酮的渗透特性。但是，对于在皮肤中会发生代谢变化(如前体药物)或主要限速屏障是活表皮的药物，冷藏对其渗透动力学的影响如何，尚待研究。

ACKNOWLEDGMENTS 黄雪英、朱才庭、俞波等同志参加部分实验。

REFERENCES

- 1 USP XXII. 1990: 964
- 2 Martindale: the extra pharmacopoeia. 28th ed. 1982: 1424
- 3 Warren RJ, Fortherby K. Metabolism of d- and l-norgestrel in humans. *Arzneimittelforschung* 1975; 25: 964
- 4 Friend DR, Catz P, Heller J and Okagaki M. Transdermal delivery of levonorgestrel (V): Preparation of devices and evaluation *in vitro*. *Pharmaceutical Research* 1989; 6: 938
- 5 Casz P, Friend DR. Effect of cosolvents on ethyl acetate enhanced percutaneous absorption of levonorgestrel. *J Controlled Release* 1990; 12: 171
- 6 Chen GS, Gong SJ, Du J, Ma RZ, Zhou RR and Liu LC. Transdermal permeability of estradiol through human skin of different body regions *in vitro*. *Acta Pharmacol Sin* 1990; 11: 57
- 7 Valia KH, Chien YW and Shinal EC. Long-term skin permeation kinetics of estradiol (I): effect of drug solubilizer-polyethylene glycol 400. *Drug Dev & Ind Pharm* 1984; 10: 955
- 8 Chen GS and Du J. Development of transdermal drug delivery systems. *Guo waiyaoxue Hecheng-yao Shenghuayao Zhiji Fence* 1988; 2: 99
- 9 Nathke I, et al. Transdermal delivery of Levonorgestrel. *Proceedings of the 13th International Symposium on Controlled Release of Bioactive Materials*. 1986: 29
- 10 Merkle HP. Transdermal delivery systems. *Meth and Find Exp Clin Pharmacol* 1989; 11: 143
- 11 Harrison SM, Barry BW, Dugard PH. Effects of freezing on human skin permeability. *J Pharm Pharmacol* 1984; 36: 261
- 12 Terzo SD, Behl CR, Nash RA, Bellantone NH and Malick AW. Evaluation of the nude rat as a model: effects of short-term freezing and alkyl chain length on the permeabilities of n-alkanols and water. *J Soc Cosmet Chem* 1986; 37: 297