

脂质体经皮给药研究进展

黄复生 贺俊英¹ (重庆 400038 第三军医大学基础部 病原生物学教研室脂质体药物实验室; ¹ 第三军医大学西南医院药剂科)

摘要 目的: 分析总结近年来国外脂质体经皮或黏膜给药研究的特点和应用进展。方法: 对近年来脂质体药物特点, 主要对在皮肤疾病和美容方面, 对局部伤口的治疗, 在皮肤损伤和保护中的应用, 在眼科疾病中的应用进行综述。结果与结论: 脂质体是一种很好的定向药物载体, 它的应用范围将越来越广。

关键词 脂质体; 经皮给药系统; 应用

Advance in studies of liposome transdermal drug delivery system

Huang Fusheng, He Junying¹ (Department of Pathogenic Biology, College of Medicine, Third Military Medical University; ¹Department of Pharmacy, Southwest Hospital, Third Military Medical University Chongqing, 400038, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To summarize the advances of liposome transdermal drug delivery studies in recent years. **METHOD:** This technique provides a simple, clinically relevant approach to deliver therapeutic amounts of biogenic molecules to the skin, with potential application in treating a variety of cutaneous disorders and other diseases. These carriers can transport pharmacological agents, including large polypeptides, through the permeability barriers, such as the intact skin. **RESULTS and CONCLUSION:** Topically applied liposomes may be capable of targeting the delivery of a wide range of drugs, including macromolecules, into the body. Targeted drug delivery may have profound therapeutic applications for treating several diseases.

KEY WORDS liposome, transdermal drug delivery system, application

经皮给药是药物通过皮肤吸收的一种给药方法, 药物应用于皮肤上后, 穿过角质层, 通过皮肤扩散, 由毛细血管吸收入体循环的过程, 经皮治疗系统 (transdermal therapeutic system) 或经皮给药系统 (transdermal drug delivery system) 一般是指经皮给药的新制剂。脂质体经皮给药研究在国外发展很快, 已应用于很多领域, 现主要将近年进展简述如下。

1 脂质体经皮给药的特点

1.1 脂质体的特性

脂质体 (liposome) 是一种定向药物载体, 属于一种靶向给药系统 (targeting drug delivery system) 的新剂型。脂质体具有类细胞结构, 通过改变被包封药物的体内分布, 使药物主要在肝、脾、肺和骨髓等组织器官中分布和蓄积, 从而提高药物的治疗指数, 减少药物的治疗剂量和降低药物的毒性。脂质体还具有生物膜的特性和功能, 使它不仅作为一种新剂型应用于疾病的治疗和诊断中, 而且在生物物理、生物化学、分子生物学、免疫学等许多领域中广泛应用。

皮肤的结构和功能, 药物在皮肤内的转运包括药物在皮肤内的渗透过程、扩散动力学, 皮肤的渗透性差异、代谢与储库作用, 经皮吸收促进剂等均可影响药物经皮吸收。

普通制剂经皮给药最大的问题是大多数药物穿过皮肤

角质层比例很低, 脂质体包被药物是增加其比例的方法之一。荧光标记的双层凝胶脂质体和液相脂质体分别应用于大鼠颈背部皮肤 1, 3, 6h, 用共聚焦激光显微镜观察荧光标记物穿过的途径和深度, 不同剂型在应用后前 3h 期间穿透的深度无明显差异; 在使用 6h 以后, 凝胶脂质体不象液相脂质体穿透的那么深。在液相脂质体中, 大多数为易变形的悬液时, 其表皮和真皮的荧光强度最高。这说明, 脂质体小泡形成和脂质双层的热力学状态及一定程度上脂质双层的弹性影响穿透的深度^[1]。脂质体的大小、成分、电荷等都可影响药物经皮给药的作用。

1.2 经皮给药的优点

新近发展起来的局部外用脂质体释放系统, 以其有效的透皮靶向精确给药, 在治疗相关疾病的药物方面有极高的开发前景。经皮给药研究和经皮给药系统的迅速开发是由于经皮给药具有独特的优点:

外用制剂的特点在于给药途径不通过胃肠道, 减少了对胃肠道的刺激, 避免了肝脏的首过作用和胃肠道的降解, 减少用药的个体差异。外用制剂不通过注射给药减少了患者的痛苦。药物经皮肤或黏膜给药, 可提高制剂的生物利用度, 既可发挥局部治疗作用又可透过皮肤或黏膜达到全身的治疗目的; 同时, 外用形式给药方法简便, 患者容易接受。因此, 外

用给药新剂型的开发研究日益受到重视。

一次给药可以长时间使药物以恒定速率进入体内,减少给药次数,延长给药间隔。

经皮给药可按需要的速率将药物输入体内,维持恒定有效的血药浓度,避免了口服给药等引起的血药浓度峰谷现象,降低了不良反应。使用方便,可以随时中断给药。

2 在皮肤疾病和美容方面的应用

脂质体因其卓越的高效性、安全性和可控性,已经作为第五代全新的药物剂型。

人群颜面部皮肤蠕形螨感染率为 70% 到 90%, 诱发多种皮肤疾病,造成面部丘疹、毛孔粗大、皮肤粗糙、皮脂分泌增多等临床症状,是酒渣鼻、脂溢性皮炎、螨性秃顶、毛囊炎、眼睑炎、痤疮(粉刺)等常见皮肤病的重要致病原因之一。黄复生等^[2]研究开发出具有高效杀螨活性,同时具备护肤、养颜功能的脂质体抑螨美容产品。在研究工作中,完成特异靶向毛囊脂质体的配方、合成和工艺路线,脂质体可将天然药物分子高浓度富集于毛囊皮脂部位。本项发明经过成分及制作工艺优化,无油性,具有易吸收的、良好的使用感受。无皮肤刺激激惹作用,安全性高。在第三军医大学附属医院皮肤科进行数百病例临床实验,在对人体蠕形螨感染症状的改善,防止感染复发、皮肤护理性能以及患者接受程度上,本新型抑螨脂质体制剂优于现行使用的药物,症状明显改善,效果满意。

局部皮肤使用以卵磷脂为基质的脂质体可以进行毛发的治疗和美容修饰。包被黑色素、蛋白质、基因和小分子物质已能选择性靶向小鼠毛囊和毛囊根部。脂质体运输这些分子是时间依赖的,进入表皮、真皮和血流的分子很少;裸露未包被分子不能进入毛囊,仅滞留在角质层上。脂质体选择性靶向毛囊系统已能用于黑色素染毛发、运输 lac-Z 基因到毛囊基质细胞和运送其它蛋白质^[3]。在很多化妆品产品中,乙二醇酸常作为鳞片样脱皮和保持皮肤湿润的原料,但用量越大,对皮肤的刺激性、烧灼感越大。卵磷脂与胆固醇为 1:1 组成的脂质体可降低其不良反应,乙二醇酸和脂质体的摩尔比例为 5:1 时,可很好的调控乙二醇酸的释放^[4]。

30 名痤疮患者双盲临床试验表明,脂质体维甲酸凝胶治疗黑头粉刺效果明显,普通维甲酸凝胶制剂可减少 63.36% 粉刺损害,而脂质体维甲酸凝胶制剂则能减少 94.17% 损害;而后者引起皮肤红斑和刺激性等副作用也明显低^[5]。根据体外猪耳皮肤和体内无毛小鼠脂质体稳定性和透皮实验结果,痤疮患者用 1% 氯林可霉素脂质体制剂和 1% 氯林可霉素常规制剂进行双盲临床治疗,前者明显优于后者^[6]。

人皮肤念珠菌病体外培养模型感染白色念珠菌(*Candida albicans*)后的特异性变化是鳞屑、角化过度、角化不全、角化异常和海绵样皮肤水肿。用益康唑(ecconazole)面霜和益康唑脂质体凝胶对无感染的重组人表皮和人皮肤念珠菌病(candidosis)模型进行效果观察,使用益康唑面霜对人表皮损害和毒性作用比益康唑脂质体凝胶大,而且增加对人皮肤念珠菌病模型的不良反应;应用益康唑脂质体凝胶后,

不能在角质层检测到白色念珠菌侵袭,不良反应减少。脂质体凝胶对白色念珠菌细胞和角质层有很强的亲和力,甚至可在角质层细胞间隙中观察到完整的脂质体^[7]。

单盲、对比实验治疗 20 例丘疹脓疱性粉刺患者,结果显示,苯甲酰过氧化脂脂质体对毛囊皮脂腺漏斗部内两种细菌(propionibacteria 和 micrococaceae)有很好的抗菌活性,是治疗丘疹脓疱性粉刺较好的外用制剂^[8]。

与念珠菌有关的全身性感染发病率正在增加,特别是服用三氮杂茂(triazoles)预防霉菌感染的患者。一例急性白血病患者在化疗期间,伴有严重持续性发热,躯干和肢体可见小红斑丘疹,血培养念珠菌(*Candida kruzei*)生长,受损皮肤活检念珠菌(+),在使用大剂量两性霉素 B 脂质体治疗痊愈后出院^[9]。

脂质体包被的干扰素- α 2b (IFN- α 2b)对体外真皮成纤维细胞有抗纤维生成作用。临床为了治疗儿童皮肤纤维化患者需要长期注射大剂量干扰素- α 2b,这既不安全方便,也不易达到。受伤豚鼠真皮使用 3000 U 干扰素- α 2b 脂质体,第 5 天伤口收缩速度明显降低,直到第 10 天仍很明显。Northern 印迹实验显示,伤后 11, 14dI 型胶原 mRNAs 转录表达明显下降;III 型胶原 mRNAs 表达在第 7 天明显下降,在第 14 天仍受到抑制。活体动物干扰素- α 2b 脂质体试验结果表明,经皮使用脂质体干扰素- α 2b 治疗儿童皮肤纤维增殖性疾病是可行的^[10]。

3 对局部伤口的治疗

对局部伤口治疗尽管进行了广泛的研究,但目前还没有既有抗感染作用又有促进水分增加相结合的治疗方法,Reimer 等用聚烯吡酮-碘(PVP-I)脂质体凝胶进行体外抗葡萄球菌试验,并在鼠模型上进行毒性试验,结果安全有效。随后随机对 35 名皮肤移植患者进行 PVP-I 脂质体凝胶和常规 PVP-I 制剂效果和耐受性观察,结果显示:前者比后者有更好的抗菌效果,从上皮形成和移植物脱落方面等临床效果看,两者有明显差异,PVP-I 脂质体凝胶有更好的抗菌作用和增强上皮形成的活性^[11]。每天局部应用丁咯地尔(buflomedil)脂质体对无毛鼠耳伤口模型观察显示,不管是正常皮肤还是缺血性皮肤,局部应用丁咯地尔脂质体都可加速伤口愈合,受伤组织的新血管完全形成也增强加快,该制剂可作为临床伤口愈合时使用^[12]。

4 在皮肤损伤和保护中的应用

紫外线照射(UVB)人体皮肤可引起 DNA 损伤、晒黑、免疫学变化,甚至皮肤癌。Wolf 等^[13]观察在 UVB 后,DNA 修复酶脂质体是否能预防急性照射不利影响。15 名以前有皮肤癌病史的患者在臀部接受产生两个最小红斑的 UVB 剂量,其后 2, 4, 5h 立即使用 T4 核酸内切酶 V(T4N5)脂质体,6h 后皮肤活检,透射电镜和免疫金标记显示,皮肤细胞内存在该酶。虽然 T4N5 脂质体不能明显影响 UVB 诱导的红斑反应和黑斑细胞的形成,但能完全预防 IL-10 和 TNF- α 及 IL-10 蛋白质的上调。这说明 T4N5 脂质体可以提供一种新的抗 UVB 损伤的方法^[13]。由于遗传上缺乏 DNA 修复酶,有

皮肤干燥症色素沉着患者皮肤癌发病率较高,局部使用 T4N5 脂质体可能降低皮肤癌发病率。30 名患者进行多中心、双盲实验,其中 20 名使用 T4N5 脂质体洗剂,对照组 10 名使用空白脂质体洗剂,每日使用,结果发现,在 1 年治疗期间,治疗组新的光化学角质物和基底细胞癌损害发生率低于对照组,这说明, T4N5 脂质体洗剂可降低这些损害的发生率^[14]。皮肤干燥症患者和皮肤癌患者缺乏 DNA 修复酶,用含有 DNA 修复酶 T4N5 脂质体洗液治疗,几小时后就改善和修复了 DNA 损伤。还发现 T4N5 再皱起并恢复酶活性^[15]。

在 UVB 介导的细胞程序性死亡中,UVB 诱导的 DNA 损伤起关键作用,此外它还直接活化细胞死亡的受体包括 CD95。通过测定 UVB 后人 HeLa 细胞,研究细胞核和细胞膜的作用,UVB 诱导的 DNA 损伤在用脂质体包被的修复酶——光裂合酶处理后,可减少损伤,程序性死亡比例明显减少,而空白脂质体无此作用^[16]。

某些资料显示:UVB 可诱导 DNA 环丁烷嘧啶二聚物抑制某些免疫反应。为了检测是否还会引起皮肤其它类型的 DNA 损伤,C3H 小鼠使用包被无活性 Hind III 或其它的限制性核酸内切酶的脂质体,结果可抑制小鼠皮肤对白色念珠菌的感染和异型抗原的迟发型过敏反应及 IL-10 的产生,Pam 212 角质化细胞系与这些脂质体体外孵育后,抑制免疫活性和 IL-10 的产生。然而,Hind III 脂质体未能诱导抑制性 T 细胞活性,表皮细胞 DNA 双螺旋突变能诱导免疫抑制和上调免疫调节因子的含量,作者认为,引起 DNA 损伤的药物可能诱导细胞因子调节紊乱和免疫抑制^[17]。

DMBA 可诱导产生皮肤癌,用含有大鼠可溶性 p53 抗原的脂质体免疫接种,小鼠产生肿瘤抑制作用,肿瘤发生率减少,肿瘤变小,程序性细胞死亡率增加,这说明可溶性 p53 抗原对小鼠皮肤癌的肿瘤有抑制作用^[18]。

5 在眼科疾病中的应用

Law 等^[19]对无环鸟苷脂质体中无环鸟苷(抗病毒药物)的体外角膜渗透和活体角膜吸收进行了观察,体外角膜渗透实验显示,无环鸟苷阳性电荷脂质体比阴性电荷脂质体和普通溶液渗透率要低;活体角膜吸收实验表明,无环鸟苷阳性电荷脂质体中无环鸟苷吸收量比阴性电荷脂质体和普通溶液要高。使用阳性电荷脂质体后,角膜中无环鸟苷浓度比阴性电荷脂质体和普通溶液要高。角膜表面形态学观察显示,阳性电荷脂质体在角膜表面可形成一层薄膜,并紧密地连接在角膜表面,导致药物存留时间延长,因此,无环鸟苷阳性电荷脂质体引起无环鸟苷吸收增加。

毛果芸香碱是常用的缩瞳药,使用中性、阴性电荷毛果芸香碱脂质体和游离毛果芸香碱对正常白内障眼进行观察,结果表明,中性电荷毛果芸香碱脂质体延长作用时间最明显,而且稳定性好,至少保存 15 个月^[20]。局部应用戒酒硫(disulfiram)可阻止白内障的发展,但脂质体中不同成分的比例影响药物的效果,脂质体中 DMPC、DPPC 和 CPC 比例为 8:2:1 时,戒酒硫可作为预防和治疗白内障的最有潜力的

制剂^[21]。

综上所述,脂质体是一种很好的定向药物载体,近年来脂质体药物经皮肤或粘膜给药在对皮肤疾病和护肤美容治疗,对局部伤口的治疗,对皮肤损伤和保护中的应用,在眼科疾病中的使用越来越多,随着认识和开发力度的加强,应用范围将越来越广。

参考文献

- 1 Van Kuijk Meuwissen ME, Mougín L, Junginger HE, *et al.* Application of vesicles to rat skin in vivo: a confocal laser scanning microscopy study. *J Controlled Release*, 1998, 56(1-3): 189.
- 2 黄复生,王昆.一种治疗螨虫感染性皮肤病的外用脂质体制剂 01107203.2;中国专利公报 2001-9-12.
- 3 Hoffman RM. Topical liposome targeting of dyes, melanins, genes, and proteins selectively to hair follicles. *J Drug Target*, 1998, 5(2): 67.
- 4 Perugini P, Genta I, Pavanetto F, *et al.* Study on glycolic acid delivery by liposomes and microspheres. *Int J Pharm*, 2000, 196(1): 51.
- 5 Patel VB, Misra A, Marfatia, *et al.* Topical liposomal gel of tretinoin for the treatment of acne: research and clinical implications. *Pharm Dev Technol*, 2000, 5(4): 455.
- 6 Honzak L, Sentjarc M. Development of liposome encapsulated clindamycin for treatment of acne vulgaris. *Pflugers Arch*, 2000, 440(5 Suppl): R44.
- 7 Schaller M, Preidel H, Januschke E. Light and electron microscopic findings in a model of human cutaneous candidosis based on reconstructed human epiderm is following the topical application of different econazole formulations. *J Drug Target*, 1999, 6(5): 361.
- 8 Fluhr JW, Barsom O, Gehring W, *et al.* Antibacterial efficacy of benzoyl peroxide in phospholipid liposomes. A vehicle-controlled, comparative study in patients with papulopustular acne. *Dermatology*, 1999, 198(3): 273.
- 9 Gregory RK, Powles RL, Treleaven JG, *et al.* Systemic candidiasis with candida vasculitis due to *Candida kruzei* in a patient with acute myeloid leukaemia. *Bone Marrow Transplant*, 1999, 23(1): 103.
- 10 Ghahary A, Tredget EE, Shen Q, *et al.* Liposome associated interferon- α -2b functions as an antifibrogenic factor in dermal wounds in the guinea pig. *Mol Cell Biochem*, 2000, 208(1-2): 129.
- 11 Reimer K, Vogt PM, Broegmann B, *et al.* An innovative topical drug formulation for wound healing and infection treatment: in vitro and in vivo investigations of a povidone-iodine liposome hydrogel. *Dermatology*, 2000, 201(3): 235.
- 12 Roesken F, Uhl E, Curri SB, *et al.* Acceleration of wound healing by topical drug delivery via liposomes. *Langenbecks Arch Surg*, 2000, 385(1): 42.
- 13 Wolf P, Maier H, Mullegger RR, *et al.* Topical treatment with

- liposomes containing T4 endonuclease V protects human skin *in vivo* from ultraviolet-induced upregulation of interleukin-10 and tumor necrosis factor- α . *J Invest Dermatol*, 2000, 114(1): 149.
- 14 Yarosh D, Klein J, O' Connor A, *et al.* Effect of topically applied T4 endonuclease V in liposomes on skin cancer in xeroderma pigmentosum: a randomised study. *Xeroderma Pigmentosum Study Group. Lancet*, 2001, 357(9260): 926.
 - 15 Yarosh DB, O'Connor A, Alas L, *et al.* Photoprotection by topical DNA repair enzyme: molecular correlates of clinical studies. *Photochem Photobiol*, 1999, 69(2): 136.
 - 16 Kulms D, Poppelmann B, Yarosh D, *et al.* Nuclear and cell membrane effects contribute independently to the induction of apoptosis in human cells exposed to UVB radiation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(14): 7974.
 - 17 Nishigori C, Yarosh D, O'Connor A, *et al.* HindIII liposomes suppress delayed-type hypersensitivity responses *in vivo* and induce epidermal IL-10 *in vitro*. *J Immunol*, 1998, 161(6): 2684.
 - 18 Ben Hur H, Ben Meir A, Hagay Z, *et al.* Tumor-preventive effects of the soluble p53 antigen on chemically-induced skin cancer in mice. *Anticancer Res*, 1998, 18(6A): 4237.
 - 19 Law SL, Huang KJ, Chiang CH. A cyclovir-containing liposomes for potential ocular delivery. Corneal penetration and absorption. *J Controlled Release*, 2000; 63(1-2): 135.
 - 20 Monem AS, Ali FM, Ismail MW. Prolonged effect of liposomes encapsulating pilocarpine HCl in normal and glaucomatous rabbits. *Int J Pharm*, 2000, 198(1): 29.
 - 21 Ito Y, Cai H, Koizumi Y, *et al.* Effects of lipid composition on the transcorneal penetration of liposomes containing disulfiram, a potential anti-cataract agent, in the rabbit. *Biol Pharm Bull*, 2000, 23(3): 327.

收稿日期: 2000-03-27