

人体不同部位皮肤的雌二醇体外渗透率

陈国神、龚赛君、杜洁¹、马国珍、周蓉蓉、刘良初
(浙江省医学科学院药物研究所, 杭州 310013, 中国)

Transdermal permeability of estradiol through human skin of different body regions *in vitro*

CHEN Guo-Shen, GONG Sai-Jun, DU Jie, MA Run-Zhen, ZHOU Rong-Rong, LIU Liang-Chu (Institute of Materia Medica, Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013 China)

ABSTRACT Transdermal permeability of estradiol was carried out by using Valia-Chien double-compartment permeation cell for the following 6 skin regions with intact and without stratum corneum: chest, abdomen, hip, upper arm, thigh and back. The estradiol permeation rates and accumulative amounts within 72 h *in vitro* were examined by HPLC. The results showed that the permeation rates of intact skin from different regions of the body were significantly different ($P < 0.01$), and for the skins without stratum corneum over different regions, the permeation rates or the permeation amounts were about 18-55 times higher than that for the intact skin. The results demonstrated that the stratum corneum acts as the rate-limiting barrier in the skin permeation of estradiol, and that the difference in estradiol permeation rates for different skin regions was mainly caused by the different extents of the barrier.

KEY WORDS permeability; estradiol; skin absorption; cutaneous administration

摘要 用 Valia-Chien 渗透池与 HPLC 法测定人体 6 个不同部位完整及除角质层皮肤的雌二醇体外渗透率。结果表明,完整皮肤以臀部的渗透速率最高,与腹、胸、大腿、上臂和背有显著差异($P < 0.01$),除角质层皮肤的渗透速率明显高于完整皮肤,约增加 18-55 倍。本结果为药物透皮释放系统的研究设计、临床

Received 1989 Jan 24 Accepted 1989 May 4
Now in: University of the Pacific, Stockton CA 95211, USA

选择合理用药部位提供了实验依据。

关键词 渗透性; 雌二醇; 皮肤吸收; 皮肤给药

近十年来药物透皮释放系统 (transdermal drug delivery system, TDDS) 的研究十分迅速⁽¹⁾, TDDS 中药物的透皮释放属于被动扩散过程,其主要屏障是角质层⁽²⁾。因此,不同部位角质层厚度或组织化学上的微小差异就会导致药物渗透程度和渗透速率的差异。同一药物由于给药部位不同,其药理效应也不同^(3,4)。不同研究者对相同药物的透皮试验有时会出现相互矛盾的报道⁽⁴⁾,其主要原因是由于所采用的皮肤部位不同所致。本文首次报道了甾体激素类药物雌二醇在人体不同部位皮肤的体外渗透率。

MATERIALS AND METHODS

高效液相色谱仪 (LC-6 A, 岛津); 数据微处理机 (C-R 3 A, 岛津); 紫外检测器 SPD-6 A; 色谱柱 $\phi 6.0 \times 150$ mm 不锈钢柱, 固定相为 Zorbax C 18; Valia-Chien 渗透池; 雌二醇 (上海第十二制药厂); PEG 400 (进口分装); 甲醇 (HPLC 试剂, 上海吴泾化工厂)。

完整皮肤的体外渗透试验

1 皮肤的制备 取自同一人体不同部位的新鲜皮肤 (健康男性, 30 岁, 突然死亡后 4 h 内取皮, 皮肤功能正常), 仔细分离除去皮下组织, 于 -30°C 保存。使用前自然解冻, 切成一定大小备用。

2 HPLC 分析方法 流动相为甲醇:水 (75:25, vol/vol), 流速 1 ml/min, 灵敏度 0.01, 柱温 30°C , 检测波长 280 nm, 进样量 20 μl 。进样后测定峰面积, 用外标法定量, 按下述公式计算药物的皮肤渗透量, 渗透量

$(\mu\text{g}/\text{cm}^2) = [(\text{样品峰面积}/\text{标准品峰面积}) \times \text{标准品浓度} (\mu\text{g}/\text{ml}) \times \text{渗透池容量} (\text{ml}) / \text{渗透池口面积} (\text{cm}^2)]$

由稳态累积量对时间线性回归拟合所得的斜率,即为该次实验的稳态渗透速率。

本法线性范围: 625-1000 ng/ml, 相关系数 $r = 0.9999$, 回收率 99.84%, 变异系数 1.64%。

3 皮肤渗透试验 将不同部位的皮肤分别紧缚于 Valla-Chien 渗透池⁽⁵⁾各对接受室与供给室之间, 角质层面向供给室, 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) 的雌二醇饱和溶液 (4 ml), 接受室内注入 40% PEG 400/NS (4 ml), 控制渗透池夹层内的水温在 $37 \pm$

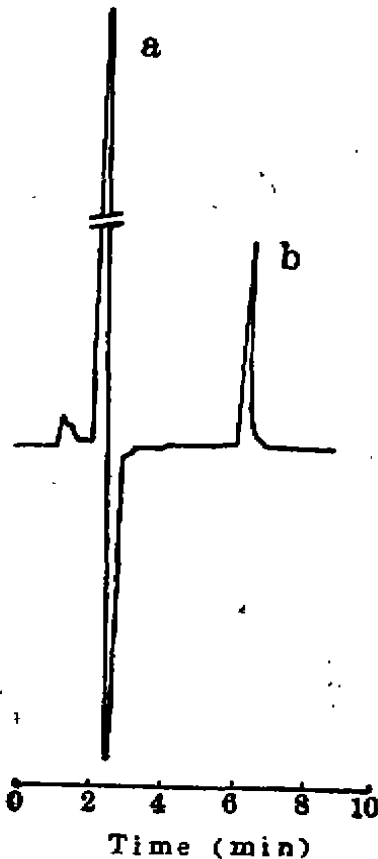


Fig 1. HPLC of estradiol transdermal permeation sample, a) PEG 400; b) estradiol.

0.5°C, 电磁搅拌转速 500 rpm, 按规定间隔时间抽取接受室内全部释放液, 同时加入同容量新鲜 40% PEG 400/NS, 继续渗透释放。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 (6 对) 渗透池中进行试验。用 HPLC 法测定释放液中的雌二醇渗透量 (Fig 1), 并计算渗透速率。

除角质层皮肤的体外渗透试验 将不同部位皮肤的角质层面用滤纸吸除表面水分后紧贴上压敏胶带, 用拇指在胶带上均匀加压并来回移动数次, 剥除胶带。同法剥除 25 次, 每次均换用新的压敏胶带⁽⁶⁾。然后按上法分离除去皮下组织, 并作体外渗透试验。

RESULTS

不同部位完整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, 雌二醇皮肤渗透量见 Fig 2。臀部与胸、腹、背、大腿、上臂内侧皮肤的渗透速率有非常显著差异 ($P < 0.01$), 而腹、胸、背、上臂内侧、大腿间皮肤的渗透速率无显著差异 ($P > 0.05$)。

Tab 1. Comparison of permeation rate of estradiol through human skin of different body region in vitro. $\bar{x} \pm \text{SD}$. *** $P < 0.01$ vs Hip.

	Permeation rate ($\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$)	
	Intact skin ($n = 6$)	Stripped skin ($n = 5$)
Hip	0.094 ± 0.010	1.70 ± 0.18
Abdomen	$0.058 \pm 0.007^{***}$	$2.11 \pm 0.45^{***}$
Chest	$0.056 \pm 0.007^{***}$	$2.17 \pm 0.61^{***}$
Thigh	$0.051 \pm 0.010^{***}$	$2.00 \pm 0.40^{***}$
Arm	$0.050 \pm 0.012^{***}$	$2.75 \pm 0.05^{***}$
Back	$0.048 \pm 0.005^{***}$	$2.51 \pm 0.29^{***}$

不同部位除角质层皮肤的体外渗透试验

6 个不同部位除角质层皮肤的渗透速率比较见 Tab 1, 不论何部位的皮肤, 除去角质层后, 其渗透量均远远大于完整皮肤, 渗透速率也明显高于完整皮肤, 约 18-55 倍, ($P < 0.01$)。

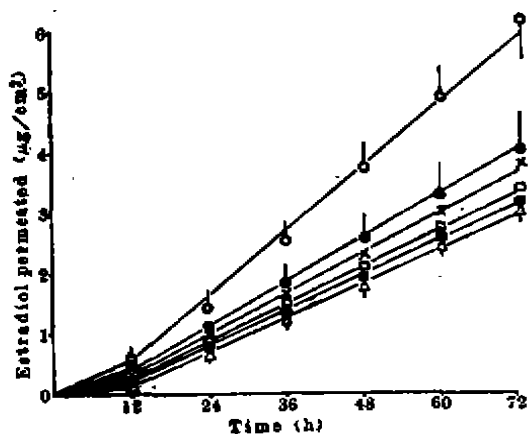


Fig 2. Cumulative amounts of estradiol *in vitro* permeation through human skins over hip (○), abdomen (●), chest (×), thigh (□), arm (■), back (△). $n=6$, $\bar{x} \pm SD$.

DISCUSSION

人离体皮肤渗透率研究的结果表明,不同部位完整皮肤的渗透速率、渗透量可有统计学意义的显著差异;除角质层后皮肤的渗透速率与渗透量明显高于同部位的完整皮肤。本实验结果证实,角质层是阻碍药物吸收的主要屏障,同时也提示:人体不同部位皮肤吸收速率的差异主要是由于角质层(包括厚度及其组织化学)的差异所致,上述结果为药物透皮释放系统的研究设计与临床选择合理用药部位提供了实验依据。已知东莨菪碱 Transderm-Scop⁽⁷⁾ 与硝酸甘油 Transderm-Nitro^(8,9) 的最佳给药部位分别为耳廓后与胸部,雌二醇 Estraderm TTS⁽¹⁰⁾ 标明的给药部位为腹部。本实验结果表明,臀部皮肤对雌二醇的渗透率更高,滞后时间也更短,提示臀部可能是 TDDS 的另一个良好的给药部位。

此外,我们在实验中观察到,除角质层后,

臀部与其它部位皮肤的渗透速率之间也有明显差异存在。这一现象是否与真皮-表皮交接处或附近存在的第二屏障⁽⁴⁾及其强度差异有关,尚不明了。但就完整皮肤的稳态渗透率而言,角质层的屏障作用是主要的。

致谢 上海医科大学药学院奚念朱教授给予指导。

REFERENCES

- 1 Chien YW. Development of transdermal drug delivery system. *Drug Dev Ind Pharm* 1987; 13 : 589,600
- 2 Scheuplein RJ, Blank IH. Permeability of the skin. *Physiol Rev* 1971; 51 : 702
- 3 Cronin E, Stoughton RB. Percutaneous absorption, regional variations and the effect of hydration and epidermal stripping. *Br J Dermatol* 1962; 74 : 265
- 4 Idson B. Percutaneous absorption. *J Pharm Sci* 1975; 64 : 901,908,909,910
- 5 Valia KH, Chien YW, Shinal EC. Long-term skin permeation kinetics of estradiol (I): effect of drug solubilizer-polyethylene glycol 400. *Drug Dev Ind Pharm* 1984; 10 : 955
- 6 Behl CR, Linn EE, Flynn GL, Pierson CL, Higuchi WI, Ho NFH. Permeation of skin and eschar by antiseptics I: baseline studies with phenol. *J Pharm Sci* 1983; 72 : 391
- 7 Shaw JE, Chandrasekaran SK. Controlled topical delivery of drug for systemic action. *Drug Metab Rev* 1978; 8 : 223
- 8 Good WR. Transderm Nitro: Controlled delivery of nitroglycerin via the transdermal route. *Drug Dev Ind Pharm* 1983; 9 : 647
- 9 Shaw JE. Pharmacokinetics of nitroglycerin and clonidine delivered by the transdermal route. *Am Heart J* 1984; 108 : 217
- 10 Good WR, Powers MS, Campbell P, Schenkel L. A new transdermal delivery system for estradiol. *J Controlled Release* 1985; 2 : 89