

为 2.59 nmol/L。

应当注意的问题

当必须根据竞争置换实验估算出特异结合点的浓度时,应当用置换曲线中的原始数据进行非线性回归。这些数据的任何数字转换均应避免,因为这将扩大实验误差。测定 B_{\max} , 未必需要知道放射性配体的放射活性。事实上,当不存在非标记竞争物 ($b_{s,0}^*$) 时,利用方程 (9) 对 IC_{50} 和特异结合的总的估算可能已粗略估算出 B_{\max} 。

此方法可推广用于不均一的受体的结合试验。此时,对置换曲线的分析须给出不同类型受体各自的 $b_{s,0}^*$ 和 IC_{50} 。方程 (9) 仍用于每一结合部分的计算。

如果置换实验涉及不同种的标记的和未标

记的配体,因而具有不同的 K_d , 则方程 (9) 由下式代替:

$$B_{\max} = \frac{b_{s,0}^* K^*}{I^* K} IC_{50} \quad (12)$$

最后,如果研究酶动力学代替受体配体相互作用,则当用未标记底物抑制。用放射标记底物的一定量 s^* (cpm) 测定酶活力时,同样可用此方法。最大酶活力 V_{\max} 可将公式 (9) 按如下计算:

$$V_{\max} = \frac{v_0^*}{FSs^*} IC_{50} \quad (13)$$

v_0^* (cpm/min) 为不存在未标记底物时测得的活性。综上所述,应用微机从竞争置换曲线中直接测定受体总浓度这一方法简单易行。

[邹圣山编译 编辑部校]

促进透皮给药的物理和生化方法

摘要 本文论述了离子电渗法、超声波导入法、放热促进法、激光能促进法等物理方法以及前体药物、化学修饰、蛋白酶抑制剂等生化方法在促进透皮给药中的应用。

物理方法

角质层形成了透皮给药的限速屏障,大部分体表的角质层有 15~25 层扁平角质细胞,总厚度约为 10 μm 。虽然有大分子通过被动扩散而透过角质层的报道,但一般认为经透皮给药的理想药物分子量应 <400 Da。另外,一个可行的透皮给药药物的剂量应 <20 mg/d。虽然必须满足某些一般要求,但以物理方法促进透皮给药,一般对药物分子无特异性。大多数情况下,物理方法不损伤皮肤,有时它们可能优于化学促进方法。物理促进方法包括离子电渗法、超声波导入法、放热促进法和激光能促进法。

离子电渗法促进透皮转运

离子电渗法是促进透皮给药最常用的物理

方法,使用生理学上可接受的电流驱动离子型药物透过皮肤进入机体。离子电渗法用于体表和局部治疗已有几十年的历史,近年来才用于全身透皮给药。因该法克服了肽和蛋白质透皮给药的一些主要局限性,因而特别适宜于肽和蛋白质的透皮给药。这些局限性也存在于那些具有低分子量、低剂量和平衡的油水分系数数的候选药物。

据报道,离子化药物的被动透过量大大小于非离子化药物。毛囊和汗腺管是离子化药物的扩散分路,因此,离子电渗时,在较低的扩散阻力区域(如皮肤损伤处或汗腺和毛囊处)发现离子型药物的浓度较高。一些研究者认为,离子电渗时,电解质通过切除皮肤的转运时存在着小孔通路。Abramason 等通过体内研究证实,染料离子在离子电渗条件下,透过

人体皮肤上的转运服从点样模式,其它一些研究者也得出了相似的离子电渗法给药机理的解释。Grimnes 应用特殊的电极和方法所得的结果也支持微孔假说,他们认为,离子型药物透过人体皮肤的主要通路是汗腺管。Ruddy 等提出皮肤内含水通道的有效平均直径约为 3.6 nm,这一结论是基于在离子电渗条件下,聚乙二醇(分子量 282~1 382 Da)转运透过裸鼠皮肤的数据,并使这些数据与通过园柱状孔的柔性大分子对流转运有关的流体动力学模型拟合。

离子电渗法似乎并未不可逆地改变皮肤的透过性,该法暂时改变了皮肤的形态学和透过性,这种形态学变化可能是电流通过皮肤小孔处所产生局部加热的原因,尽管所用的电流强度 < 1.0 mA,但特别是在小孔较小时,此处电流密度可能很大。人们使用不同的方法,如组织学检查法、差示扫描量热法和红外光谱法研究离子电渗条件下药物转运的机理,但该机理较为复杂,有待进一步研究。

人们已经研究了一些常规药物和肽/蛋白质药物的离子电渗透皮给药。分子量为 6 000 Da 的大分子药物胰岛素通过离子电渗透皮给药的可能性表明,其它肽和蛋白质药物也具有通过离子电渗法达到全身给药的潜力。

为了便于使用,以亲水性胶体制剂进行离子电渗透皮给药,该制剂在临床使用中也较理想。亲水性胶体制剂可降低皮肤的水合作用,降低伴随离子电渗给药的对流。Banga 等研究了三种肽/蛋白质药物(加压素、降钙素和胰岛素),从三种亲水性胶体(聚丙烯酰胺, *p*-HEMA 和卡巴浦尔)的离子电渗透皮给药,结果表明,药物从亲水性胶体制剂透过裸鼠皮肤渗透系数的大小次序为:加压素 > 降钙素 > 胰岛素,降钙素和胰岛素的贮库效应较大,而加压素几乎不存在贮库效应。

学术界和工业界的研究者正积极地研究离子电渗法,该法对一些离子药物的透皮给药富有潜力。为了便于在临床上应用,要求成功地

将电极和装置微型化,既不损伤皮肤,还要使皮肤的透过具有可逆性。

超声波导入法促进透皮转运

超声波导入法是偶合剂/接触剂中的药物分子在超声波的作用下透过皮肤。压电晶体在接通交流电发生振动后,便产生超声波能。该法在美国和东欧临床医疗中已广泛应用多年,它用作药物局部治疗和全身给药辅助手段的历史较短,只是最近人们对该技术才逐渐增加认识。

人们已经提出一些解释超声波促进药物分子透过皮肤的理论。超声波产生的机械能可连续地转变为热能,使吸收介质产生机械紊乱。人们认为是热变化促进了超声波导入给药,在实验条件下,影响超声波与活细胞相互作用的一个主要因素,可能是在细胞被扩散的介质中存在有稳定的或共振的泡状空穴。空穴可导致机械应力,温度升高或促进药物转运的化学反应性。另一个理论认为,超声波改变了角质层脂质结构的透过性,从而促进了药物透过。由于在超声波导入法中各种因素的复杂性,该方法促进透皮给药的确切机理尚不清楚。

超声波可促进氢化可的松进入猪皮下组织,肤轻松凝胶和利多卡因/丙胺卡因软膏在健康志愿受试者身上显示吸收有显著增加。最近采用双盲法(安慰剂对照)对 10 名健康志愿受试者进行交叉临床试验,显示出超声波可促进烟酸酯类药物的透皮吸收。但在其它一些临床试验中,并未发现利多卡因软膏和苧达明凝胶的透皮吸收有显著增加。

体外研究表明,超声波可促进布洛芬透过人体表皮,促进吲哚美辛透过大鼠和裸鼠皮肤。最近研究报道,在超声波条件下胰岛素透过由四氧嘧啶引起的糖尿病家兔皮肤给药,观察到超声波使血浆中胰岛素增加,且血糖浓度降低,而对照实验未见血药及血糖变化。

基于药物分子、皮肤类型、所用超声波能的频率和强度、皮肤和超声波发生器间的介质以及暴露时间的长短,一定要确定影响超声波

导入给药的某些因素或变数。一般选用超声波的频率为 20 kHz~10 MHz, 强度为 0~3 W/cm²。为防止损伤皮肤, 强度和频率都应保持在较低水平。最佳频率为 0.5~1.5 MHz, 最佳强度为 2~4 W/cm²。最近一项研究使用了高频率超声波 (10~16 MHz), 在体内条件下显著促进了水杨酸透过裸鼠皮肤。

在大多数医疗应用中, 皮肤暴露时间一般在 1~10 min。超声波可以是脉冲式的, 也可以是连续的。频率、强度和暴露时间互相联系, 与扩散分子和暴露部位皮肤的性质有关。测定最大暴露限度的一个方法是监测皮肤温度, 当升高 1~2℃时, 则调节或终止暴露。将甘露醇和菊糖溶液在鼠背部给药, 然后立即进行超声波处理, 这两种药物的血浆浓度升高, 均可持续 8 h 之久。

放热法促进透皮转运

在发展透皮给药系统中, 已发现某些以自动加热成分为基础促进药物透过的新技术, 此给药系统正在发展, 其中药物含于由可可脂、异可可脂、含 12~18 个碳原子的植物饱和脂肪酸三酸甘油酯组成的栓剂基质中, 并含有促进剂。为确保栓剂基质在体温下软化后释放出足够的药物, 透皮给药贴片设有一个可自动加热的铁粉室, 当该室接触到空气和水后放出热量, 使蜡质软化, 从而促进体内药物释放。这种类型的另一系统是灸术, 灸术是在人体皮肤上放置一小堆树叶、姜、蒜等类似的东西, 然后将其点燃, 灸术在东方医学上用于治疗精神神经病引起的疼痛历史悠久。灸术产生作用是因为灸料中含有腺嘌呤、胆碱和具有高度挥发性的麝香草酚等成分。当灸料燃烧后, 这些成分变成蒸气进入人体血液, 在细胞上产生作用。灸术存在的问题是疼痛、在皮肤上留有疤痕以及有烧焦的气味。在放热促进药物透皮给药系统中, 发明者目的在于利用加热效应而不留下疤痕。其释药系统向发热源供给空气, 通过氧化作用产生热量。

热源隔室包含氧化铁 (46.4%)、活性炭 (20.0%)、木丝 (17.2%)、氯化钠 (4.1%) 和水 (12.3%), 其中的草药隔室含有艾绒和/或其它草药。治疗时将贴片贴于体表, 揭去密封护层, 使空气与发热源混合物接触, 在热源隔室产生控制燃烧, 燃烧室温度保持在 65℃, 持续 6 h, 皮肤表面温度保持在 40~45℃。该温度足以使腺嘌呤、胆碱或混合物中的其它治疗成分挥发, 蒸气通过多孔层进入或透过皮肤。

激光能促进透皮转运

研究表明, 将皮肤反复 (>100 次) 暴露于准分子激光, 皮肤透过性将增加 100 倍以上, 这几乎和使用胶粘带剥离角质层作用相近。使用了足以去除角质层的脉冲激光, 选定波长、脉冲宽度、脉冲能量、脉冲数和脉冲重复率在病人皮肤处去除角质层, 但不显著损伤表皮层, 并在该处给以治疗药物。

研究者使用从氩和氟气体混合物中发出 193 nm 强烈短脉冲紫外辐射的准分子激光, 脉冲能量为 <70.0~>100.0 mJ/cm²。由于较好地控制脱离皮肤的深度和程度, 研究者描述该法为各种治疗药物透皮给药中较好的方法。

生化方法

前体药物用作促进剂

促进药物分子透过皮肤一个可喜的方法是开发使用适宜的衍生物——前体药物, 当前体药物扩散或透过皮肤后, 经生物转变而成为活性母体药物分子。将皮肤透过性较低的药物做成前体药物, 从而改善药物的理化性质和该药的透皮吸收特性, 通过增加或改变官能团形成亲脂性前体药物, 可改善药物分子的皮肤分配行为, 因而从根本上促进了药物透过角质层的转运。虽然短暂地掩盖药物的极性基团, 往往增加了药物的亲脂性以促进透皮给药, 但有时仍需使用较母体药物水溶性大的同系物或水溶性较大的同系物使给药达到最佳程度。

Solan 详细报道了具有理想特点前体药物的合成, 论述了在伯胺、仲胺、酰胺、酰亚胺、羟基、硫羟基、巯基和羧酸基团上引入先前部分。合成后的前体药物在分配系数、溶解度等方面具有新的特点, 经认真筛选, 体内、外研究表明, 以一种赋形剂评价一种或两种前体药物的透皮吸收特性。

前体药物方法也可用于促进肽类药物透过人体皮肤给药。研究结果表明, 三肽——促甲状腺激素释放因子 (TRH) 的 N-辛氧羰基衍生物在体外切除人体皮肤的扩散实验中透过率高, 所有经透过的前体药物基本上以 TRH 存在于接受液中。

化学修饰和促进转运

经化学修饰后, 药物所具有的一些理化性质适宜于透皮吸收, 而且仍保持母体药物的药理活性, 这样可以单独采用化学修饰的办法。此法对肽/蛋白质药物较适宜, 因为此类药物在皮肤内要进行蛋白水解作用, 以合成 D-氨基酸代替天然 L-氨基酸或通过化学修饰肽的骨架结构, 可以减少蛋白水解作用。如 Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu 及其酰胺和酶促反应稳定的亮氨酸脑啡肽类似物 (Tyr-Gly-

Gly-Phe-Leu) 在正癸基甲基亚砷存在时, 透过裸鼠皮肤的含量显著地增加。一种实用的化学修饰是使肽/蛋白质分子中的氨基与聚乙二醇以共价键相结合, 这种肽能减少对酶促降解的敏感性而增加其血浆循环半衰期。该修饰也降低了肽/蛋白质药物的免疫原性。

蛋白酶抑制剂和促进转运

严格地说, 蛋白酶抑制剂并不是透皮吸收促进剂, 但它们能克服肽/蛋白质类药物给药的酶促屏障而增加皮肤透过。近期的一项研究选用大鼠检验了蛋白酶抑制剂抑肽酶、大豆胰蛋白酶抑制剂和甲磺酸卡莫司他 (吸收促进剂) 对加压素及其类似物 1-去氨基-8-D-精氨酸加压素的离子电渗透皮给药的作用。两种药物以被动扩散透过大鼠腹部皮肤, 均不显示任何抗利尿作用, 而在使用离子电渗法后, 两种药物仅有少量被吸收进入皮肤, 同时使用离子电渗法和甲磺酸卡莫司他, 则抗利尿作用被进一步促进。但在相同的条件下, 抑肽酶和大豆胰蛋白酶抑制剂对药物的大鼠透皮吸收无促进作用。

(朱于村编译 顾杜新校)

HPLC 保留指数系统及其在药物分析中的应用

浙江医科大学 曾 苏 刘志强综述

摘要 为实现 HPLC 数据的标准化, 以便各实验室间能互相比对保留数据, 以至建立通用的 HPLC 数据库, HPLC 工作者参考 GC 的 Kovatz 保留指数方法, 建立了三种 HPLC 保留指数系统和校正 HPLC 保留系统。它们是脂肪族-2-酮类 (R-CO-CH₃) 系统、烷芳基酮类 (Ph-CO-R) 系统和 1-硝基烷烃类 (R-NO₂) 系统。HPLC 保留指数的计算公式与 GC 相同。HPLC 校正保留指数的计算则与纸色谱或 TLC R_f 值校正公式相同。

在有机药物和杀虫剂的分析领域中, 色谱法是一大类广为应用的分析技术, 其中以 HPLC 分析速度快、分离容量大、样品处理较简单、有多种检测器供选择、适用范围广等

特点, 而且发展最快。应用 ODS 柱和 UV 检测器已发表了几百种化合物的保留数据。然而由于 HPLC 的保留时间或容量因子的测量结果变异较大, 使得其保留数据在各实验室间的