

中药经皮给药脂质体的研究与展望

陈军^{1,2}, 李钰^{1,2}, 苏曼^{1,2}

(1.南京中医药大学药学院,江苏 南京 210023;2.江苏省中药炮制重点实验室,江苏 南京 210023)



陈 军

1975 年生,男,江苏泰州人,教授,博士,美国堪萨斯大学访问学者,江苏省青蓝工程中青年学术带头人,国家中医药管理局重点学科南京中医药大学中药药剂学科后备带头人,世界中医药联合会经皮给药委员会副秘书长,民进江苏省委医药卫生委员会副主任,主要从事中药经皮给药制剂和中药脂质体的研究。

摘要: 中药经皮给药有悠久的历史,脂质体作为新型载体用于中药活性成分的经皮给药可以提升药物在局部的皮内滞留或(和)透皮吸收效果,从而显著改善药效。该文从皮肤屏障的特点、中药经皮给药概况、脂质体促进经皮吸收的机制与影响因素、中药经皮给药脂质体的皮内滞留、中药经皮给药脂质体的透皮吸收等 5 个方面对相关研究进展进行了综述,涉及常规脂质体以及传递体、醇质体、蒺质体、甘油体、表面修饰脂质体等新型脂质体的应用,并提出了坚持正确的研究方向、提升制剂技术水平和提高研究技术水平三方面的展望。

关键词: 中药;脂质体;经皮给药;皮内滞留;透皮吸收

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 1672-0482(2019)05-0623-08

DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2019.0623

引文格式: 陈军,李钰,苏曼.中药经皮给药脂质体的研究与展望[J].南京中医药大学学报,2019,35(5):623-630.

Progress and Prospects on the Development of Liposomes for Dermal and Transdermal Delivery Application in the Field of Traditional Chinese Medicine

CHEN Jun^{1,2}, LI Yu^{1,2}, SU Man^{1,2}

(1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210023, China; 2. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Processing in Jiangsu Province, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210023, China)

ABSTRACT: Percutaneous administration has been used for about 3000 years in the field of Traditional Chinese Medicine (TCM). As carriers, liposomes have been proved to improve the skin disposition and/or transdermal absorption effects of TCM active components following percutaneous delivery, resulting in the enhanced therapeutic efficacy. In the present paper, the properties of skin, the history and status of TCM percutaneous application, the mechanism and affecting factors of liposomes acting on skin, the skin disposition of liposomes containing TCM active components and transdermal absorption of liposomes containing TCM active components were intensively summarized and discussed. A lot of novel liposomes were also introduced, including transfersomes, ethosomes, invasomes, glycosomes and surface-modified liposomes. The prospects about correct development direction, the enhancement of drug preparation technique and the improvement of research technique were

收稿日期: 2019-05-18

基金项目: 江苏省中医药局科研专项课题(ZX2016D1);江苏省高校优势学科项目(2014);南京中医药大学中药学优势学科专项培育基金项目(2017)

通信作者: 陈军,男,教授,主要从事中药经皮给药制剂研究,E-mail:chenjun75@163.com

also proposed.

KEY WORDS: traditional Chinese medicine; liposomes; percutaneous delivery; skin disposition; transdermal absorption

脂质体(Liposomes)是一种具有类似生物膜组成和结构的、由磷脂双分子层所构成的微型囊泡,系由英国学者 Bangham 在 1965 年将磷脂分散在水中进行电镜观察时首次发现。1980 年,脂质体首次被报道可以用于经皮给药发挥局部作用,能够提高曲安奈德在作用部位的浓度^[1]。1988 年载有益康唑的脂质体凝胶“Pevaryl Lipogel”在瑞士由 Cilag 制药有限公司注册,并在瑞士、意大利、比利时等国上市销售。经皮给药是中药除口服以外最常用的给药途径之一,但大多数中药活性成分难以通过皮肤角质层屏障,应用脂质体技术可以促进中药成分的皮内滞留或透皮吸收,从而显著增强经皮给药的疗效,本文主要综述了中药脂质体经皮给药研究的最新进展。

1 皮肤屏障的特点

成人皮肤面积约为 1.7 m^2 ,通过皮肤给药具有给药方便、操作简单、能够直接作用于局部患处、可随时中止用药等优点。皮肤主要分为表皮、真皮、皮下组织和皮肤附属器,其中表皮又可以分为角质层($10\sim 20\text{ }\mu\text{m}$)和活性表皮层($50\sim 100\text{ }\mu\text{m}$)。目前,公认角质层是药物经皮吸收的最主要屏障^[2]。

角质层的结构被称为“砖-砂浆”结构(Brick and mortar model)^[3];角细胞是“砖”,大约有 $18\sim 20$ 层,镶嵌在细胞间脂质所构成的“砂浆”中,细胞间脂质主要由大约 16 种神经酰胺以及等摩尔比的胆固醇、游离脂肪酸所组成。进一步的研究表明,角质层细胞间脂质对于皮肤屏障功能而言发挥了关键的作用^[4],如果采用有机溶剂萃取除去角质层细胞间脂质,大鼠皮肤电阻测定值只有萃取前电阻值的 10.16% ^[5]。在细胞间角质脂质中发挥作用最大的就是神经酰胺,单层的、共价键结合的神经酰胺类成分在角细胞周围形成了脂质膜,为细胞间脂质的组合排列提供了基本结构框架,对于皮肤屏障功能而言非常重要^[6]。

2 中药经皮给药概况

中药经皮给药属于外治法范畴,迄今有 3 000 多年的应用历史,早在公元前 1 300 多年前的甲骨文《殷墟卜辞》中记载有 22 种外治法,其中灸法和药物外治各 5 条,这是中药经皮给药的最早文字记载^[7]。清代程鹏程编纂的《急救广生集》收集了约 1 500 余首的外用方,大部分属于经皮给药制剂。

清代名医吴师机(吴尚先)被誉为“外治之宗”,他在同治三年(1864 年)编纂成《理渝骈文》,提出了系统的外治理论和论述,如“外治之理即内治之理,外治之药即内治之药,所异者,法耳。医理药性无二,而法则神奇变幻。”吴师机提出应当把外治法(主要是经皮给药)与内治法(主要是口服给药)的区分仅仅是给药方法与途径不同而已,两者同样在用药遣方上要有中医理论和药性理论为指导,即内病同样可以外治。

从吸收角度而言,“外者外治”和“内病外治”分别对应中药经皮给药后的局部作用和全身作用,也就是说中药经皮给药起初主要发挥局部作用,经过多年的实践逐渐认识到中药经皮给药同样可以发挥和口服一样的全身作用。

目前市场上中药经皮给药制剂的销售量较高的品种,主要有复方南星止痛膏、骨通贴膏、壮骨麝香止痛膏、通络祛痛膏等,剂型以橡胶膏为主,大多直接贴敷于患处发挥局部镇痛、抗炎等作用,也就是说目前中药经皮给药制剂仍然以局部作用为主,以常规剂型为主,亟需引入制剂新技术以促进药物跨越皮肤屏障尤其是角质层屏障,改善药物的局部作用或全身作用效果。

3 脂质体促进经皮吸收的机制与影响因素

由于皮肤屏障的存在,一般认为普通脂质体即便粒径只有 100 nm 也不能够以完整结构透过角质层屏障,而是主要与皮肤角质层的脂质层发生相互作用而解体^[8]。脂质体的脂质与角质层脂质发生相互作用之后,能够改变角质脂质结构,降低其屏障功能,从而发挥类似于皮肤吸收促进剂的作用。这一作用与磷脂的饱和度有关,低相变温度的不饱和磷脂如蛋磷脂(EPC)、大豆磷脂(SPC)能够促进药物分配进角质层脂质结构,而采用高相变温度的饱和磷脂如二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)就没有观察到这一作用^[9]。以荧光素(Fluorescein)作为探针,分别采用不饱和磷脂 SPC 和饱和磷脂氢化大豆磷脂(HSPC)制备脂质体,考察与人体皮肤的相互作用,结果表明,脂质体膜流动性影响脂质体与皮肤的相互作用;不饱和磷脂呈液晶相,流动性好,与角质层脂质更易发生相互作用;并且胆固醇含量对脂质体与皮肤角质层的相互作用影响不大^[10]。有研究比

较了采用 EPC、SPC 和 HSPC 制成的姜黄素脂质体对离体大鼠皮肤的吸收效果,结果发现 3 种脂质体与姜黄素溶液相比,给药 24 h 后的皮内滞留量和渗透量均显著提高,并且以 SPC 脂质体为最好,药效学研究表明姜黄素 SPC 脂质体局部应用对于皮肤黑色素瘤的抑制率比姜黄素溶液提高 1.74 倍^[11]。这是因为对于不饱和磷脂如 EPC 和 SPC 而言,能够显著提高角质层脂质的流动性,从而与饱和磷脂 HSPC 相比,更有利于促进药物通过角质层并且提高其皮内含量^[12-13]。N-(carbonyl-methoxypoly(ethylene glycol)-2000)-1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine (DSPE-PEG2000) 是常用的脂质体隐形修饰材料,能够显著改善脂质体表面的亲水性,研究表明,在磷脂组成中添加 1% DSPE-PEG2000 不仅能够提高脂质体的胶体稳定性而且还能够提高药物的皮内含量^[14]。

采用荧光标记磷脂掺入不饱和磷脂(Phospholipon 80)中制备脂质体,与表皮相互作用后通过激光共聚焦显微镜可以在角细胞周围的细胞间脂质中观察到荧光的均匀分布,说明磷脂可以与角质层脂质发生相互作用;如果用这种脂质体与全皮相互作用,则可在给药后 30 min 内在真皮层观察到荧光,并且这一作用与脂质体的磷脂组成无关,提示脂质体透皮存在直接通过皮肤屏障的通道如毛囊通道^[15]。

脂质体具有较好的毛囊递送效果,将抗痤疮药阿达帕林(Adapalene)采用 HSPC 制成平均粒径 86.66 nm 的脂质体,体外猪耳皮渗透实验结果表明,毛囊中的药物含量(6.72 ± 0.83) mg/cm² 显著高于凝胶(3.33 ± 0.26) mg/cm² 和溶液组(1.62 ± 0.05) mg/cm²,皮内的药物含量也有明显提高^[16]。表面电荷对脂质体的毛囊递送效果有显著影响,采用水溶性的羧基荧光素(Carboxy fluoresceine)和脂溶性的姜黄素作为模型药物,考察不同性质脂质体经过猪耳皮毛囊通道的渗透性,结果表明,与模型药对照制剂相比,脂质体在皮肤内有更高的渗透深度:带正电荷和两性的脂质体平均渗透深度达到毛囊长度的 70%,对照制剂仅为 30%,而带负电荷则不利于脂质体经毛囊途径的渗透^[17]。

中药脂质体可以通过毛囊和皮脂腺通道实现高效皮内递送。将中药活性成分鬼臼毒素(有荧光)制成脂质体混悬液经皮给药,激光共聚焦显微成像观察发现,毛囊皮脂腺部位的单位面积的荧光值在涂

药后 8 h 达到高峰,而非毛囊皮脂腺部位达到高峰的时间是涂药后 12 h,并且各个时间点观察的毛囊皮脂腺荧光强度均高于非毛囊皮脂腺部位。鬼臼毒素给药 48 h 荧光值曲线下面积,毛囊皮脂腺部位是非毛囊皮脂腺部位的 1.63 倍^[18]。

为了促进脂质体进入或透过皮肤屏障,除了常规脂质体以外,一系列新型脂质体应运而生,包括传递体^[19-20]、醇质体^[20]、甘油体^[21]、蒺藜质体^[22]等,其主要机制之一是通过增强膜的流动性和变形性从而促进载体向皮肤深层渗透。提高变形性后的传递体也能同时通过毛囊途径透过皮肤,并有望用于经皮免疫^[23]。

4 中药经皮给药脂质体的皮内滞留

以脂质体作为载体能够有效提高药物经皮给药后在局部皮肤中的含量,从而充分发挥对局部病灶组织的治疗作用,这主要是因为脂质体可以在角质层形成局部贮库,从而发挥缓释长效作用,因此可以用于关节炎、银屑病、黑色素瘤等疾病的治疗。

由于皮肤角质层脂质双分子层中有较高比例的负电荷脂质,一般认为带负电荷的脂质体更有利于增加药物在皮内的滞留量,而带正电荷的脂质体更易于透过皮肤,因此对于脂质体而言,必须要考虑其表面电荷对给药效果的影响^[24]。但也有研究比较了正电荷脂质体和负电荷脂质体对补骨脂素经皮渗透和局部给药治疗银屑病的效果,结果发现两者作用相当^[25]。

4.1 常规脂质体

局部作用的脂质体一般采用凝胶剂形式经皮给药。高乌甲素是中药高乌头所含的一种具有显著镇痛作用的生物碱单体成分,应用薄膜分散法将其制成脂质体并进而分散在卡波姆中制成凝胶,与采用游离药物制成的普通凝胶比较在小鼠离体皮肤的吸收效果,结果发现给药 24 h 后高乌甲素脂质体凝胶和普通凝胶的累积透过量分别为(19.06 ± 1.26) μg/cm² 和(33.20 ± 1.19) μg/cm²,而在皮肤中的滞留量分别为 15.17、8.39 μg/cm²,表明脂质体能够显著提高皮内滞留效果并且降低透皮吸收量,从而有利于发挥局部治疗作用^[26]。莪术油是中药莪术的主要活性成分,收载于《中国药典》2015 年版一部,局部应用能够治疗银屑病。将莪术油和维 A 酸载入脂质体进而分散在卡波姆基质中制成凝胶剂,与直接应用游离药物制成的普通凝胶剂比较体外透皮吸收效果,结果发现,脂质体凝胶给药 24 h 后测得的莪

术油指标性成分吉马酮和维 A 酸透过量均略低于普通凝胶,而皮内滞留量均明显高于普通凝胶组;脂质体凝胶和普通凝胶给药后吉马酮的皮内滞留量分别为 $(1.489 \pm 0.284 \text{ } 8) \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 和 $(0.779 \pm 0.142 \text{ } 4) \mu\text{g}/\text{cm}^2$,维 A 酸的皮内滞留量分别为 $(3.909 \pm 0.631 \text{ } 3) \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 和 $(2.859 \pm 0.224 \text{ } 8) \mu\text{g}/\text{cm}^2$ [27]。

也有报道表明,将药物制成脂质体凝胶作为载体在提高局部皮肤含量的同时,也能够提高药物的透皮量。丹皮酚临床常用于治疗湿疹、痤疮等症,将丹皮酚采用 HSPC、胆固醇和 3β -[N-(N',N'-二甲基胺乙基)胺基甲酰胺基]-胆固醇制成阳离子脂质体并进而分散在卡波姆中制成凝胶,采用离体小鼠皮评价吸收效果,结果发现丹皮酚阳离子脂质体凝胶剂的药物透皮速率为 $27.61 \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$,在皮肤中的蓄积量为 $16.21 \mu\text{g}/\text{cm}^2$,而丹皮酚普通凝胶的对应指标分别为 $17.55 \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ 和 $7.34 \mu\text{g}/\text{cm}^2$,可见阳离子脂质体同时提高了丹皮酚的皮内含量和透皮量 [28]。

4.2 萜质体

萜类成分是中药挥发油的主要活性成分,同时也是良好的透皮吸收促进剂(Penetration enhancer, PE),在磷脂中添加萜类成分和乙醇的一类新型的经皮给药脂质体被命名为 Invasomes [22]。鉴于其含有萜类成分是最主要特征,故中文名译为萜质体而非侵入体。目前在萜质体中应用的萜类成分主要是单萜,例如 1,8-桉叶素、柠檬醛、柠檬烯、 β -香茅烯等。萜类成分的加入,一方面赋予其脂质体膜具有较好的流动性,从而有利于与角质层脂质发生相互作用,同时也提高了膜的变形性,从而有利于向皮肤深层渗透。

采用萜质体作为他莫昔芬的载体,其中萜类成分应用的是 1,8-桉叶素、柠檬醛和柠檬烯的混合物,最终处方含有 10% 不饱和磷脂,3.3% 乙醇,0.5% 或 1% 萜类成分。皮内滞留实验结果表明,含 1% 萜类成分的萜质体皮内含量最高,是普通脂质体的 3.4 倍,并且显著优于含 3.3% 乙醇的脂质体和药物的乙醇溶液 [29]。

4.3 表面修饰脂质体

丹酚酸 B 是活血化瘀中药丹参中含量最高的活性成分,能够抑制纤维化疾病的形成从而用于增生性疤痕的治疗。将细胞穿膜肽 TAT 连接到 DSPE-PEG1000 末端合成修饰材料 DSPE-

PEG1000-TAT 并用于丹酚酸 B 脂质体的制备,磷脂组成为 SPC、胆固醇、DSPE-PEG1000、DSPE-PEG2000、DSPE-PEG1000-TAT(摩尔比为 100 : 33.33 : 2 : 1 : 1),体外透皮吸收实验结果表明 TAT 修饰后的脂质体给药后,其皮内滞留量和透皮量均较丹酚酸 B 溶液和普通脂质体有较大程度提高,细胞实验表明其对于人皮肤成纤维细胞的增殖、迁移和侵袭具有抑制作用。采用 PEG 和 TAT 双重修饰可以提高脂质体的入胞效果、透过角质层能力和增强对真皮层的药物递送和细胞摄取能力 [30]。

姜黄素是治疗银屑病的活性成分。鉴于银屑病的发病过程中,表皮炎症细胞表面会高表达 CD44 受体,而透明质酸是其特异性的配体,因此在姜黄素醇质体表面采用透明质酸修饰,给药结果表明其皮内滞留和透皮量均较姜黄素未修饰醇质体组和溶液组有显著提升,在病变部位皮肤的滞留量较正常皮肤亦有显著性提升,表现出较好的局部靶向递送效果。在体研究表明,其局部治疗银屑病的效果显著优于姜黄素未修饰醇质体组和溶液组 [31]。

4.4 局部应用脂质体研究应注意的问题

2019 年,美国医学协会杂志(JAMA)公布了一项研究结果表明,志愿者使用防晒霜后防晒成分在血液内的浓度、最高峰浓度、半衰期、第 7 天的残余浓度均超标,其中最高峰浓度超过了美国食品和药物管理局(FDA)规定的阈浓度 [32],这就使得局部皮肤用制剂中活性成分吸收入血是否存在不良反应引起广泛关注。因此,对于中药局部作用脂质体而言,其经皮给药后如何在发挥局部作用的同时有效控制活性成分吸收入血的剂量是一个关键科学问题,未来的研究应同时考察局部作用脂质体给药后的皮内滞留量和透皮量,并且充分阐明脂质体性质(如相变温度、表面修饰、粒径等)与经皮给药效果尤其是皮内滞留药量/透皮药量比例之间的关系及其机制。

5 中药经皮给药脂质体的透皮吸收

据统计,从 1980 年到 2014 年期间,美国 FDA 仅批准了 22 个透皮吸收制剂产品,这主要是因为皮肤屏障功能高,因此药物透皮吸收的难度较大。脂质体尤其是加入功能成分的新型脂质体能够有效递送药物透过皮肤,有望充分发挥药物的全身作用。

5.1 传递体

1992 年,Cevc 等首先报道了一种与常规脂质体相比能够增加透皮吸收的新型脂质体——传递体 [33],其主要透皮吸收机制如图 1 所示,在皮内水

分含量差异以及由此带来的渗透压差的驱动下,由于在脂质体膜中添加了表面活性剂显著提高膜的流动性,因此能够通过变形从角质层细胞间通道透过皮肤角质层屏障达到促进透皮吸收的效果。传递体添加的表面活性剂又被称为边缘活性剂(Edge activators),主要有吐温、司盘、脱氧胆酸钠和胆酸钠等品种。为了保证驱动力的存在,其透皮吸收一般采用敞开环境。

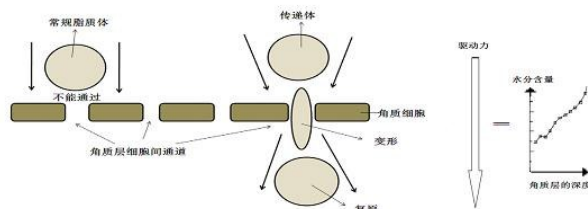


图1 传递体通过变形向皮肤深层渗透机制

三七总皂苷是中药三七的有效部位,主要含有人参皂苷 R_{G1}、人参皂苷 R_{b1}、人参皂苷 R_e、三七皂苷 R₁等活性成分,分子量大且极性较强,不利于透皮吸收。采用EPC、胆固醇、维生素E和边缘活性剂脱氧胆酸钠作为膜材制成传递体后,与不加脱氧胆酸钠的常规脂质体相比,人参皂苷 R_{G1}、人参皂苷 R_{b1}、人参皂苷 R_e、三七皂苷 R₁四种活性成分的透皮速率(J_{ss})均提高了2~3倍,且透皮吸收效果随脱氧胆酸钠含量的增加而上升^[34]。

中药活性成分也可以作为边缘活性剂用于传递体的构建以提高变形性。有研究报道可以采用中药挥发油成分(柠檬烯和柠檬醛 1:1 混合物)和DSPE-PEG2000 添加入脂质材料(EPC、胆固醇、维生素E)中制备传递体,其变形性优于采用脱氧胆酸钠作为边缘活性剂的常规传递体以及常规脂质体,作为盐酸青藤碱的载体后,其体外透皮吸收效果无论是透皮速率和累积透过率均优于常规传递体和常规脂质体^[35]。在体皮肤药动学研究结果表明,采用挥发性成分和DSPE-PEG2000 修饰的青藤碱新型传递体经皮给药后的最高药物浓度和曲线下面积分别是常规脂质体的8.7和8.2倍^[36]。

为了保证膜的变形性,一般采用不饱和磷脂作为传递体的膜材,但存在稳定性不高的问题。有研究采用复合磷脂[二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)和二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱(DMPC)]作为膜材,通过控制相变温度达到32℃(皮肤表面温度),以实现存放稳定和给药变形的目的。体外透皮吸收实验表明,采用司盘80作为边缘活性剂的马钱子碱复合磷脂

传递体其体外稳态透皮吸收速率分别是马钱子碱SPC脂质体和马钱子碱SPC传递体的3.43和1.41倍,并且空白复合磷脂脂质体也表现出一定的透皮促渗效果^[37]。

5.2 醇质体

醇质体是Touitou等在2000年首先报道的一种新型的促进透皮吸收的脂质体^[38],由磷脂、高比例乙醇(或丙二醇)和水所组成。由于添加了高浓度醇,脂质体膜的相变温度下降,进而使得醇质体的变形性要显著优于常规脂质体。

白桦脂酸是一种五环三萜类中药活性成分,具有确切的抗肿瘤、抗艾滋病活性,将其制成含30%乙醇的醇质体,与白桦脂酸溶液(含10%异丙醇)、常规脂质体比较体外透皮吸收效果,结果发现其12h的累积透过量分别是常规脂质体和溶液的2.12和5.98倍^[39]。进一步的研究在醇质体中添加边缘活性剂脱氧胆酸钠,结果发现添加了边缘活性剂的白桦脂酸醇质体体外12h累积透过量分别是普通醇质体、脂质体和溶液的1.67、3.85和8.33倍^[40]。这说明醇质体中添加边缘活性剂可能会对脂质体膜的变形性提高发挥协同作用,从而进一步促进透皮吸收,有研究把这种醇质体称为醇传递体^[41]。

应用中药活性成分尤其是透皮促渗成分能够提高进一步醇质体的透皮吸收效果。醇质体可以制成凝胶给药,在凝胶中添加中药透皮促渗剂如挥发油也能进一步提高透皮吸收效果。有研究将苦参碱和氧化苦参碱混合后制备醇质体,进一步分散到含有荆芥挥发油的凝胶中制成二元醇质体凝胶,体外透皮吸收实验结果表明其吸收性能显著优于不含荆芥挥发油的醇质体凝胶和游离药物凝胶^[42]。直接用中药透皮促渗剂修饰醇质体可能效果更好,冰片(Borneol,BO)是常用的一种中药活性成分,被认为具有良好的透皮促渗效果。将冰片化学合成连接到磷脂材料二油酸酰磷脂酰乙醇胺(Dioleoyl phosphoethanolamine,DOPE)制成BO-DOPE再用于制备秋水仙碱醇质体。体外透皮吸收速率测定结果表明,不含BO的醇质体、直接将BO加入膜材的醇质体和含BO-DOPE的醇质体分别是秋水仙碱溶液的4.08、5.13和5.47倍。药动学和药效学研究也表明含BO-DOPE的醇质体显著优于直接将BO加入膜材的醇质体^[43]。

将醇质体分散于凝胶中,发现高分子材料浓度对于醇质体的体外透皮吸收效果也有影响。将肉桂

提取物制成醇质体,再分散于羟丙基甲基纤维素(HPMC)中制成凝胶,体外透皮吸收研究发现不同 HPMC 浓度作为肉桂提取物醇质体基质时经皮渗透速率排序为:2% HPMC>3% HPMC>4% HPMC>5% HPMC $\approx$ 醇质体^[44]。除了制成凝胶外,将醇质体制成凝胶膏剂也发现与游离药物凝胶膏剂相比能够显著促进透皮吸收^[45]。

5.3 其他新型脂质体

2013 年,Manca 等人报道在脂质体水相中添加 10%~30% 甘油可以促进透皮吸收,这是因为甘油能够充当脂质体膜的边缘活性剂,因此把这种脂质体命名为甘油体^[21]。目前的研究表明,加入挥发油能够进一步提高甘油体的吸收效果。芍药苷(Paeoniflorin)是具有抗类风湿性关节炎的中药活性成分,但其极性较强,难以透皮吸收,将其制成甘油体并添加透骨草挥发油,最终处方为 5%(w/v)SPC,0.6%(w/v)胆固醇,10%(v/v)甘油和 2%(v/v)透骨草挥发油。甘油混合在水合液中与芍药苷一起加入,而挥发油是制成脂质体后加入然后再探头超声。体外透皮吸收实验结果表明,芍药苷含挥发油甘油体的透皮吸收速率分别是不含挥发油甘油体、脂质体和酊剂的 1.4、1.6 和 1.7 倍。在体实验表明,芍药苷含挥发油甘油体给药后在滑膜处的药物浓度与不含挥发油甘油体相比,提高了 3.1 倍^[46]。

给药的条件会影响到脂质体从毛囊途径的吸收效果,并且对不同类型的脂质体影响不一致。有研究比较了按摩(Massage)和封闭(Occlusion)对刚性脂质体(Rigid liposomes,采用高相变温度的 DPPC 磷脂)和萼质体(采用低相变温度的大豆磷脂和柠檬烯、柠檬醛、桉油精混合萼)吸收的影响,结果发现按摩有助于 2 种脂质体从毛囊途径的吸收,而封闭条件只有利于提高刚性脂质体在毛囊途径的渗透深度的提高,对萼质体没有影响^[47]。因此,对于上述包括传递体、醇质体、甘油体等以提高脂质体膜变形性为主要透皮吸收机制的新型载体而言,经透皮吸收的给药条件可能以敞开条件为主,以保证变形所需要的渗透压差的驱动(如图 1),但是毛囊途径究竟在新型脂质体透皮吸收机制中占多大比重,还需要进一步的研究阐明。

主动靶向修饰脂质体也有报道用于透皮吸收。在合成稳定性更高的前体脂质(Liposomal precursors)基础上,采用新一代穿膜肽聚精氨酸与胆固醇连接,并加入与前体脂质连接的 Carbon dot(CD),

制成了姜黄素新型脂质体。结果表明,其 12 h 的体外透皮吸收速率分别是姜黄素溶液、以不含穿膜肽和 CD 的姜黄素脂质体、不含穿膜肽只含 CD 的姜黄素脂质体的 4.46、2.24、1.16 倍,并且皮内的姜黄素滞留量也显著提高^[48]。

5.4 透皮吸收脂质体研究应注意的问题

虽然传递体、醇质体等以透皮吸收应用为主,但是不可否认的是,仍然有相当多的研究报道这些新型脂质体可以用于局部作用,增加药物的皮内滞留。而局部作用和全身作用对于不同中药来说递送要求显然不同,因此,如何把握传递体、醇质体、萼质体等新型载体性质和应用方向(皮内滞留或透皮吸收)的相关性将是这类新型载体研究应该充分重视的问题。

加入挥发油成分是透皮吸收脂质体值得重视的一个研究动向,部分研究报道在中药脂质体中应用挥发油成分取得了较好的递送效果^[42,46]。还有研究表明在柔性脂质体(醇质体)膜中添加适宜的挥发油如艾叶油可以防止内水相中药物泄漏,且能增强药物的透皮吸收效果^[49],因此加入挥发油成分对中药脂质体透皮吸收效果的影响及其作用机制将是未来可能的研究热点。

6 展望

6.1 坚持正确的研究方向

脂质体作为中药活性成分经皮给药的载体已有多年的研究历史,能够改善中药活性成分的溶解度、稳定性和吸收效果,进而改善药效。中药的主要特色在于多成分多靶点协同起效,因此在中药经皮给药脂质体的研究应该围绕这一特色展开,一方面应该研究如何将中药复杂成分体系高效载入脂质体,另一方面应该在保证经皮递送效果的同时开展多靶递送机制研究。但是,目前相当多的中药脂质体研究还是以单一活性成分和单一靶点递送为研究中心,与化学药物经皮给药脂质体的研究已经没有本质区别,其研究结果对于中药经皮给药脂质体的发展意义有限。

中药活性成分源于天然,不仅在药物制剂领域,在其他健康产品领域也有很好的应用。例如,化妆品领域就是目前一个非常大的市场,中药产品如相宜本草、丁家宜等都具有很好的口碑,并且脂质体技术在化妆品中有比较成熟的应用^[50]。因此,研制中药经皮给药脂质体并应用于化妆品等健康产品领域,也是未来的一个研究热点。

6.2 提升制剂技术水平

脂质体的研究迄今已有 50 多年的历史,仅经皮给药领域就衍生出一系列新型脂质体,如传递体、醇质体、甘油体、萜质体等,能够显著改善吸收效果和递送效果。目前中药经皮给药脂质体的整体水平仍然不高,在应用新型脂质体技术解决中药脂质体的实际问题方面仍然需要突破。例如,中药脂质体往往需要具有较好的载药效果才能满足载入复杂成分体系的需要,包合物脂质体能够将脂溶性的中药活性成分同时载入内水相和双分子层实现“双重载药”,有望满足中药成分的载药需求,但中药包合物脂质体在经皮给药领域的研究目前还非常少。又如挥发油是一大类中药活性成分,往往具有较好的透皮促渗效果,挥发油在中药透皮吸收脂质体中有较多应用,但其作用机制还有待于进一步的阐明,并且如何解决中药挥发油自身的稳定性问题也还需要进一步研究。

近年来,大量的物理促渗技术层出不穷,从微针、电渗析、超声等技术已经逐步演变成更为实用的可穿戴装备,中药经皮给药脂质体与物理促渗技术的结合研究应该得到加强,在物理促渗技术的影响下可以考虑开发相应的物理响应脂质体,以实现高效递送。

6.3 提高研究技术水平

大量的中药脂质体研究都是以体外透皮吸收评价结果为主,但是,由于动物皮肤与人体皮肤的差异,以及中药活性成分的复杂性,这种过于简单的评价方式亟待改进。例如中药脂质体给药后在皮内如何实现释放、解体、消除,借助于荧光磷脂和不同极性的荧光探针技术应加以深入研究。又如脂质体自身对于皮肤屏障功能的可逆性影响也应该通过在体评价加以阐明。研究技术的可视化、研究评价以在体评价为重点可以预计将是研究技术水平提升的主要方向。在重视治疗效果评价的同时还要注重安全性评价,例如角质层中并无磷脂成分,长期大量应用脂质体对于皮肤角质层功能是否会存在影响,非常值得研究。

参考文献:

[1] MEZEI M, GULASEKHARAM V. Liposomes: A selective drug delivery system for the topical route of administration. Lotion dosage form[J]. Life Sci, 1980, 26(18): 1473-1477.

[2] TROMMER H, NEUBERT RHH. Overcoming the stratum corneum: The modulation of skin penetration[J]. Skin Pharmacol Physiol, 2006, 19:106-121.

[3] MENON GK, CLEARY GW, LANE ME. The structure and function of the stratum corneum[J]. Int J Pharm, 2012, 435: 3-9.

[4] VAN SMEDEN J, JANSSENS M, GOORIS GS, et al. The important role of stratum corneum lipids for the cutaneous barrier function[J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1841(3): 295-313.

[5] ZHU XM, LI Y, XU F, et al. Skin electrical resistance measurement of oxygen-containing terpenes as penetration enhancers: role of stratum corneum lipids[J]. Molecules, 2019, 24(3): 523.

[6] ELIAS PM, GRUBER R, CRUMRINE D, et al. Formation and functions of the corneocyte lipid envelop (CLE)[J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1841(3): 314-318.

[7] 古正涛,沈鹰. 中药经皮给药史略[J]. 中华中医药学刊,2008,26(8):1771-1773.

[8] DREIER J, SORENSEN JA, BREWER JR. Superresolution and fluorescence dynamics evidence reveal that intact liposomes do not cross the human skin barrier[J]. PLoS ONE, 2016, 11(1): e0146514.

[9] KIRJAVAINEN M, MONKKONEN J, SAUKKOSASRI M, et al. Phospholipids affect stratum corneum lipid bilayer fluidity and drug partitioning into the bilayers[J]. J Control Release, 1999, 58(2): 207-214.

[10] NURIA PC, LUISA CAD. Influence of the fluidity of liposome compositions on percutaneous absorption [J]. Drug Deliv, 2000, 7(1): 7-13.

[11] CHEN Y, WU Q, ZHANG Z, et al. Preparation of curcumin-loaded liposomes and evaluation of their skin permeation and pharmacodynamics[J]. Molecules, 2012, 17: 5972-5987.

[12] OGISO T, NIINAKA N, IWAKI M. Mechanism for enhancement effect of lipid disperse system on percutaneous absorption [J]. J Pharm Sci, 1996, 85(1): 57-64.

[13] KNUDSEN NO, JORGENSEN L, HANSEN J, et al. Targeting of liposome-associated calcipotriol to the skin: Effect of liposomal membrane fluidity and skin barrier integrity[J]. Int J Pharm, 2011, 416: 478-485.

[14] KNUDSEN NO, ROHOLT S, SALTE RD, et al. Calcipotriol delivery into the skin with PEGylated liposomes[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2012, 81:532-539.

[15] BETZ G, IMBODEN R, IMANIDIS G. Interaction of liposome formulations with human skin *in vitro*[J]. Int J Pharm, 2001, 229(1/2): 117-129.

[16] KUMAR V, BANGA AK. Intradermal and follicular delivery of adapalene liposomes[J]. Drug Dev Ind Pharm, 2016, 42(6): 871-879.

[17] JUNG S, OTBERG N, THIEDE G, et al. Innovative liposomes as a transfollicular drug delivery system: penetration into porcine hair follicles[J]. J Invest Dermatol, 2006, 126:1728-1732.

[18] 张三泉,曾抗,李建华,等.毛囊皮脂腺在脂质体鬼臼毒素透皮吸收中的作用[J]. 中国皮肤性病杂志,2003,17(5):311-313.

- [19] CHEN J, LU WL, GU W, et al. Skin permeation behavior of elastic liposomes: role of formulation ingredients[J]. Expert Opin Drug Del, 2013, 10(6):845-856.
- [20] GARG V, SINGH H, BIMBRAWH S, et al. Ethosomes and transfersomes: principles, perspectives and practices[J]. Curr Drug Deliv, 2017, 14(5):613-633.
- [21] MANCA ML, ZARU M, MANCONI M, et al. Glycosomes: a new tool for effective dermal and transdermal drug delivery [J]. Int J Pharm, 2013, 455(1/2):66-74.
- [22] DRAGICEVIC-CURIC N, GRAEFE S, ALBRECHT V, et al. Topical application of temoporfin-loaded invasomes for photodynamic therapy of subcutaneously implanted tumours in mice: A pilot study[J]. J Photochem Photobiol B, 2008, 91(1): 41-50.
- [23] LI N, PENG LH, CHEN X, et al. Effective transcutaneous immunization by antigen-loaded flexible liposome *in vivo* [J]. Int J Nanomed, 2011, 6: 3241-3250.
- [24] SINICO C, MANCONI M, PEPPI M, et al. Liposomes as carriers for dermal delivery of tretinoin: *in vitro* evaluation of drug permeation and vesicle-skin interaction[J]. J Control Release, 2005, 103(1): 123-136.
- [25] DOPPALAPUDI S, JAIN A, CHOPRA DK, et al. Psoralen loaded liposomal nanocarriers for improved skin penetration and efficacy of topical PUVA in psoriasis[J]. Eur J Pharm Sci, 2017, 96: 515-520.
- [26] 肖卫红,徐宏峰,张耕,等. 高乌甲素脂质体凝胶制备工艺及体外释药性能研究[J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39(5):466-470.
- [27] 陈积,赵小倩,马彦巧,等. 复方莪术油脂脂质凝胶的制备及体外透皮作用[J]. 中国新药杂志, 2018, 27(7):830-838.
- [28] 时军,王芳,滕希峰,等. 丹皮酚阳离子脂质体凝胶剂的稳定性及离体皮肤渗透试验研究[J]. 中药材, 2012, 35(5):803-807.
- [29] DRAGICEVIC-CURIC N, SCHEGLMANN D, ALBRECHT V, et al. Temoporfin-loaded invasomes: development, characterization and *in vitro* skin penetration studies[J]. J Control Release, 2008, 127(1):59-69.
- [30] 吴艳婷,郭思旖,时军,等. 穿膜肽 TAT 修饰载丹酚酸 B 脂质体的制备及其抑制人皮肤成纤维细胞增殖与迁移初步研究[J]. 中草药, 2019, 50(1):59-68.
- [31] ZHANG Y, XIA Q, LI Y, et al. CD44 assists the topical anti-psoriatic efficacy of curcumin-loaded hyaluronan-modified ethosomes: A new strategy for clustering drug in inflammatory skin[J]. Theranostics, 2019, 9(1): 48-64.
- [32] MATTA MK, ZUSTERZEEL R, PILLI NR, et al. Effect of sunscreen application under maximal use conditions on plasma concentrations of sunscreen active ingredients: A randomized clinical trial[J]. JAMA, 2019, 321(21):2082-2091.
- [33] CEVC G, BLUME G. Lipid vesicles penetrate into intact skin owing to the transdermal osmotic gradients and hydration force [J]. Biochim Biophys Acta, 1992, 1104:226-232.
- [34] 方蓉,郑杭生,陈思思. 离体皮肤渗透法测定三七总皂苷传递体经皮吸收特性[J]. 中草药, 2015, 46(4):513-519.
- [35] 王娟,郑杭生,魏燕,等. 盐酸青藤碱挥发油边缘活化 PEG 修饰传递体的离体皮肤渗透研究[J]. 中草药, 2016, 47(20):3602-3609.
- [36] WANG J, WEI Y, FEI YR, et al. Preparation of mixed monoterpenes edge activated PEGylated transfersomes to improve the *in vivo* transdermal delivery efficiency of sinomenine hydrochloride[J]. Int J Pharm, 2017, 533:266-274.
- [37] 吴玉,陈军,方芸,等. 马钱子碱传递体的体外透皮与促渗性质研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(16):3009-3015.
- [38] TOUITOU E, DAYAB N, BERGELSON L, et al. Ethosomes -novel vesicular carriers for enhanced delivery: characterization and skin penetration properties[J]. J Control Release, 2000, 65:403-418.
- [39] 余丹妮,李霞,张骥,等. 白桦脂酸醇质体的制备及其体外经皮渗透试验[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(17):1-4.
- [40] 夏晓静,包汝泼,黄悦. 经去氧胆酸钠修饰的白桦脂酸醇质体的制备及其体外透皮效果研究[J]. 中草药, 2014, 45(10):1407-1411.
- [41] 赵丹丹,于莲,冯幸福,等. 醇传递体在透皮给药系统中的研究进展[J]. 中国现代应用药学杂志, 2019, 36(9):1166-1171.
- [42] 危红华,赵晓旭,李莎莎,等. 苦参方二元醇质体凝胶剂的制备及体外经皮给药研究[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(9):2762-2766.
- [43] ZHANG Y, ZHANG N, SONG H, et al. Design, characterization and comparison of transdermal delivery of colchicine via borneol-chemically-modified and borneol-physically-modified ethosome[J]. Drug Deliv, 2019, 26(1): 70-77.
- [44] 梁震野,杨建苗,杜立峰,等. 肉桂提取物醇质体凝胶经皮给药研究[J]. 中国现代应用药学杂志, 2013, 30(11):1202-1206.
- [45] 宋艳丽,郝保华. 盐酸青藤碱醇质体水凝胶膏剂的制备及体外透皮效应[J]. 中南药学, 2017, 15(9):1216-1220.
- [46] ZHANG K, ZHANG Y, LI Z, et al. Essential oil-mediated glycosomes increase transdermal paeoniflorin delivery: optimization, characterization, and evaluation *in vitro* and *in vivo* [J]. Int J Nanomedicine, 2017, 12:3521-3532.
- [47] TRAUER S, RICHTER H, KUNTSCHE J, et al. Influence of massage and occlusion on the *ex vivo* skin penetration of rigid liposomes and invasomes[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2014, 86:301-306.
- [48] PATRA S, ROY E, MADHURI R, et al. The next generation cell-penetrating peptide and carbon dot conjugated nano-liposome for transdermal delivery of curcumin[J]. Biomater Sci, 2016, 4(3): 418-429.
- [49] 李伟泽,韩文霞,赵宁,等. 中药挥发油对盐酸巴马汀纳米柔性脂质体药剂学性能的影响[J]. 药学报, 2017, 52(6):992-997.
- [50] TRAN VV, MOON JY, LEE YC. Liposomes for delivery of antioxidants in cosmeceuticals: Challenges and development strategies[J]. J Control Release, 2019, 300: 114-140.

(编辑:董宇)