

• 药剂学 •

脂质体经皮给药研究进展

孙华君 朱全刚 胡晋红(第二军医大学长海医院药学部 上海 200433)

摘要 目的:介绍目前国内外脂质体经皮给药的研究进展。**方法:**查阅国内外文献报道。**结果与结论:**通过多种动物模型对脂质体经皮吸收的机制进行了研究,除了药物本身性质外,脂质体促进药物的经皮吸收与脂质体组成、粒径、相态有关,也与给药方式有关,失水保持一定的渗透压差有利于经皮吸收。研究中难以制得热力学活性相同的对比制剂,目前对比制剂仅是药物浓度相同,因此脂质体促进透皮效果的结论尚存争议。

关键词 脂质体;经皮给药;药物载体

近年,脂质体以其良好的生物相容性和促进药物透皮吸收的特性受到人们的高度重视。脂质体的类脂双分子层结构能有效地与亲水、亲脂及大分子药物相结合,将药物包封于其中,类似“有机溶剂”增加药物的溶解度,增加局部药物浓度,可有效地促进药物透过皮肤,又可起到贮库及限速作用,从而实现药物的控速释放,提高药物的生物利用度,降低副作用^[1~3]。本文拟就近年脂质体经皮给药研究的进展作一综述。

1 研究药物透皮的动物模型

无毛啮齿类动物(Hairless Rodents),被毛稀少,外观与人皮肤相似,与有毛动物相比,消除了由于除(脱)毛对皮肤的刺激以及对皮肤透过性能的影响,应用十分广泛。但其皮肤结构和性质毕竟与人类的相去甚远,其结果仅具有参考意义。

仓鼠(Hamster)耳朵前侧的皮脂腺丰富,是研究皮脂腺的较佳模型^[4~5]。将无毛小鼠烫烧伤后形成的瘢痕作为无毛囊、无腺体皮肤模型^[6],以比较研究药物经毛囊、皮脂腺吸收的机制,但是这样形成的皮肤的结构尚待进一步研究。

由于动物皮肤的结构和性质与人类的相差甚远,许多实验采用人尸体皮肤或外科手术切皮,以获得与实际应用情况相近的实验结果,但皮肤来源有限,而且离体皮肤的活性难以保证。将人体皮肤移植于先天无胸腺的裸鼠(Nude

Mice) 体上,使其成活,进行药物透皮研究^[7],可能成为一种与人体更接近的、较理想的动物模型。

2 脂质体促进透皮的机制研究

近年来,人们采用同位素标记、荧光标记等技术,对脂质体促透的机制进行了广泛的研究。

Ogiso T 等^[8]以倍他司汀(Bethahistine)为模型药物,以Wistar大鼠和无毛鼠为实验动物,采用荧光探针技术和组织化学手段,研究含不同组成成分的脂质体促进药物透过皮肤的机制。发现处于液态的脂质体脂质可置换细胞间和毛囊的脂质或结合于这些部位,导致皮肤的屏障功能严重紊乱,可增加皮肤脂质的流动性,从而促进药物在脂质区域的扩散和脂质体包封药物的转运。固态脂质体与皮肤的结合少于液态脂质体,液态脂质体增加角质层脂质的流动性,而固态脂质体减低角质层脂质的流动性,液态脂质体促进透皮的效果优于固态脂质体,因此脂质体中脂质的流动性非常重要。

Weiner ND 等^[9]以脂质体包封的干扰素对裸鼠、仓鼠及人皮肤在试管中进行透皮实验,24h后,70%~80%的干扰素能进入皮肤或皮肤深层,其浓度显著高于其它水溶液制剂,但因皮肤种属不同而有所差异。作者认为脂质体促透作用的关键在于所用制剂产生显著的失水(dehydration)现象,因为多数制剂中脂质体浓度很少超过100mg/ml,液体占90%。若无明显失水,脂质体给药系统的优点就不会超过水溶性制

剂。脂质体混悬液的失水,可以是完全的,也可以是达到平衡状态而使脂质体中保留一定的水份。脂质双层膜处于液晶状态(liquid crystalline state),可以穿透皮肤;若液晶状态变为凝胶状态(gel state),透皮作用则停止或减慢。若使失水现象达到平衡状态,使脂质体双层膜保留一定的水分,从而使药物透皮吸收持续而稳定,而且由于失水使脂质体形成的膜与皮肤接触更紧密,有利于透皮吸收。对于亲水性药物来说,脂质体悬液也需要失水至平衡状态,使脂质体双层膜保留一定的水分,透皮作用才能产生和维持。此外,失水可提高液相药物浓度,有利于增加吸收量,还能使脂质体药物更易于从毛囊等附属器管道开口处进入皮肤深层。

Reinl HM 等^[10]采用 ATR 红外光谱(attenuated total reflection infrared spectroscopy)研究主要成分为二肉豆蔻酰卵磷脂(DMPC)的脂质体经人皮和培养的人角质细胞层的转运动力学。平均直径 55nm 的脂质体在 37℃ 时能迅速穿透角质层,而直径 2 倍大的脂质体却不能穿透。相反,含有化学促进剂的脂质体,包括直径大 5 倍的脂质体,透皮速度比小脂质体明显快。脂质体的转运也依赖于它们的相态,10℃ 时脂质体的脂质呈结晶状态,此时即使小脂质体也不能渗透。

Kim MK 等^[10]研究氢化可的松脂质体凝胶剂和其常规软膏在正常或去角质层的无毛鼠皮肤上的转运时,发现脂质体凝胶剂与常规软膏相比,可产生高而持续的皮肤药物浓度,但经皮吸收的药量却小于常规软膏,这说明脂质体凝胶剂的药物在皮肤中扩散缓慢。可能由于药物以溶解状态存在于磷脂酰胆碱中,其扩散速度受到磷脂酰胆碱扩散的影响,而磷脂酰胆碱等可迅速渗入皮肤,但作为皮肤成分而停留于此部位很长时间,扩散很慢,因而溶于磷脂酰胆碱中的药物的吸收量反而减少。

Hofland HEJ 等^[12]以冰折电镜法(freeze-fracture electron microscopy)、小角 X 线散射法(small-angle X-ray scattering)和聚焦激光扫描显微镜法(confocal laser scanning microscopy)观察

了人体乳房和腹部皮肤与脂质体(包括 niosomes)的相互作用,发现脂质体在皮肤表面产生吸附、融合。NAT89、NAT106 的脂质体和 C₁₂EO₃的 niosomes 可引起角质层深部的超微结构的改变,最大深度可达 10 μ m,可能系 niosomes 迁移入角质层细胞间脂质中或由于表面活性剂分子以分子扩散通过细胞间脂质层的结果。包封药物的脂质体吸附和融合在皮肤表面,在脂质体混悬液与角质层界面间产生药物的高度热力学活力梯度,这是脂溶性药物穿透皮肤角质层的动力。也由于角质层屏障功能受损,使药物渗透动力学发生变化。可见 niosomes 的穿透增强作用与它们对人角质层超微结构的作用相关。

传递体(transfersome)^[13]作为一种特殊的脂质体,具有高度柔韧性及高效渗透的性质。传递体中胆酸分子能在高压部位蓄积从而产生形变。其透过效率非常高,平均粒径在 500nm 的传递体混悬液能穿过为其本身 1/5 的小孔,且透过速度和数量与纯水相当。传递体的透皮驱动力是渗透压差,水分的蒸发导致部分失水,为了不完全失水而靠渗透压梯度移动,发生变形进入皮肤。由于封闭不会造成渗透压差,从而不利于传递体渗透进入皮肤。传递体能穿过外层皮肤层到达皮肤深部的真皮,在该部位药物进入淋巴循环被稀释而进入血液循环,直到全身。当剂量相同时,传递体皮肤给药的生物分布与注射相似。Cevc G 等认为开放疗法条件下传递体制剂进入皮肤水合的动力比其通过角质层中窄的脂质通道所遇到的阻力要大,这种水合动力主要是由皮肤不同层的水化梯度引起的;而封闭疗法能消除水化梯度,使传递体难以穿透皮肤。

3 脂质体经皮给药的实验研究

进入 90 年代以来,脂质体作为药物载体用以经皮给药的研究发展迅速,人们利用不同的材料、不同的方法制备脂质体,进行了大量的实验研究。

Cehring W 等^[14]观察了 15 名健康志愿者对地萘酚所致皮肤红斑的影响,受试者均具有正常皮肤屏障功能,发现脂质体地萘酚所致皮肤

红斑作用明显较强,即说明脂质体有促进透皮吸收的作用。

Touitou E 等^[15]应用自动射线照相术(autoradiography)定量分析平均粒径 40nm 的^[3H]咖啡因脂质体在皮肤中的分布,发现蓄积在皮肤中的咖啡因达 2260 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$,比含有促进剂的水溶液大 3 倍。其体外应用 24h 后,表皮中浓度最大达 280 $\mu\text{g}/\text{g}$,真皮中浓度最低为 50 $\mu\text{g}/\text{g}$,皮肤附属器官中也有相对高的浓度。

Plessis JD 等^[16]采用体外扩散方法研究环孢素脂质体在无毛鼠、仓鼠和猪的皮肤中的沉积作用时,发现环孢素在皮肤中的沉积与脂质体混悬液中脂质体粒径的大小有关。在 0.06 μm 、0.3 μm 、0.6 μm 三种粒径中,以 0.3 μm 粒径的脂质体药物在皮肤深部蓄积量和接收室的浓度为最大(猪皮除外),而 0.06 μm 粒径的脂质体药物在无毛鼠皮和猪皮的角质层表面的蓄积量最多。Natsuki R 等^[17]采用超声法和注入法制备醋酸维生素 E (VEA) 的脂质体,研究脂质体的粒径大小对其穿透健康人志愿者臂皮和无毛鼠背皮的影响。超声法制得的脂质体的平均粒径比注入法制得的脂质体的平均粒径要小,分别为 31nm 和 188nm,前者的氢化卵磷脂(H-PC)透入皮肤比后者多。脂质体包封的¹⁴C-VEA 透入皮肤比游离 VEA 多,超声法所制得脂质体包封的¹⁴C-VEA 穿透最多。可见,脂质体经皮给药时粒径会影响透皮速度,应选择最佳粒径。

Artmann C 等^[18]以分子量为 20 000~50 000 的单克隆抗体(抗-HLA-Dr)对幼猪进行透皮试验,封闭 20min 后切取皮肤活组织,冰冻切片,以免疫组织化学方法检测。结果表明,脂质体可作为大分子蛋白的载体,促进药物迅速穿透皮肤进入皮下组织。他们在以¹⁴C-脂质体包封的³⁵S-肝素对幼猪进行透皮吸收的定量研究中,以液相闪烁计数器和 γ 计数器检测,亦证实脂质体可以促进平均分子量 15 000 的肝素透皮吸收。

Fleisher O 等^[20]用新型的非离子脂质体包封生长激素释放肽,发现该脂质体可使生长激

素释放肽渗入到无毛小鼠皮肤的深层中,说明适当组分的脂质体能够促进多肽类物质的透皮吸收。Fresta M 等^[21]研究了^[14C]胰岛素脂质体经皮药物释放系统,发现由角质层脂质构成的脂质体比由磷脂构成的脂质体穿透角质层效果显著,前者可释放大量胰岛素进入皮肤深部(表皮及真皮),但未产生全身性系统吸收。

Cevc G 等^[13]将含有 30u 的胰岛素传递体(transfersulin)经皮给药系统给予人体,经 3~4h,能将血糖降低 20%,这其中滞后时间为 150min~180min,而后皮肤中存在的传递体能使血糖浓度继续稳定地下降,能持续至少 10h。由载有胰岛素的传递体引起的全身性降低作用的机制,不同于经鼻粘膜给药的制剂那样归结为使类脂流动性增加。以氢化可的松、地塞米松和曲安奈德为模型药物,研究传递体包封药物的体内生物活性^[21]。当它们分别以 1.5mg/kg、1.5mg/kg 和 1mg/kg 的剂量经表皮给予后,8h 时血药浓度分别约为 0.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.007 $\mu\text{g}/\text{ml}$,而皮肤中浓度分别为 28 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、156 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、10 $\mu\text{g}/\text{g}$,在传递体包封的药物剂量低于目前常用的皮肤科制剂时,其对皮肤病的治疗仍有效。因此,传递体具有良好的变形性,可穿透或通过完整皮肤,改善局部药物分布特性和总体药物安全性。

笔者^[23]以酮洛芬为模型药物,考察了脂质体对药物透过离体小鼠皮肤行为的影响,实验结果表明,与饱和酮洛芬磷酸盐缓冲液浓度相同的脂质体混悬液在实验过程中供给室封闭,并未显示出多少优势,而供给室不封闭以模拟给药过程中的失水,其渗透系数和透过总量均增大。

4 脂质体促进透皮吸收研究中存在的问题与展望

目前,脂质体促进透皮的实验结果各异,主要是难以制得热力学活性相同的对比制剂^[2,23]。通常进行的对比研究中,所用的制剂是药物浓度相同,而不是热力学活性一致。脂质体促透作用的差异与其组成成分、制备方法、粒径大小、表面电荷等密切相关,结论多样就不

可避免了。

由于脂质体其制造成本较高; 脂质体的制备过程中要消耗大量的有机溶剂, 且磷脂等容易被氧化, 因而生产条件要求高、工艺难度大, 难以形成规模化大生产。总之, 实现低成本的规模化生产尚需要走较长的路。

研究表明, 脂质体可促进药物的透皮吸收, 产生全身治疗作用, 也可使药物产生更强的局部作用, 提高生物利用度, 降低副作用。以脂质体为载体包封药物制成透皮制剂, 可作为药物贮库, 产生持久的防治作用。随着脂质体促进透皮机制的进一步研究和一系列新材料、新方法的广泛应用(如脂质体联合与离子导入技术^[22]), 脂质体经皮给药的应用前景将越来越引入瞩目。

参考文献

- 1 Flynn GL. Cutaneous and Transdermal Delivery in Modern Pharmaceutics(Third Edition). Banker GS and Rhodes CT (Ed), 1996, 249
- 2 Schreier H, Bouwstra J. Liposomes and Niosomes as Topical Drug Carriers: Dermal and Transdermal Drug Delivery. J Controlled Release, 1994, 30(1): 1
- 3 Mezei M, Gulasekharan U. Liposomes- A Selective Drug Delivery System for the Topical Route of Administration. I. Lotion Dosage Form. Life Sci, 1980, 26(18): 1473
- 4 Plöwing G, Ludersmidt C. Hamster Ear Model for Sebaceous Glands. J Invest Dermatol, 1977, 68(4): 171
- 5 Matias JR, Orentreich N. The Hamster Ear Sebaceous Glands I. Examination of the Regional Variation by Stripped Skin Planimetry. J Invest Dermatol, 1983, 81(1): 43
- 6 Ill el B, Schaefer H. Transfollicular Percutaneous Absorption: Skin Model for Quantitative Studies. Acta Derm Venereol, 1988, 68(5): 427
- 7 Short SM, Paasch BD, Turner JH et al. Percutaneous Absorption of Biologically active Interferon- gamma in a Human Skin Graft-Nude Mouse Model. Pharm Res, 1996, 13(7): 1020
- 8 Ogiso T, Niinaka N, Iwaki M. Mechanism for enhancement effect of lipid disperse system on percutaneous absorption. J Pharm Sci, 1996, 85(1): 57
- 9 Toutou E, Junginger HE, Weiner ND et al. Liposomes as Carriers for Topical and Transdermal Delivery. J Pharm Sci, 1994, 83(9): 1189
- 10 Reinl HM, Hartinger A, Dettmar P et al. Time-resolved infrared

ATR measurements of liposome transport kinetics in human keratinocyte cultures and skin reveals a dependence on liposome size and phase state. J Invest Dermatol, 1995, 105(2): 292

- 11 Kim MK, Chung SJ, Lee MH et al. Targeted and sustained delivery of hydrocortisone to normal and stratum corneum - removed skin without enhanced skin absorption using a liposome gel. J Controlled Release, 1997, 46: 243
- 12 Holland HEJ, Bouwstra JA, Pnec M et al. Interactions of Non-ionic Surfactant Vesicles with Cultured Keratinocytes and Human Skin in vitro: A Survey of Toxicological Aspects and Ultrastructural Change in Stratum Corneum. J Controlled Release, 1991, 16: 155
- 13 Ceve G, Schatzlein A, Blume G. Transdermal drug carriers: basic properties, optimization and transfer efficiency in the case of epicutaneously applied peptides. J Controlled Release, 1995, 36: 3
- 14 Gehring W, Ghyzy M, Gloor M et al. Enhancement of the penetration of diethanol and increase of effect of diethanol on the skin by liposomes. Arzneim-Forsch/Drug Res, 1992, 42: 983
- 15 Toutou E, Schaefer HL, Dayan N et al. Modulation of caffeine skin delivery by carrier design: liposome versus permeation enhancers. Int J Pharm, 1994, 103: 131
- 16 Plessis JD, Ramachandran C, Weiner N et al. The influence of particle size of liposome on the deposition of drug into skin. Int J Pharm, 1994, 103: 277
- 17 Natsuki R, Morita Y, Osawa S et al. Effects of liposome size on penetration of dl-Tocopherol acetate into skin. Bion Pharm Bull, 1996, 19(5): 758
- 18 Artmann C, Roding J, Ghyzy M, et al. Liposome from soya phospholipids as percutaneous drug carriers. Arzneim-Forsch/Drug Res, 1990, 40: 1363
- 19 Fleisher O, Niemiec SM. Topical delivery of growth hormone releasing peptide using liposomal system: an in vitro study using hairless mouse skin. Life Sci, 1995, (13): 1293
- 20 Fresta M, Puglisi G. Application of liposome as potential cutaneous drug delivery systems. In vitro and in vivo investigation with radioactively labelled vesicle. J Drug Target, 1996, 4(2): 95
- 21 Ceve G, Blume G, Schatzlein A. Transfersomes - mediated transepidermal delivery improves the regioselectivity and biological activity of corticosteroids in vivo. J Controlled Release, 1997, 45: 211
- 22 Vutla NB, Bøtgeri GV, Banga AK. Transdermal iontophoretic delivery of enkephalin formulated in liposomes. J Pharm Sci, 1996, 85(1): 5
- 23 孙华君, 胡晋红, 朱全刚. 脂质体对酮洛芬体外透皮的影响. 第二军医大学学报, 1999, 20(6): 371

(收稿: 1998- 11- 16)