

## 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

李伟泽<sup>\*</sup>, 韩文霞, 赵 宁, 张 寒, 付丽娜, 王 斯, 倪珊珊

(西安医学院药学院, 陕西 西安 710021)

**摘要:** 柔性脂质体 (flexible nano-liposomes, FL) 是一种优良的给药载体, 但液体状态下的药物泄漏已严重阻碍了其进一步广泛应用, 因此, 抑制药物泄漏已成为亟待解决的行业共性技术问题。本文将 5 种常见挥发油如艾叶油 (Folium Artemisiae Argyi oil, FA)、桉叶油 (Folium Eucalypti oil, FE)、茉莉油 (Arabian Jasmine oil, AJ)、丁香油 (Syzygium Aromaticum oil, SA) 和连翘油 (Fructus Forsythiae oil, FF) 分别包埋于盐酸巴马汀纳米柔性脂质体 (palmatine chloride loaded flexible nano-liposomes, PFL) 的脂质双分子层内, 通过体外泄漏曲线评价筛选能够降低 PFL 药物泄漏的最佳挥发油及其用量水平; 考察包埋挥发油后对 PFL 包封率、粒径、电位、变形性与结构的影响, 并通过白兔阴道给药考察其对黏膜的刺激性; 最后, 采用水平双室扩散池评价挥发油对 PFL 体外透皮透黏膜给药行为的影响。结果显示, 5 种挥发油均能不同程度地抑制 PFL 内水相中药物的泄漏, 但艾叶油抑制泄漏的程度显著优于其他 4 种挥发油 ( $P < 0.05$ ), 且艾叶油与脂质质量比为 1:6 时具有最佳的抑制泄漏作用; 包埋艾叶油的 PFL 与 PFL 在包封率、粒径、电位与变形性等方面无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 且二者层状囊泡结构相似; 包埋艾叶油后也进一步增强了 PFL 促进内水相中药物透皮透黏膜的吸收能力, 而对白兔阴道黏膜无刺激性。综上, 在柔性脂质体的磷脂膜中包埋合适的挥发油 (如艾叶油) 不仅可在一定程度上抑制内水相中药物的泄漏, 且能够增强柔性脂质体促进药物透皮透黏膜的吸收。因此, 本文为克服液体状态下纳米柔性脂质体药物泄漏提供了一种新方法和新思路。

**关键词:** 柔性脂质体; 挥发油; 盐酸巴马汀; 制剂性能

中图分类号: R943

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 06-0992-06

## The effects of essential oils of traditional Chinese medicine on the pharmaceutical properties of flexible nano-liposomes loaded with palmatine chloride

LI Wei-ze<sup>\*</sup>, HAN Wen-xia, ZHAO Ning, ZHANG Han, FU Li-na, WANG Si, NI Shan-shan

(School of Pharmacy, Xi'an Medical University, Xi'an 710021, China)

**Abstract:** Flexible liposomes are an excellent drug delivery nanocarrier, however, the leakage of drugs from liposomes has become common technical obstacle in the industry and also hindered its further application seriously. It is very urgent and necessary to avoid or reduce the leakage of drugs from liposomes. In this work, five kinds of essential oils such as Folium Artemisiae Argyi oil (FA), Folium Eucalypti oil (FE), Arabian Jasmine oil (AJ), Syzygium Aromaticum oil (SA) and Fructus Forsythiae oil (FF) were encapsulated in the lipid bilayer of palmatine chloride (PC) loaded flexible nano-liposomes (PFL), then the optimal essential oil and its dosage level were determined by the external leakage curve of PC. The female Japanese white rabbits were used to evaluate the vaginal irritancy potential of liposomes samples. The pharmaceutical properties such as encapsulation

收稿日期: 2016-12-21; 修回日期: 2017-01-09.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81303231); 陕西省自然科学基金面上项目 (2015JM8442).

\*通讯作者 Tel: 86-29-86177546, E-mail: weizeli@126.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2016-1206

efficiency, particle size, zeta potential, deformability and structure of liposomes samples were evaluated. In order to investigate the permeability of liposomes samples to deliver PC across skin and mucous membrane *in vitro*, the side-by-side diffusion cells were used. The results showed that the leakage of hydrosoluble PC from PFL was reduced at different degrees by the essential oils in the lipid bilayer of PFL, however, the reduction in leakage degree was obviously higher for FA than those of FE, AJ, SA and FF ( $P < 0.05$ ), and the highest reduction in leakage degree was obtained when the FA and lipid mass ratio was 1 : 6. The encapsulation efficiency, particle size, zeta potential and deformability of PFL were not significantly changed after FA was encapsulated in the lipid bilayer of the PFL ( $P > 0.05$ ), so did the lamellar structure of PFL. In addition, the transdermal and transmucosal permeability of PC were also enhanced obviously by encapsulating FA in the lipid bilayer of PFL, and there was no vaginal/vulvar irritation observed in the rabbits. In summary, the drug leakage was reduced by encapsulating suitable essential oil (such as FA) in the lipid bilayer of flexible liposomes, and the vaginal mucosa permeability were improved for the drug. These results provide a novel technique in the improvement of flexible nano-liposomes for drug delivery.

**Key words:** flexible liposome; essential oil; palmatine chloride; preparation property

柔性脂质体是一类在磷脂双分子层膜中包埋如乙醇、1,2-丙二醇、Tween-80 和胆酸盐等柔软剂而降低磷脂膜的刚性并增加膜的流动性和变形性的新型脂质体<sup>[1]</sup>。它们可以通过磷脂膜的变形、与机体细胞的融合或扰乱机体生物膜的致密有序结构等多途径而促进水溶性药物包括蛋白多肽类大分子进入皮肤与黏膜。因此,柔性脂质体已成为一种极具潜力的皮肤和黏膜给药的微粒型给药载体<sup>[2,3]</sup>。研究发现,以1,2-丙二醇为柔软剂的柔性脂质体比其他类型的变形脂质体具有更高的载药量、稳定性和良好的促进药物吸收性能<sup>[4]</sup>,包埋1,2-丙二醇的柔性脂质体在皮肤给药与黏膜给药领域显示了广阔的应用前景<sup>[5,6]</sup>。但是,液体状态下封装于脂质体内水相中水溶性药物的泄漏,已经成为脂质体作为给药载体广泛应用的重大技术瓶颈之一。目前,解决水溶性药物泄漏的主要措施有将液态脂质体通过冷冻干燥制成固态或进行脂质体磷脂膜修饰,以克服药物的泄漏问题<sup>[7,8]</sup>。但是,脂质体冻干粉目前多用于注射给药或肺部吸入给药,在外用制剂领域以冻干粉形式应用较少,且制备工艺复杂与存储条件苛刻也阻碍了脂质体冻干粉的进一步广泛应用;而磷脂膜修饰也存在一些不可忽视的问题,如用聚乙二醇修饰后脂质体微粒存在重复注射给药可使血液清除加速并妨碍靶细胞对脂质体微粒摄取等弊端<sup>[9,10]</sup>。挥发油是一类流动性与脂溶性良好的中药活性部位,也可用作溶剂。本文基于“相似相溶原理”,将中药挥发油包埋于以1,2-丙二醇为柔软剂的柔性脂质体脂质双分子层内,以期通过增加双分子层内的疏水性而降低水溶性药物通过脂质层的泄漏。目前,尚未见将中药挥发油包埋于脂质体脂质双分子层以减少柔性脂质体内水相中药物泄漏的

类似研究报道。盐酸巴马汀 (palmatine chloride, PC) 是一种水溶性良好的具有广谱抗菌作用的生物碱类单体植物药,PC 不易透过生物膜进行吸收,将其制成纳米柔性脂质体能够提高 PC 透皮、透阴道黏膜的吸收<sup>[11,12]</sup>。因此,本文以 PC 为模型药物,研究了中药挥发油包埋于柔性脂质体的磷脂膜后对脂质体微粒的药物泄漏、刺激性及其他药剂学性能的影响。

## 材料与方法

**试剂与药品** 盐酸巴马汀 (纯度 $\geq 98\%$ ,批号 XC20140514) 购自西安小草植物科技有限责任公司;盐酸巴马汀标准品 (中国食品药品检定研究院,纯度 $\geq 98\%$ ,批号: 110732-201108);艾叶油、桉叶油、茉莉油、丁香油和连翘油 (吉安博锐香料油有限公司);大豆磷脂 (上海太伟药业有限公司);胆固醇 (天津博迪化工股份有限公司);1,2-丙二醇 (厦门星鲨制药有限公司);硫酸鱼精蛋白 (Sigma 公司);其他试剂均为分析纯,水为双蒸水。14-kD 透析袋 (上海新睿生物科技有限公司)。

猪阴道组织 (西安市屠宰场);SPF 级昆明种小鼠 (18~20 g,中国食品药品检定研究院,SCXK (京) 2009-0017);雌性日本大耳白兔 (2.0~2.5 kg,北京金牧阳实验动物养殖有限责任公司,SCXK (京) 2015-0005)。

**主要仪器** ZEN-3600 光子相关光谱仪 (英国马尔文公司);JEM-2000EX 透射电镜 (日本电子株式会社);HIC-10ASP 高效液相色谱仪 (SPD-10A 检测器,日本岛津公司)。水平双室扩散池 (容积为 5.0 mL,有效扩散面积为 1.54 cm<sup>2</sup>,上海玉研科学仪器有限公司)。

**盐酸巴马汀的测定** 采用高效液相色谱法 (HPLC) 测定 PC 浓度。色谱柱为  $C_{18}$  柱, 流动相为 0.4% 磷酸-乙腈 (80:20), 检测波长 345 nm, 流速  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 进样量  $20 \mu\text{L}$ 。取 PC 标准品, 精密称定后用双蒸水配制成质量浓度为 0.84、2.79、8.37、13.95 和  $25.11 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  标准液, 取各标准液  $20 \mu\text{L}$ , 注入 HPLC 中测定峰面积 ( $A$ ), 以 PC 的  $A$  为纵坐标、浓度 ( $C$ ) 为横坐标, 进行线性回归, 得到标准曲线为  $A = 94.501C - 49.623$  ( $r = 0.9995$ ), 线性范围  $0.84 \sim 25.11 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

### 脂质体的制备

**盐酸巴马汀纳米柔性脂质体 (PFL)** 称取处方量卵磷脂与胆固醇置于干燥洁净的茄形瓶内, 加入无水乙醇 10 mL 后振摇溶解, 并于  $50^\circ\text{C}$ 、 $-0.05 \text{ MPa}$  条件下旋转蒸干乙醇, 至瓶壁上形成均匀的脂质膜。将丙二醇加入双蒸水中混匀, 得水相; 将 0.25% PC 加入 1/3 量水相中溶解并于  $50^\circ\text{C}$  预热, 再滴加到茄形瓶内, 并在氮气氛围下与脂质膜水合 60 min 后移至洁净的锥形瓶内, 于  $20000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  条件下匀质 5 min, 通过  $0.22 \mu\text{m}$  微孔滤膜循环过滤 2 次, 之后将余量水相加入其中, 轻轻振摇混匀, 即得本品,  $4^\circ\text{C}$  保存, 备用。

**包埋挥发油的 PFL** 将挥发油、卵磷脂与胆固醇置于茄形瓶内, 用 10 mL 无水乙醇振摇至溶解, 其余操作同上, 分别得到包埋了艾叶油 PFL (FA-PFL)、桉叶油 PFL (FE-PFL)、茉莉油 PFL (AJ-PFL)、丁香油 PFL (SA-PFL) 和连翘油 PFL (FF-PFL),  $4^\circ\text{C}$  保存, 备用。

**盐酸巴马汀水溶液 (PS)** 将盐酸巴马汀 0.25 g 与丙二醇 20 g, 加入双蒸水 79.75 g 后搅拌至药物溶解充分并混合均匀, 即得,  $4^\circ\text{C}$  保存, 备用。

**脂质体体外药物泄漏行为** 分别取 PFL 与包埋 5 种不同挥发油的 PFL 各样品 2.5 mL 置于 14-kD 透析袋, 悬置于盛有 50 mL 生理盐水的具塞三角瓶; 密闭, 于  $37^\circ\text{C}$  水浴恒温振荡, 分别于 0、5、24、72、96 和 120 h 取接收液 1.0 mL, 同时补加新鲜生理盐水 1.0 mL, 将样品在  $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min, 吸取上清液  $20 \mu\text{L}$ , 注入 HPLC 测定, 根据标准曲线计算 PC 含量; 计算各时间点的药物累积泄漏百分率 ( $F_t$ ), 以  $F_t$  为纵坐标、时间 ( $t$ ) 为横坐标作 PC 泄漏曲线, 根据泄漏曲线筛选能有效降低 PFL 药物泄漏的最佳挥发油及其用量水平, 并制备 3 批最佳挥发油及其用量水平的 PFL 用于药剂学性能的研究。

### 脂质体的药剂学性质

**包封率测定** 分别取 PFL 与包埋最佳挥发油的 PFL 各 0.75 mL 置于 2 mL 离心管, 加入  $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  鱼精蛋白溶液 0.75 mL, 振摇混匀, 静置 3 min 后离心

( $9500 \times g$ ) 15 min, 弃掉上清液, 沉淀物用 10% Triton X-100 甲醇溶液 2 mL 消解至澄清, 取  $20 \mu\text{L}$ , 采用 HPLC 测定 PC 含量。包封率按照如下公式计算: 包封率 (%) =  $(W_E / W_T) \times 100\%$ , 其中  $W_E$  为被脂质体包封的药量,  $W_T$  为实际加入的总药量。

**粒径与 zeta 电位** 取 PFL 与包埋最佳挥发油的 PFL 稀释液样品适量, 注入光子相关光谱仪测定脂质体微粒的粒径与 zeta 电位。

**结构观察** 将 PFL 与包埋最佳挥发油的 PFL 稀释液样品适量滴于铜载网上, 晾干后用磷钨酸 (1.5%, w/w) 负染色, 再晾干, 用透射电镜 (TEM) 进行形态结构观察。

**变形性考察** 根据文献<sup>[13]</sup>报道的方法, 取 PFL 与包埋最佳挥发油的 PFL 样品各 5 mL, 在 0.8 MPa 下通过  $0.22 \mu\text{m}$  微孔滤膜的过滤速率, 与 5 mL 水在相同条件下过滤速率的比值为变形性。按照以下公式计算: 变形性 =  $V_L / V_W \times 100\%$ ,  $V_L$  为 5 mL 脂质体的过滤速率,  $V_W$  为 5 mL 水的过滤速率, 过滤速率等于供试样品的体积除以过滤的时间。

**安全性考察** 采用家兔评价药物的黏膜安全性<sup>[14]</sup>。将雌性日本大耳白兔随机分为 PFL 组、包埋最佳挥发油的 PFL 组和空白对照组共 3 组, 每组 6 只。前两组动物每天阴道给药 (按照人体临床用药量折算为  $4.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ), 对照组不作任何处理, 连续给药 7 天后处死动物, 进行大体解剖, 摘取阴道, 进行病理组织学检查。

### 体外透皮透黏膜给药

**体外透皮给药** 小鼠脱颈处死后剥离腹部皮肤, 剪净毛发并去掉皮下脂肪组织, 用生理盐水冲洗干净后将其置于水平双室扩散池中, 角质层面向供给池、真皮层面向接收池; 扩散池置于磁力搅拌器上, 以恒速搅拌接收液并保持温度 ( $32 \pm 0.5$ )  $^\circ\text{C}$ 。供给池中分别加入 PFL、包埋最佳挥发油的 PFL 与 PS 各 5 mL, 接收池中加入生理盐水 5 mL 作为接收液。每隔 1 h 取接收液 0.3 mL, 并补加等量的新鲜接收液, 共取 6 个样品, 样品经  $0.45 \mu\text{m}$  滤膜过滤后取  $20 \mu\text{L}$  注入 HPLC 测定 PC 含量, 实验重复 3 次。按如下公式计算药物的累积透过量 ( $\Delta M$ ):  $\Delta M = \sum CV / A_e$ , 其中  $V$  为接收液的体积 (mL),  $C$  为接收液中 PC 质量浓度 ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ),  $A_e$  为扩散池的有效扩散面积 ( $\text{cm}^2$ )。

**体外透黏膜给药** 将新鲜的猪阴道组织剪开后, 剔除黏膜层下结缔脂肪组织, 并用生理盐水冲洗至干净, 剪切成  $2.0 \text{ cm} \times 2.0 \text{ cm}$  的小块; 置于水平双室扩散池中, 内黏膜层面向供给池、外组织层面向接收

池; 其余操作与药物透过黏膜的累积渗透量 ( $\Delta M$ ) 的计算方法同上。

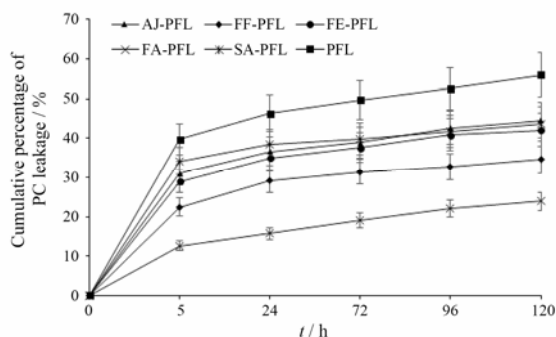
**统计学分析** 实验结果数据采用方差分析与  $t$ -检验进行统计学分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结果

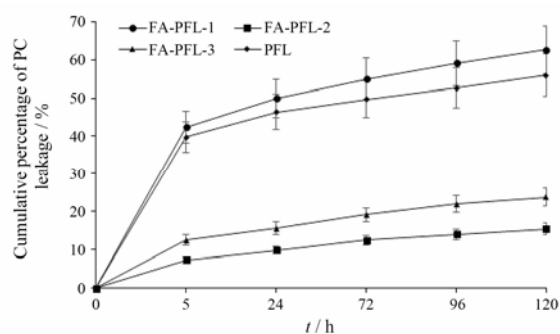
### 1 挥发油对 PFL 药物泄漏的影响

将艾叶油、桉叶油、茉莉油、丁香油与连翘油包埋于 PFL 的脂质双分子层内, 对于 PFL 内水相中药物 PC 泄漏的影响如图 1 所示。由图可知, 上述 5 种挥发油均能降低水溶性 PC 从 PFL 内水相中泄漏, 表明通过增加脂质体脂质双分子层内疏水性能减少内水相中药物的泄漏。PFL 包埋了桉叶油、茉莉油与丁香油后对药物泄漏的抑制程度相似, 三者之间无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 但三者的抑制 PC 泄漏程度均低于包埋了艾叶油与连翘油后 PFL 的抑制泄漏程度, 表明不同的挥发油可能由于组成成分不同而具有不同的改变脂质双分子层内疏水性的作用。在 120 h 时, PFL 中药物的泄漏分别是 FA-PFL 与 FF-PFL 的 2.34 与 1.62 倍 ( $P < 0.05$ ), 而且在整个实验过程中 FA-PFL 中药物泄露最少, 因此, 表明本文所选的 5 种挥发油中艾叶油具有良好的抑制 PC 从 PFL 内水相中泄漏的作用。

艾叶油与脂质质量比为 1:6 和 1:9 时, 抑制 PC 从 PFL 内水相中的泄漏作用显著高于 PFL ( $P < 0.05$ ), 且在 1:6 时达到最佳的泄漏抑制作用; 当艾叶油与脂质质量比为 1:3 时, 艾叶油反而促进了 PFL 中 PC 的泄漏, 其原因可能是高浓度的艾叶油破坏了脂质体的脂质双分子层磷脂膜的稳定性和完整性, 从而造成内水相中药物的泄漏增加, 如图 2 所示。结果表



**Figure 1** Effects of different volatile oils on the leakage of palmitine chloride (PC) from PFL.  $n=3$ ,  $\bar{x} \pm s$ . PFL: PC loaded flexible nano-liposomes; FA-PFL: Folium Artemisiae Argyi oil encapsulated in the PFL; FE-PFL: Folium Eucalypti oil encapsulated in the PFL; AJ-PFL: Arabian Jasmine oil encapsulated in the PFL; SA-PFL: Syzygium Aromaticum oil encapsulated in the PFL; FF-PFL: Fructus Forsythiae oil encapsulated in the PFL



**Figure 2** Effects of different Folium Artemisiae Argyi oil and lipid mass ratio (FA-PFL-1=1:3; FA-PFL-2=1:6; FA-PFL-3=1:9) on the leakage of PC from PFL.  $n=3$ ,  $\bar{x} \pm s$

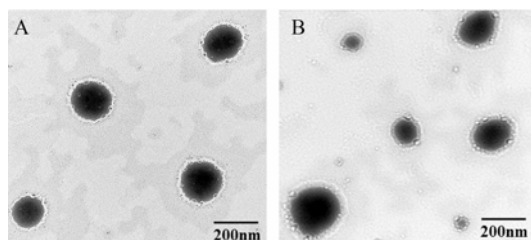
明, 艾叶油抑制 PFL 内水相中 PC 泄漏的作用不会随着艾叶油的浓度增大而无限增大, 当艾叶油与脂质质量比为 1:6 时抑制药物泄漏作用最大, 从而也提高了 PFL 的稳定性。

### 2 艾叶挥发油对 PFL 药剂学性质的影响

**2.1 脂质体的包封率** PFL 对 PC 的包封率为  $(76 \pm 2.47)\%$  ( $n=5$ ), 包埋艾叶油后 PFL 对 PC 的包封率为  $(79 \pm 1.65)\%$  ( $n=5$ ), 尽管其包封率有所提高, 但二者之间无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 表明 PFL 在其脂质双分子层内包埋艾叶油后对内水相中 PC 的包封率无显著影响。

**2.2 脂质体的粒径和表面电位** PFL 的粒径为  $182 \pm 19$  nm ( $n=5$ ), 表面 zeta 电位为  $-45 \pm 3.43$  mV ( $n=5$ ); 包埋艾叶油后 PFL 的粒径为  $190 \pm 25$  nm ( $n=5$ ), 表面 zeta 电位为  $-49 \pm 2.85$  mV ( $n=5$ ); 尽管 PFL 包埋艾叶油后其粒径和 zeta 电位稍有增加, 但二者之间无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。结果表明, 艾叶油包埋于 PFL 脂质双分子层内对其粒径和电位不产生显著影响, 且电位的增加意味着微粒间静电斥力增加而利于稳定性提高。当微粒表面 zeta 电位的绝对值大于 30 mV 时, 有利于制剂稳定性的提高, 粒径保持均匀<sup>[15]</sup>。

**2.3 脂质体的结构** 由 TEM 观察可知, 包埋艾叶油前后 PFL 均为具有层状囊泡结构的圆形或椭圆形 (图 3), 表明艾叶油包埋在 PFL 脂质双分子层内的脂



**Figure 3** The TEM images of PC loaded flexible liposomes. A: PFL; B: FA-PFL

溶性空间对其整体的层状结构没有影响,这也从粒径和 zeta 电位的研究结果得到进一步印证。

**2.4 脂质体的变形性** PFL 的变形性为  $(78 \pm 6.34)\%$  ( $n=5$ ), PFL 包埋艾叶油后的变形性稍有增加  $(80 \pm 5.72)\%$  ( $n=5$ ), 其原因可能是艾叶油被包埋于 PFL 脂质双分子层后扰乱了磷脂膜的有序结构或进一步降低其相变温度,从而使膜的变形性增加,但二者之间无显著性差异 ( $P>0.05$ ),表明艾叶油包埋于 PFL 脂质双分子层后对磷脂膜的变形性无显著性影响。

**2.5 脂质体的安全性** 由图 4 可知,给药组与对照组病理切片均显示动物阴道组织各层结构清晰,黏膜层细胞排列规整,前庭部为鳞状上皮细胞,阴道黏膜部为柱状上皮,未见坏死脱落,可见散在淋巴细胞及少量中性粒细胞分布其间,固有层血管分布丰富,未见水肿渗出,肌层细胞排列规整,无炎性细胞浸润。结果表明, PFL 与包埋艾叶油后的 PFL 对黏膜均无刺激性。

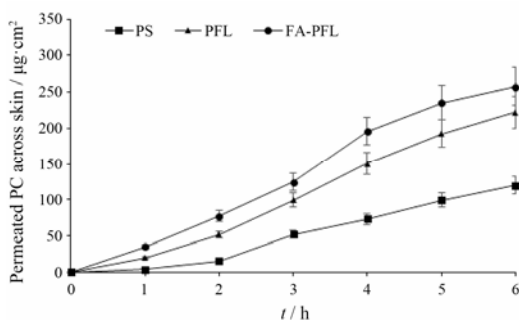
**3 艾叶挥发油对 PFL 透皮透黏膜性能的影响**

由图 5 和图 6 可知,在透皮与透黏膜实验中, PS 始终具有最低的药物累积渗透曲线,表明尽管 PC 是一个水溶性的小分子药物,但其仍不易通过皮肤和黏膜进行吸收,也表明柔性脂质体具有促进水溶性 PC 通过皮肤和黏膜吸收的能力。包埋艾叶油后的 PFL (艾叶油:脂质=1:6) 促进 PC 透皮与透黏膜的累积透过量在整个实验中始终高于 PFL 和 PS,在 6.0 h 时,包埋艾叶油后的 PFL 促进 PC 透皮与透黏

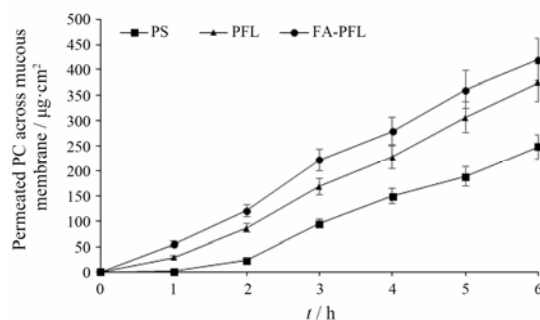
膜给药的累积透过量分别是 PFL 透皮与透黏膜给药的累积透过量的 1.16 倍和 1.12 倍,是 PS 的 2.14 倍和 1.69 倍,表明包埋艾叶油后能进一步增强 PFL 促进 PC 透过皮肤和黏膜吸收的能力,也表明在促进药物透皮与透黏膜吸收方面艾叶油与 PFL 之间存在一定的协同作用。

**讨论**

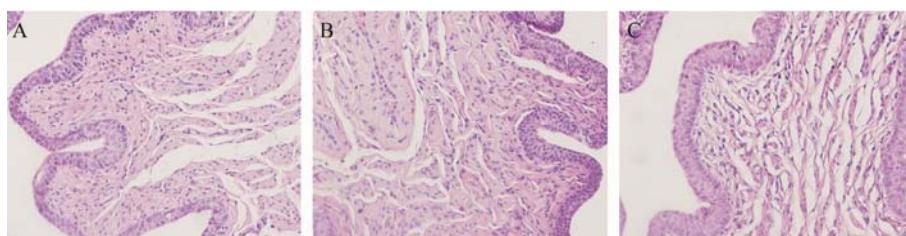
柔性脂质体微粒给药系统属于热力学与动力学不稳定的体系,加之包封于脂质囊泡内水相中药物的泄漏,限制了脂质体微粒以液体状态作为给药载体的产业化应用。因此,药物泄漏已成为脂质体领域亟待解决的重大共性技术问题之一。本文基于“相似相溶原理”,通过将流动性与脂溶性良好的中药挥发油包埋于脂质囊泡的脂质双分子层以增加双分子层内环境的疏水性,从而降低内水相中药物的泄漏。研究结果显示,艾叶油、桉叶油、茉莉油、丁香油与连翘油均能不同程度地抑制 PFL 中水溶性药物的泄漏,但艾叶油抑制药物泄漏的能力显著大于桉叶油、茉莉油、丁香油和连翘油,表明不同挥发油可能由于油的组成成分存在差异而具有不同理化性质如脂溶性/疏水性与流动性,从而赋予脂质体脂质双分子层内环境不同的疏水性(非极性),进而对内水相中水溶性药物具有不同的抑制扩散的屏障作用。但是,艾叶油抑制药物泄漏的能力并不是随着油用量的增加而无限增大,当艾叶油与脂质质量比为 1:6 时,对



**Figure 5** The cumulative permeable amount of PC across skin from different formulations.  $n=3$ ,  $\bar{x} \pm s$ . PS: PC aqueous solution



**Figure 6** The cumulative permeable amount of PC across mucous membrane from formulations.  $n=3$ ,  $\bar{x} \pm s$



**Figure 4** The histological sections of the treated rabbit vaginal tissue. A: Control group; B: PFL; C: FA-PFL

药物泄漏的抑制作用最大; 而质量比为 1:3 时, 艾叶油反而促进了药物的泄漏, 其原因可能是高浓度的艾叶油破坏了脂质体脂质双分子层磷脂膜的稳定性和完整性, 使磷脂膜的屏障作用降低。

艾叶油包埋于 PFL 脂质双分子层后, PFL 的包封率、粒径和电位的绝对值与磷脂膜的变形性均稍有增加, 但无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 这种变化的原因可能是艾叶油包埋于 PFL 后增加了脂质双分子层的厚度及其内环境的疏水性等相关理化性质, 从而减少了内水相中药物的泄漏, 并在一定程度上提高了其稳定性; 但 TEM 显示艾叶油并未改变 PFL 的层状囊泡结构与外观形态特点, 也不会对白兔的阴道黏膜产生刺激。体外透皮透黏膜给药实验发现包埋艾叶油后能进一步增强 PFL 促进其内水相中药物透皮透黏膜的吸收, 其原因可能是艾叶油本身是一种优良的促进药物透皮透黏膜吸收的吸收促进剂<sup>[16]</sup>, 包埋于 PFL 后, 与柔性脂质体的促进药物透皮透黏膜吸收<sup>[1-3]</sup>之间可能产生了一定的协同作用。基于上述结果, 推测艾叶油可能作为一种新的柔软剂用于柔性脂质体的制备, 但还需进一步深入研究。综上所述, 本文为液体状态纳米柔性脂质体作为给药系统的研究和产业化应用提供了一种新方法和新思路, 具有一定的科学意义和广阔的应用前景。

## References

- [1] Manconi M, Mura S, Sinico C, et al. Development and characterization of liposomes containing glycols as carriers for diclofenac [J]. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*, 2009, 342: 53–58.
- [2] Subongkot T, Wonglertnirant N, Songprakhon P, et al. Visualization of ultradeformable liposomes penetration pathways and their skin interaction by confocal laser scanning microscopy [J]. *Int J Pharm*, 2013, 441: 151–161.
- [3] Li C, Deng L, Zhang Y, et al. Silica-coated ethosome as a novel oral delivery system for enhanced oral bioavailability of curcumin [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2012, 47: 1541–1547.
- [4] Elsayed MMA, Abdallah OY, Naggat VF, et al. Lipid vesicles for skin delivery of drugs: reviewing three decades of research [J]. *Int J Pharm*, 2007, 332: 1–16.
- [5] Li WZ, Zhao N, Zhou YQ, et al. Post-expansile hydrogel foam aerosol of PG-liposomes: a novel delivery system for vaginal drug delivery applications [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2012, 47: 162–169.
- [6] Pavelić Ž, Škalko-basnet N, Filipović-grčić J, et al. Development and *in vitro* evaluation of a liposomal vaginal delivery system for acyclovir [J]. *J Control Release*, 2005, 106: 34–43.
- [7] Hu YZ, Li M, Zhang TT, et al. Preparation of liposomal artesunate dry powder inhalers and the effect on the acute lung injury of rats [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2016, 51: 1906–1912.
- [8] Zhang WJ, Yang DX, Feng LL, et al. Modification by wheat germ agglutinin delays the ocular elimination of liposome [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2014, 49: 543–549.
- [9] Xu Y, Shi L, Deng YH. Effect of polyethylene glycol-lipid derivatives on the stability of grafted liposomes [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2011, 46: 1178–1186.
- [10] Zhang D, Xu H, Hu MN, et al. “PEG dilemma” for liposomes and its solving approaches [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2015, 50: 252–260.
- [11] Li WZ, Hao XL, Zhao N, et al. Propylene glycol-embodied deformable liposomes as a novel drug delivery carrier for vaginal fibrauretine delivery applications [J]. *J Control Release*, 2016, 226: 107–114.
- [12] Li WZ, Han WX, Zhao N, et al. Studies on the preparation and transdermal drug delivery of hydrogel patches of palmitate loaded flexible nano-liposomes [J]. *Chin J Vet Drug (中国兽药杂志)*, 2016, 50: 46–50.
- [13] Mahor S, Rawat A, Dubey PK, et al. Cationic transfersomes based topical genetic vaccine against hepatitis B [J]. *Int J Pharm*, 2007, 340: 13–19.
- [14] Fichorova RN, Mendonca K, Yamamoto HS, et al. A quantitative multiplex nuclease protection assay reveals immunotoxicity gene expression profiles in the rabbit model for vaginal drug safety evaluation [J]. *Toxicol Appl Pharm*, 2015, 285: 198–206.
- [15] Wang HJ, Liu MF, Du S. Optimization of madecassoside liposomes using response surface methodology and evaluation of its stability [J]. *Int J Pharm*, 2014, 473: 280–285.
- [16] Zhao Q, Li WZ, Cheng YC, et al. Studies on the transdermal delivery of palmitate by several volatile oils as penetration enhancers [J]. *Appl Chem Ind (应用化工)*, 2016, 45: 186–189.