

抗癌止痛膏透皮吸收示踪研究

沈子龙 易七贤¹ 周 斌

(生物技术中心;¹ 抗癌药物研究所)

摘 要 抗癌止痛膏是一种中药复方外用硬膏,临床应用证明具有良好的抗癌止痛效果。为了弄清它的透皮吸收规律,本实验用膏剂中的一个已知结构的有效成分——蟾立苏的氚标记物作示踪剂进行了实验研究。结果表明,大鼠贴用药膏后 2~72 h,血液中蟾酥浓度维持在 0.98~2.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$,2 h 达到 1.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$;小鼠贴用药膏后 48 h,脏器中均有蓄积,其浓度($\mu\text{g}/\text{g}$ 湿组织)如下:8.56(脾脏)、8.10(肝脏),7.54(肾脏),6.11(肌肉),4.44(心脏)和 3.96(血液);离体试验表明,不同动物皮肤蟾酥的渗透速率($\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$)大小顺序为:小鼠(10.4)>家兔(7.8)>大鼠(4.0)。

关键词 抗癌止痛膏;蟾酥;蟾立苏;透皮吸收

抗癌止痛膏是一种中药复方外用硬膏,由中国药科大学抗癌药物研究所经多年实践、严格筛选研制出的新型抗癌止痛剂。临床应用证明,它具有良好的抗癌止痛效果,而且起效快,作用时间长,与其它止痛药无交叉耐药性,无毒副作用。为了弄清它的透皮吸收规律,我们用放射性同位素示踪法,以其中一个已知结构的有效成分——蟾立苏^[1]的氚标记物作示踪剂,研究抗癌止痛膏中蟾酥的透皮速率,贴用药膏后血液中的浓度与时间关系,以及蟾酥在动物脏器中的分布等,对它的透皮规律作初步探讨。

1 材 料

³H-蟾立苏,放射性比活性 9.25 $\times 10^7$ Bq/mg,放射化学纯度>95%(北京师范大学),抗癌止痛膏(中国药科大学抗癌药物研究所研制),液体闪烁计数器(Beckman LS-5801)。

2 实验方法

2.1 抗癌止痛膏制备

将膏药基质与抗癌止痛药加热混和,制备成 2 cm \times 2 cm 黑膏药贴片,每块含抗癌止

痛药 50 mg,³H-蟾立苏 1.58 $\times 10^6$ Bq。

2.2 大鼠血液中蟾酥浓度测定

取大鼠 4 只,剪净前背部皮肤上的毛(3 cm \times 3 cm),将黑膏药加热软化后贴于皮肤上,用橡皮膏固定之。大鼠置于代谢笼中,让其自由摄食、饮水。分别于贴药后的 2,4,16,24,48 和 72 h 由尾静脉采血 40 μl ,血样置于玻璃闪烁瓶中。用高氯酸 50 μl 和 H₂O₂ 50 μl 消化脱色(70 $^{\circ}\text{C}$,1 h)。冷却后,加入适量乙二醇乙醚和闪烁液 3 ml,配成均相透明样品,送液体闪烁计数器中测量。

2.3 蟾酥透皮吸收速率和体内分布

2.3.1 小鼠透皮吸收速率

健康小鼠 8 只,体重 18~22 g,雌雄各半,分成两组,每组 4 只。第一组,尾静脉注射蟾酥溶液 200 μl (含蟾酥 67 μg ,³H-蟾立苏 6.3 $\times 10^4$ Bq)。放入代谢笼中,让其自由摄食、饮水。收集 24 h 排出的粪便,烘干,研碎,称重。取一定量置于玻璃闪烁瓶中,用高氯酸和过氧化氢消化脱色(80 $^{\circ}\text{C}$,3 h)。冷却后加入适量乙二醇乙醚和闪烁液 3 ml,配制成透明样品,送液体闪烁计数器中测量。第二组,剪净背部毛,面积 2 cm \times 2 cm,贴上黑膏药

(活性面积 $1\text{ cm} \times 1\text{ cm}$, 含抗癌止痛药 12.5 mg)。放入代谢笼中, 让其自由摄食、饮水。24 h 取下膏药, 用湿棉球擦净用药皮肤表面。收集贴药后 72 h 的粪便, 按上法处理和测量。

2.3.2 蟾酥在小鼠体内的分布

实验方法同上述第二组, 只是在贴药 48 h 后, 立即处死动物。取心脏、脾脏、肝脏、血液和非用药部位肌肉。所取脏器需剪碎, 用水洗净血液, 并用吸水纸吸干。称重约 100 mg , 置于闪烁瓶中, 用高氯酸和过氧化氢消化脱色 (80°C , 1 h), 使成分散透明状态。冷却后, 加入适量乙二醇乙醚和闪烁液 3 ml , 配成均相样品, 送液体闪烁计数器中测量。

2.4 离体皮肤渗透速率测定

2.4.1 离体皮肤制备

健康小鼠(体重 $18\sim 20\text{ g}$, 雌雄各半), 大鼠(体重 $180\sim 200\text{ g}$, 雌雄各半)和家兔(体重 2.5 kg , 雌雄各半)各 5 只, 剪净腹部毛, 面积约 $3\text{ cm} \times 3\text{ cm}$ 。处死动物, 用手术剪刀取无毛皮肤, 刮去皮下脂肪和肌肉, 剪成直径 2.8 cm 圆块备用。

2.4.2 测定药物渗透速率

将上述皮肤放在铜丝网上, 内侧与网接触, 外侧贴上药膏 ($1.6\text{ cm} \times 1.6\text{ cm}$), 放入流通扩散室中, 测定其渗透速率。方法同文献^[2]。

3 结果和讨论

3.1 大鼠用药后血液蟾酥浓度

大鼠贴用抗癌止痛膏后, 血液中蟾酥浓度与时间关系如图 1 所示。大鼠贴药 72 h 内, 血液中蟾酥的浓度 ($\mu\text{g/ml}$) 在 $0.95\sim 2.10$ 范围内; 药物透皮吸收很快, 2 h 时, 蟾酥浓度已达 $1.05\text{ }\mu\text{g/ml}$; 24 h 后, 血药浓度呈上升趋势, 72 h 达 $2.10\text{ }\mu\text{g/ml}$, 这可能与用药时间延长后, 皮肤水化程度加重, 药物透皮速率加快有关。

3.2 小鼠用药后的蟾酥透皮吸收速率

小鼠静脉注射蟾酥后, 24 h 内从粪便中

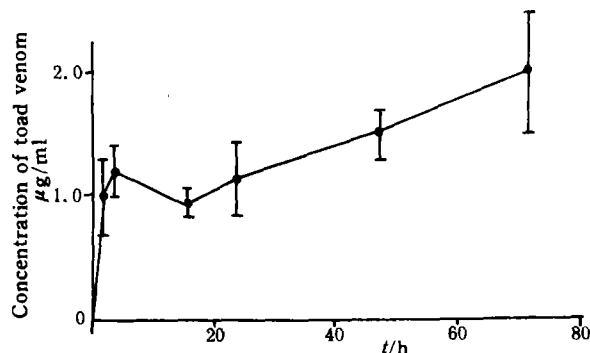


Fig 1. Time course of concentration of toad venom in blood of rat after the patcher was stuck on rat

排泄出的蟾酥平均百分比为 $38.3 \pm 7.1\%$ 。比文献^[1]报道值略小, 可能是时间短未能排泄完全所致。

小鼠贴黑膏药 24 h 后取下, 收集 72 h 排泄出的粪便, 经测定其中含蟾酥量为 $27.5 \pm 7.6\text{ }\mu\text{g}$ 。由此值和静脉注射后粪便中蟾酥排泄的百分比, 可用文献^[4,5]报道的方法计算出蟾酥透皮吸收速率为 $3.0 \pm 0.6\text{ }\mu\text{g/cm}^2 \cdot \text{h}$ 。(24 h 平均透皮吸收速率)。

用同位素标记药物示踪法测定药物透皮吸收速率是一种精确而可靠的方法。因为只要测定出粪中(或尿中)排出的放射性活性(包括原标记药物和它的代谢物), 就可以准确计算出透过皮肤进入体内的药物量。由于药物进入皮肤, 透过皮肤进入血液循环需要经过一定的时间, 因此收集粪排泄的时间要比静脉注射给药收集粪便时间长。

3.3 蟾酥经皮吸收后在小鼠体内的分布

小鼠贴药膏 48 h 后, 蟾酥经皮吸收在体内的分布如图 2 所示。在不同脏器中含量不同, 其大小顺序为脾脏 > 肝脏 > 肾脏 > 肌肉 > 心脏 > 血液。在所测定组织中, 蟾酥含量大于血液, 说明蟾酥在上述组织中有蓄积, 这也许与抗癌止痛药能消除某些癌性疼痛有关, 文献^[3]报道蟾酥具有较好的镇痛作用, 抗癌止痛膏的镇痛作用, 是与其中含有蟾酥, 并能透过皮肤进入体内有关。

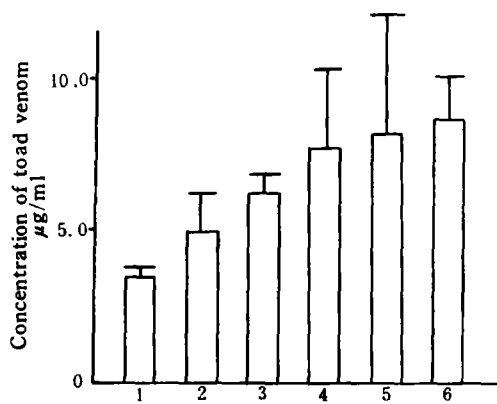


Fig 2. Distribution of toad venom in mice after the patcher was stuck on mice for 48 h

1-blood 2-heart 3-muscle 4-kidney 5-liver 6-spleen

3.4 黑青药中蟾酥离体皮肤渗透速率

经用流通扩散仪测定,不同皮肤的渗透速率($\mu\text{g}/\text{cm} \cdot \text{h}$)如表 1 所示。它们的渗透率显著不同,其大小顺序为小白鼠(10.4) > 家兔(7.8) > 大鼠(4.0)。

参考文献

- 1 放射化学研究室,肿瘤研究组. 蟾立苏的氚标记及其在小鼠体内的分布与排除的研究. 北京师范大学学报, 1977;1:60
- 2 沈子龙,徐进宜,蔺胜照. 药物透皮示踪研究——体外流通扩散室法. 中国药科大学学报, 1987;18(2):156
- 3 江苏新医学院编. 中药大辞典(下册). 上海人民出版社, 1977
- 4 Robert LB, Raymond FS, Elaine RC, et al. Methods for *in vitro* results. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1982;82:474
- 5 沈子龙,张志芬,张明香等. 硝酸甘油贴剂(心泰膏)透皮吸收示踪研究. 南京药学院学报, 1986;17(3):212

Tab 1. *In vitro* the average permeabilities ($\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$) through various kinds of animal skins. $\bar{x} \pm SD$, $n=5$

Animal skin	Permeability, $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$									Mean
	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h	9 h	
Mice	8.0 \pm 0.3	9.0 \pm 0.5	9.4 \pm 1.2	7.8 \pm 1.7	14.0 \pm 3.7	10.3 \pm 4.2	10.6 \pm 4.8	17.3 \pm 1.6	7.7 \pm 2.0	10.4 \pm 3.0
Rat	3.0 \pm 1.2	4.4 \pm 1.8	3.8 \pm 2.9	4.3 \pm 2.4	3.2 \pm 1.3	6.6 \pm 1.2	4.2 \pm 0.7	2.8 \pm 1.0	3.5 \pm 1.8	4.0 \pm 1.0
Rabbit	7.3 \pm 2.5	11.5 \pm 3.0	8.4 \pm 3.2	7.9 \pm 1.3	11.5 \pm 3.2	10.4 \pm 5.4	4.5 \pm 1.1	6.2 \pm 0.5	5.0 \pm 2.3	7.8 \pm 2.2

Studies on Percutaneous Absorption of Anticancer and Analgesic Patcher with Radioisotopes Tracer

Shen Zilong, Yi Qixian and Zhou Bing

Biotechnic Research Center

The Anticancer and analgesic pather is a traditional Chinese compound medicine containing toad venom. The rate of percutaneous absorption, concentration of drug in blood and distribution of toad venom in animals were studied *in vivo* and *in vitro* with ^3H -resibufogenin (an effective constituent of toad venom) as tracer. Experimental results *in vivo* showed that concentration of ^3H -resibufogenin in blood ranged 0.98~2.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ for 72 h after the patcher was spread on skin of rat, ^3H -resibufogenin was distributed widely in spleen (8.56 $\mu\text{g}/\text{g}$), liver (8.10 $\mu\text{g}/\text{g}$), kidney (7.54 $\mu\text{g}/\text{g}$), muscle (6.11 $\mu\text{g}/\text{g}$), heart (4.44 $\mu\text{g}/\text{g}$) and blood (3.96 $\mu\text{g}/\text{g}$) after the patcher was stuck on mice for 48 h. *In vitro* the average permeabilities ($\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$) through various kinds of animal skins are as follows; 10.4 in mice, 7.8 in rabbit and 4.0 in rat.

Key words Anticancer and analgesic patcher; Toad venom; Resibufogenin; Percutaneous absorption