

甲氨蝶呤磷脂复合物有机凝胶的制备、表征及透皮行为考察

王宝娟^{1,5}, 刘璐瑶², 盛建伟³, 胡君萍^{2*}, 周文虎^{4*} (1. 新疆医科大学第一附属医院药学部, 乌鲁木齐 830011; 2. 新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830017; 3. 方圆标志检验检测(山东)有限公司, 济南 250100; 4. 中南大学湘雅药学院, 长沙 410006; 5. 新疆药物临床研究重点实验室, 乌鲁木齐 830011)

摘要:目的 制备甲氨蝶呤磷脂复合物有机凝胶(methotrexate phospholipid complex organogel, MTX-PC/OG), 并表征及考察其透皮行为。方法 以甲氨蝶呤磷脂复合物(MTX-PC)在油相中的溶解度、最低成胶浓度、相转变温度及稳定性为评价指标, 初步筛选 MTX-PC/OG 的油相种类、胶凝剂及辅助胶凝剂种类与用量; 以离体乳猪皮肤为渗透屏障, 采用改良 Franz 扩散池法, 考察油相种类、辅助胶凝剂种类及用量对 MTX-PC 体外透皮行为的影响。并对 MTX-PC/OG 的外观性状、黏度、相转变温度、含量及流变学性质进行表征。结果 中链甘油三酯(medium chain triglyceride, MCT)、肉豆蔻酸异丙酯(isopropyl myristate, IPM)、油酸乙酯(ethyl oleate, EO) 3 种油相对 MTX-PC 溶解性均较好, 单硬脂酸甘油酯(GMS)作为胶凝剂时成胶能力最强, 用量为 12.5% 时, 凝胶涂展性佳; 体外经皮渗透结果显示, 以 MCT 为油相, 司盘 20(Span 20)为辅助胶凝剂促进 MTX 渗透和滞留的作用最为显著。MTX-PC/OG 呈淡黄色半固体状态, 均匀细腻, 黏度为(85.9±0.5) Pa·s, 相转变温度为(50.4±0.5)℃; 流变学结果表明 MTX-PC/OG 为假塑性流体, 具有剪切稀化效应, 利于涂展。结论 MTX-PC/OG 处方工艺合理, 具有良好的透皮和流变性能, 适于皮肤局部给药。

关键词: 甲氨蝶呤; 磷脂; 有机凝胶; 透皮性能; 表征; 流变学特性

doi:10.11669/epj.2025.06.009 中图分类号:R944 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2025)06-0630-08

Preparation, Characterization and Transdermal Behavior of Methotrexate Phospholipid Complex Organogel

WANG Baojuan^{1,5}, LIU Luyao², SHENG Jianwei³, HU Junping^{2*}, ZHOU Wenhui^{4*} (1. *Pharmaceutical Department of the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China*; 2. *College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830017, China*; 3. *China Quality Mark Certification (Shandong) Co., Ltd., Jinan 250100, China*; 4. *Xiangya School of Pharmaceutical Sciences, Central South University, Changsha 410006, China*; 5. *Xinjiang Key Laboratory of Clinical Drug Research, Urumqi 830011, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare, characterize, and investigate the transdermal behavior of methotrexate phospholipid complex organogel (MTX-PC/OG). **METHODS** The solubility of MTX-PC in the oil phase, lowest gelling concentration, phase transition temperature, and stability were evaluated as criteria. Preliminary screening of oil phase types, gelling agents, and types and amounts of cogelators for MTX-PC/OG was carried out. The effects of oil phase type, cogelator type and dosage on the transdermal behavior of MTX-PC *in vitro* were investigated by modified Franz diffusion cell method. The appearance, viscosity, phase transition temperature, content and rheological properties of MTX-PC/OG were characterized. **RESULTS** Medium chain triglyceride (MCT), isopropyl myristate (IPM) and ethyl oleate (EO) exhibited favorable solubility for MTX-PC. Glycerin monostearate (GMS) demonstrated the most robust gelling capacity as a gelling agent, with optimal gel spreading at a 12.5% concentration. *In vitro* transdermal permeation results indicated that using MCT as the oil phase and Span 20 as the cogelator significantly enhanced MTX permeation and retention. MTX-PC/OG appeared as a light yellow semisolid state with a uniform texture, viscosity of (85.9±0.5) Pa·s, and a phase transition temperature of (50.4±0.5) °C. Rheological assessments revealed that MTX-PC/OG is a pseudoplastic fluid with shear-thinning effects, suitable for transdermal drug delivery. Rheological assessments revealed that MTX-PC/OG is a pseudoplastic fluid with shear-thinning effects that facilitate its easy spread. **CONCLUSION** MTX-PC/OG prescription process is reasonable, with good transdermal and rheological behavior, making it well-suited for skin topical drug delivery.

KEY WORDS: methotrexate; phospholipid; organogel; transdermal performance; characterization; rheological property

甲氨蝶呤(methotrexate, MTX)是一种二氢叶酸还原酶抑制剂,具有抑制角质形成细胞增殖、改善表皮和真皮炎症反应,以及阻碍真皮血管新生的作

用^[1-2],小剂量(每周 7.5~25 mg)系统可用于银屑病的治疗^[3-6],但存在肝毒性、骨髓抑制及恶心呕吐等不良反应^[7-14]。鉴于 MTX 主要作用靶点在皮损

作者简介:王宝娟,女,硕士,药师 研究方向:药物制剂研究与开发
Tel:(0731)89665604;胡君萍,女,博士,教授,博士生导师

* 通讯作者:周文虎,男,博士,教授,博士生导师 研究方向:药物
研究 研究方向:新药研究与开发 Tel:(0991)2110362

部位,皮肤局部用药成为更安全有效的选择,已有研究将 MTX 制成水凝胶用于银屑病的治疗,其能够有效减小银屑病皮损面积,减轻角质层增厚等症状,同时能够降低 MTX 在循环系统中高暴露带来的毒副作用^[15]。

然而,MTX 局部递送在皮肤角质层渗透方面存在一定挑战,其在生理条件下(pH 7.4)呈离子化状态,亲脂性差(LgP = -1.83),限制其穿透高度亲脂的角质层,进而影响其在皮肤中的持续释放和药效发挥。研究者们将 MTX 包载于微乳液、脂质体、非离子型囊泡、微针以及纳米粒等多种载体系统中,以增强其皮肤渗透能力^[16-20]。

磷脂复合物(phospholipid complex, PC)也是常用策略之一,其可以通过改善药物脂溶性以增加角质层渗透性,同时缓释可控^[21-23]。但其通常为无定型粉末状态,需要制备成特定剂型才能用于经皮给药^[24]。前期研究中发现 MTX-PC 在遇到极性溶剂时,会逐步解离为 MTX 和 PC 单体。因此,需要对 MTX-PC 的性质寻找合适的载体。

有机凝胶(organogel, OG)由油溶剂、胶凝剂以及辅助胶凝剂组成的非极性凝胶载体^[25]。OG 中的油溶液能够溶解 PC,并在胶凝剂作用下形成易于涂抹的半固体;PC 中的磷脂双分子链可以参与 OG 凝胶结构的形成,并协同 OG 其他成分促进药物角质层渗透,渗透性能优于传统油膏^[26];此外,OG 的非极性的环境可以保持磷脂复合物的稳定性,避免其发生解离。综上,OG 可以解决 MTX-PC 的赋形、渗透和稳定性等问题,是 MTX-PC 局部递送的理想载体。

本研究在成功制备 MTX-PC 的基础上,选用脂肪酸酯衍生物构建 MTX-PC/OG,用于 MTX 的皮肤局部递送,本研究的开展为 MTX 皮肤局部递送制剂的研究开发提供了新的研究思路。

1 仪器与试剂

LC-2010C 型高效液相色谱仪(日本岛津公司);KQ-250 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);DF-1 集热式恒温磁力搅拌器(金坛市中大仪器厂);TK-20B 型透皮扩散池(上海锱凯科技贸易有限公司);B540 型数字熔点仪(瑞士 Buchi 公司);DV-2 + Pro 型数字式黏度计(上海煜柯机电科技有限公司);LRH-250-DZ 型药物稳定性试验箱(广东省医疗器械厂);BA210 型显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司);Q2000 型差示扫描量热仪、AR2000

EX 型应力控制型流变仪(美国 TA 公司)。

甲氨蝶呤磷脂复合物(MTX-PC,实验室自制);中链甘油三酯(MCT,法国嘉法狮公司);肉豆蔻酸异丙酯(IPM,上海楷洋生物有限公司);油酸乙酯(EO,上海飞祥化工厂);司盘 20(Span 20,天津福晨化学试剂厂);司盘 40(Span 40)、司盘 80(Span 80)、聚山梨酯 20(Tween 20)(天津市科密欧化学试剂有限公司);司盘 60(Span 60)、聚山梨酯 60(Tween 60)(西陇化工股份有限公司);聚山梨酯 40(Tween 40,天津市光复精细化工研究所);聚山梨酯 80(Tween 80,湖南尔康制药有限公司);单硬脂酸甘油酯(GMS,湖南汇虹试剂有限公司)。

乳猪,体质量 10 ~ 15 kg,1 月龄,湖南省疾病预防控制中心提供,动物合格证编号:SCXK(湘)2015-0011。

2 方法与结果

2.1 MTX-PC/OG 处方的初步筛选

2.1.1 MTX-PC/OG 的制备方法 称取处方量 MTX-PC,加油相超声使药物完全溶解,得到药物的油溶液。在油溶液中加入辅助胶凝剂,60 °C 水浴磁力搅拌 10 min,使辅助胶凝剂分散均匀,再加入胶凝剂,同温继续搅拌 10 min,室温放置成胶。

2.1.2 油相的选择 选取不同链长脂肪酸酯作为油相,考察 MTX-PC 在各种油相中的溶解度。将一定量的 MTX-PC 加入不同极性的油相中,直至有药物析出。结果显示,MTX-PC 在 MCT(>30 mg · mL⁻¹)、IPM(>100 mg · mL⁻¹)及 EO(>60 mg · mL⁻¹)的溶解度均能够满足载药量的要求,选择作为油相。

2.1.3 胶凝剂种类的选择 以 MCT、IPM 及 EO 作为油相,以 Span 40、Span 60 和 GMS 为胶凝剂,制备一系列含不同浓度胶凝剂的有机凝胶,以能够形成凝胶(倒置 30 s 不流动)的最小胶凝剂浓度为最低成胶浓度^[27]。结果显示,GMS 在较低浓度时即可胶凝,成胶能力强,因此选择 GMS 作为胶凝剂,结果见表 1。

表 1 甲氨蝶呤磷脂复合物有机凝胶(MTX-PC/OG)的最低成胶浓度

Tab. 1 The minimum gelation concentration of MTX-PC/OG

Oil phase	Content(Span 40)/%	Content(Span 60)/%	Content(GMS)/%
MCT	20	14	10
IPM	28	19	8
EO	31	21	9

注:MCT - 中链甘油三酯;IPM - 肉豆蔻酸异丙酯;EO - 油酸乙酯。

Note: MCT - medium chain triglyceride; IPM - isopropyl myristate; EO - ethyl oleate.

2.1.4 胶凝剂用量的选择 胶凝剂的用量与凝胶的稳定性和涂展性有关,胶凝剂用量大,凝胶稳定性好,但稠度可能会较大,不易于涂抹,反之亦然,因此,胶凝剂用量的选择应综合平衡稳定性与涂展性。预实验结果表明,凝胶的相转变温度高于 45 ℃ 时,稳定性较好。采用熔点仪法测定有机凝胶的相变温度^[28]。取半固态的凝胶样品适量,吸入两端开口毛细管中(内径 0.9~1.1 mm,外径 1.3~1.4 mm),高度约 5 mm,并用注射器将样品提至距毛细管下端约 3 mm 处。将装好样的毛细管置于数字熔点仪中,以 1 ℃·min⁻¹缓慢升温,相转变温度为凝胶熔化下降 1 mm 时的温度,每个样品平行测定 3 份。结果显示,胶凝剂用量为 12.5% 和 15% 时,相转变温度均高于 45 ℃,稳定性好,但 15% 凝胶稠度较大,不易于涂抹,因此选择 12.5% 作为胶凝剂用量,结果见表 2。

表 2 MTX-PC/OG 的相转变温度。℃, $n=3, \bar{x} \pm s$

Tab. 2 The phase transition temperature of MTX-PC/OG. ℃, $n=3, \bar{x} \pm s$

GMS/%	MCT	IPM	EO
10	43.07 ± 0.35	45.50 ± 0.26	44.93 ± 0.74
12.5	49.70 ± 0.44	47.90 ± 0.56	47.67 ± 0.50
15	50.40 ± 0.44	49.90 ± 0.10	49.53 ± 0.21

2.1.5 辅助胶凝剂种类对凝胶稳定性的影响 以 GMS 为胶凝剂, MCT 为油相, 单链的 Span 类和 Tween 类作为辅助胶凝剂^[29], 制备 MTX-PC/OG (因 Span 40 和 Span 60 均为固体, 制备得到的凝胶质地较硬, 不易于涂抹, 不适于该有机凝胶)。Tween 60 和 Span 80 的有机胶凝室温放置不稳定, 出现分层, 选择 Span 20、Tween 20、Tween 40 和 Tween 80 进行下一步体外透皮实验。

2.2 体外透皮实验方法的建立

2.2.1 体外经皮渗透性 将处理好的乳猪皮肤固定在改良 Franz 扩散池上, 角质层朝向供给池, 加入约 8.5 mL 磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 7.4) 溶液作为透皮接收液。将约 0.2 g 有机凝胶均匀涂抹于皮肤上, 接收池置 (37 ± 1) ℃ 恒温水浴中, 200 r·min⁻¹ 磁力搅拌。分别于 1、2、4、8、12、24 h 取尽接收液, 并补充等量同温接收液。接收液样品经 0.22 μm 微孔滤膜过滤用 HPLC 进样分析, 按公式 1 计算单位面积皮肤药物累积渗透量 Q_n (μg·cm⁻²)。

$$Q_n = (\rho_n V + \sum_{i=1}^n \rho_i V_i) / A \quad \text{公式(1)}$$

式中, Q_n 为 t 时间内单位面积累积渗透量, ρ_n 和

ρ_i 分别为第 n 个和第 $(n-1)$ 个取样时间点接受液中药物的质量浓度; V 为接受液的总体积 (2 mL); V_i 为每次取样体积; A 为有效渗透面积 (0.785 cm²)。绘制 Q_n 对时间 t 的体外经皮渗透动力学曲线, 并进行线性回归。

2.2.2 皮肤滞留量 取透皮试验后皮肤, 棉签除去表面残留药物, 再用 PBS (pH 7.4)-PEG 400 (80:20) 冲洗干净, 滤纸吸干, 称重, 剪碎后加入甲醇 5 mL, 超声提取 30 min, 13 500 r·min⁻¹ 离心 10 min。上清液经 PBS (pH 7.4) 稀释 5 倍后, HPLC 进样分析, 按公式 2 计算单位质量皮肤滞留量 (Q_{skin})。

$$Q_{\text{skin}} = \rho V / m \quad \text{公式(2)}$$

式中, Q_{skin} 为 24 h 内单位质量皮肤滞留量, ρ 为皮肤中药物质量浓度, V 为皮肤样品溶液的体积, m 为皮肤的质量。

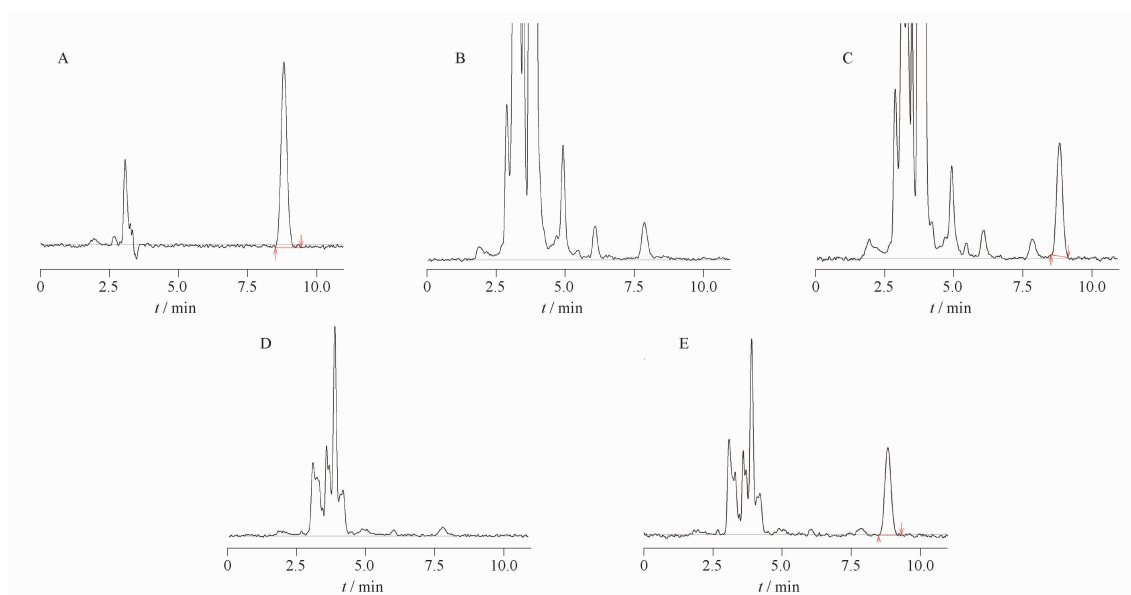
2.2.3 接收液及皮肤中 MTX 分析方法的建立 色谱条件及专属性试验: 色谱柱为 Agilent TC-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.01 mol·L⁻¹ PBS (pH 6.5) (22:78); 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 柱温为 35 ℃; 检测波长为 303 nm; 进样体积为 20 μL。在本色谱条件下, MTX 在 8.8 min 左右出峰, 峰形良好, 乳猪皮肤中内源性物质不干扰 MTX 的测定 (图 1)。

线性范围和方法学验证: 取 MTX 储备液适量, 用 PBS (pH 7.4) 逐级稀释成质量浓度为 10、5、2、1、0.5、0.2、0.1、0.05、0.02 μg·mL⁻¹ 的 MTX 溶液, 按“2.2.3”项下条件进样分析, 记录峰面积。以峰面积 (A) 为纵坐标, 质量浓度 (ρ) 为横坐标线性回归, 得回归方程 $A = 53\,782\rho - 23$ ($r^2 = 0.999\,99$)。MTX 在 0.02~10 μg·mL⁻¹ 内线性关系良好。

取 MTX 储备液适量, 用 PBS (pH 7.4) 配制低、中、高质量浓度分别为 0.05、0.5、8 μg·mL⁻¹ 的 MTX 溶液各 5 份, 按“2.2.3”色谱条件进行分析, 1 d 内连续测定 5 次, 连续测定 3 d, 计算日内及日间精密性, 相对标准偏差 (RSD) 均小于 2.6%。以测定值与真实值的比值为准确度, 低、中、高浓度样品的准确度分别为 98.76%、100.76%、100.47%, RSD 分别为 1.78%、1.57%、1.01%。

2.3 处方因素对 MTX-PC/OG 体外透皮性能的影响

2.3.1 油相种类对体外透皮的影响 以 GMS 为胶凝剂, 不添加辅助胶凝剂, 考察油相分别 MCT、IPM 和 EO 对 MTX-PC/OG 体外透皮的影响 (表 3), 3 种油相极性顺序为 MCT > IPM > EO。结果表明, 以 MCT 为油相的有机凝胶可同时增加药物的渗透



A - MTX 溶液; B - 空白接收液; C - 接收液样品; D - 空白提取液; E - 提取液样品。

A - MTX solution; B - blank reception solution; C - sample reception solution; D - blank skin extraction solution; E - sample skin extraction solution.

图 1 接收液及提取液中甲氨蝶呤 (MTX) 的 HPLC 特异性色谱图

Fig. 1 The HPLC specificity chromatogram of MTX in reception and extraction solution

表 3 油相种类对透皮行为的影响。n = 3, $\bar{x} \pm s$

Tab. 3 Skin permeation parameters with different oil phase. n = 3, $\bar{x} \pm s$

Oil type	Equation	r^2	$Q_{24\text{h}}/\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$	$Q_{\text{skin}}/\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$
MCT	$Q_n = 0.415t - 1.3170$	0.9315	9.47 ± 0.86	27.99 ± 2.14
IPM	$Q_n = 0.049t - 0.1597$	0.9174	1.12 ± 0.20	15.73 ± 1.20
EO	$Q_n = 0.126t - 0.3344$	0.9627	2.87 ± 0.13	20.52 ± 2.19

和滞留作用,其 $Q_{24\text{h}}$ 分别为 IPM 和 EO 组的 8.5 和 3.3 倍, Q_{skin} 分别为 IPM 和 EO 组 1.8 和 1.4 倍,且差异有统计学意义 ($P < 0.01$),因此选择 MCT 作为油相。

2.3.2 辅助胶凝剂种类对体外透皮的影响

GMS 为胶凝剂, MCT 为油相, 分别加入 Span 20、Tween 20、Tween 40、Tween 80 作为辅助胶凝剂, 制备 MTX-PC/OG, 其中以 Span 20 为辅助胶凝剂组, 在提高药物的渗透和滞留方面具有显著优势, 最终选择 Span 20 作为辅助胶凝剂, 结果见表 4。

表 4 辅助胶凝剂种类对透皮行为的影响。n = 3, $\bar{x} \pm s$

Tab. 4 Skin permeation parameters with different cogelator. n = 3, $\bar{x} \pm s$

Cogelator type	Equation	r^2	$Q_{24\text{h}}/\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$	$Q_{\text{skin}}/\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$
Control	$Q_n = 0.415t - 1.317$	0.9315	9.47 ± 0.86	27.99 ± 2.14
Span 20	$Q_n = 3.414t - 10.49$	0.9361	78.46 ± 4.52	176.99 ± 5.39
Tween 20	$Q_n = 1.829t - 4.374$	0.9655	41.94 ± 3.69	52.34 ± 6.68
Tween 40	$Q_n = 0.224t - 0.527$	0.9460	5.26 ± 0.29	15.85 ± 1.88
Tween 80	$Q_n = 0.125t - 0.184$	0.9633	2.90 ± 0.45	7.22 ± 0.88

2.3.3 辅助胶凝剂用量对体外透皮的影响

以 GMS 为胶凝剂, MCT 为油相, 考察辅助胶凝剂 Span 20 用量为 5%、10%、15%、30% 对 MTX-PC/OG 体外透皮的影响。经皮渗透实验结果表明, MTX-PC/OG 的经皮累积渗透量随着

Span 20 用量的增加而增加, 当用量为 15% 左右接近平衡。Span 20 的用量对滞留量影响较大, 但是当 Span 20 用量为 30% 时, 凝胶结构趋于不稳定, 最终选择 Span 20 用量为 15%, 结果见表 5。

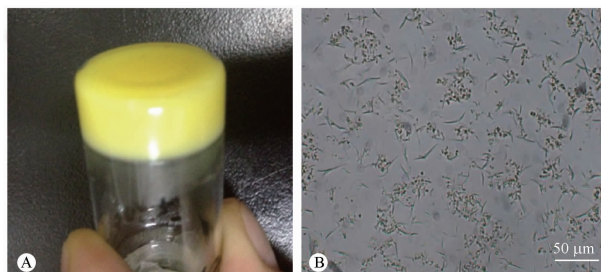
表5 辅助胶凝剂用量对透皮行为的影响。n=3, $\bar{x} \pm s$

Tab.5 Skin permeation parameters with different cogelator concentration. n=3, $\bar{x} \pm s$

Cogelator content	Equation	r^2	$Q_{24h}/\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$	$Q_{\text{skin}}/\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$
Control	$Q_n = 0.415t - 1.317$	0.9315	9.47 ± 0.86	27.99 ± 2.14
5% Span 20	$Q_n = 0.960t - 2.792$	0.9537	21.79 ± 0.78	33.95 ± 5.97
10% Span 20	$Q_n = 1.472t - 4.288$	0.9259	33.40 ± 6.06	55.58 ± 6.27
15% Span 20	$Q_n = 3.414t - 10.49$	0.9361	78.46 ± 4.52	176.99 ± 5.39
30% Span 20	$Q_n = 2.572t - 8.636$	0.9089	59.66 ± 2.79	236.42 ± 13.47

2.4 MTX-PC/OG 的表征

2.4.1 外观形貌 本品为淡黄色不透明半固体凝胶,均匀细腻,涂展性好(图2A)。显微镜下 MTX-PC/OG 具有纤维状结构,药物聚集形成黄色点状结构(图2B)。



A - 外观; B - 光学显微镜(×400)。

A - appearance; B - optical microscope (×400).

图2 MTX-PC/OG 形貌的外观和显微结构

Fig.2 The appearance and micro-structure of MTX-PC/OG

2.4.2 黏度 黏度可反映凝胶的黏附性,一般在 5~100 Pa·s 内较为适宜。黏度计测定 3 批凝胶的黏度,剪切速率为 1 s^{-1} ,温度为 25 °C,3 批凝胶的平均黏度为 $(85.9 \pm 0.5) \text{ Pa} \cdot \text{s}$,说明 MTX-PC/OG 的黏附性较好。

2.4.3 相转变温度 外用半固体制剂的相转变温度在 45~55 °C 内易于涂布或黏附在皮肤上。本实验采用差示扫描量热法(DSC)测定有机凝胶的相转变温度^[30]。以空铝坩埚为参比,另一铝坩埚内放入 10~15 mg 有机凝胶样品,扫描范围:20~60 °C,升温速度: $5 \text{ °C} \cdot \text{min}^{-1}$,氮气流保护,3 批凝胶的平均相转变温度为 $(50.4 \pm 0.5) \text{ °C}$,典型谱图见图 3。

2.4.4 流变学性质评价 理想的局部用药半固体制剂,应具备假塑性或触变性等流变学特性,在受到挤出或涂抹等外力作用时,凝胶黏度下降,有利于挤出和涂抹;在停止外力作用时,凝胶恢复原有特性,有利于贮存时的稳定。本研究应用平板模型(间隙 500 μm),分别在振荡模式和稳态模式下测定 MTX-PC/OG 的流变学参数。

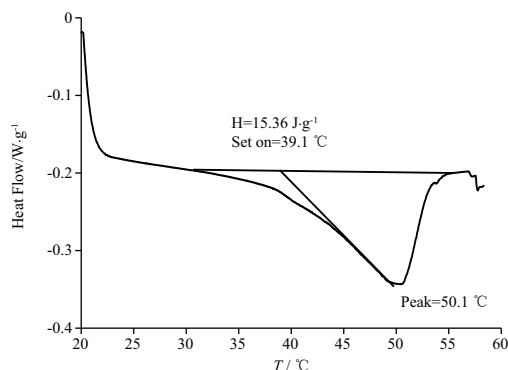


图3 差示扫描量热法(DSC)测定 MTX-PC/OG 相转变温度

Fig.3 The phase transition temperature of MTX-PC/OG measured by DSC

黏弹性模量:在振荡模式下及线性黏弹性范围内测定 MTX-PC/OG 的流变学参数随角频率的变化。温度为 25 °C,应变幅度为 0.05%,扫描角频率范围为 $0.1 \sim 100 \text{ rad} \cdot \text{s}^{-1}$,频率为 1 Hz,以弹性模量 G' 、黏性模量 G'' 和复数黏度的对数对角频率的对数作图,可以得到一定频率下 3 个流变参数的流变曲线(图 4A)。黏弹性模量呈现非频率依赖性,而且弹性模量大于黏性模量,说明凝胶系统弹性占主要优势,凝胶系统较为稳定。随着频率的增大,黏度下降,具有剪切变稀的现象,适用于局部给药。

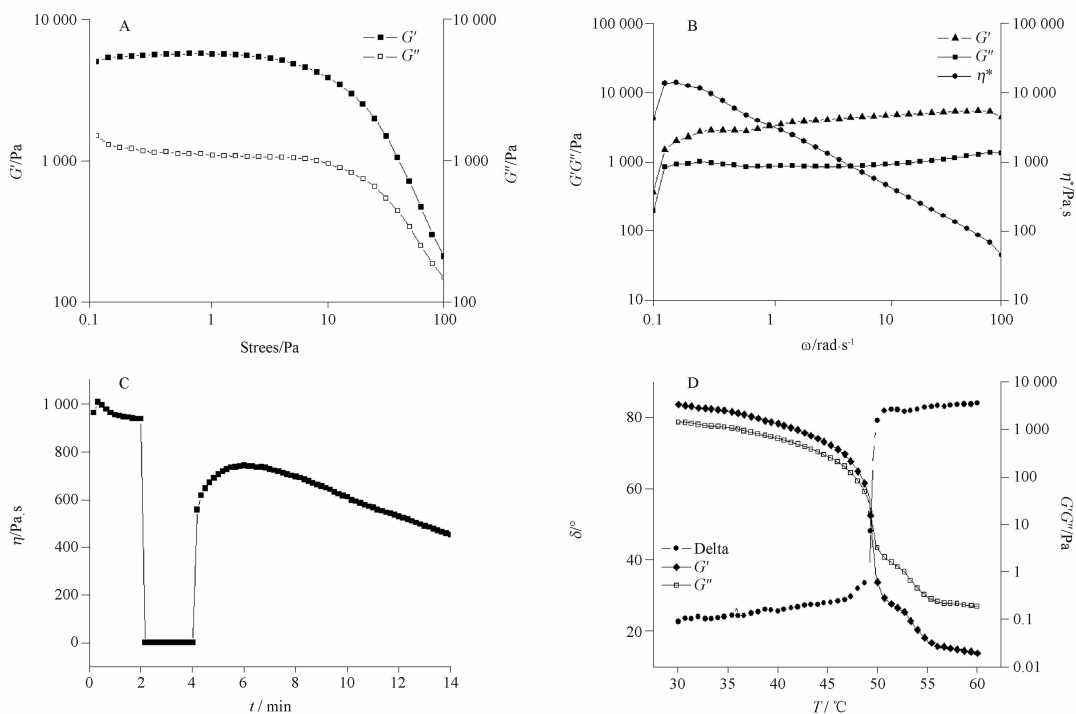
屈服应力值:以振动应力扫描模式测定有机凝胶的屈服值,温度为 25 °C,振动应力扫描范围为 $0.1 \sim 100 \text{ Pa}$,频率为 1 Hz,以弹性模量 G' 、黏性模量 G'' 的对数对角频率的对数作图,可以得到凝胶的屈服应力值(图 4B)。屈服值为凝胶的黏弹性模量由稳定状态开始下降 5% 时的振动应力大小,结果表明,MTX-PC/OG 的屈服值在 10.0 Pa 左右。

黏度切变曲线:该值能够反应制剂的触变性。以振稳态模式测定,温度为 25 °C,剪切速率 0.1、100、 0.1 s^{-1} ,剪切时间分别为 1、2 和 10 min,观察凝胶黏度的变化(图 4C)。在低剪切速率下,凝胶保持稳定,黏度较大;当给予 100 s^{-1} 的高剪切速率,凝胶的三维网状结构有序性增加,黏度降低,再以低剪切

速率处理凝胶,10 min 内可以部分恢复凝胶三维网状结构,说明 MTX-PC/OG 具有触变性,有利于制剂的使用和保存。

温度扫描曲线:以温度斜坡扫描模式测定 MTX-PC/OG 的相转变温度,温度扫描范围 30 ~ 60℃,升温速率为 1℃·min⁻¹,扭矩为 10 μN·m,以弹性模

量 G' 、黏性模量 G'' 的对数及相位角对温度作图,可以得到凝胶的相转变温度(图 4D)。弹性模量与黏性模量的交点即为凝胶的相转变温度,结果表明,MTX-PC/OG 的相转变温度为 49.3℃,相位角也在超过此温度时发生急剧变化,说明凝胶由凝胶向溶胶态转变。



A - 黏弹性模量与应变曲线; B - 屈服应力值; C - 黏度切变曲线; D - 温度扫描曲线。
A - elastic and viscous modulus stress curve; B - yield stress value; C - viscosity shear rate; D - temperature scan.

图 4 MTX-PC/OG 的流变学特征曲线

Fig. 4 Rheological properties curve of MTX-PC/OG

3 讨论

3.1 MTX-PC/OG 处方成分的选择

在油相选择中,溶解度结果显示 IPM > EO > MCT,但体外透皮却发现采用 MCT 为油相时,透皮性能最佳。药物角质渗透的本质是药物在制剂和角质层中的动态分配的过程,在本研究中,MTX-PC 在 MCT 中溶解度较为适中,在 IPM 及 EO 中溶解度较高,说明药物和溶剂的亲合力强,不利于药物释放和向角质层的分配^[31]。

在胶凝剂选择方面,本试验选用常用的 Span 40、Span 60 和 GMS 作为胶凝剂,分别加入油相考察其成胶能力^[32-33]。GMS 胶凝能力最强,可能是由于其熔点相对较高,且在 3 种油相中的溶解度较为适宜,有助于凝胶的形成。不同胶凝剂对 3 种油相的胶凝能力排序结果显示,Span 40 和 Span 60 对极性

较大的油相(MCT)具有较好的胶凝能力,而 GMS 对极性较小的油相(IPM)具有较好的胶凝能力,这可能是由于 Span 40 和 Span 60 的 HLB 值相对较高,极性较大,在极性大的油相中溶解度适宜,而 GMS 脂溶性更强,在极性小的油相中溶解度适宜于凝胶的形成。

3.2 辅助胶凝剂对凝胶稳定性的影响

辅助胶凝剂的加入可以显著改变凝胶的稳定性^[34]。实验中选用单链的 Span 和 Tween 作为辅助胶凝剂,并通过流变学参数弹性模量为指标考察其稳定性。实验结果显示,Span 20、Span 80 及 Tween 20 的加入可以增加凝胶体系的稳定性,而 Tween 40、Tween 60 和 Tween 80 的加入会降低凝胶体系的稳定性。Murdan 等^[29]在研究中发现,对于油相碳链长度较长(C > 14)的有机凝胶,辅助

胶凝剂的添加会增加其稳定性,对于油相碳链长度较短的,则会导致稳定性下降;然而对中间碳链长度的油相制备的有机凝胶,影响尚不明显。因此,可以推测辅助胶凝剂对凝胶稳定性的调节程度与碳链长度有关。

在本研究中,Span 20 和 Tween 20 的碳链长度均为 12,与 MCT 的碳链长度较为接近,故能提高稳定性;相反,Tween 40、Tween 60 和 Tween 80 分别为 C₁₆、C₁₈、C₁₈,与 MCT 碳链长度相差较大,导致稳定性下降。虽然 Span 80 的弹性模量较高,但其稳定性欠佳,可能是因为 GMS 在 Span 80 中溶解度不适宜。

3.3 辅助胶凝剂种类对外经皮渗透性的影响

辅助胶凝剂种类对 MTX-PC/OG 的透皮行为有显著影响。实验结果表明,Span 20 和 Tween 20 对凝胶渗透具有促进作用,而 Tween 40 和 Tween 80 对 MTX-PC 渗透有抑制作用,可能是以下 3 方面原因:首先,辅助胶凝剂能够通过混合胶束的形成参与凝胶结构的构建,从而改变有机凝胶的微观结构,进而影响药物的释放行为。其次,在实验中观察发现,Span 20 和 Tween 20 形成的凝胶在透皮前后保持相对一致的结构,而 Tween 40 和 Tween 80 无法很好地溶于凝胶基质中,在显微镜下可以看到其以液滴的形式析出,可能是因为亲水亲油平衡值(Hydrophilic Lipophilic Balance value, HLB)值较高,具有较强的亲水性。再次,辅助胶凝剂的碳链长度及结构对经皮渗透有影响^[35-36]。文献[36]报道指出,碳链长度为 12 的表面活性剂对角质层结构的干扰效果最强,随着碳链长度增加,促渗能力逐渐降低。因此,Tween 20 和 Span 20 的有机凝胶渗透性能较强。本实验发现,Span 20 优于 Tween 20,这可能是因为 Span 20 的亲水性头基没有 Tween 20 的聚氧乙烯链,其空位阻力较小,更容易与皮肤接触并发挥促渗作用^[37]。

3.4 MTX-PC/OG 在透皮给药中的优势

MTX-PC/OG 给药后,MTX 的经皮渗透量和滞留量都有大幅度的增加,说明 MTX-PC/OG 可以同时改善 MTX 的角质层渗透和滞留。作者推测可能机制为:MTX-PC 借助 OG 各组分的促渗作用快速分配到亲脂性角质层中,但在亲水性的活性表皮和真皮层中的扩散受限,在角质层形成储库,缓慢释放药物。接下来,当 MTX-PC 在角质层与活性表皮交界处遇到血液或组织液等极性溶剂,缓慢解离,并以离子形式在活性表皮和真皮层中扩散,作

者未发表的动物皮肤局部给药药动力学实验也得到了类似的结果。

本研究利用 MTX-PC 的高亲脂特性,解决了 MTX 的角质渗透难题,并促进其在角质层形成药物储库;此外,通过非极性 OG 载体的构建,解决了 MTX-PC 在极性载体中不稳定的问题;并巧妙利用 MTX-PC 在极性溶剂中不稳定的特点,实现了 MTX 从角质层向活性表皮及真皮层等靶部位的释放。本研究为 OG 作为药物磷脂复合物的皮肤局部用药载体的构建提供了新的思路。

REFERENCES

- [1] NEDELICU R I, BALABAN M, TURCU G, *et al.* Efficacy of methotrexate as anti-inflammatory and anti-proliferative drug in dermatology: Three case reports [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 18 (2): 905-910.
- [2] DU H, YANG J, LI M, *et al.* Microneedle-assisted percutaneous delivery of methotrexate-loaded nanoparticles enabling sustained anti-inflammatory effects in psoriasis therapy [J]. *J Mater Chem B*, 2024, 12(10): 2618-2627.
- [3] AICKARA D, BASHYAM A M, PICHARDO R O, *et al.* Topical methotrexate in dermatology: a review of the literature [J]. *J Dermatol Treat*, 2022, 33(1): 512-517.
- [4] YANG X, TANG Y, WANG M, *et al.* Co-delivery of methotrexate and nicotinamide by cerosomes for topical psoriasis treatment with enhanced efficacy [J]. *Int J Pharm*, 2021, 605: 120826. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2021.120826.
- [5] MROWIETZ U, DE JONG E M, KRAGBALLE K, *et al.* A consensus report on appropriate treatment optimization and transitioning in the management of moderate-to-severe plaque psoriasis [J]. *J Eur Acad Dermatol*, 2014, 28(4): 438-453.
- [6] MENTER A, GELFAND J M, CONNOR C, *et al.* Joint American Academy of Dermatology-National Psoriasis Foundation guidelines of care for the management of psoriasis with systemic nonbiologic therapies [J]. *J Am Acad Dermatol*, 2020, 82(6): 1445-1486.
- [7] THEODOROS D, APOSTOLOS M. Oral ulceration due to methotrexate treatment; a report of 3 cases and literature review [J]. *Balk J Dent Med*, 2015, 19(2): 116-120.
- [8] SAWANT R, CHAUDHARI P, BARDIYA N A, *et al.* From treatment to tragedy: severe methotrexate toxicity with mucocutaneous ulcers, myelosuppression, and nephropathy [J]. *Cureus J Med Sci*, 2024, 16(4): e57797. DOI: 10.7759/cureus.57797.
- [9] BEDOUI Y, GUILLOT X, SÉLAMBAROM J, *et al.* Methotrexate an old drug with new tricks [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (20): 5023. DOI: 10.3390/ijms20205023
- [10] AKMAN A U, ERISGIN Z, TUREDI S, *et al.* Methotrexate-induced hepatotoxicity in rats and the therapeutic properties of vitamin E: a histopathologic and flowcytometric research [J]. *Clin Exp Hepatol*, 2023, 9(4): 359-367.
- [11] JARA-PALACIOS M A, CHUN W, TRAUB N L. Potential contributors to low dose methotrexate toxicity in a patient with rheumatoid arthritis and pernicious anemia: case report [J]. *BMC Rheumatol*, 2021, 5 (1): 5. DOI: 10.1186/s41927-020-00175-y.
- [12] SCHELZEL G, PALICHERLA A, TAUSEEF A, *et al.* Low-dose

- methotrexate toxicity leading to pancytopenia; leucovorin as a rescue treatment [J]. *Proc Bayl Univ Med Cent*, 2024, 37(2): 339-343.
- [13] KIM K H, PARK M, PARK E Y, *et al.* Disseminating necrotizing leukoencephalopathy associated with intra-CSF methotrexate chemotherapy: a retrospective observational study [J]. *Neurology*, 2024, 102(5): e209167. DOI: 10.1212/WNL.000000000209167.
- [14] CHENG L, ZHANG Y, XU Q, *et al.* Hyaluronic acid/silk fibroin nanoparticles loaded with methotrexate for topical treatment of psoriasis [J]. *Int J Pharm X*, 2024 Dec 15;9:100312. DOI: 10.1016/j.ijpx.2024.100312.
- [15] SUTTON L, SWINEHART J M, CATO A, KAPLAN A S. A clinical study to determine the efficacy and safety of 1% methotrexate/Azone (MAZ) gel applied topically once daily in patients with psoriasis vulgaris [J]. *Int J Dermatol*, 2001, 40(7):464-467.
- [16] SHU Y, XUE R, GAO Y, *et al.* A thermo-responsive hydrogel loaded with an ionic liquid microemulsion for transdermal delivery of methotrexate [J]. *J Mater Chem B*, 2023, 11(24): 5494-5502.
- [17] SHEN S, ZHENG X, DONG X, *et al.* Methotrexate-loaded hyaluronan-modified liposomes integrated into dissolving microneedles for the treatment of psoriasis [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2024, 195: 106711. DOI: 10.1016/j.ejps.2024.106711.
- [18] ZHOU Y B, HE H, ZHAO H Z, *et al.* Construction and characterization of methotrexate nonionic surfactant vesicles [J]. *Chin J New Drugs* (中国新药杂志), 2014, 23(16): 1946-1950.
- [19] TEKKA I A, PERMANA A D, VORA L, *et al.* Localised and sustained intradermal delivery of methotrexate using nanocrystal-loaded microneedle arrays: potential for enhanced treatment of psoriasis [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2020, 152: 105469. DOI: 10.1016/j.ejps.2020.105469.
- [20] XU H T, FEI X T, CHEN R Q, *et al.* Preparation and *ex-vivo* evaluation of reduction-responsive methotrexate/hydroxycamptothecin nanoparticles [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学), 2023, 40(12): 1694-1703.
- [21] LIN M Z, ZHANG M J, FANG S N, *et al.* Progress of combined application of phospholipid complex technology and new preparation technology in traditional Chinese medicine [J]. *J China Pharm* (中国药房), 2016, 27(34): 4864-4867.
- [22] XIANG Y, DU Y H, HE Q, *et al.* Preparation and characterization of quercetin-phospholipid complex and effects on oxidative stability of walnut oil [J]. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2024, 45(24): 283-292.
- [23] HEBA M K E, MAHA M A N, YOSRA S R E, *et al.* Novel rhein-phospholipid complex targeting skin diseases: development, *in vitro*, *ex vivo*, and *in vivo* studies [J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2021, 11(3):1107-1118.
- [24] LI W H, ZHENG W, WANG F Y, *et al.* Preparation of hyperoside phospholipids complex and its mesoporous silica nanoparticles and oral pharmacokinetics study [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2023, 54(13): 4157-4167.
- [25] ATEF B, ISHAK RAH, BADAWY S S, *et al.* Novel composite fatty acid vesicles-in-Pluronic lecithin organogels for enhanced magnolol delivery in skin cancer treatment [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2024, 201: 114379. DOI: 10.1016/j.ejpb.2024.114379.
- [26] PÉNZES T, BLAZSÓ G, AIGNER Z, *et al.* Topical absorption of piroxicam from organogels *in vitro* and *in vivo* correlations [J]. *Int J Pharm*, 2005, 298(1):47-54.
- [27] LI C, DAI T, JIANG D, *et al.* Acid-induced pea protein gels pretreated with media milling: Gelling properties and the formation mechanism [J]. *Food Chem*, 2024, 449: 139110. DOI: 10.1016/j.foodchem.2024.139110.
- [28] VURE, PRASAD, NEERAJ, *et al.* Amphiphilic gels as a potential carrier for topical drug delivery [J]. *Drug Deliv*, 2008, 14(2):75-85.
- [29] MURDAN S, GREGORIADIS G, FLORENCE A T. Novel sorbitan monostearate organogels [J]. *J Pharm Sci*, 1999, 88(6): 608-614.
- [30] LIU X Y, XU L Y, WANG Y J, *et al.* Effect and mechanism of essential oil from *Zanthoxylum bungeanum* in microemulsion gel preparation on percutaneous delivery of complex components [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2019, 44(21):4627-4633.
- [31] MOSQUERA N L, FERREIRA L, SANCHES S, *et al.* A Review of potential use of Amazonian oils in the synthesis of organogels for cosmetic application [J]. *Molecules*, 2022, 27(9): 2733. DOI: 10.3390/molecules27092733.
- [32] ABDELBARY G A, AMIN M M, ZAKARIA M Y. Ocular ketoconazole-loaded proniosomal gels; formulation, *ex vivo* corneal permeation and *in vivo* studies [J]. *Drug Deliv*, 2017, 24(1): 309-319.
- [33] EMAD E A, SALAH S, GHORAB M. Proniosomal gel-derived niosomes; an approach to sustain and improve the ocular delivery of brimonidine tartrate; formulation, *in vitro* characterization, and *in vivo* pharmacodynamic study [J]. *Drug Deliv*, 2019, 26(1): 509-521.
- [34] NESTERENKO A, DRELICH A, LU H, *et al.* Influence of a mixed particle/surfactant emulsifier system on water-in-oil emulsion stability [J]. *Colloids Surf A*, 2014, 457: 49-57.
- [35] CHEN S, HANNING S, FALCONER J, *et al.* Recent advances in non-ionic surfactant vesicles (niosomes): fabrication, characterization, pharmaceutical and cosmetic applications [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2019, 144: 18-39.
- [36] BNYAN R, KHAN I, EHTEZAZI T, *et al.* Surfactant effects on lipid-based vesicles properties [J]. *J Pharm Sci*, 2018, 107(5): 1237-1246.
- [37] LÓPEZ A, LLINARES F, CORTELL C, *et al.* Comparative enhancer effects of Span20 with Tween20 and Azone on the *in vitro* percutaneous penetration of compounds with different lipophilicities [J]. *Int J Pharm*, 2000, 202(1-2): 133-140.

(收稿日期:2024-06-04)