

中药透皮吸收研究概况

湖南中医学院附一院(长沙 410007) 潘晓明*△ 段晓慧

摘要 介绍近年来国内中药透皮吸收方法研究概况,从人体透皮试验、动物透皮试验、体外扩散吸收模型试验 8 个方面,就 10 种已有的方法进行了分析比较。

透皮给药治疗系统在近 10 余年发展很快,现在已能够透皮控释给药,如何将众多的中医外敷给药,引入透皮给药的现代研究之中,许多学者已开始做有益的尝试。

1 人体透皮试验

人体透皮试验,主要有正常人体剩余量测定法(皮肤减量法)、体内吸收(排泄物、血液)测定法、生物利用度法等,是药物透皮吸收研究较为简单和实用的方法。

1.1 剩余量测定法:是将所测药物按一定规格贴在正常人皮肤的特定部位,定时揭取,用一定的溶剂提取残余药物,进行含量测定,连续进行,以贴药时间为横座标,以药物样品 0 吸收度减不同时间揭下膏药的吸收度之差为纵座标,做药物透皮吸收曲线,再计算药透皮吸收量的方法。

杨基森等^[1]采用人体正常皮肤减量法对乌头碱在伤湿止痛橡皮膏中的体外释放进行了研究。将 $5 \times 6.5 \text{ cm}^2$ 的膏药贴于健康受试者的双臂内侧,分别于 2、4、6、8、10、12、16、20、24、36、48、60、72、120h 撕下,洗脱膏层,萃取总生物碱,薄层层析分离乌头碱,薄层扫描法测定乌头碱含量,同法平行 3 次,取其平均值,得累计释放药量,由零时间测得值计算累积释药百分率,作表及释放曲线。结果表明药物减量随时间延长而增大。2h 为 23.81%,20h 为 75%,72h 为 85.49%,120h 为 86.46%。并与扩散法做了比较。

刘华钢^[2]用人体正常皮肤释药量法测定了银屑净橡皮膏中某主药(系生物碱)的释放与透皮吸收率。将银屑净橡皮膏($3.5 \times 5 \text{ cm}^2$),分别于 4、8、12、24、48h 撕下做主药含量测定,用 0 时间作对照,计算释药百分率。用氯仿、无水乙醇混合液浸泡撕下的橡皮膏,连续 3 次,为待测液,以混合溶媒为空白对照液,用 751G 紫外分光光度计在 365nm 处测定吸收值。结果累计释药量 4h 为 6.50%,12h 为 15.03%,48h 为 8.65%。表明主药随时间延长而吸收增加。

裴妙荣等^[3]将骨质增生膏贴于健康人背部,每人 14 块,1d 后开始揭取,每天各取 2 块,皮肤上残留部分用酒精棉球擦下,7d 揭完。用醋酸乙酯连续回流提取,用 721 型分光光度计,按黄酮类比色法测定各样品中淫羊藿甙的剩余药量。以贴药天数为横座标,以原膏药样品 0 吸收度减不同时间揭下膏药吸收度之差为纵座标,做出了药物透皮吸收曲线。结果表明,药物透皮吸收量随贴药时间的延长而增加,并得出该膏药可以较为持久地释放药物。进一步用硅胶薄层定性表明,经萃取得到的醋酸乙酯液所含主要成分淫羊藿甙与对照一致,提示这种方法具有一定的可靠性。

赵洪武等^[4,5]采用人体透皮吸收剩余量法测定了如意金黄散黑膏药中小檗碱的透皮吸收量。他们把黑膏药(每张含 3g)3 张贴于被试者的大腿内侧,分别于 12h、24h、48h 各揭取一张,将药片用石油醚溶解,并用石油醚洗净皮肤及胶布上残留的黑膏药,二者合并,乙醇

* Address: Pan Xiaoming, The First Affiliated Hospital of TMC, Changsha

△上海中医药大学博士研究生

提取后,用定量毛细管在硅胶GF254薄层板点样20nl,以正丁醇-冰醋酸-水(7:1:2)为展开剂,再用岛津CS-930型双波长薄层扫描仪,测出各时间小檗碱的剩余量,以空白计算出各时间内小檗碱吸收量,进一步计算其生物利用度,结果表明,吸收量随时间延长而增加,而且不同制剂的黑膏药的吸收率不同。

1.2 体内吸收测定法:是将所测药物外敷(贴)于人体特定部位,然后连续采血、取尿,测定药物所含特殊成分的吸收量以观察药物的透皮吸收情况,为提高药物的生物利用度和防止不良反应提供依据。

刘瓦利等^[6]选择52例慢性湿疹和50例神经性皮炎患者,用含铅中药(密陀僧等)的水包油型霜剂,每天擦患处2~3次,平均用药1.5个月,最短2周,最长3个月。总有效率为91.5%。未见明显不良反应。采用双硫脲比色法测定尿铅含量,结果治疗前后尿铅含量无明显变化,提示使用是安全的。

章正兴^[7]用自制黑膏药(含四氧化三铅 Pb_3O_4)治疗20例慢性溃疡患者,并用尿铅法和尿中粪卟啉半定量法测定铅的吸收量。结果用药前20例患者尿铅平均为 $0.064 \pm 0.014 \text{mg/L}$,用药1~2周内无明显变化,1个月后增加 0.0027mg/L ,2个月后增加 0.0054mg/L ,3个月后增加 0.01mg/L 。停药2个月后基本恢复正常,尿卟啉无变化。提示黑膏药中的铅虽可以吸收,但控制贴药面积,一般不会引起铅中毒。

从现有文献来看,有关中药透皮吸收的体内吸收法测定还限于对重金属离子铅的观察,而真正药物有效成分的透皮吸收及其代谢产物测定的体内法研究还没有建立。由于中药成分复杂,透皮吸收成分的量有限,加之体内的代谢分解,使其采用体内法测定尚有许多困难。不过在中药黑膏药类药物的安全监测和单一成分制剂的研究中还是很有意义的,特别是对透皮吸收的药代动力学研究更有价值。

2 动物透皮吸收实验

动物透皮吸收给药实验,是将药物敷贴于动物的皮肤,通过测定血、尿等的药物(或代谢产物)含量或将用同位素标记的药物敷于皮肤,进行各组织器官示踪及整体自显影来研究药物透皮吸收和在体内分布的方法。

2.1 动物体内吸收血尿测定法:刘瓦利等^[6]将含铅霜剂涂敷家兔背部脱毛区(约占体表面积4%),平均每只家兔总用量6g,疗程1个月,正常组及皮炎组20只,结果皮炎组20只家兔用药前尿铅含量平均为 0.017mg/L ,用药4周后平均为 0.03mg/L ,自身前后比较差异有显著性意义。采用石墨炉原子吸收流测定血铅浓度,发现用药2周和用药4周者均较用药前明显升高($P < 0.01$),且4周者较2周者为高($P < 0.01$),提示霜剂中的铅可以透皮吸收入血。

2.2 示踪法测定:是用同位素标记待测物,然后敷贴于皮肤,在一定时间内收集血、粪、尿测定其同位素闪烁数,同时将各种脏器组织亦测其放射性分布数,以确定药物透皮吸收及其分布的方法。

周文浴等^[8]采用放射性同位素示踪法观察外敷消炎中药的透皮吸收情况。他们将自制的“消炎灵”敷剂中的冰片和盐酸小檗碱用低温放电爆射法进行 ^3H 标记,薄层层析分离得 ^3H -小檗碱、 ^3H -冰片。纯化的标记物以甲醇作溶剂,放化纯为99%,每块敷剂上的放射性量为 $\geq 1.85 \times 10^4 \text{BP/g}$ 体重。在麻醉下将消炎灵贴敷于大鼠腹部,于敷药后1、3、6、9h在尾静脉取血50ml;同时收集尿(100ml)、粪(50mg),置闪烁瓶中备测,末次取血后,立即深麻处死动物,分别取各种脏器组织50~100mg,观察放射活性量,结果表明,冰片在体外的残留率很高,可能的透皮量不足外敷量的5%;小檗碱虽较大,但仍有大半留在体外。血液

标本检测提示,在贴敷的9h内,虽有随时间延长增加的趋势,但浓度并不高。在脏器组织中以敷药区腹壁肌的放射性量最高,不过病变部位和正常部位间无显著差异;十二指肠和肝脏有较高的放射性; ^3H -小檗碱在胰、肾、脑组织, ^3H -冰片在心、肺、脾、肾中浓度相对较高。尿粪中均有放射性排出,炎症鼠较正常鼠量大。作者认为外敷中药可以部分透过皮肤,但量有限,炎症处比正常皮肤透过量大0.5~1倍,动物的透皮吸收试验不能完善地反映人体皮肤对药物的渗透吸收状况,研究时应多种方法结合起来,以更好地反映临床实际。

2.3 整体自显影法:整体自显影法就是将标记过的药物外敷皮肤,待吸收后将动物进行整体自显影照相,以检测放射性分布情况的方法,具有动态、直观、系统的优点。

周文浴等^[8]用含 ^3H -小檗碱、 ^3H -冰片的“消炎灵”外敷大鼠,进行整体放射性自显影实验,由于脏器内的放射性药量太低和感光材料不够敏感,实验未能取得理想的效果。不过这是已报道的中药外敷透皮吸收自显影研究的首例。

3 体外扩散等吸收模型试验

这是一类模拟皮肤吸收建立起各种模型来研究药物释放及透皮吸收的方法。它具有定量准确,可以控制,重复性好的优点,是目前透皮吸收研究的主要方法。不过现有的方法都有一定的局限性,有必要加以完善。

3.1 体外扩散池法:体外扩散池法是模拟皮肤条件,在流动溶液中进行定时定量测定药物释放和透皮吸收量的方法。

杨基森等^[1]用体外扩散池法测定了伤湿止痛膏中乌头碱的释放吸收。方法是在扩散样品装置上(6.5cm^2)固定同面积的橡皮膏样品,置释放池中,使膏层表面与释放液面水平接触,但不浸没于释放液中。释放液为生理盐水,按皮肤表面酸罩的生理要求调pH值为4.26。释放池悬挂于恒温水浴中,通入相应的恒温维环水流。释放池底的转子,在池外磁场的作用下,以80r/min的速度旋转。按2、4……72h时间序列,分别取出样品器,取下样品,冷风吹干,未分离,测定乌头碱含量,并换算成与人体正常皮肤减量法同面积的释药量及累积释放百分率。结果表明释放百分率随时间延长和温度升高而增加,作者认为,他们所建立的实验模型与皮肤减量法的药物累积释放率间有极好的相关性,用回归方程转化模型释放率而得的皮肤估计释放率与实测值十分接近,认为模型法可代替皮肤减量法进行橡皮膏中药物释放的研究。

王锐等^[9]用丹皮浸膏的离体鼠体扩散模型进行丹皮酚透皮吸收率的研究。具体方法是在Franz扩散小室的基础上,设计了磁力搅拌单室扩散释药仪,他们将大鼠处死后取腹部皮肤,剥净毛,尽量除去皮下组织,然后将皮肤固定于样品室和接受室之间,真皮一侧与接受液接触,排净气泡,取丹皮浸膏0.5~1.0g,均置于样品室的皮肤上。接受液为林格氏液(23ml),水浴温度 $37\pm 2^\circ\text{C}$,在0~8h期间,取接受液进行测定。将丹皮酚用TLC-荧光法测定检查,做出曲线,得回归方程,计算不同时间的丹皮酚透过量。结果表明,丹皮酚可以透过皮肤,其透过量随透皮时间延长而增加。作者认为,丹皮提取后可经皮给药,并认为体外透皮实验研究的主要影响因素为皮肤厚度,接受液的选择及透皮实验装置的设计。吴铁等^[10]运用类似的方法进行了薄荷脑促进扑热息痛透皮吸收作用的研究,得到了促透及透皮吸收率的曲线,提示薄荷脑具有促进扑热息痛透皮吸收作用,透皮吸收量随时间延长而增加。

3.2 滤纸法:滤纸法是体外释药速度测定的最简单方法。刘华钢^[2]将定量溶纸10张一叠用蒸馏水浸润,沥干。取银屑净橡皮膏(主要为生物碱,面积为 $1.5\times 2.5\text{cm}^2$)贴于湿润的定量滤纸上,根据银屑净橡皮膏所含主药具有在紫外光下能显示较强蓝色荧光的特点,分别于

15、30、60、120、180min在254nm紫外光下观察能显示蓝色荧光的层数。结果，荧光显示层数随时间增加而增加，提示主药可以释放，并且有一定的穿透性。

3.3 体外释放度测定：该法近似于体外扩散室法，它是将所测样品直接置于一定的溶液中，定时取出样品测定其剩余量，以研究释放度的方法。张子杨等^[11]用体外释放度法对莪术油膜进行了体外释放度测定。具体方法是取药膜5块，精密称定后分置于密闭的筛网篮中，筛网篮同时置于盛有5000ml蒸馏水的恒温水浴锅里，将水温调至 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ ，启动低速搅拌器。定时取膜，测定膜的剩余含油量，按有关释放原理进行统计学处理，求出T50、Tdo。结果溶出率随时间延长而增加（15min为38.38%，150min为68.51%）经温布尔方程拟合直线化后，符合普通膜剂的一级释放原理，提示该膜具有较好的释药特性。

刘汉清等^[12]用琼脂平皿法对不同基质软膏的释药性能进行了研究。他们用林格氏液加琼脂、 FeCl_3 ，趁热加入12cm的培养皿制成琼脂平皿，将水溶性、脂溶性及O/W乳型基质的黄芩素及阿斯匹林软膏注入预置的8mm琼脂孔中，置于 37°C 水浴定时测定呈色环半径，然后进行拟合直线及回归方程计算。结果O/W型的扩散系数为水溶性的3倍，而油脂性软膏的上述两膏，在7h内未见扩散环。

3.4 微孔滤膜袋扩散法：本法是选择各种适宜的微孔滤膜制做药袋，将预测样品装入后密封，然后再将药袋置于一定量的 37°C 恒温水浴中浸泡，或将药袋置于释放仪转篮中，以蒸馏水为介质，定时取样，测定光密度。

刘汉清等^[12]用微孔滤膜袋扩散法对不同基质软膏释药性能进行了研究。他们用751G分光光度计测定释放介质24h光密度，以100%作为释放相对量吸收值，结果O/W乳剂基质测定值为0.855，水溶性基质为0.470；提示O/W乳剂基质的黄芩素释放量最高。

综上所述，可以看出中药外用制剂的透皮吸收已经起步，虽然仅限于几种制剂和某些药物的单体检测，但所用方法较多，有3类10种，各种方法都有其自身的优缺点。不过从发展趋势来看，应用更贴近人体皮肤的材料，进行药物扩散室法和同位素标记动物动态法进行中药外用透皮吸收研究更准确，更能反映吸收的真实情况。当然由于中药特别是中药制剂所含成分复杂，将其所有成分都测出来目前尚不可能，故利用已知的某种成分作为标准对照物进行研究是十分可行的。相信中药外用透皮吸收的研究，一定能紧随药物透皮吸收特别是外用控释给药发展的步调，呈现出一个崭新的局面。

致谢：本文承谭新华指导

参 考 文 献

- 1 杨基森，等。中成药，1989，11（11）：2
 - 2 刘华钢。中成药研究，1987，9（8）：5
 - 3 裴妙荣，等。中成药，1991，13（5）：18
 - 4 赵洪武，等。中成药，1991，18（4）：2
 - 5 赵洪武，等。中草药，1992，23（10）：525
 - 6 刘瓦利，等。中医杂志，1987（5）：42
 - 7 章正兴。中医杂志，1987（11）：55
 - 8 周文浴，等。中草药，1989，20（1）：25
 - 9 王 锐，等。中草药，1991，22（6）：266
 - 10 吴 铁，等。中国医院药学杂志，1992，12（3）：104
 - 11 张子杨，等。中成药研究，1984（1）：3
 - 12 刘汉清，等。中药通报，1988，1（8）：24
- （1993-10-28收稿）

安徽省高校科技函授部中医函授大专班面向全国招生

本部经安徽省教委批准面向全国招生。选用《全国高等中医院校函授教材》，开设十二门中西医结合课程，与高等教育中医自学考试紧相配合，由专家教授全面辅导和教学。凡具有高中语文程度者均可报名，附邮3元至合肥市望江西路6-008信箱中医函大，邮编230022，简章备索。