

草乌甲素在家兔3种方式破损皮肤的体外透过率比较研究

苏敏, 刘红斌, 崔佳丽, 周辉, 孙献莹, 毛勇, 张培培, 赵高琼, 徐红花, 王京昆*

1. 云南白药集团创新研发中心, 云南 昆明 650111

2. 云南省药物研究所药物安全性评价中心, 云南 昆明 650111

3. 云南省中药和民族药新药创制企业重点实验室, 云南 昆明 650111

摘要: **目的** 比较草乌甲素在不同方式制备的家兔破损皮肤体外渗透速率的差异, 了解皮肤破损方式对草乌甲素透过率的影响。 **方法** 结合组织病理学检查, 对所获破损皮肤的破损程度进行判断, 同时采用改良 Franz 扩散池装置进行透皮试验, 以草乌甲素含量为考察指标, HPLC-MS/MS 法测定接受液中指标性成分含量。 **结果** 针头划伤、砂纸打磨、4% Na₂S 脱毛剂处理这3种方式均能得到不同损伤程度的破损皮肤; 组织病理学检查显示砂纸打磨至皮肤发红时, 破损程度比较适宜, 局部表皮缺失, 真皮完好。三者渗透速率常数存在明显差别, 分别为 96.82、210.2、2.821 ng/(cm·h), 以砂纸打磨所获破损皮肤的渗透速率常数最大。 **结论** 砂纸打磨可以获得较好的破损皮肤模型, 该模型对药物透过率影响较小。

关键词: 草乌甲素; 破损皮肤; HPLC-MS/MS; 渗透速率

中图分类号: R965.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2015) 05-0491-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2015.05.005

A comparative study of bulleyaconitin Penetration rate on three damaged ways of skin

SU Min, LIU Hong-bin, CUI Jia-li, ZHOU Hui, SUN Xian-ying, MAO Yong, ZHANG Pei-pe, ZHAO Gao-qiong, XU Hong-hua, WANG Jing-kun

1. Yunnan Bai Yao Group Innovation and R&D Center, Kunming 650111, China

2. Drug Safety Evaluation Center of Yunnan Institute of Materia Medica, Kunming 650111, China

3. Yunnan Province Company Key Laboratory for TCM and Ethnic Drug of New Drug Creation, Kunming 650111, China

Abstract: Objective To research the effects of permeation on the damaged ways of skin, and compare the permeation rates in vitro of damaged skin prepared by different ways on rabbits. **Methods** We judged the injured degree of damaged skin by combining with histopathological examination. We developed the transdermal tests by using modified Franz diffusion cells, and used content of bulleyaconitin A as a index to determine the content of bulleyaconitin A in accepting liquid by using HPLC-MS/MS. **Results** The damaged skins of different levels were dealed by three different ways: needle scratches, sandpaper polished, and 4% Na₂S depilatory. The histopathological results indicated that extent of damage by sandpaper polished was more appropriate, and in which created deleted partial epidermis and intact dermis. There were obvious differences among the three permeation rate constants, respectively, 96.82, 210.2, 2.821 ng/(cm·h). The maximum one was obtained with sandpaper polished skin. **Conclusion** The better model of damaged skin was obtained with sandpaper polished because of the less influence factors of drug permeability.

Key words: Bulleyaconitin A; damaged skin; HPLC-MS/MS; penetration rate

经皮给药制剂又称经皮给药系统 (transdermal drug delivery system, TDDS) 或称透皮治疗系统 (transdermal therapeutic system, TTS), 是药物通过皮肤吸收后转运至局部组织或全身血液循环而发生

局部或全身作用的制剂^[1]。此类制剂的安全性评价常因其剂型、给药途径等特殊性和有一定难度, 主要因为经皮给药后的实际剂量及毒性暴露量和毒性反应程度取决于透入皮肤的药量, 而临床上皮肤病

收稿日期: 2015-07-23

作者简介: 苏敏 (1965—), 女, 云南昆明人, 高级工程师, 学士, 主要从事新药研发和药物安全性评价。

Tel: (0871)68411937-8003 Fax: (0871)68417776 E-mail: yimmsm@126.com

*通信作者 王京昆, 正高级工程师。E-mail: wjkyimm@163.com

变往往改变了正常皮肤屏障完整性和药物通透性,药物的透皮吸收率除了受药物本身理化特性、给药方法等因素限制外,还常因皮肤屏障功能状态受到不同程度的影响^[2-3],因此,在刺激性和长期毒性试验中通常需将破损皮肤模型用于试验,以充分暴露受试物的局部刺激性或/和全身毒性。

目前,国内通常采用体外扩散池法、残留量分析法和在体微透析法等方法进行经皮给药制剂的透过率或药动学方面的研究^[4-5];安全性评价实验室常用的破损皮肤制备方法有针头划伤、砂纸打磨、钝器刮伤或由脱毛剂造成的表皮损伤^[6]。但动物破损皮肤与人临床不同疾病下皮肤的角质层状态并不完全一致,并且实验操作者在选择上述制备方法时通常考虑的多是操作的方便程度,往往凭经验以肉眼判断破损程度,忽视了脱毛过程所致角质层损失差异和皮肤破损模型制备方法及其他因素对实际的病理损伤程度及药物透过率产生的影响,从而可能对经皮给药制剂的毒性评价带来不同程度的干扰。

本文以草乌甲素凝胶膏为受试物,选用针头划伤、砂纸打磨、4% Na₂S 脱毛剂处理这3种有代表性的皮肤破损方法制备家兔破损皮肤,以体外扩散池法开展体外透皮实验,考察上述方式所得破损皮肤的体外吸收特征,并从破损皮肤的组织病理学形态和药物皮肤体外渗透速率这两个方面探讨不同破损皮肤模型制备方法及因素产生的差异及影响,为经皮给药制剂毒性暴露和安全性评价选择更为科学合理的病理模型提供实用的技术方法。

1 材料和方法

1.1 仪器

Agilent 1200SL 液相色谱仪 (Agilent, 二元泵, 自动进样器); API 3200 Q-Trap 三重四级杆串联质谱 (美国 AB 公司); Analyst 1.5 工作站; 智能透皮试验仪 (天津富兰斯 YB-P6); 分析天平 (美国 Ohaus 公司); Allegra 64R 高速冷冻台式离心机 (美国 Backman 公司); XW-80A 涡旋混合器 (上海精科实业有限公司); MD200 氮吹仪 (杭州奥盛仪器有限公司); 宠物用电推剪 (上海 CODOS KP-3000); 组织病理学检查仪器均为德国 Leica 公司。

1.2 试药

草乌甲素凝胶膏 (载药量约为 0.06 mg/cm, 云南省药物研究所, 批号 201307); 草乌甲素对照品 (质量分数 ≥ 98%, 中国食品药品检定研究院, 批号 100530-200501); 次乌头碱 (质量分数 ≥ 98%, 北

京世纪奥科生物技术有限公司, 批号 MUST-13011706); 甲醇 (色谱纯, 德国 Merck 公司); 其余试剂均为分析纯。

1.3 动物

普通级日本大耳白家兔 6 只, 雌雄各半, 3~4 月龄, 2.4~3.0 kg, 来源于昆明市艾尼莫实验动物养殖中心, 许可证号: SCXK (滇) K2012-0002。

1.4 LC-MS/MS 检测条件

1.4.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent ponoshell SB-C₁₈ 柱 (50 mm × 4.6 mm, 2.7 μm); 流动相为 0.1% 甲酸 10 mmol/L 醋酸铵水溶液-甲醇 (12:88); 体积分流量 0.5 mL/min; 柱温 20 °C; 进样量 5 μL。

1.4.2 质谱条件 ESI 源, POS 模式, MRM 定量。草乌甲素 [M+H]⁺ 为 m/z 644.4 → 584.3, 次乌头碱 [M+H]⁺ 为 m/z 616.3 → 556.2。质谱参数: CUR 10.0, IS 5500.0, TEM 300.00, GS1 25.00, GS2 35.00, ihe ON, CAD LOW, DP 72.0, EP 10.00。

1.5 检测样本预处理

精密加入 10 μL 内标工作液至 2 mL EP 管中, 氮吹至干, 再精密移取 100 μL 经扩散池收取的 PBS 溶液, 旋涡 2 min, 加入 1 mL 醋酸乙酯, 涡旋 3 min, 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清 600 μL, 氮气吹干, 200 μL 甲醇复溶, 15 000 r/min 离心 10 min, 取上清, 5 μL 进样。

1.6 离体破损皮肤制备

破损皮肤的破损程度参照 2014 年 5 月 13 日颁布的《药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则》的附录中有关“3. 皮肤刺激性试验”对破损皮肤破损程度的描述, 即“破损皮肤试验中皮肤破损程度以损伤表皮层为限”^[7], 故本实验中选择了 3 种有代表性的制备方法来获得破损皮肤, 并结合组织病理学检查结果综合判断, 确定皮肤的最适破损程度。

1.6.1 破损方法 家兔乙醚麻醉后, 用宠物电推剪先将背部毛尽量剔除干净, 剔除过程中注意勿将兔皮肤划伤。将 6 只去毛后的家兔分为 3 个组, 每组 2 只。按下面 3 种方式制备破损皮肤。

A 法: 针头划 即用 5 mL 一次性注射器针头在家兔皮肤表面间隔 3 mm 划多条横线, 再间隔 3 mm 划多条竖线, 形成多个“井”字, 深度以皮肤表面变浅红即可。

B 法: 砂纸打磨 即将砂纸包裹在木棒上, 然后在家兔皮肤表面轻轻摩擦, 直至皮肤表面变为

浅红。

C法:化学脱毛剂 即将纱布浸于4% Na₂S中,再将纱布敷于家兔皮肤5 min后取下,以洁净纱布擦净皮肤表面残余Na₂S,再用大量清水冲洗至Na₂S除净。

1.6.2 离体破损皮肤制备 6只家兔分为3组,按上述3种方法破损皮肤后及时颈总动脉放血安乐死,剖取上述3种方法制备的破损皮肤各约6×6 cm²,除去皮下组织和脂肪,以生理盐水冲洗适当时间,每种方法所获的每块破损皮肤均分为两部分,其中一部分皮肤置福尔马林溶液中固定,用于组织病理学检查,以确定皮肤破损程度是否适宜,另外一部分皮肤则用于体外透皮实验。

1.7 破损皮肤病理学检查

病理取材厚度2~3 mm,长度约1~2 cm,切片厚度3 μm,HE染色、制片,进行组织病理学镜检,据镜检结果对各块破损皮肤所见病变程度进行半定量分级。

1.8 家兔破损皮肤体外透皮试验

取草乌甲素凝胶膏,按扩散池接收口内径大小(1.17 cm²)将凝胶膏剪切,待用。将按“1.6”要求制备的离体破损皮肤固定于改良 Franz 扩散池上,皮内层面向下(朝向扩散池内方),皮外层面向上,将剪好的草乌甲素凝胶膏揭去保护层,紧贴于皮肤外层,用夹子将扩散池组合夹紧固定。扩散池接收室事先放入磁力搅拌子,并加满32℃的0.05 mol/L、pH 7.4 PBS溶液作为接收介质(12 mL),排出接收室中的气泡,使家兔皮肤内层与接收介质紧密接触,池外以32℃水浴保温,磁力搅拌子以350 r/min的速度搅拌,分别于1、2、3、4、5、6、7、8、10、11和24 h从接收池中抽取0.3 mL的PBS接受液,同时向接收池中补充等量32℃的0.05 mol/L、pH 7.4的PBS溶液。将收集的PBS接收液置于2~8℃保存,待所有时间点PBS接收液均收集后,分别按“1.5”项下方法处理、分析检测。

1.9 数据处理

通过各时间点样品测定结果,计算每个时间点单位面积的累积释药量(Q),并对结果进行评价。

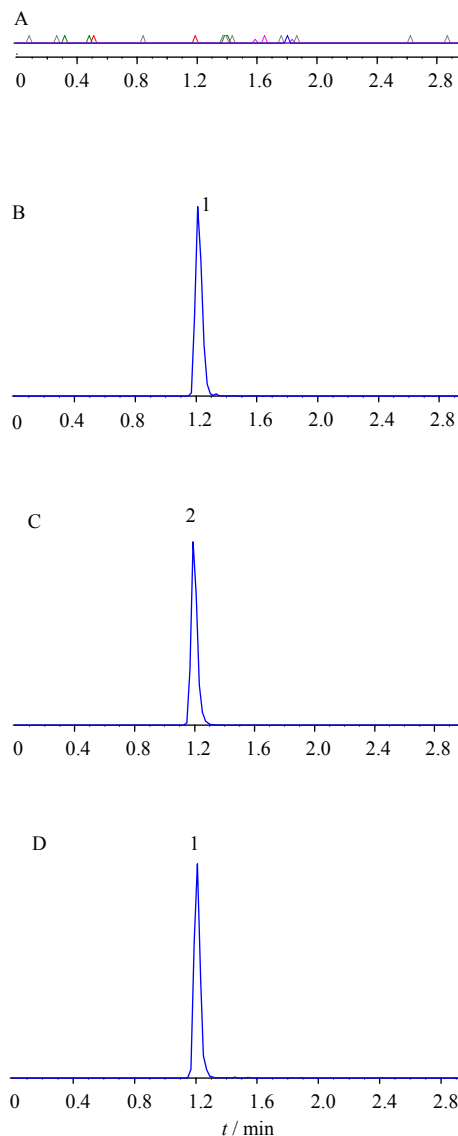
$$Q = (P_n V + V_0 \sum_{i=1}^{n-1} p_i) / A$$

式中, V 为接收室中接收液总体积, V_0 为每次取样的体积, P_n 为第 n 次所取样品测定的药物浓度, p_i 为第 i 个样品的药物浓度测定值, A 为扩散池中家兔皮肤的有效扩散面积。

2 结果

2.1 特异性

在本实验 LC-MS/MS 检测条件下草乌甲素及内标次乌头碱峰形均良好,在各自检测通道内未见干扰峰,两者保留时间分别为1.21 min和1.19 min,结果见图1。



1-草乌甲素; 2-次乌头碱

1- Bulleyaconitin A; 2- Hypaconitine

图1 空白PBS缓冲溶液(A)、草乌甲素对照品(B)、次乌头碱对照品(C)、草乌甲素含药接受液(D) LC-MS/MS图

Fig. 1 LC-MS/MS chromatogram of PBS-Blank (A), Bulleyaconitin-PBS+standard (B), Hypaconitine-PBS+standard (C), Bulleyaconitin-drug-containing accepting liquid (D)

2.2 基质效应

本实验考察了空白 PBS 溶液经提取后, 内源性杂质对草乌甲素和内标次乌头碱的离子抑制情况。结果显示, 草乌甲素 PBS 溶液质控样品在 1.987、31.80、509.0 ng/mL 这 3 个质量浓度下的基质效应 ($n=6$) 分别为 96.49%、94.92%、97.28%; 内标次乌头碱基质效应 ($n=18$) 为 93.27%。

2.3 标准曲线和线性范围

以草乌甲素 PBS 溶液质量浓度 C (分别为 0.124 2、0.496 7、1.987、7.950、31.80、127.0、509.0 ng/mL) 为横坐标, 草乌甲素峰面积 (A_b) 和内标峰面积 (A_h) 比值为纵坐标 Y , 做线性回归, 得回归方程为: $Y=0.018\ 9C-0.002\ 57$ ($r=0.992\ 8$), 权重系数 $w=1/C^2$, 药物浓度与峰面积间线性关系良好, 线性范围为 0.124 2~509.0 ng/mL, 最低定量限为 0.124 2

ng/mL ($S/N\geq 10$)。

2.4 精密度和准确度

制备质量浓度分别为 1.987、31.80、509.0 ng/mL 的草乌甲素 PBS 溶液质控样品, 按“1.5”项下操作, 重复 3 d, 据随行的标准曲线计算测定浓度, 由实测浓度计算批内与批间精密度, 每批实测浓度的平均值与理论浓度的比值为准确度, 结果见表 1。

2.5 回收率

制备质量浓度分别为 1.987、31.80、509.0 ng/mL 的草乌甲素 PBS 溶液质控样品, 按“1.5”项下操作, 测定得峰面积为 A ; 精密移取 100 μ L 空白 PBS 溶液按“2.2”项下操作提取后得到的含基质残渣, 用浓度分别为 1.987、31.80、509.0 ng/mL 的草乌甲素工作液复溶, 测定得峰面积 B 。 A 和 B 的百分比即为提取回收率, 结果见表 1。

表 1 测定草乌甲素在 PBS 中的精密度、准确度和回收率

Table 1 Determination of precision, accuracy and recovery of bulleyaconitin A in PBS

质控浓度/ (ng·mL ⁻¹)	日内 ($n=6$)			日间 ($n=6$)			回收率 ($n=6$) /%
	$\bar{x}\pm s$ /(ng·mL ⁻¹)	精密度/%	准确度/%	$\bar{x}\pm s$ /(ng·mL ⁻¹)	精密度/%	准确度/%	
1.987	1.81 $\pm$ 0.15	8.15	91.18	1.81 $\pm$ 0.12	6.59	91.06	78 $\pm$ 6
31.80	31 $\pm$ 4	12.99	98.11	31 $\pm$ 3	10.10	96.47	80 $\pm$ 7
509.0	512 $\pm$ 24	4.79	100.65	500 $\pm$ 30	6.59	98.69	75 $\pm$ 4

2.6 稳定性

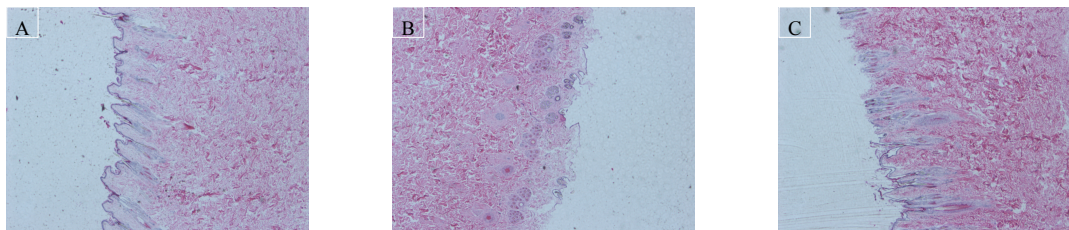
制备浓度分别为 1.987、31.80、509.0 ng/mL 的草乌甲素 PBS 溶液质控样品, 考察 PBS 溶液样品于 32 $^{\circ}$ C 放置 3 d、2~8 $^{\circ}$ C 存放 24 h、于 32 $^{\circ}$ C 放置 3 d 后再于 2~8 $^{\circ}$ C 存放 2 d 的稳定性; 同时考察按“1.5”项下操作处理后样品在室温及 2~8 $^{\circ}$ C 放置 3 d 内多个时间点的稳定性。以随行的标准曲线计算测定浓度与理论浓度比较, 变化范围在-1.33%~-11.89%, 表明在上述条件下草乌甲素稳定性良好。

2.7 破损皮肤病理检查结果

破损皮肤病理检查结果见图 2, 针头破损皮肤, 基本完好; 纱纸破损皮肤, 局部表皮缺失, 真皮完好; 4% Na₂S 破损皮肤, 局部表皮缺失、真皮浅层缺失。

2.8 破损皮肤体外透皮试验结果

将 3 种不同方式制备的破损皮肤在设定的时间点下取样测定, 通过测定值计算得到的单位面积释药量见表 2, 平均累积释药曲线见图 3。以每种破损



A-针头破损皮肤, 基本完好 B-纱纸破损皮肤, 局部表皮缺失, 真皮完好 C-Na₂S 破损皮肤, 局部表皮缺失、真皮浅层缺失

A- needle scratches, basically intact; B- sandpaper polished, local skin is missing, the dermis intact; C- 4% Na₂S depilatory, Local skin and superficial dermis missing

图 2 破损皮肤病理镜检结果

Fig. 2 The histopathological results of damaged skin

表2 不同破损方式下相应时间点单位面积累积释药量 Q ($\text{ng}\cdot\text{cm}^{-2}$)Table 2 The unit area accumulated release amount (Q) of damaged skin prepared by different ways in the corresponding time points ($\text{ng}\cdot\text{cm}^{-2}$)

t/h	$Q/(\text{ng}\cdot\text{cm}^{-2})$					
	针头划伤 (A)		砂纸打磨 (B)		4% Na_2S (C)	
	A1	A2	B1	B2	C1	C2
1	7.554	6.685	Nd.	Nd.	Nd.	Nd.
2	34.04	40.84	38.95	30.65	Nd.	Nd.
3	71.56	79.69	98.65	60.65	Nd.	Nd.
4	120.5	125.8	190.2	180.6	Nd.	Nd.
5	143.7	159.5	316.4	320.6	Nd.	Nd.
6	200.5	208.4	336.3	340.3	5.374	5.979
7	349.8	356.9	631.6	594.9	5.670	8.313
8	390.6	327.5	764.9	731.5	Nd.	13.31
10	463.2	484.3	1 160	1 006	Nd.	12.05
11	689.4	702.3	1 261	1 189	11.72	16.05
24	2 100	2 338	4 788	4 389	28.73	83.41

Nd-未检测到

Nd-undetected

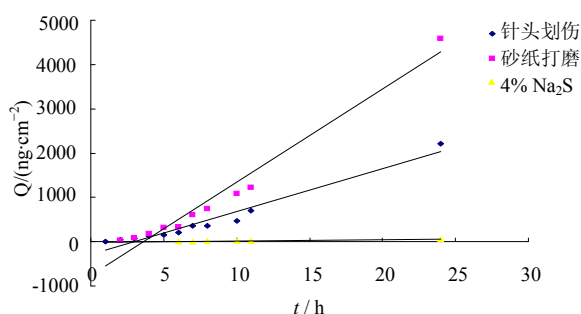


图3 不同破损方式平均累积释药曲线

Fig. 3 The curve of average accumulated release amount of damaged skin prepared by different ways

方式下平均累积释药量 Q 对时间 t 进行动力学方程拟合, 结果针头划伤破损方式的拟合曲线为 $Q=96.82t-285.6$ ($r^2=0.9564$), 渗透速率参数 (J_s) 为 $96.82 \text{ ng}/(\text{cm}\cdot\text{h})$ 、滞留时间 (T_{lag}) 为 2.95 h ; 砂纸打磨破损方式的拟合曲线为 $Q=210.2t-759.9$ ($r^2=0.9679$), J_s 为 $210.2 \text{ ng}/(\text{cm}\cdot\text{h})$ 、 T_{lag} 为 3.62 h ; 4% Na_2S 破损方式的拟合曲线为 $Q=2.821t-13.03$ ($r^2=0.9743$), J_s 为 $2.821 \text{ ng}/(\text{cm}\cdot\text{h})$ 、 T_{lag} 为 4.62 h 。

3 讨论

经皮外用制剂的安全性评价常因其剂型、给药途径等特殊性质而具有一定难度, 给药后的实际剂量及毒性暴露量和毒性反应程度主要取决于透入皮肤的

实际药量, 其透皮吸收率常受皮肤屏障功能状态(包括不同种系、不同体位、不同疾病下的皮肤角质层状态)及给药方法的限制; 此外, 经皮给药制剂的透皮吸收过程除了受药物本身的性质、透皮制剂剂型、透皮促进剂及基质等方面的影响, 还因为主要吸收屏障—皮肤的病变改变了正常皮肤屏障的完整性和药物通透性, 使药物吸收速度相比屏障功能正常的皮肤有不同程度增加, 进而可能导致潜在过敏性及其他毒副作用的发生率增加。

因此, 在经皮制剂安全性评价研究中必须注意与临床实际情况相吻合并考虑如何采取更接近实际的措施, 如动物皮肤病理状态、透皮方式等方面均存在如何模拟临床的问题。由于毒理实验中皮肤脱毛和破损皮肤制备时, 往往会忽略破损皮肤制备方法的异同对试验结果潜在的影响, 主观认为常规方法均能使皮肤破损并获得理想程度, 而忽视了常规方法凭经验操作制备得到的破损皮肤可能存在明显差异, 这种差异一旦影响到透皮渗透速率, 即会导致药物在动物体内的暴露量产生差异, 将无法明确诠释药物经皮吸收后的症状反应及程度与药物经皮给予剂量、实际剂量和毒性暴露量的相关性, 从而可能致安全性评价的结果不准确。故经皮给药制剂毒性试验以皮肤损伤的模拟操作最关键。

本实验通过对比 3 种常见的破损皮肤制备方法, 发现 3 种方法在操作时均能以肉眼直观的观察

到皮肤有明显破损,但破损程度因人员及操作标准的异同等其他影响因素而难以控制。因此,为了确定上述各方法所获皮肤的破损程度是否适宜(即以损伤表皮为度),对所获破损皮肤均进行了组织病理学检查。

组织病理检查结果分析显示:①砂纸打磨至皮肤发红时,镜下皮肤破损程度比较适宜,可见局部表皮缺失,真皮完好。②与肉眼的直观判断恰恰相反,针头划伤破损皮肤镜检则显示皮肤基本完好,这可能是因为该方式对皮肤的破损为非连续性,导致皮肤损伤密度与其他方式具明显差异,再受病理取材限制(即无法大量连续切片),取材具一定随机性且未对其他部位重新取材,故病理检查结果与实际的皮肤破损程度不吻合。因此,在这种情况下应结合破损皮肤的实际操作情况和肉眼观察结果进行判断,最好能准确定位皮肤局部破损位置并重新取材进行病理学检查,以进一步确定破损程度是否适宜。③用4% Na_2S 涂覆5 min,肉眼观察皮肤可见散在出血点,镜下可见皮肤有破损,且破损程度稍重,可导致真皮浅层缺失;另有文献报道^[8],用8%的 Na_2S 脱毛,可确保大鼠皮肤角质层不受破坏,而本实验用4% Na_2S 却使家兔的皮肤受到过度破损,这可能与操作时 Na_2S 停留在皮肤的时间、大鼠角质层与家兔厚度的差异有关。提示用 Na_2S 对完整皮肤组实验动物脱毛操作时,也应注意其对动物皮肤可能会造成不同程度损伤。

体外透皮实验结果分析显示,3种方法制备获得的破损皮肤用于草乌甲素凝胶膏体外透皮试验,其中,针头划伤得到的 J_s 为 $96.82 \text{ ng}/(\text{cm}\cdot\text{h})$ 、砂纸打磨得到的 J_s 为 $210.2 \text{ ng}/(\text{cm}\cdot\text{h})$ 、4% Na_2S 脱毛剂得到的 J_s 为 $2.821 \text{ ng}/(\text{cm}\cdot\text{h})$,3种破损方式透过率存在较大差异。进一步分析导致这种差异的原因,认为可能是由于针头划伤导致的皮肤破损为非连续性,破损密度低,且有较大面积的皮肤因未受到有效破坏使角质层仍得以保留,而角质层是药物渗透过皮肤的最大障碍^[9-10],也是经皮给药制剂透过率及其毒性暴露量 and 安全性评价的最大影响因素;4% Na_2S 涂覆5 min,镜检显示皮肤已被过度破损,理论上渗透速率应不会低,但上述结果表明其渗透速率却是3种破损方式中最低的,结合前期实验数据发现草乌甲素在碱性条件中不稳定、分子结构极易破坏的情况,分析此现象可能为 Na_2S 破损

皮肤时因局部皮肤吸附部分 Na_2S 而呈现一定碱性环境,从而使草乌甲素于透皮过程中受到相应破坏所致。是否确切,有待将来研究中作进一步验证。

此外,体外透皮实验时扩散池的温度、接受液的种类、制备皮肤的储存条件、实验时皮肤在一定时间内生理活性改变等诸多方面的因素,均会不同程度影响皮肤透过率的检测结果^[6],但因本实验主要目的是平行比较皮肤不同破损方式下同一制剂的透过率差异,故上述影响因素在此实验中未过多关注。

综合分析提示,用砂纸打磨的方式获取的破损皮肤,应为毒理试验用于模拟临床皮肤损伤病理状态中较理想的方式之一,但实际操作时,应在SOP中明确规定砂纸的规格型号和打磨终点的肉眼判断标准。考虑动物皮肤损伤程度及其透过率的影响因素非常多,药物离体破损皮肤的体外透皮试验结果与在体破损皮肤的透皮试验结果可能会有较大差异,故在今后的试验中还需针对各影响因素进行更深入细致的研究,以期更全面获取经皮给药制剂的药物代谢特征,为经皮制剂的毒理研究和安全性评价提供科学的技术支持。

参考文献

- [1] 王春霞,刘玉玲.透皮给药新进展[J].药学报,2002,37(12):999-1002.
- [2] 郑家润.皮肤局部用药的安全性评价[J].中国新药杂志,2005,14(3):257-259.
- [3] 祁荣,贺锐锐,李博.经皮给药系统研究新进展[J].中医外治杂志,2007,16(1):3-6.
- [4] 王晖.经皮给药的药代动力学研究进展[J].中国临床药理学与治疗学,2007,12(11):1216-1220.
- [5] 郑家润,徐文严.体内经皮吸收实验的方法和实施[J].国外医学:皮肤性病学分册,1998,24(2):78-81.
- [6] 田璐,魏金峰,王爱平.经皮给药实验应注意的问题[J].中国药理学与毒理学杂志,2013,27(3):516.
- [7] 药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则[S].国家食品药品监督管理局,2014:54.
- [8] 袁小红,袁雪妹,范瑞强.香莲软膏体外透皮实验[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(11):10-12.
- [9] 翁伟宇.草乌甲素经皮渗透特性及其透皮给药系统的研究[D].上海:复旦大学,2003.
- [10] 薛冰心.影响药物经皮吸收的客观因素[J].中国现代药学杂志,2010,20(16):2479-2483.