

中华人民共和国国家标准GB/T

27818—2011化学品皮肤吸收体外试验方法

详细介绍：

GB/T 27818—2011

前言

本标准按照GB/T1.1-2009 给出的规则起草。

本标准与经济合作与发展组织(OECD) 化学品测试方法 No. 428(2004)《皮肤吸收：体外试验》(英文版)技术性内容一致。

本标准作了下列结构和编辑性修改：

——增加了范围一章；

——将OECD428原文中的“初始考虑”和“介绍”部分作为本标准的引言；

——将OECD428原文中的“结束程序”和“分析”部分作为本标准“4.10 染毒时间和取样”；

——将OECD428原文中的“数据与报告”和“结论”部分作为本标准“5 试验数据和报告”；

——将OECD428原文附录中的“定义”作为本标准“2 术语和定义”；

——计量单位统一改为我国法定计量单位。

本标准由全国危险化学品管理标准化技术委员会(SAC/TC 251)提出并归口。

本标准起草单位：中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所、天津市疾病预防控制中心、中国化工经济

本标准主要起草人：王延让、刘清君、林铮、杨德一、刘保峰、刘静、张明。

引言

本标准参考了OECD 化学品测试方法

No. 428(2004)《皮肤吸收：体外试验》(英文版)。该指南为离体皮肤吸收试验提供方法，既可以结合 OECD 皮肤吸收(体内试验)使用(1)，也可以单独使用。该测试方法推荐OECD

关于皮肤吸收的研究文件(2)为指导性文件，以协助基于该方法为依据的实验设计。OECD

指南性文件将有助于在特殊情况下选择使用合适的体外操作规程，以及确保通过该方法所得结果的可靠性。

检测皮肤吸收和透皮吸收的方法可分为两类：体内试验和体外试验。关于体内皮肤吸收的方法已建立，并提
OECD

另一指南中单独介绍，检测皮肤吸收的体外方法已经使用多年。尽管利用该方法所进行的正式有效的体外吸

OECD 专家在1999年达成一致意见，认为已有充分的数据支持该方法(3)，此外，该方法提供

的详细资料也证实了这点，其中包括体内外试验方法直接比较所得的重要数据(2)，大量专著论述了该观点并

12)。体外试验既可测量化学品经皮肤进入到体液的扩散，也可以单独利用非活性皮肤来测量这种扩散，或

渗透和皮肤代谢。该方法在筛选比较不同化学品以不同方式进入或通过皮肤转运及在评价人类经皮吸
收提供有用模型方面都有特殊的用途。

体外试验并非适用于所有情况和所有类型的化学品。仅适用于皮肤渗透的最初定性评价。在某些情况下，应

OECD 化学品测试方法 No. 428《皮肤吸收：体外试验》(2004)(英文版)应进一步明确体外试验方法的适用情

OECD 专家会议报告中提供支持这些结论的附加详细信息(3)，

OECD 化学品测试方法

No. 428《皮肤吸收：体外试验》(2004)(英文版)提出了使用离体皮肤检测受试物透皮吸收和转运的一般原理，尽管它会影响 到进入血液的化学品性质，但是这个过程并不是实际吸收剂量的限制步骤。

化学品 皮肤吸收 体外试验方法

1 范围

本标准规定了化学品皮肤吸收体外试验方法的术语和定义、试验原理、试验方法、试验数据和报告。本标准并非适用于检测所有的情況和所有类型化学品的经皮吸收，仅适用于皮肤渗透的最初定性评价。在某些情況下，应进一步参考体内试验数据。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

未吸收剂量 unabsorbed dose

染毒后，从皮肤表面淋洗下来的以及在遮盖装置上受试物的量，包括染毒过程中从皮肤表面挥发的量。

2.2

吸收剂量(体外试验) absorbed dose;in vitro

在一定时间内，受试物到达接收液或循环系统的量。

2.3

可吸收剂量(体外试验) the absorbable dose;in vitro

冲洗后，留在皮肤表面或皮肤组织内受试物的量。

3 试验原理

受试物(可以是放射标记物)作用于将扩散池分隔为两部分的皮肤表面，一定条件下，化学品需在皮肤上作用于一定时间，然后用适当的清洗方法从皮肤表面除去该化学品。在整个试验过程中，在不同的时间点采集接受液，并分析受试物和代谢产物。

如果使用代谢活化系统，受试物的代谢产物应用适当的方法来进行分析。试验结束时，在适当的情况下，测量受试物及其代谢产物的分布。

在本标准和指导性文件(2)所描述的适当条件下，利用分析接受液和受试皮肤来监测一定时间内受试物的吸收情况。除非能证明受试物仅被吸收液吸收，否则留在皮肤里的受试物的量应被认为是被吸收的量，考虑到进一步的数据分析，其他组分(从皮肤表面洗下来的和留在皮肤里的)也应进行分析，包括所有受试物的分布和回收率。

为了说明试验系统的准确性和稳定性，相关化学品的试验结论应与采用该方法所发表的文献的结论一致。应通过检测合适的参考物质(最好与受试物亲油性相近)来达到这个要求，或通过提供多种不同亲脂性参考物质(如咖啡因、苯甲酸、睾丸酮)的充分经验数据来达到这个要求。

4 试验方法

4.1 扩散池

扩散池由皮肤分隔而成，包括供给池和接收池(图1为典型扩散池样例)。扩散池与皮肤四周应有很好的密封性，保持开放。但在使用无限剂量和部分有限剂量受试物情況下，供给室应封闭。

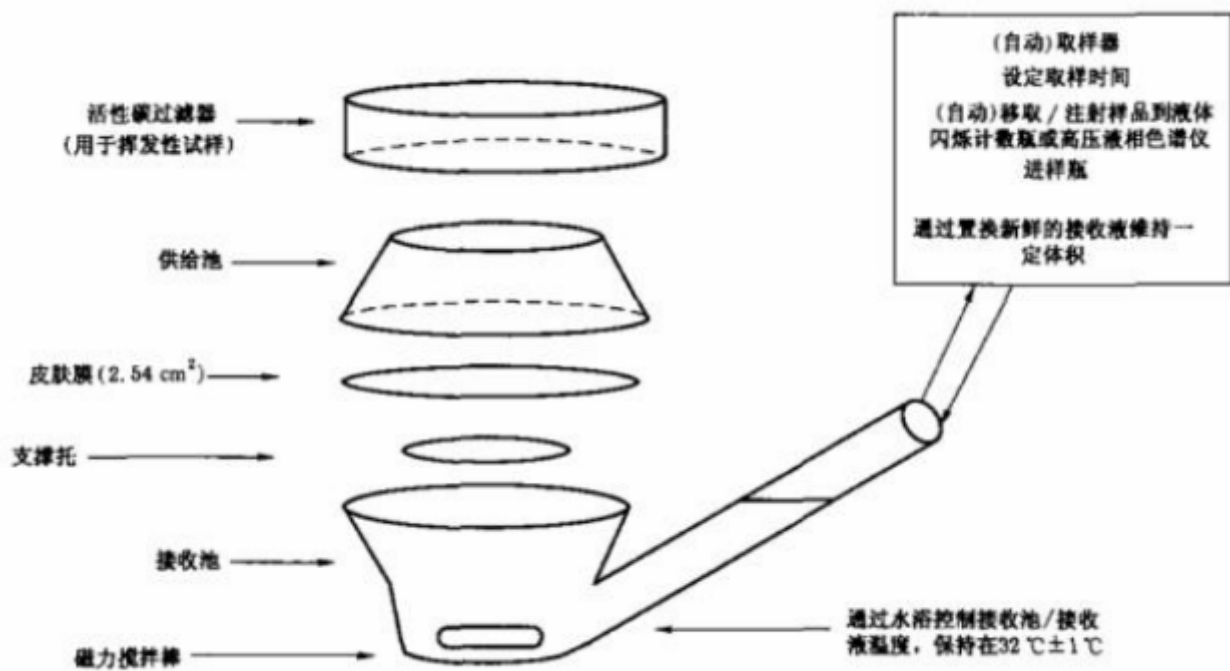


图 1 一种用于体外经皮吸收试验的典型静态扩散池装置示例图

4.2 接收液

尽管证明其他溶液也可作为接受液，但还应优先选择有益于生理的溶液作为接收液。要提供接收液的精确组分，并证实受试物在接收液中能充分溶解，不影响皮肤吸收；另外，接收液不能影响皮肤的完整性。在循环流动系统中，流动速率不能妨碍受试物扩散进入接收液。在静态渗透式系统中，接收液应连续活性。

4.3 皮肤制备

取自人类或动物皮肤的标本都可使用。人类皮肤标本可符合国家和国际伦理学委员会条约的规定（13）。首先，皮刀分离的厚皮肤（典型的是 $200\ \mu\text{m}\sim 400\ \mu\text{m}$ 厚）都可选取。但应避免使用太厚的（约大于 1mm ）皮肤，除非化学品较特殊，需用整个皮肤层来测试。应确定皮肤种类、解剖位置以及制备技术。要求每个试

4.4 皮肤完整性

应正确制备皮肤标本。不恰当的处理可能破坏角质层，因此应检查皮肤标本的完整性。当需要研究皮肤的代一般情况下，新鲜的离体皮肤应在 $24\ \text{h}$

内使用，但适宜的保存期可根据代谢酶系统和贮藏温度的不同而有所不同（14），如果皮肤标本在使用前已

4.5 受试物

受试物是指被用来研究其渗透特性的物质。受试物最好作放射性标记。

4.6 受试物制备

受试制备物（包括纯品、经稀释的或直接施用于皮肤的包含受试物的制备物等）应与人体或其他潜在目标种属可能的暴露一致（或者是理想的替代物）。制备过程中产生的差异应进行合理校正。

4.7 受试物浓度和组成

通常情况下受试物浓度不止一个，应涵盖人类可能的染毒范围。同样，也应考虑检测典型组分的浓 度范围。

4.8 皮肤染毒

在一般情况下，人类接触化学品的剂量通常是有限的。因此，模拟人类染毒的剂量通常每平方厘米皮肤表面使用 $1\text{mg}\sim 5\ \text{mg}$ 固体化学品或 $10\ \mu\text{L}$ 液体化学品。根据研究对象、试验样品物理特性和使用特定条件，对用量进行调整。例如，单位面积使用大剂量化学品时，接触到皮肤表面的化学品可能是 不

4.9 温度

化学品的被动吸收受温度的影响。扩散室和皮肤应保持恒定接近于皮肤正常温度($32^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$)。不同的扩散池要求不同的水浴或加热到一定温度以确保受体/皮肤温度在其正常生理标准。相对湿度最好在30%~70%之间。

4.10 染毒时间和取样

有可能在整个试验过程都得对皮肤进行染毒,也可染毒较短时间(如模拟人类染毒的特定模型)。用相应的清洗试剂洗掉过量的受试物,再收集清洗液进行分析,受试物的清洗规程取决于受试物使用条件,并且应对受试物的清洗规程给出合理说明,通常要求考虑到充分吸收的特征,要进行24 h 采样。由于皮肤完整性超过24h 就会变差,因此采样时间一般不应超过24h。对能迅速渗透到皮肤的受试物可能不用染毒至24 h,但对低速渗透的受试物而言,则需更长时间。接收液采样频率应根据受试物的吸收特性,采样频率要以图的形式给出,

4.11 结果与分析

试验系统的所有组分应进行分析并测定回收率,包括供给池、皮肤表面清洗液,制备的皮肤以及接收液/池。在某些情况下,应将皮肤分成染毒面皮肤和接收池凸缘下面的皮肤两部分,从而分为角质层、表皮和真皮部分进行独立分析。所有这些测试物要求有足够的回收率(放射活性的均数应为 $100 \pm 10\%$,任何偏差都应进行解释),应用恰当的技术方法分析接收液、皮肤、皮肤表面清洗液以及仪器清洗液中受试物的数量。

5 试验数据和报告

5.1 数据

应列出接收液的分析结果,不同时间内受试物在试验系统中的分布和吸收情况。对于有限染毒剂量,应计算从皮肤清洗下的化学品的量、与皮肤结合的数量(分析不同皮肤层)以及接收液中受试物的数量(受试物在试验结束时仍残留于皮肤内,总的吸收量应包括残留于皮肤内的数量。对于无限剂最染毒,需要计算渗透系数(K_p),但吸收百分比是没有意义的。

5.2 试验报告

试验报告应包含方案中规定的需求,除包括应用试验系统的证明外,还应包含以下内容:

5.2.1 受试物:

- a) 物理特性、理化性质(至少包括相对分子质量和 $\log P$ 的分配比)、纯度(放射化学物纯度);
- b) 鉴定资料(如批号);
- c) 在接收液中的溶解度。

5.2.2 受试物制备:

- a) 使用制剂的组分和理由;
- b) 均一性。

5.2.3 试验条件:

- a) 皮肤来源和位置、制备方法,使用前的储藏条件、所有预处理(清洗、抗生素处理等)、皮肤完整性测量、代谢状况、使用的理由;
- b) 扩散池的设计、接收液的组分、接收液的流速或采样次数和规程;
- c) 所用试验制剂的详细资料和剂量选择的依据;
- d) 染毒持续时间;
- e) 从皮肤清除试验制剂的详细内容,如皮肤冲洗;
- f) 分析皮肤的细节以及用于说明皮肤分布的分离技术;
- g) 扩散池和仪器清洗的规程;
- h) 检测方法、提取技术、检出限以及分析方法的有效性。

5.2.4 结果:

- a) 受试物的回收情况(使用剂量=皮肤洗出物+皮肤内的量+接收液+扩散池清洗液);
- b) 每个反应池的回收情况;
- c) 受试物的吸收情况;
- d) 经皮吸收数据(以渗透速度、渗透量或者百分率表示)。

5.2.5 结果讨论。

5.2.6结论

本公司经营销售多种体外透皮皮肤，敬请咨询



联系人陈经理

参 考 文 献

- [1] OECD (2004). Test Guideline 427: Skin absorption; in vivo Method. OECD, Paris
- [2] OECD (2004), Guideline Document for the Conduet of Skin Absorption Studies. OECD, Paris
- [3] OECD(2000). Report of the Meeting of the OECD Extended Steering Committee for Percu-taneous Absorption Testing, Annex 1 to ENV/JM/TG(2000)5. OECD, Paris
- [4] Kemppainen BW and Reifenrath WG. (1990). Methods for skin absorption. CRC Press, Boca Ra
- [5] Bronaugh RL and Collier, SW. (1991). Protocol or In vitro Percutaneous Absorption Studies, i vitro Percutaneous Absorption: Principles, Fundamentals and Applications, RL Bronaugh and HI Ma Eds., CRC Press, Boca Raton, 237-241
- [6] Bronaugh RL and Maibach HI. (1991). In vitro Percutaneous Absorption: Principles, Fun- dament Applications, CRC Press, Boca Raton
- [7] European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (1993). Monograph No. 20, Percutaneous Absorption, ECETOC, Brussels
- [8] Diembeck W, Beck H, Benech-Kieffer F, Courtellemont P, Dupuis J, Lovell W, Paye M, Spengler J, W(1999). Test Guidelines for In vitro Assessment of Dermal Absorption and Percutaneous Penetr Cosmetic Ingredients, Fd Chem Tox, 37, 191-205
- [9] Recommended Protocol for In vitro Percutaneous Absorption Rate Studies (1996). US Feder Register, Vol. 61, No. 65
- [10] Howes D, Guy R, Hadgraft J, Heylings JR et al. (1996), Methods for assessing percutaneous absorption. ECVAM Workshop Report ATLA 24, 81 R10
- [11] Schaefer H and Redelmeier TE. (1996). kin barrier: principles of percutaneous absorption. Karger, Basel
- [12] Roberts MS and Walters KA. (1998). Dermal absorption and toxicity assessment, Marcel De York
- [13] WMA(2008). WMA Declaration of Helsinki-Ethical Principles for Medical Research Involvin Subjects, 59th WMA General Assembly, Seoul
- [14] Jewell, C., Heylings. JR, Clowes, HM, And Williams, FM. (2000). Percutaneous absorption a metabolism of dinitrochlorobenzene in vitro. Arch Toxicol 74:356-365