

醇质体在经皮给药方面的应用

施晓琴, 赵继会, 王志东, 冯年平*
(上海中医药大学, 上海 201203)

[摘要] 对一种新型经皮给药载体——醇质体进行综述研究分析。根据近 10 年国内外文献, 总结醇质体的制备方法、性质、促透机制及应用进展。醇质体性质稳定, 制备简单, 包封率高, 适用于各种性质的药物, 与普通脂质体相比, 显著提高了透皮速率, 能传递药物至皮肤深层, 增加药物在皮肤深层的滞留量。醇质体的制备工艺简单, 可以包载各种类型的药物(包括水溶性、脂溶性、两亲性以及蛋白多肽类), 并能达到较高的包封率。与普通脂质体相比, 醇质体可以携带药物到达皮肤深层, 并提高其经皮吸收速率; 与传递体相比, 醇质体更稳定; 醇质体还可制成凝胶、贴剂、乳膏等方便临床用药的制剂, 因而在局部用药和药物经皮吸收方面具有很好的应用前景。

[关键词] 醇质体; 经皮给药; 新型载体

[中图分类号] R283 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)12-0352-04

[doi] 10.11653/syjf2013120352

Application of Ethosomes as Carriers in Dermal and Transdermal Drug Delivery

SHI Xiao-qin, ZHAO Ji-hui, WANG Zhi-dong, FENG Nian-ping*

(College of Pharmacy Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

[Abstract] To introduce ethosomes as novel carriers for dermal and transdermal drug delivery. Based on literatures in the last decade, the preparation methods, characteristics, mechanism of facilitating permeation and application of ethosomes were summarized. It showed that the system of ethosomes was stable, simply prepared and had a high entrapment capacity for molecules of various lyophilicities. The ethosomal system was much more efficient at delivering drugs to the skin in terms of quantity and depth, and could also dramatically enhance the skin permeation of molecules compared with liposomes. Ethosomes is a good carrier for transdermal delivery, and has broad application prospect.

[Key words] ethosomes; deraml and transdermal drug delivery; novel carriers

在过去 20 年里, 将脂质体应用于经皮给药系统一直是国内外研究的热点, 但脂质体只能携带药物到达表皮, 因而主要用作皮肤局部用药的载体。2000 年, 以色列的 Touitou 等^[1] 报道了醇质体 (ethosomes), 即含高浓度乙醇 (20% ~ 50%) 的含醇

脂质体。醇质体的制备工艺简单, 可以包载各种类型的药物(包括水溶性、脂溶性、两亲性以及蛋白多肽类), 并能达到较高的包封率。与普通脂质体相比, 醇质体可以携带药物到达皮肤深层, 并提高提其经皮吸收速率; 与传递体相比, 醇质体更稳定; 醇质体还可制成凝胶、贴剂、乳膏等方便临床用药的制剂, 因而在局部用药和药物经皮吸收方面具有很好的应用前景。本文就醇质体的制备方法, 醇质体的性质、促进药物向皮肤深层分布和经皮吸收的机制, 以及其在局部用药和药物经皮吸收方面的应用进行综述。

1 醇质体的制备

1.1 材料 醇质体通常由 2% ~ 5% 磷脂, 20% ~ 50% 低相对分子质量醇以及水组成, 有时也加入少

[收稿日期] 20130109(027)

[基金项目] 教育部新世纪优秀人才支持计划项目 (NECT08-0898); 上海市教委重点学科项目 (J50302); 上海市优秀学科带头人项目 (10XD1403900)

[第一作者] 施晓琴, 硕士, 从事中药新型给药系统研究, Tel: 021-51322459, E-mail: xiaoqin_shi87@hotmail.com

[通讯作者] * 冯年平, 博士生导师, Tel: 021-51322198, E-mail: npfeng@hotmail.com

量的胆固醇。常用的磷脂类材料有磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酰乙醇胺(PE)、二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)等;醇类有乙醇、丙二醇、异丙醇等。

1.2 制备方法 醇质体的制备工艺简单,无需特殊设备,不需除去有机溶剂,整个制备过程在20~40℃的条件下即可完成。

1.2.1 注入法 褪黑激素(MT)醇质体的制备方法^[2]:将2.0%大豆磷脂及1.0% MT溶解于30%乙醇中,在密闭容器中持续搅拌(700 r·min⁻¹)的条件下,将三蒸水缓慢细流注入醇溶液中,注完后继续搅拌5 min,整个过程恒温30℃,冷却至室温,即得。

1.2.2 注入-超声合法 苦参碱醇质体的制备方法^[3]:将处方量的磷脂溶解于乙醇中,将苦参碱溶解于双蒸水中,用磁力搅拌器搅匀,再将卵磷脂乙醇溶液以200 μL·min⁻¹的流速加入含药水溶液中,采用探头超声5 min,过0.45 μm微孔滤膜,即得。

1.2.3 薄膜分散法 5-氨基酮戊酸(ALA)醇质体^[4]的制备方法:将处方量的磷脂酰乙醇胺、胆固醇、硬脂酸钠溶解于氯仿-甲醇(2:1)混合溶剂中,置于旋转蒸发器中除去溶剂,在茄形瓶上形成一个均匀的脂质膜。将ALA溶解于15%乙醇中,然后与脂质膜旋转水合30 min,探头超声1 min,即得。

1.2.4 pH梯度法 苦豆子总生物碱(TASA)醇质体^[5]的制备方法:将处方量的磷脂溶解于乙醇-丙二醇混合溶剂中,在密闭容器持续搅拌(700 r·min⁻¹)的条件下,将pH 3.0缓冲液注入其中,注完后继续恒温(30±1)℃搅拌5 min,冷却至室温,即得空白醇质体;加入1% TASA,再次搅拌(700 r·min⁻¹),直至完全溶解,最后加入NaOH(0.5 mol·L⁻¹),调节囊泡外部pH 7.4,充分孵化,使TASA穿过脂质双分子层进入囊泡内,即得。

1.2.5 其他方法 文献报道的其他制备方法有喷雾干燥法、有机溶剂冻干法、单相溶剂冻干法、二次乳化法等,采用不同的方法,制备的醇质体性质不尽相同。如Maestrelli等^[6]采用辅助冻融处理加匀质、超声的方法制备了苯佐卡因醇质体,结果显示,与薄膜分散法相比,该法制备的醇质体药物储集效果更好,可以起到长效的治疗效果。

2 醇质体的性质

2.1 形态 透射电镜(TEM)下观察,醇质体具有单室或多室的囊泡结构,用扫描电镜(SEM)进一步研究发现,其立体结构为闭合球形结构。

2.2 膜的流动性 醇质体的膜流动性可以通过热力学性质和荧光各向异性进行研究^[7]。采用差示扫描量热法(DSC)对杆菌肽醇质体的相转变温度

(T_m)进行测定,结果表明,与相应的空白脂质体相比,空白醇质体(3%大豆磷脂酰胆碱,PL;25%乙醇)的 T_m 从14.9℃下降到-9.5℃;加入药物(3%杆菌肽)使醇质体的 T_m 进一步下降,从-9.5℃下降到-19.2℃^[8]。脂质荧光探针(AVPC)的研究表明醇质体的各向异性比普通脂质体低。

DSC和AVPC的研究结果表明,与脂质体相比,醇质体的膜流动性更好,因而这种囊泡具有更好的柔性和变形性,这有利于其携带药物到达皮肤深层并促进药物经皮吸收。

2.3 粒径和Zeta电位 醇质体的粒径和Zeta电位可以利用动态光散射法(DLS)来研究。与脂质体相比,乙醇的加入可以使醇质体的粒径大大降低。例如,脂质体的粒径为(677±31) nm,相应的醇质体(2% PL,30%乙醇)的粒径为(153±4) nm。

醇质体的粒径随乙醇体积分数的升高而降低,随着磷脂浓度的升高而增加。固定PL的用量为2%,乙醇的体积分数从20%升高到45%,醇质体粒径从(193±8) nm下降为(103±9) nm;固定乙醇的体积分数为30%,PL从0.5%升高到4%,醇质体的粒径从(118±2) nm增加到(249±24) nm。载药也对醇质体的粒径产生影响,苯海索的载药量从0%增加到3%,醇质体(2% PL,30%乙醇)的粒径从(153±4) nm下降到(90±6) nm。

与脂质体相比,乙醇的加入可以降低醇质体的Zeta电位。例如,脂质体(2% PL)的Zeta电位为(4.6±0.2) mV,相应的醇质体(2% PL,30%乙醇)Zeta电位为(-4.5±0.2) mV。载药也对醇质体的Zeta产生影响,苯海索的载药量从0%增加到3%,醇质体(2% PL,30%乙醇)的Zeta电位从(-4.5±0.2) mV上升到(10.4±2.0) mV^[9]。

2.4 包封率 醇质体可以包载亲脂性、两亲性和亲水性物质。与普通脂质体相比,醇质体对亲脂性和两亲性物质的包封率明显提高。常用来测定醇质体包封率的方法有超速离心法、透析法、微柱离心法等方法,也可用激光共聚焦扫描显微镜(CLSM)对包载荧光探针的醇质体直接进行观察。Touitou等制备了分别包载罗丹明(亲脂性)、D-289(两亲性)和钙黄绿素(亲水性、离子型)的醇质体,并以普通脂质体作为对照,考察醇质体对不同性质物质的包封率。CLSM照片显示以醇质体为载体,罗丹明和D-289分布在整个体系中(磷脂双分子层和水性中心),但以普通脂质体为载体,罗丹明和D-289仅分布在磷脂双分子层中。因而,醇质体对亲脂性和两亲性物质的包封率比脂质体明显提高,其原因可能

是①醇质体形成了多室囊泡结构②乙醇的存在提高了亲脂性和两亲性物质在囊泡的磷脂双分子层和水性中心的溶解度。但是对于亲水性、离子型的钙黄绿素,以醇质体或脂质体为载体,钙黄绿素都集中分布在水性中心,且以醇质体为载体,钙黄绿素的泄漏速度加快,这可能与乙醇的存在增加了磷脂膜的流动性,从而增加了离子型物质的通透性有关^[1]。

2.5 稳定性 醇质体属于一种多相分散体系,其稳定性与粒径、表面电势、流变学性质等有关,一般结构较稳定。差示扫描量热法(DSC)结果显示,由于乙醇的加入,醇质体的双分子层排列疏松,囊体柔软可变,流动性比普通脂质体强,变形时乙醇还具有维持立体结构稳定性的作用^[10]。同时,在醇质体中还可以考虑添加适量的胆固醇,加大硬度,提高囊泡的稳定性,降低药物的泄漏率。

2.6 安全性 采用反射分光光度法检测红斑指数,研究人在体皮肤对空白醇质体的耐受性^[2,4,11],结果显示,空白醇质体即使乙醇浓度较高时也不会引起红斑,而醇水溶液则引起了明显的皮肤红斑,说明醇质体对皮肤无明显刺激性。红霉素醇质体^[12]的组织学实验也表明,醇质体对皮肤组织无损伤。另外,纤维细胞活力测试显示:醇质体对体外培养细胞无明显毒性^[13]。

3 醇质体促透机制

药物向皮肤深层分布和经皮吸收首先必须克服角质层的屏障作用。近年来的研究表明醇质体可以促进多种亲水性、亲脂性药物和大分子药物向皮肤深层分布,并促进其经皮吸收。

醇质体的高通透性与囊泡的结构和乙醇的体积分数有关。在体外透皮实验中,以醇质体(乙醇体积分数为 30%)为载体,米诺地尔的累积透过量是以相等磷脂浓度的乙醇溶液为载体的 10 倍,提示囊泡结构对醇质体促透至关重要;以 35% 乙醇的醇质体为载体,双氯芬酸钠的累积透过量是以 5% 乙醇的醇质体的 8 倍,提示乙醇浓度低的醇质体几乎没有促透作用,其原因可能是在这种条件下醇质体囊泡的柔性和变形性较差^[14-15]。

Touitou 等对醇质体的促透作用机制进行了合理的推测^[15],即醇质体首先携带药物经细胞间途径穿透角质层到达皮肤深层,再释放药物,使药物向皮肤深层分布并促进药物经皮吸收。其具体过程为:①乙醇改变角质细胞间脂质的紧密排列,使其流动性增强,通透性增强;②醇质体利用其柔性和变形性,通过排列紊乱的角质细胞间脂质,携带药物到达皮肤深层;③醇质体携带药物进入皮肤深层的细胞

中,起到局部靶向的作用;④醇质体与皮肤深层的细胞膜融合、释放药物,使药物向皮肤深层分布,并促进其经皮吸收。

醇质体也可能经毛囊和皮脂腺途径促进药物向皮肤深层分布和经皮吸收。在体外透皮实验证实醇质体可以促进米诺地尔经皮吸收的基础上,在体实验表明,与脂质体相比,醇质体可以促进米诺地尔向裸鼠皮肤中的毛囊和皮脂腺分布。由于皮肤附属器仅占皮肤面积的 0.1%,因而这种途径对于治疗毛囊、皮脂腺部位的局部疾病的意义可能更大^[16]。

4 醇质体的应用

醇质体是一种高效的经皮载体,在经皮给药制剂开发方面前景广阔。目前用于醇质体研究的药物有抗真菌药、抗炎药、激素类、抗病毒药、手术材料以及大分子药物等。

4.1 局部用药 深部真菌感染,一般外用制剂很难起到有效的治疗效果,而醇质体能将药物传递至皮肤深层,增加深层皮肤内滞留量而起到很好的治疗作用,如克霉唑醇质体^[17]渗透 24 h 皮肤内滞留量最大,体外抗菌活性实验结果也显示克霉唑醇质体对细菌生长的良好抑制作用,并且,时滞比普通脂质体缩短了 9.09 倍,起效更快。此外,醇质体还被广泛地运用于类风湿关节炎及痛风等疾病的治疗。如朱凡等^[18]研制的乌头碱醇质体具有良好的抗炎镇痛作用。将醇质体制剂作为局部用药还有乙琥红霉素、阿昔洛韦、伊曲康唑、盐酸特比萘酚、炔雌醇、非那甾、甘草酸铵、氟比洛芬、秋水仙碱、苦参碱、全反式维 A 酸、他克莫司、亚油酸、紫杉醇、替莫泊芬、盐酸青藤碱、金纳米粒、米诺地尔、维生素 E、利多卡因等。

4.2 全身性用药 经皮给药可以避免口服时肝脏首过效应,从而降低药物的生物利用度,此外,有些药物半衰期短,需要频繁给药,患者顺应性差,而醇质体对水溶性、脂溶性、两亲性药物都有较高的包封率,能够显著提高透皮速率,增加累积透过量,如川芎嗪^[19]用于治疗帕金森症,体外透皮实验显示醇质体稳态透皮速率为 $(113.50 \pm 12.6) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$,显著高于水溶液的 $(21.45 \pm 4.1) \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$,时滞较水溶液有所缩短,此外皮肤滞留量也显著高于水溶液。目前将醇质体制剂经皮给药作为全身性用药的还有褪黑激素、甲氨蝶呤、沙丁胺醇、非那雄胺、拉米夫定、环维黄杨星 D、乙肝疫苗 HBsAg、灯盏乙素、低分子肝素、纳络酮、辛伐他汀、萘普生、银杏内酯 B 等。

5 展望

有文献报道^[20],二元醇质体显现出比醇质体更

优的透皮性能,即加入丙二醇取代部分乙醇,由于丙二醇的加入,体系黏度增加,制剂稳定性提高,体外荧光标记透皮实验也表明,二元醇质体透皮深度最大,且深层荧光强度最高。多种促透手段联合应用是提高药物经皮吸收速率常用方法。有文献报道^[21],采用微针技术对皮肤进行预处理,显著提高了多西紫杉醇的含醇柔性脂质体的累积透过量。由此可推测,将微针技术等新技术与同样具有良好柔性和变形性的醇质体相结合,有望进一步提高醇质体促进药物经皮吸收的能力。

中医“内病外治法”源远流长,在公元前二世纪《内经·素问》中早有记载,其发展成为中医独立的学科,距今已有三千多年的历史。而将醇质体应用于中药经皮给药系统尚处于初级阶段^[22],近年来文献报道的只有丹参酮、氧化苦参碱、环维黄杨星 D、秋水仙碱、盐酸川芎嗪、紫杉醇、乌头碱、银杏内酯 B、盐酸青藤碱等少数中药单体以及苦豆子总生物碱等。随着醇质体的研究的逐步深入,其在中药经皮给药系统的应用必将更加广泛,成为中药经皮给药制剂现代化研究的一个热点。

[参考文献]

- [1] Touitou E, Dayan N, Berqelson L, et al. Ethosomes-novel vesicular carriers for enhanced delivery: characterization and skin penetration properties[J]. J Control Release, 2000, 65(3): 403.
- [2] Dubeyv, Mishrad, Jannk. Melatonin loaded ethanolic liposomes: Physicochemic characterization and enhanced transdermal delivery[J]. Eur J Pharm Biopham, 2007, 67(2): 398.
- [3] 曾昭武,王小丽. 苦参碱醇质体的制备[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 41(12): 8107.
- [4] Fang Y P, Tsai Y H, Wu P C, et al. Comparison of 5-aminolevulinic acid-encapsulated liposome versus ethosome for skin delivery for photodynamic therapy[J]. Int J Pharm, 2008, 356(1/2): 144.
- [5] Zhou Y, Wei Y, Liu H, et al. Preparation and *in vitro* evaluation of ethosomal total alkaloids of sophorolobos loaded by a transmembrane pH-gradient method [J]. AAPS Pharm Sci Tech, 2010, 11(3): 1350.
- [6] Maestrelli F, Capasso G, Gonzalez-Rodriguez M L, et al. Effect of preparation technique on the properties and *in vivo* efficacy of benzocaine-loaded ethosomes [J]. J Liposome Res, 2009, 19(4): 253.
- [7] 祝伟伟,翟光喜,赵军. 醇质体的研究进展[J]. 食品与药品, 2007, 9(1): 46.
- [8] Godin B, Touitou E. Mechanism of bacitracin permeation

enhancement through the skin and cellular membranes from an ethosomal carrier[J]. J Control Release, 2004, 94(2/3): 365.

- [9] Dayan N, Touitou E. Carriers for skin delivery of trihexyphenidyl HCl: ethosomes vs. Liposomes [J]. Biomaterials, 2000, 21(18): 1879.
- [10] López-Pinto J M, González-Rodríguez M L, Rabasco A M. Effect of cholesterol and ethanol on dermal delivery from DPPC liposomes [J]. Int J Pharm, 2005, 298(1): 1.
- [11] Paolino D, Lucania G, Mardente D, et al. Ethosomes for skin delivery of ammonium glycyrrhizinate: *in vitro* percutaneous permeation through human skin and *in vivo* anti-inflammatory activity on human volunteers [J]. J Control Release, 2005, 106(1/2): 99.
- [12] Godin B, Touitou E, Rubinstein E, et al. A new approach for treatment of deep skin infections by an ethosomal antibiotic preparation: an *in vivo* study [J]. J Antimicrob Chemother, 2005, 55(6): 989.
- [13] Godin B, Touitou E. Erythromycin ethosomal systems: physicochemical Characterization and enhanced antibacterial activity[J]. Curr Drug Deliv, 2005, 2(3): 269.
- [14] Godin B, Touitou E. Ethosomes: new prospects in transdermal delivery [J]. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst, 2003, 20(1): 63.
- [15] Touitou E, Godin B, Dayan N, et al. Intracellular delivery mediated by an ethosomal carrier [J]. Biomaterials, 2001, 22(22): 3053.
- [16] 冯璇,许东航,徐翔,等. 纳洛酮醇质体的经皮渗透研究[J]. 中国现代应用药学杂志, 2008, 25(1): 37.
- [17] 朱凡,刘小平. 乌头碱醇质体的制备及抗炎镇痛作用研究[J]. 武汉理工大学学报, 2011, 33(8): 30.
- [18] Shi Jun, Wang Yiming, Luo Guoan. Ligustrazine phosphate ethosomes for treatment of alzheimer's disease, *in vitro* and in animal model studies[J]. AAPS Pharm Sci Tech, 2012, 13(2): 485.
- [19] 王慧. 盐酸阿莫罗芬乙醇脂质体及尼古丁二元醇脂质体的制备与评价[D]. 兰州:兰州大学, 2010.
- [20] 张建萍. 三种新型透皮脂质囊泡的比较研究[D]. 兰州:兰州大学, 2010.
- [21] QIU Y, GAO Y, HU K, et al. Enhancement of skin permeation of docetaxel: a novel approach combining microneedle and elastic liposomes [J]. J Control Release, 2008, 129(2): 144.
- [22] 王森,欧水平,朱卫丰,等. 柔性脂质体在中药经皮给药制剂中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(1): 30.

[责任编辑 邹晓翠]