

不同皮肤组织对安替比林贴片经皮渗透的差异

李国锋¹, 邢晓辉² (第一军医大学 1. 南方医院药学部; 2. 研究生处, 广东 广州 510515)

摘要:目的 评价皮肤角质层和活性皮肤层对药物经皮渗透的差异。方法 选择安替比林(AT)为模型药物,采用 Franz 扩散池法,考察药物经完整皮肤和剥离角质层皮肤的体外透皮能力 K_p ,并比较吸收促进剂肉豆蔻酸异丙酯(IPM)共存时的促透能力大小。结果 AT 经剥离角质层皮肤的 K_p 是经完整皮肤的 3.24 倍,加入 IPM 后 AT 的 K_p 分别提高到原来的 3.68 倍(经完整皮肤)和 5.17 倍(经剥离角质层皮肤)。结论 本实验为皮肤病态条件,如皮肤受伤或溃疡等时的药物经皮吸收规律研究提供一种新的方法。

关键词:安替比林;肉豆蔻酸异丙酯;剥离角质层;经皮吸收

中图分类号:R943.43 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2003)01-0026-03

Influence of different skin tissue on the percutaneous absorption of antipyrine patch

LI Guo-feng¹, XING Xiao-hui² (1. Institute of Clinical Pharmacology, Nanfang Hospital, 2. Graduate Student Department, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To investigate the influence of skin layers (stratum corneum and viable layer) on the percutaneous absorption of drug with or without isopropyl myristate (IPM). **METHOD** We chose antipyrine (AT) as a model drug. Patches containing saturated concentration of AT were prepared. The in vitro transdermal permeation experiment via different rat skin layers was carried out. **RESULTS** The K_p value of AT via stripped skin was 3.24 times than that via intact skin. The permeability was enhanced with the K_p values being 3.68 and 5.17 times when coexisting with IPM via intact or stripped skin respectively. **CONCLUSION** These data and methods provide a novel approach to evaluate the effects of skin damage and skin disease on drug percutaneous absorption.

KEY WORDS: antipyrine; isopropyl myristate; stratum corneum; stripped skin; *in vitro* percutaneous absorption

透皮给药具有避免胃肠道的不良反应,肝脏的首过效应以及增加患者的接受性等优点^[1]。一般地讲,能否作为一种经皮释放系统的可选药物,阐明来自皮肤不同层的屏障功能以及寻找克服的办法是非常重要的,皮肤的最外层,也就是角质层,一般认为是经皮吸收的主要屏障,并已见有许多研究报告^[2,3]。但是,研究者很少对真皮层影响药物经皮吸收的能力进行评价。这对于某些皮肤的病理条件,如溃疡及皮肤受损情况下的药物经皮吸收规律等具有较大的实际意义。我们选择安替比林(AT)为模型药物,评价皮肤的不同层对其经皮渗透的屏障功能大小。另外,吸收促进剂肉豆蔻酸异丙酯(IPM),具有毒性低,刺激性小,耐受性好等优点,在外用药剂及化妆品中已得到广泛应用,故本实验也评价了其

1 材料与方

1.1 仪器

HPLC 仪器(LC-10AS,岛津,日本京都)、紫外检测器(SPD-10A,岛津),全自动进样器(SIL-10A,岛津);GC 仪

器(GC-15A,岛津);多功能磁力搅拌器(MGS-06,日本);Franz 吸收小池(山本制作所,日本);循环水浴锅(EYEL4,大洋服务中心公司,日本);匀浆仪(Polytron);测厚仪(Test 产业株式会社,日本)。

1.2 试药

AT (Sigma,美国);IPM(关东化学株式会社,日本);贴片基质是聚乙酸和聚丙烯酸的混合物(日本京都药科大学 Strakan 实验室)。其余试剂均为市售品,其中 HPLC 用试剂为色谱纯。

1.3 AT 贴片制备

将 AT 与基质溶于甲醇中,充分混合,必要时加入 IPM 吸收促进剂。混合液均匀涂铺于塑料薄膜上,定型后于 80℃ 烘箱干燥 15 min,自然冷却,覆盖另一层已硅胶化的黏性低的塑料薄膜。制备的贴片室温放置 1 wk 以上,将无药物结晶析出的含药量最高的贴片作为试验用药剂。

1.4 给药方案

本研究采用如下 4 种给药方案组合,分别是(1)贴片 +

李国锋博士,主任药师,1964 年 8 月出生。E-mail: lgfnf@fimmu.com

完整皮肤;(2)贴片+角质层剥离皮肤;(3)含 IPM 贴片+完整皮肤;(4)含 IPM 贴片+角质层剥离皮肤。

1.5 体外透皮实验

Wistar 大鼠(250~280g),经苯巴比妥腹腔注射麻醉(25 mg·kg⁻¹),用电刀除去腹部鼠毛,放血处死动物,取下已去毛的鼠皮,小心地用蘸有生理盐水的脱脂棉除去皮下脂肪。用 Scotch 胶布剥离角质层,剥离次数 20 次以上,以胶布干净作为角质层剥离完全的标准,用打孔器制备皮肤样本(直径 22mm)和试验贴片样本(直径 8mm,0.502cm²)。将贴片紧贴于皮肤表面后固定在 Franz 吸收池中(接受室体积为 14.5mL)。接受液为含青霉 G(30 mg·L⁻¹)和硫酸链霉素(25 mg·L⁻¹)的生理盐水。整个实验过程恒温 37℃并始终不断搅拌。分别于 0,0.5,1,1.5,2,3,4,5,6,7 和 8h 从接收室中取样 200μL 并立刻补充同体积的新鲜接收液。样品被放在冰箱中直到进行 HPLC 分析。药物的透皮能力用表观透皮系数 K_p 来评价^[4,5]。其定义为:K_p = V(dc/dt)/(AC₀)

在这里 V 是接受室的体积,dc/dt 是稳态时的浓度对时间的斜率,A 为有效扩散面积,C₀ 为药物在贴片中的浓度。

1.6 AT 和 IPM 在皮肤各层的分布量

实验开始的皮肤样本均为完整皮肤。按“1.5”项的实验方法进行,于 4h 结束经皮吸收实验。分离系统各部分,包括(1)取下贴片溶解于 20mL 无水乙醇中,过滤,用 HPLC 或 GC 法测定药物和 IPM 的量作为贴片中的残留量;(2)用 Scotch 胶布剥离角质层(20 次),将胶布用 60mL 甲醇分 3 次提取角质层中的药物和 IPM,合并提取液,蒸发溶剂,残渣溶于 1mL 无水乙醇中,离心,上清液用 HPLC 或 GC 法测定药物或 IPM 含量;(3)剥离角质层的皮肤切成小块,加入 10mL 生理盐水,匀浆,用 60mL 醋酸乙酯分 3 次提取药物和 IPM,合并提取液,蒸发溶剂,其余处理程序同上述角质层;(4)接受液直接进行 HPLC 分析测定 AT 含量,另取接受液 10mL 用 60mL 醋酸乙酯分 3 次提取 IPM,浓缩,残渣溶于 1mL 无水乙醇中,用 GC 法测定其含量。

1.7 分析方法

用 HPLC 仪检测 AT 的浓度,色谱柱为 TSK gel ODS-120T(4.6mm×150mm),检测波长为 254nm,柱温 40℃,流动相为乙腈-0.01 mol/L 磷酸(28:72),流速为 1 mL/min。用 GC 仪器测定 IPM 含量,色谱柱为(2mm×1m,涂有硅胶层,日本岛津),FID 检测器。温度程序包括柱温 150℃,注射 block 250℃,检测 block 250℃和 AUX block 120℃,流速为 50 mL/min。

2 结果

2.1 AT 贴片基本性质

AT 在各种贴片中的饱和浓度为 4%(w/w),IPM 为 5%(w/w),贴片的厚度为(0.73±0.4)μm。

2.2 AT 经完整皮肤及角质层剥离皮肤的经时吸收规律

AT 经完整皮肤和剥离角质层皮肤以及贴片中加入吸收促进剂 IPM 时的经时吸收曲线见图 1。可见,AT 经皮吸收具有明显的滞后效应。剥离角质层后,可增加 AT 的经皮吸

收。IPM 对 AT 经不同皮肤层的吸收均有明显的促进作用。进一步可见,IPM 对 AT 经完整皮肤的促透能力开始 3h 内同剥离角质层后所引起的 AT 吸收增加基本相同,随后的增加速度快于后者。

各种条件下经 8h AT 经皮吸收累积量和经皮吸收能力 K_p 见表 1。8h,AT 经角质层剥离皮肤的累积透皮量是经完整皮肤的 1.5 倍,加入 IPM 后,经完整皮肤和剥离角质层的累积吸收量分别是经完整皮肤的 2.04 倍和 2.32 倍。另一方面,剥离角质层后,AT 的 K_p 值是正常皮肤的 3.24 倍,当 IPM 与药物共存时,K_p 值分别是原来的 3.68 倍(经完整皮肤)和 5.17 倍(经角质层剥离皮肤)。

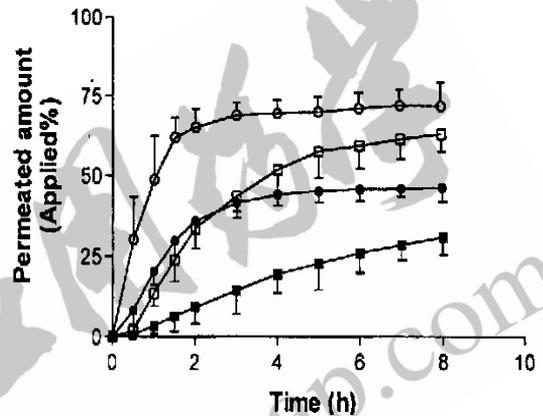


图 1 AT 体外透皮吸收图

Fig 1 In vitro permeation profiles of AT

■完整皮肤 ●剥离角质层皮肤
□完整皮肤+IPM ○剥离角质层皮肤+IPM
■Intact skin ●Stratum corneum-stripped skin
□Intact skin + IPM ○Stratum corneum-stripped skin + IPM

表 1 AT 的 K_p 和 8h 累积吸收量(n=6)

Tab 1 K_p values of AT and its permeated amount at 8h (n=6)

条件	K _p × 10 ⁴ (cm/h)	累积吸收(%)
完整皮肤	4.56 ± 2.71	30.88 ± 5.52
剥离角质层皮肤	14.76 ± 3.60 ¹⁾	46.26 ± 4.38 ¹⁾
完整皮肤+IPM	16.78 ± 3.14 ¹⁾	62.97 ± 5.44 ¹⁾
剥离角质层皮肤+IPM	23.57 ± 2.91 ¹⁾	71.69 ± 7.75 ¹⁾

注:同完整皮肤组比较¹⁾ P < 0.01

Note:¹⁾ P < 0.01 compared with the intact group

2.3 AT 在皮肤各层的分布

当贴片中加入吸收促进剂 IPM 时,药物残留在基质中的量为无 IPM 的 54.11%。同时,AT 在角质层和活性皮肤层中的分布量分别为无 IPM 时的 3.39 倍和 3.05 倍,经统计学分析,相差非常显著。AT 经皮吸收 4h 在各部位的分布量见表 2

表 2 AT 在不同部位分布($n = 4$, 回收率 %)

Tab 2 Distribution of AT at different region at 4h ($n = 4$, Discovery %)

样品	贴片残留	角质层	活性皮肤层	接收室	总回收率
无 IPM 贴片	71.73 ± 2.56	0.59 ± 0.26	0.98 ± 0.23	20.09 ± 2.67	93.39 ± 2.73
含 IPM 贴片	38.81 ± 6.48	2.00 ± 0.27 ¹⁾	2.99 ± 0.37 ¹⁾	51.18 ± 4.99	94.98 ± 3.69

注:同无 IPM 贴片组比较¹⁾ $P < 0.01$

Note: ^{*} $P < 0.01$ compared with the group of patch without IPM

2.4 IPM 在皮肤各层中的分布

透皮吸收 4h, IPM 残留在贴片中, 角质层和活性皮肤中的量分别为(89.5 ± 6.5)%, (1.9 ± 1.2)% 和(0.2 ± 0.1)%, 平均回收率为 91.6%。在吸收液中未能检测到 IPM 的存在。

3 讨论

3.1 随着药物在经皮吸收制剂中的量的增加, 药物的 Flux 渐增加, 直到药物在制剂中的浓度达饱和, 此时药物 Flux 基本不变, 故本实验用饱和浓度的贴片作为试验药剂, 使实验初始条件一致。就发展一种透皮贴片制剂来讲, 实际的制剂含药量要根据体内有效血药浓度的要求来确定。

3.2 本实验条件下 AT 的 HPLC 保留时间为(4.1 ± 0.1) min。由于采用全自动进样器, 每次可连续分析 100 个样品, 所以分析速度得到进一步提高。

3.3 从油/水分配系数考虑, AT 是水溶性较大的化合物, 角质层对其经皮吸收有较大的屏障作用, 吸收具有滞后效应。当角质层被剥离后, 也就不存在了这种屏障作用, 故加快了 AT 的经皮吸收。在临床实际中, 皮肤受损或病变等条件下, 必须充分考虑到这种因素, 更好地客观地评价药物的经皮吸收规律。

IPM 是一种脂溶性高的吸收促进剂, 本实验的结果提示, IPM 可明显增加 AT 经完整皮肤的吸收, 其吸收促进机理可能是 IPM 具有侧链结构, 增加了角质层的脂质流动性^[6], 导致了 AT 易透过角质层。

我们的实验结果表明, IPM 对 AT 经剥离角质层皮肤的吸收具有促进作用。为进一步探讨可能的原因, 我们进行了

IPM 在皮肤各层的分布实验研究。结果, IPM 能贮留在亲水性的活性皮肤层中, 4h 在角质层与活性皮肤层分布量比为 9.5:1。分析这些结果, 我们认为, IPM 对皮肤的不同组织具有不同的影响作用。但进一步的作用机制尚待研究, 如 IPM 是否可逆地影响活性皮肤层的某些特性。

参考文献

- 1 Banie CF, Timothy MM. Transdermal penetration enhancers: applications, limitations, and potential[J]. J Pharm Sci, 1999, 88(10):955.
- 2 Johnson ME, Mitragotri S, Patel A. Synergistic effects of chemical enhancers and therapeutic ultrasound on transdermal drug delivery[J]. J Pharm Sci, 1996, 85(7):670.
- 3 LEE CK, Uchida T, Kitugawa K, et al. Skin permeability of various drugs with different lipophilicity[J]. J Pharm. Sci, 1994, 83(4):562.
- 4 Udata C, Tirucherai G, Mitra AK. Synthesize, stereoselective enzymatic hydrolysis, and skin permeation of diastereomeric propranolol ester prodrugs[J]. J Pharm Sci, 1999, 88(5):544.
- 5 Cronin MT, Dearden JC, Moss GP, et al. Investigation of the mechanism of flux across human skin in vitro by quantitative structure-permeability relationships[J]. Eur J Pharm Sci, 1999, 7(4):325.
- 6 Claudi AS, Bernhard CL. An attempt to clarify the mechanism of the penetration enhancing effects of lipophilic vehicles with differential scanning calorimetry[J]. J. Pharm. Pharmacol, 1995, 47:276.

收稿日期:2001-6-8