

中图分类号: R962; R982 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)15-0054-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.15.011



利塞膦酸钠皮肤微透析方法的建立*

梁俊晖, 苏安宇, 李亚欣, 邓世森, 杜锦颜, 王利胜[△]

(广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006)

摘要:目的 建立利塞膦酸钠皮肤微透析方法。方法 以利塞膦酸钠探针体外回收率为指标, 采用增量法确定微透析试验中利塞膦酸钠的灌注速度及取样间隔; 采用增量法和减量法考察灌注液流速及质量浓度对探针体外回收率和损失率的影响, 以验证反透析法用于探针体内回收率测定的可行性。结果 利塞膦酸钠探针体外回收率随流速的升高呈类线性下降。综合考虑试验因素, 确定灌注速度为 1.0 μL/min, 每次采样间隔为 40 min, 此条件下利塞膦酸钠的探针体外回收率为 (45.85 ± 0.63)%。在相同流速及温度下, 不同质量浓度的利塞膦酸钠探针体外回收率变化不明显, 且探针体外增量法回收率与减量法损失率相当 (RSD = 1.82%)。结论 建立的利塞膦酸钠皮肤微透析方法可用于利塞膦酸钠经皮局部药效动力学研究。

关键词: 利塞膦酸钠; 皮肤微透析; 双膦酸盐; 经皮给药; 药效动力学

Establishment of Skin Microdialysis Method for Risedronate Sodium

LIANG Junhui, SU Anyu, LI Yaxin, DENG Shisen, DU Jinyan, WANG Lisheng

(School of Pharmaceutical Sciences, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong, China 510006)

Abstract: Objective To establish a skin microdialysis method for risedronate sodium. **Methods** With the recovery rate of risedronate sodium as the index, the incremental method was used to determine the flow rate of perfusion fluid and sampling interval of risedronate sodium. The incremental method and decrement method were used to investigate the effect of flow rates and mass concentrations of perfusion fluid on the recovery rates and loss rates of the probe *in vitro*, so as to verify the feasibility of the reverse dialysis method applied to the determination of *in vivo* recovery rates of the probe. **Results** The *in vitro* recovery rates of risedronate sodium showed a similar linear decline trend with the increase of the flow rate. Combined with the comprehensive experimental factors, the flow rate of perfusion fluid was determined to be 1.0 μL/min and the sampling interval was determined

*基金项目: 广东省广州市科技计划项目[202206010188]; 广州中医药大学“双一流”与高水平大学学科协同创新团队培育项目[2021xk78]。

第一作者: 梁俊晖, 男, 硕士研究生, 研究方向为药物制剂新技术与新剂型, (电子信箱)240793331@qq.com。

[△]通信作者: 王利胜, 男, 博士研究生, 教授, 研究方向为药物制剂新技术与新剂型, (电子信箱)wls68@126.com。

[4] 倪春艳, 夏宗玲, 钱春艳. 临床药师应用万古霉素治疗药物监测软件参与临床个体化给药的药学实践[J]. 中国医院用药评价与分析, 2019, 19(6): 748-751.

[5] 师亚玲, 方志远, 李 茁, 等. 万古霉素首次监测与个体化给药后血药浓度未达标的影响因素分析[J]. 中国药师, 2020, 23(2): 307-310.

[6] YU YX, LU J, LU HD, et al. Predictive performance of reported vancomycin population pharmacokinetic model in patients with different renal function status, especially those with augmented renal clearance[J]. Eur J Hosp Pharm, 2022, 29(e1): e6-e14.

[7] 王 超. 肾移植后环孢素 A 浓度监测及其影响因素[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(18): 3387-3390.

[8] 宋丽丽, 陈东生, 吕永宁. 环孢素血药浓度的影响因素分析[J]. 医药导报, 2008, 27(1): 98-100.

[9] GAO X, BIAN ZL, QIAO XH, et al. Population Pharmacokinetics of Cyclosporine in Chinese Pediatric Patients with Acquired Aplastic Anemia[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 933739.

[10] 刘慧明, 辛华雯, 余爱荣, 等. ABCB1 3435C > T 基因多态性与肾移植术后环孢素肾毒性的相关性[J]. 中国药师, 2012, 15(6): 751-755.

[11] UMPIÉRREZ M, GUEVARA N, IBARRA M, et al. Development of a Population Pharmacokinetic Model for Cyclosporine from Therapeutic Drug Monitoring Data[J]. Biomed Res Int, 2021, 2021: 3108749.

[12] 张 满, 回广飞, 任天舒, 等. 异基因造血干细胞移植患者环孢素血药浓度及影响因素分析[J]. 临床军医杂志, 2022, 50(9): 926-929.

[13] 陈 晨, 周 强, 张晏洁, 等. 个体化给药辅助系统 JPKD 预测肾移植患者他克莫司血药浓度的准确性评估及影响因素分析[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(2): 235-239.

[14] 王 宁, 陈聪琴, 黄 洁, 等. 基于群体药代动力学软件优化重症感染患者万古霉素给药方案分析[J]. 中国药业, 2020, 29(16): 47-50.

[15] 陆灏迪, 唐 莲, 薛盛敏, 等. 万古霉素群体药代动力学在肾功能亢进患者中的临床验证[J]. 中华危重病急救医学, 2018, 30(5): 444-448.

(收稿日期: 2022-11-29; 修回日期: 2023-03-09)

to be 40 min, and the *in vitro* recovery rate of the risedronate sodium probe was $(45.85 \pm 0.63)\%$ under this condition. When the flow rate and temperature of the perfusate remained constant, the *in vitro* recovery rates of the probe under different concentrations of risedronate sodium did not change significantly, and the *in vitro* recovery rates and loss rates of the probe were approximately equal ($RSD = 1.82\%$). **Conclusion** The established skin microdialysis method of risedronate sodium can be used for the study of the percutaneous absorption pharmacokinetics of risedronate sodium.

Key words: risedronate sodium; skin microdialysis; bisphosphonates; transdermal drug delivery; pharmacokinetics

双膦酸盐是目前临床应用最广泛的抗骨质疏松药物^[1]。美国临床内分泌学家协会(AACE)和美国内分泌学会(TES)制订的《绝经后女性骨质疏松诊断与治疗临床实践指南(2020)》指出,大部分高风险骨折患者可首选双膦酸盐进行初始治疗^[2]。双膦酸盐的药品不良反应主要为消化道损伤、肾毒性及眼疾,与其口服及静脉注射的给药方式密切相关^[3-6]。且口服双膦酸盐要求患者空腹并保持30 min以上的站立或直立坐姿,以减轻药物对消化道的损伤^[7],这对于骨质疏松患者尤其是重症患者难以完成。因此,如何减少双膦酸盐的药品不良反应,提高患者用药便利性及依从性,已成为相关从业人员的研究热点^[8-10]。经皮给药系统可通过皮肤给药,避免了传统给药方式的首过效应、峰谷现象、依从性差等局限^[11],能很好地解决双膦酸盐因口服、注射等方式所致的不良反应问题^[12]。目前,已有以压敏胶、离子配对、透明质酸凝胶、微乳、纳米粒等进行双膦酸盐给药的研究,生物利用度提升,药品不良反应发生率降低^[13]。微透析技术是一种将微灌流取样与透析技术相结合的活体取样技术,具有动态采样、定量分析、采样量小、创伤极小的特点^[14],用于经皮局部药物代谢动力学研究中,能最大限度地保护皮肤完整性及活性,在评价药物渗透性能、药物代谢动力学及药物效应动力学方面有独特优势^[15-16]。利塞膦酸钠为双膦酸盐的典型代表药物,具有强大的抗骨吸收作用及较广抗骨折谱,已成为临床上治疗绝经后骨质疏松症的一线药物^[17-18]。本研究中,通过考察灌流液流速与药物质量浓度对探针体外回收率与损失率的影响,明确利塞膦酸钠皮肤微透析的可行性,为后续利塞膦酸钠的药物效应动力学评价及双膦酸盐类药物透皮评价模式的选择提供参考。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

K2025型高效液相色谱仪(山东悟空仪器有限公司);AUW120D型电子分析天平(日本Shimadzu公司,精度为十万分之一);90-1型恒温磁力搅拌器(上海沪西分析仪器公司);微透析系统包括MD-1000B型流速控制器,MD-0100型灌注器,MD-1001型灌注器推进

泵(美国BAS公司);MAB85双通道低温收集器(瑞典MAB公司)CMA30型线性探针(瑞典CMA公司,截留相对分子质量为20 000);KQ5200DE型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率为200 W,频率为40 kHz);UPTA-20型超纯水机(上海力辰邦西仪器科技有限公司);双通道烧杯(50 mL,四川蜀牛玻璃仪器有限公司)。

1.2 试药

利塞膦酸钠对照品(批号为Y17N8C48386,纯度为98%),四丁基溴化铵(分析纯),无水磷酸二氢钠(分析纯),均购自上海源叶生物科技有限公司;甲醇(色谱纯,北京迈瑞达科技有限公司);乙二胺四乙酸二钠(分析纯,天津市大茂化学试剂厂);氢氧化钠(分析纯,沪试国药集团化学试剂有限公司);0.9%氯化钠注射液(辰欣药业股份有限公司)。所有进入微透析系统的试剂均经0.22 μm滤膜滤过。

2 方法与结果

2.1 利塞膦酸钠含量测定

2.1.1 色谱条件与系统适用性试验^[19]

色谱柱:ChromCore C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:磷酸二氢钠缓冲液(含5 mmol/L磷酸二氢钠,2 mmol/L四丁基溴化铵,1.5 mmol/L乙二胺四乙酸二钠,以4%氢氧化钠溶液调pH至7.2)-甲醇(75:25, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:262 nm;柱温:30 °C;进样量:20 μL。理论板数按利塞膦酸钠峰计应不低于4 000。

2.1.2 溶液制备

微透析对照品溶液:取利塞膦酸钠对照品4.80 mg,精密称定,置100 mL容量瓶中,用0.9%氯化钠注射液溶解并定容,制成质量浓度为48.0 μg/mL的微透析对照品母液;精密量取12.5, 25.0, 50.0 mL,分别置100 mL容量瓶中,加0.9%氯化钠注射液定容,制成质量浓度分别为6.0, 12.0, 24.0 μg/mL的微透析对照品溶液。

对照品溶液:取利塞膦酸钠对照品8.00 mg,精密称定,置100 mL容量瓶中,用流动相溶解并定容,制成质量浓度为80.0 μg/mL的高效液相色谱(HPLC)对照品母液。精密量取5.0 mL,置10 mL容量瓶中,加流动相

稀释定容,制成质量浓度为40.0 μg/mL的对照品溶液。同法逐级稀释制成质量浓度分别为20.0, 10.0, 5.0, 2.5, 1.25, 0.625 μg/mL的系列对照品溶液。

体外透析液及空白透析液:将微透析探针浸入含50 mL 0.9%氯化钠注射液的双通道烧杯中,开启恒温磁力搅拌器[温度为(37 ± 0.5)℃,转速为(200 r/min)],分别以质量浓度为12.0 μg/mL的微透析对照品溶液、0.9%氯化钠注射液进行灌注,灌注速度为1.0 μL/min,开泵平衡60 min后进行收集,即得。

2.1.3 方法学考察

专属性试验:取2.1.2项下体外透析液、质量浓度为12.0 μg/mL的对照品溶液、空白透析液各适量,按2.1.1项下色谱条件进样测定。利塞膦酸钠峰形良好,透析液中其他成分无干扰。色谱图见图1。

线性关系考察:取2.1.2项下质量浓度分别为80.0, 40.0, 20.0, 10.0, 5.0, 2.5, 1.25, 0.625 μg/mL的对照品溶液,按2.1.1项下色谱条件进样测定,以质量浓度(X , μg/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得利塞膦酸钠回归方程 $Y = 9.0567X - 2.5717$ ($r^2 = 0.9997, n = 3$)。结果表明,利塞膦酸钠质量浓度在0.625 ~ 80.0 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取质量浓度为40.0 μg/mL的对照品溶液,按2.1.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果利塞膦酸钠峰面积的RSD为0.36% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.1.2项下质量浓度分别为48.0, 24.0, 12.0 μg/mL的微透析对照品溶液,分别于室温下放置0, 12, 24, 36, 48, 72 h时按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果利塞膦酸钠峰面积的RSD分别为0.63%, 1.48%, 1.72% ($n = 6$),表明微透析对照品溶液在室温下放置72 h内稳定性良好。

2.2 微透析探针体外回收率和损失率测定^[20]

增量法:探针外药物顺浓度梯度透过探针膜进入探针,被0.9%氯化钠注射液接收,使透析液药物浓度升高,此过程为药物的回收。回收率(R) = $C_{\text{透析液}} / C_{\text{环境}} \times 100\%$,其中, $C_{\text{透析液}}$ 代表透析液中药物的质量浓度, $C_{\text{环境}}$ 代表探针外环境药物的质量浓度。

减量法:灌注液中药物顺浓度梯度透过探针膜扩散到探针外环境,被外环境0.9%氯化钠注射液接收,使透析液药物质量浓度降低,此过程为药物的损失。损失率(L) = $(C_{\text{灌注液}} - C_{\text{透析液}}) / C_{\text{灌注液}} \times 100\%$ 。其中, $C_{\text{透析液}}$ 代表透析液中药物的质量浓度, $C_{\text{灌注液}}$ 代表灌注液中药物的质量浓度。

2.3 灌注液流速与取样间隔确定

取0.9%氯化钠注射液50 mL,置双通道烧杯中,浸入微透析探针,使探针膜居液体中心,用保鲜膜束口以稳定瓶内环境,开启恒温磁力搅拌器[温度为(37 ± 0.5)℃,转速为100 r/min],以质量浓度为12.0 μg/mL的微透析对照品溶液为灌注液,在0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 μL/min流速下进行灌注,开泵平衡60 min后收集不同流速下的透析液,每次收集40 μL,每个流速收集3个样品,按2.1.1项下色谱条件进样测定,计算探针体外损失率。体外微透析试验装置示意图见图2。同法,将微透析探针浸于质量浓度为12.0 μg/mL的微透析对照品溶液中,以0.9%氯化钠注射液为灌注液,在不同流速下灌注并进样测定,计算探针体外回收率。

由表1可知,流速在0.5 ~ 4.0 μL/min范围内,利塞膦酸钠的探针体外回收率随着流速加快呈类线性下降,当流速为0.5 μL/min时体外回收率最大(59.76 ± 1.85)%。探针存在较固定的误差范围^[21],选择回收率较高的流速能在一定程度上保证试验的准确性。但过慢的流速会导致取样时间延长,潜在的探针免疫排斥现象同样会干扰试验的准确性^[22],且试验效率低

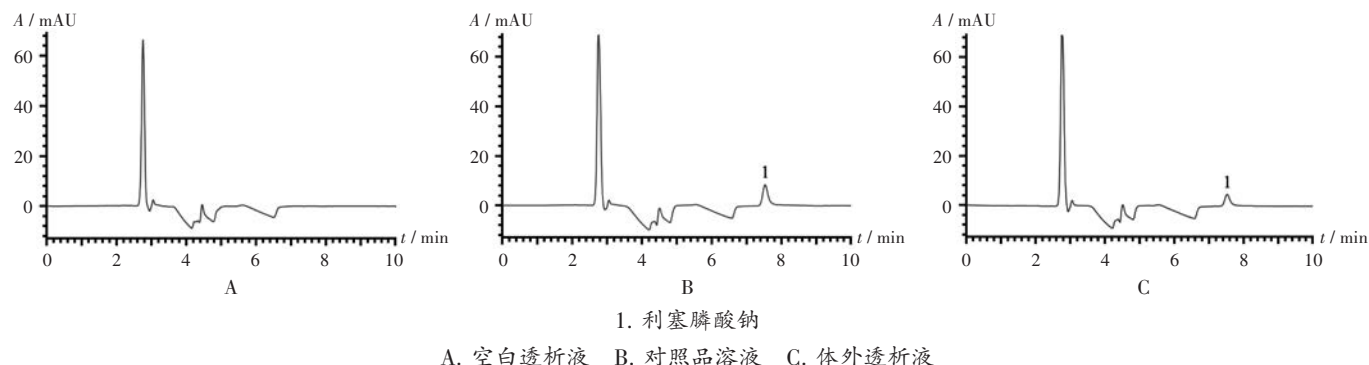


图1 高效液相色谱图

1. Risedronate sodium
A. Blank dialysate B. Reference solution C. In vitro dialysate

Fig.1 HPLC chromatogram

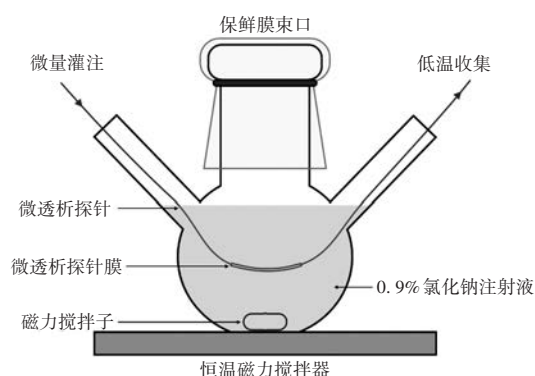


图2 体外微透析试验装置示意图

Fig. 2 Schematic diagram of *in vitro* microdialysis test device

表1 灌流液不同流速对探针体外回收率和损失率的影响
(%, n = 3)

Tab. 1 Effect of different flow rates of perfusion fluid on the *in vitro* recovery rates and loss rates of the probe (% , n = 3)

流速	回收率($\bar{X} \pm s$)	损失率($\bar{X} \pm s$)	RSD
0.5 $\mu\text{L} / \text{min}$	59.76 \pm 1.85	60.54 \pm 0.98	2.31
1.0 $\mu\text{L} / \text{min}$	45.85 \pm 0.63	46.13 \pm 1.13	1.82
2.0 $\mu\text{L} / \text{min}$	36.49 \pm 0.80	37.21 \pm 1.63	3.29
3.0 $\mu\text{L} / \text{min}$	30.61 \pm 0.64	31.83 \pm 1.26	3.59
4.0 $\mu\text{L} / \text{min}$	27.93 \pm 1.81	29.20 \pm 0.94	5.13

下^[23]。综合考虑,确定灌流速度为1.0 $\mu\text{L} / \text{min}$,取样间隔为40 min,此条件下利塞膦酸钠的探针体外回收率为(45.85 \pm 0.63)%。且同一流速下利塞膦酸钠的探针体外回收率与损失率相当(RSD = 1.82%),表明反透析法可应用于利塞膦酸钠探针体内回收率的计算。

2.4 灌流液质量浓度确定

取0.9%氯化钠注射液50 mL,置双通道烧杯中,浸入微透析探针,使探针膜居于液体中心,用保鲜膜束口以稳定瓶内环境,开启恒温磁力搅拌器[温度为(37 \pm 0.5) $^{\circ}\text{C}$,转速为100 r/min],以2.1.2项下质量浓度分别为6.0,12.0,24.0,48.0 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 的微透析对照品溶液为灌流液,在1.0 $\mu\text{L} / \text{min}$ 的流速下进行灌注,开泵平衡60 min后收集不同灌流液浓度下的透析液,每次收集40 μL ,每个浓度收集3个样品,按2.1.1项下色谱条件进样测定,计算探针体外损失率。同法,将微透析探针浸于4组不同质量浓度的微透析对照品溶液中,以0.9%氯化钠注射液为灌流液进行灌注并进样测定,计算探针体外回收率。

由表2可知,质量浓度在6.0~48.0 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 范围内,利塞膦酸钠的探针体外回收率基本一致,相同质量浓度下利塞膦酸钠的探针体外回收率与损失率相当,表明质量浓度在6.0~48.0 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 范围内的变化对探针体外回收率影响不显著,提示反透析法可应用于利塞膦酸钠体内回收率的计算。

表2 灌流液不同质量浓度对探针体外回收率和损失率的影响
(%, n = 3)

Tab. 2 Effect of different mass concentrations of perfusion fluid on the *in vitro* recovery rates and loss rates of the probe (% , n = 3)

质量浓度	回收率($\bar{X} \pm s$)	损失率($\bar{X} \pm s$)	RSD
6.0 $\mu\text{g} / \text{mL}$	46.78 \pm 1.53	46.17 \pm 0.69	2.39
12.0 $\mu\text{g} / \text{mL}$	45.85 \pm 0.63	46.13 \pm 1.13	1.82
24.0 $\mu\text{g} / \text{mL}$	46.79 \pm 0.60	45.76 \pm 0.35	1.55
48.0 $\mu\text{g} / \text{mL}$	46.61 \pm 0.56	45.50 \pm 1.09	2.15

3 讨论

双膦酸盐类药物受限于自身较大的分子量及较差的脂溶性,难以依靠细胞转运的方式吸收,导致口服生物利用度较差。同时多数双膦酸盐类药物带有负电荷,形成的电离屏障使小肠吸收更困难^[24]。此外,有关使用双膦酸盐类药物引起肾毒性^[25]及眼毒性^[26-27]等药品不良反应早已报道,但受限于医药行业发展的滞后,一直未找到更好的解决方式。2000年,RAMACHANDRAN等^[28]将双膦酸盐做成油包水型微乳进行经皮给药,虽然受试动物出现了轻微的皮肤刺激反应。目前,针对高分子水溶性物质经皮给药难以透过角质屏障的问题,出现了以微针给药、离子导入、超声导入为代表的多种解决方案,这些新型经皮给药技术不仅能使药物有与注射给药一样良好的生物利用度,且解决了传统注射及口服给药依从性差的问题^[29]。

双膦酸盐类药物利塞膦酸钠具有较强的亲水性,且分子量相对较大,难以通过传统经皮给药方式通过角质屏障进入人体循环^[30],不仅阻碍了双膦酸盐类药物的经皮给药剂型开发,同时也无法通过体外透皮试验对该类制剂进行评价。微透析探针膜因其纤维材料与皮肤结构可区分,特别适用于水溶性成分及小分子化合物的采集^[31],可考虑用于双膦酸盐类药物新型经皮给药制剂的皮肤渗透性评价。

本研究中通过考察灌流液流速与药物质量浓度对探针体外回收率与损失率的影响,建立了利塞膦酸钠皮肤微透析方法。结果显示,在1.0 $\mu\text{L} / \text{min}$ 的流速下具有较好的回收率,且取样间隔科学、合理,此时利塞膦酸钠探针体外回收率为(45.85 \pm 0.63)%,与损失率基本一致(RSD = 1.82%);利塞膦酸钠质量浓度在6.0~48.0 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 范围内的探针体外回收率基本一致,表明微透析方法用于评价利塞膦酸钠经皮局部给药的药物效应动力学可行。

参考文献

- [1] 马远征,王以朋,刘强,等. 中国老年骨质疏松症诊疗指南(2018)[J]. 中国骨质疏松杂志,2018,24(12):1541-1567.
- [2] CAMACHO PM, PETAK SM, BINKLEY N, et al. American

- Association of Clinical Endocrinologists / American College of Endocrinology Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Postmenopausal Osteoporosis - 2020 UPDATE[J]. *Endocr Pract*, 2020, 26(Suppl 1): 1 - 46.
- [3] GENDELMAN O, TRIPTO - SHKOLNIK L, VERED I, et al. Bisphosphonates Related Ocular Side Effects: A Case Series and Review of Literature [J]. *Ocul Immunol Inflamm*, 2021, 30(7/8): 1995 - 1999.
- [4] 杨威, 鲁艳芹, 韩金祥. 双膦酸盐类药物及其应用综述[J]. *罕少疾病杂志*, 2021, 28(6): 105 - 110.
- [5] NOURAEINEJAD A. Osteoporosis, bisphosphonates, and ocular inflammation [J / OL]. *Eur J Ophthalmol*, 2022: 112067212 21125022. DOI:10. 1177 / 11206721221125022.
- [6] 中国临床肿瘤学会(CSCO)指南工作委员会, 马军, 邱录贵. 多发性骨髓瘤骨病临床诊疗专家共识(2021)[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2022, 27(1): 65 - 72.
- [7] ADLER RA. Update on Rare Adverse Events from Osteoporosis Therapy and Bisphosphonate Drug Holidays [J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2021, 50(2): 193 - 203.
- [8] HOU Y, PIAO H, TAHARA Y, et al. Solid - in - oil nanodispersions as a novel delivery system to improve the oral bioavailability of bisphosphate, risedronate sodium [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2020, 155: 105521.
- [9] SKJODT MK, FROST M, ABRAHAMSEN B. Side effects of drugs for osteoporosis and metastatic bone disease[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2019, 85(6): 1063 - 1071.
- [10] LI H, XIAO Z, QUARLES LD, et al. Osteoporosis: Mechanism, Molecular Target and Current Status on Drug Development[J]. *Curr Med Chem*, 2021, 28(8): 1489 - 1507.
- [11] JEONG WY, KWON M, CHOI HE, et al. Recent advances in transdermal drug delivery systems: a review[J]. *Biomater Res*, 2021, 25(1): 24.
- [12] PRIYA S, SINGHVI G. Microneedles - based drug delivery strategies: A breakthrough approach for the management of pain[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 155: 113717
- [13] SHARMA G, ALLE M, CHAKRABORTY C, et al. Strategies for transdermal drug delivery against bone disorders: a preclinical and clinical update[J]. *J Control Release*, 2021, 336: 375 - 395.
- [14] FAN W, HUANG Y, WANG L, et al. Effect of stimulating the acupoints Feishu (BL 13) and Dazhui (GV 14) on transdermal uptake of sinapine thiocyanate in asthma gel [J]. *J Tradit Chin Med*, 2017, 37(4): 503 - 509.
- [15] ERDO F, HASHIMOTO N, KARVALY G, et al. Critical evaluation and methodological positioning of the transdermal microdialysis technique. A review[J]. *J Control Release*, 2016, 233: 147 - 161.
- [16] HOLMGAARD R, NIELSEN JB, BENFELDT E. Microdialysis sampling for investigations of bioavailability and bioequivalence of topically administered drugs: current state and future perspectives[J]. *Skin Pharmacol Physiol*, 2010, 23(5): 225 - 243.
- [17] WELLS GA, HSIEH SC, ZHENG C, et al. Risedronate for the primary and secondary prevention of osteoporotic fractures in postmenopausal women [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2008(1): CD004523.
- [18] 龙如超, 朱建军. 利塞膦酸钠对大鼠骨质疏松性骨折愈合的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2020, 36(10): 1299 - 1301.
- [19] 万维香, 瞿建江. 高效液相色谱法测定利塞膦酸钠的含量[J]. *中国药业*, 2010, 19(4): 24 - 25.
- [20] 李周, 王利胜, 巴文强, 等. 青藤碱、雷公藤甲素皮肤和血液在体微透析方法的建立[J]. *中草药*, 2015, 46(14): 2076 - 2081.
- [21] SIMONSEN L, JORGENSEN A, BENFELDT E, et al. Differentiated in vivo skin penetration of salicylic compounds in hairless rats measured by cutaneous microdialysis [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2004, 21(2 - 3): 379 - 388.
- [22] STENKEN JA, CHURCH MK, GILL CA, et al. How minimally invasive is microdialysis sampling? A cautionary note for cytokine collection in human skin and other clinical studies [J]. *AAPS J*, 2010, 12(1): 73 - 78.
- [23] 钟碧莲, 文桂卿, 黄晓冰, 等. 温通膏中补骨脂素、异补骨脂素皮肤在体微透析方法的建立[J]. *中药新药与临床药理*, 2021, 32(8): 1173 - 1177.
- [24] 李征宇, 刘建, 孟国林, 等. 不同给药方案阿仑膦酸钠治疗绝经后妇女骨质疏松症 18 个月效果研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2012, 18(4): 354 - 357.
- [25] ALLEN MR, AREF MW. What Animal Models Have Taught Us About the Safety and Efficacy of Bisphosphonates in Chronic Kidney Disease[J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2017, 15(3): 171 - 177.
- [26] MCKAGUE M, JORGENSEN D, BUXTON KA. Ocular side effects of bisphosphonates: A case report and literature review [J]. *Can Fam Physician*, 2010, 56(10): 1015 - 1017.
- [27] FRAUNFELDER FW, FRAUNFELDER FT. Adverse ocular drug reactions recently identified by the National Registry of Drug - Induced Ocular Side Effects [J]. *Ophthalmology*, 2004, 111(7): 1275 - 1279.
- [28] RAMACHANDRAN C, FLEISHER D. Transdermal delivery of drugs for the treatment of bone diseases[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2000, 42(3): 197 - 223.
- [29] LEE H, SONG C, BAIK S, et al. Device - assisted transdermal drug delivery[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2018, 127: 35 - 45.
- [30] TORREGROSA JV, RAMOS AM. Use of bisphosphonates in chronic kidney disease[J]. *Nefrologia*, 2010, 30(3): 288 - 296.
- [31] 戴国梁, 居文政, 谈恒山. 生物样品前处理研究进展[J]. *中国医院药学杂志*, 2013, 33(6): 484 - 487.

(收稿日期: 2022 - 12 - 14; 修回日期: 2023 - 02 - 12)