

测量经皮吸收最常用的技术是在体外使用切除人体皮肤并安装在扩散池上。虽然该模型对目前的理论有重要的贡献，但是还没有数据能反馈出与体内吸收的一致性。体外吸收数据的相关性在很大程度上依赖于对皮肤限速屏障的了解。文献回顾显示，许多之前体外研究没有采用一般适用于人体内的条件，因此需要一种模型尽可能的接近人体条件。同时对比传统的研究方法进一步阐述说明这个问题。

### 01 无限剂量技术

以前研究吸收最常用的体外方法是无限剂量技术（图 1）。皮肤被安装在两个充分搅拌、充满液体的腔室之间。

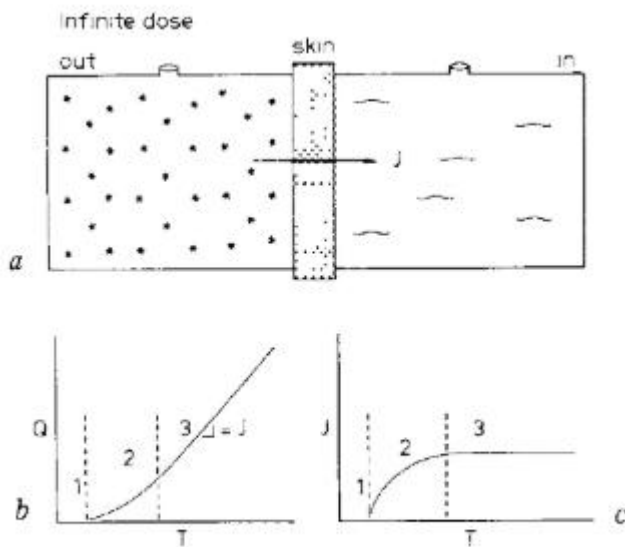


图1

图 1 数据可以表示为：(a)两个腔室之间安装皮肤的示意图，(b)总吸收(Q)与时间的关系，(c)吸收率(J)与时间的关系。

将研究中的化合物添加到膜一侧(供体)溶液中，通过连续取样和测定其在另一侧受体中的浓度来评估吸收。一般来说，在实验过程中渗透溶质数量相对于可用总量占比较少，而且供体主溶液中的溶质浓度没有明显的降低。实际上，它似乎是“无限的”。

对任何时间穿过膜的溶质总量(Qt)进行测量，并将其绘制为时间的函数（图 1b）。

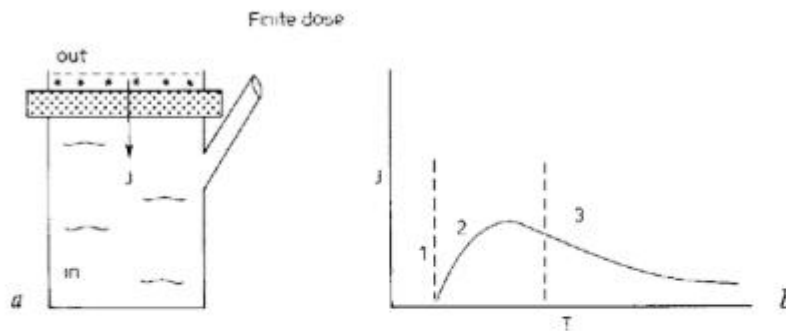
吸收的时间过程可分为三个阶段：

- (1)滞后期，其特征是溶质穿过膜但在此期间受体溶液中没有分子出现。
- (2)非线性阶段，在此期间受体溶液中的溶质浓度开始上升，起初缓慢，但以增加的速度进行。
- (3)线性阶段，在此期间受体溶液中溶质浓度增加速率是恒定的。吸收率或透过量(J)在稳态条件下是恒定的。在这些稳态条件下 J 可以直接从线性方程中的斜率( $\Delta Q/\Delta t$ )计算出来。或者可以将透过量绘制为时间的函数（图 1c）；滞后阶段、上升阶段、稳态可以鲜明的显示出来。

对于使用无限剂量技术作为活体预测模型，许多人提出不同意见。最明显差异在制剂的两侧（无论是分离的角质层、表皮还是全层皮肤均在水溶液浸泡）使用了完全水合的皮肤。在生物屏障中，皮肤表面处在一个暴露干燥的环境中。而水化作用极大地改变了角质层的功能，导致渗透性增加 5-10 倍。大多数化合物不以水溶液的形式接触皮肤，然而有较多的局部应用药物的吸收直接依赖于载体的组成，因此水的常规使用使模型的相关应用受到限制。

## 02 有限剂量技术

为了避免前面方法的缺点，开发了以下技术。尸检时获得人体腹部皮肤安装在扩散室中（图 2a）。真皮用 pH7.4 的等渗盐水浸泡，水通过围绕下腔室的夹套循环并通过恒温控制的水浴将温度保持在 37° C。通过聚四氟乙烯覆盖的磁力搅拌子在 600rpm 条件下，使扩散池中的温度保持均匀。表皮暴露在实验室环境中使皮肤保持在接近生理的条件下，在这个模型中皮肤上的水和温度梯度都保持不变。这种方式适用于多种类型的药物如软膏、乳膏，贴剂等，并能够定量的上样。



*Fig. 2. The finite dose technique. (a) Schematic diagram of the skin bathed by isotonic saline below and covered by a thin 'finite' dose on its outer surface. (b) Rate of absorption (J) vs. time.*

图2

使用有限剂量会改变吸收率曲线，这与前面描述的无限上量模型中观察到的曲线不同。经过一个滞后阶段后，透过量上升到一个峰值然后下降。曲线的上升部分类似于在无限剂量时看到的情况并接近稳定状态。然而随着吸收的进行，皮肤表面药物的浓度下降最终达到一个点，吸收速度不能再维持。在这一点上透过量也开始下降直到样品中活性成份完全透过。

## 03 评估有限剂量技术的有效性

任何体外模型的测试都是其模拟体内系统的能力，为了验证技术的有效性。Feldmann 和 Maibach 对人体经皮吸收进行了研究，他们使用放射性同位素测量了志愿者对一系列有机化合物的吸收。以 4pg/cm<sup>2</sup> 的剂量溶解在丙酮中的化合物并用 C14 标记应用于前臂皮肤，然后在 5 天内测定总尿量的放射性含量。

**Table 1.** Total absorption of various compounds by skin *in vivo* and *in vitro* (expressed as percent of applied dose)

Compound	Absorption <i>in vivo</i> <sup>1</sup>	Absorption <i>in vitro</i> <sup>2</sup>
1. Hippuric Acid	0.2 ± 0.1 (7)	1.2 [0.8, 2.7] (15)
2. Nicotinic Acid	0.3 ± 0.1 (3)	3.3 [0.7, 8.3] (19)
3. Thiourea	0.9 ± 0.2 (3)	3.4 [2.4, 5.5] (52)
4. Chloramphenicol	2.0 ± 2.5 (6)	2.9 [1.0, 5.7] (12)
5. Phenol	4.4 ± 2.4 (3)	10.9 [7.7, 26] (7)
6. Urea	6.0 ± 1.9 (4)	11.1 [5.2, 29] (22)
7. Nicotinamide	11.1 ± 6.2 (7)	28.8 [16, 65] (21)
8. Acetylsalicylic Acid	21.8 ± 3.1 (3)	40.5 [17, 49] (14)
9. Salicylic Acid	22.8 ± 13.2 (17)	12.0 [2.3, 23] (10)
10. Benzoic Acid	42.6 ± 16.5 (6)	44.9 [29, 53] (18)
11. Caffeine	47.6 ± 21.0 (12)	9.0 [5.5, 20] (17)
12. Dinitrochlorobenzene	53.1 ± 12.4 (4)	27.5 [19, 33] (18)

<sup>1</sup> Mean ± SD.

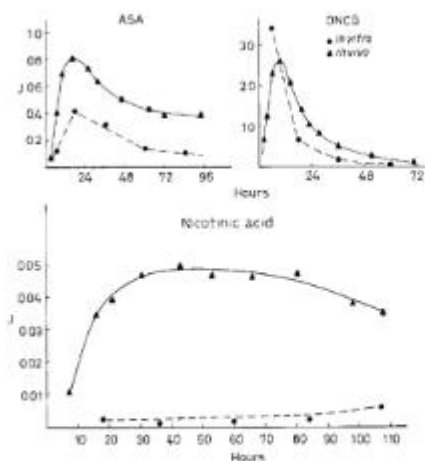
<sup>2</sup> Median with 95% confidence interval given in square brackets.

The values in brackets represent the number of subjects studied.

Feldmann 和 Maibach 研究了 12 种化合物进行体外研究（见表 1），以便对有限剂量技术与人体吸收的相关性进行评估。体内外使用相同的剂型与剂量，基于两个参数总吸收（剂量百分比）和吸收速率（剂量百分比/小时）在研究中获得的数据进行比较。

#### 04 吸收率

研究了十二种化合物中的八种（乙酰水杨酸、苯甲酸、咖啡因、二硝基氯苯、马尿酸、苯酚、水杨酸和烟酰胺）。在图 3 中，显示了三种代表性化合物体外和体内吸收时间过程。将体外实验中获得曲线与人体中获得曲线进行比较，得出了整个趋势具有的一致性，如  $J_{max}$  等。乙酰水杨酸和二硝基氯苯的数据如图 3 所示。



**Fig. 3.** Comparison of the rate of absorption ( $J$ ) determined both *in vitro* and *in vivo* for acetylsalicylic acid (ASA), dinitrochlorobenzene (DNCB), and nicotinic acid.

图3

其余四种化合物（氯霉素、烟酸、硫脲、尿素）显示出一种吸收模式，该模式显示出趋于稳态条件和低吸收率的趋势。体外和体内吸收曲线具有相似的模式，但在吸收程度上存在显著

差异，图 3 参见烟酸。这种情况下表观稳态实际上仅反映了这些化合物非常低的吸收率，即使剂量有限吸收也进行得非常缓慢，以至于在实验过程中皮肤表面示踪剂的浓度几乎没有降低。当实验延长至 1-2 周，这种伪稳态显示为一个非常宽的低峰。

### 05 总吸收

除吸收速率外，总吸收也可作为比较体外模型和体内的重要参数。在吸收过程中表皮脱屑不能在模型中模拟，在活体中即使没有明显的渗透，皮肤上单次给药的药量会持续减少。而在体外模型中，皮肤上的样品会持续渗透。如图 4 所示，在 24 或 48 小时内对皮肤表面进行非常短暂的清洗会导致随后的吸收速度显著降低。

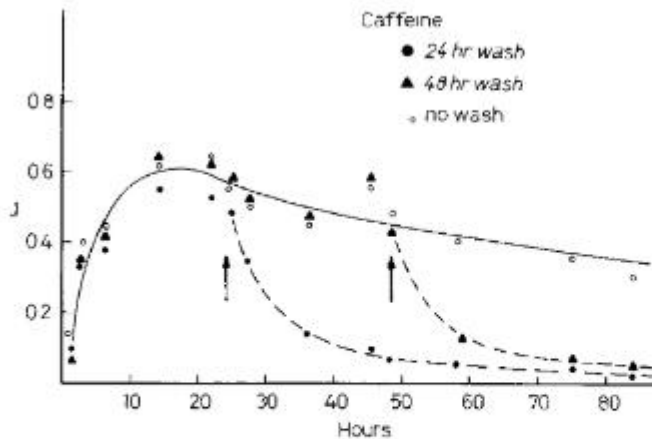


Fig. 4. The effect of a brief wash (~1 min) of the outer surface of the skin at 24 or 48 h on the rate of absorption of caffeine. Three rinses consisting of acetone, then water, followed by acetone were utilized.

图4

根据角质层厚度的数据可以计算出平均每天有一层细胞层的损失，在超过 1 天的实验中此因素具有显著的影响。选择 2 天作为计算体外总吸收时限是比较合理的。首先，结束时必须保证药物能够透过角质层。其次，对于研究的大多数化合物(显示出明显的  $J_{max}$  化合物)，大部分吸收发生在前两天，在计算总吸收时可以忽略随后发生的吸收。第三，用比体内更短的时间来计算体外总吸收具有一定的意义，因为在体内可能由于药物结合或体内代谢缓慢而导致排泄延迟。

表一列出了体外(2 天)和体内(5 天)吸收总量数据。对于吸收良好的化合物，两组数据之间存在一致性（比如大于 10% 的吸收），但不适用于吸收较少的化合物。对于马尿酸、烟酸和硫脲，体外吸收值比体内值高 4~10 倍，但是存在一种正相关的趋势。

### 06 总结

一个好的经皮吸收体外模型能够模拟药物在体内的吸收的方式，用于推测药物在体内吸收方式与程度。



SYSTEM 918-12

LOGAN SYSTEM 918-12 干加热自动透皮系统可以测试不同类型的局部给药制剂的 IVRT 及 IVPT，助力于制药行业的发展。