

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2022.05.10

醇质体在兽用药物经皮给药中的研究进展

张雪花, 陈珍, 李露萍, 袁礼稳, 谢书宇*

(华中农业大学国家兽药残留基准实验室(HZAU), 华中农业大学国家兽药安全评价实验室,
农业农村部畜禽产品质量安全风险评估实验室, 武汉 430070)

[收稿日期] 2021-12-19 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280(2022)05-0080-11 [中图分类号] S859.79

[摘要] 经皮给药具有能够避免肝脏的首过效应、有效延长药物释放时间和减少动物应激等优点, 可实现局部和全身治疗效果。而角质层作为皮肤的最外层, 是影响药物向皮肤渗透的主要屏障。醇质体作为一种纳米递送载体, 能够有效改善药物的经皮渗透效果, 且制备工艺简便、关键组分(短链醇、磷脂和水)价廉易得、对人员专业素养及设备要求低, 是兽医临床上极具应用前景的经皮递送系统。本文总结了醇质体的特性、组成和制备方法, 并对醇质体在动物临床用药中的研究及其经皮渗透机制进行了概述, 以期为高效经皮递送兽药产品的开发提供理论基础。

[关键词] 兽药; 经皮递送; 传递系统; 醇质体; 透皮机制

Research Progress of Ethosomes in Transdermal Delivery of Veterinary Drugs

ZHANG Xue-hua, CHEN Zhen, LI Lu-ping, YUAN Li-wen, XIE Shu-yu*

(National Reference Laboratory of Veterinary Drug Residues(HZAU), MOA Key Laboratory for the Detection of Veterinary Drug Residues, MOA Laboratory for Risk Assessment of Quality and Safety of Livestock and Poultry Produce(Huangzhong Agricultural University), Wuhan 430070, China)

Corresponding author: XIE Shu-yu, E-mail: snxsy1@126.com

Abstract: Transdermal drug delivery possesses the advantages of reducing the first-pass effect of the liver, prolonging the drug release time and reducing animal stress, and the ability to achieve local and systemic therapeutic effects. As the outer layer of the surface skin, the stratum corneum is the main barrier that affects the penetration of drugs into the deep skin. Ethosomes, a kind of nano delivery carrier, are able to effectively enhance the transdermal permeation of drugs. Importantly, the preparation methods of ethosomes are simple, the key components (short-chain alcohols, phospholipids and water) of ethosomes are cheap and easy to obtain, and the requirements on staff's technicality and equipment are low. As a reminder, the ethosomes possess great application prospects in the veterinary clinic. To provide the theoretical basis for the development of efficient transdermal products of veterinary drugs, in the current review, the characteristic, composition and preparation methods of ethosomes were comprehensively summarized, and then the recently studies of ethosomes in veterinary

基金项目: 湖北省自然科学基金(2020CFB531)

作者简介: 张雪花, 硕士, 从事纳米载药系统研究。

通讯作者: 谢书宇。E-mail: snxsy1@126.com

drugs as well as the transdermal mechanism were discussed in detail.

Key words: veterinary drugs; transdermal delivery; delivery systems; ethosomes; transdermal mechanism

经皮肤递送一般指经体表表面皮肤将药物输入体内,包括局部给药和经皮吸收进行皮肤深层或全身性疾病的治疗。其中局部给药旨在治疗皮肤浅层疾病,无需全身循环;而经皮吸收是指通过皮肤给药后,药物通过皮肤角质层到达真皮层,由毛细血管吸收入体循环,产生全身作用的一种给药方法。经皮给药具有许多优于其他给药途径的特点,如能减少肝脏的首过效应、消化道中酶的代谢和药物的峰谷效应,顺应性好,能够减少动物应激,便于给药等。因此受到越来越多研究者的青睐和重视^[1-2]。

而要实现药物高效的经皮递送就必须克服皮肤的屏障作用,其中角质层(SC)是皮肤的最外层,是许多药物主要的皮肤渗透屏障^[3]。为了克服这一障碍,已经开发了可改善药物经皮渗透性的物理、化学和相关的制剂技术与方法。其中常见物理方法包括离子导入法、电穿孔、超声导入法、微针法、压力波法、激光烧灼法和热能促渗法等,化学方法一般是通过化学促渗剂来提高药物的经皮渗透效果^[4-6]。制剂技术则包括微乳、脂质体、传递体、醇质体、非离子表面活性囊泡、固体脂质纳米、微海绵以及前药等^[7-9]。它们旨在通过改变 SC 的连续性或提高药物的经皮渗透速率,使药物到达皮肤深层,最终达到治疗效果^[10]。

在上述方法中,物理法较依赖于仪器设备,不易在兽医临床广泛应用,而单独的化学促渗剂对药物的透皮效率提高程度有限,其一般与相应的制剂技术联合使用。而由于皮肤表面 SC 细胞较差的胞吞能力,以及较小的细胞间隙^[11](~ 60 nm),通常粒径小的药物柔性颗粒(如纳米粒或囊泡)会表现出较强的透皮性能。而在兽医临床上包括驱虫药、局部抗菌药、性激素、解热镇痛药,甚至疫苗在内的药物都是经皮给药的候选标的。据国家兽药基础数据库(<http://124.126.15.169:8081/cx/#>)收录,目前我国国内仅有 3 种经皮给药的兽药产品上市,分别是塞拉菌素滴剂(犬用)、非泼罗尼滴剂(犬用)和乙酰氨

基阿维菌素浇泼剂(奶牛用),而进口的经皮给药的产品有二氯苯醚菊酯吡虫啉滴剂(犬用)、吡虫啉莫昔克丁滴剂(猫用)、非泼罗尼滴剂(猫、犬用)、非泼罗尼甲氧普烯二甲脒滴剂(犬用)、复方非泼罗尼滴剂(猫、犬用)。

可见,虽然目前国内已有少数畜禽及宠物的皮肤用驱虫药(如滴剂、浇泼剂)上市,然而其中仍以伴侣动物的滴剂产品占大多数,且宠物用经皮给药剂型仍以国外进口产品为主导。这可能与我国整体的兽医制剂水平较低,以及相应的经皮递送制剂技术运用范围较窄有关。而在提高药物经皮递送相关的制剂技术中,醇质体因安全性高、透皮性能强等优点,在药物(包括小分子、蛋白)的经皮给药领域受到了广泛关注。同时,相比于微乳、微海绵、固体脂质纳米等技术,醇质体制备工艺更为简便,其关键组分(短链醇、磷脂和水)价廉易得,对人员专业素养及设备要求低,是兽医临床上极具应用前景的经皮递送系统^[12]。

为了给相关兽医制药工作者提供更多的理论参考,本文详细分析了醇质体的特性、组成和制备方法,总结并概述了近年来醇质体在动物用药品中的研究进展,以及其透皮渗透的机制。将为动物经皮给药制剂的开发提供新的思路,将有利于为我国兽医临床提供更多高效、实用的经皮给药产品。

1 经皮给药的生理学基础

1.1 皮肤的结构

皮肤是动物体最大的器官,约占动物体总体重的 15%,其主要由表皮、真皮和皮下组织或皮下脂肪构成^[13]。如图 1 所示,表皮是由 SC 等组成的一种复杂的多层膜结构。其中,SC 位于表皮的最外层,该层的厚度约为 10~20 μm ,由角质细胞和细胞间脂质基质组成^[11]。表皮的主要细胞类型是角质形成细胞,此外还包括黑色素细胞和呈递抗原的朗格汉斯细胞等,这些细胞在表皮中的位置较为固定,散布在角质形成细胞的周围,且不会随着角质形成细胞迁移和脱落^[13]。而角质形成细胞由基底层的连续有丝分裂产生,经历多个

分化阶段后迁移到皮肤表面,最后分化为角质细胞^[14]。在这一转变过程中,角质形成细胞失去了细胞核和主要的细胞质,原本细胞的脂质被释放到细胞间隙,角质膜取代了细胞膜,而神经酰胺、胆固醇和游离脂肪酸等则填充在堆积的角质细胞之间^[15]。由于角质细胞是长而平坦的瓦片形状,常将 SC 描述为“砖块”和“灰浆”的结构,其中砖块结构主要是由交联角蛋白组成的无生命活动的角质细胞,它们平行排列,部分重叠;而胞间灰浆则主要是双层形式填充的脂质混合物^[3]。由此发现,SC 作为皮肤的最外层且其细胞活性较低,是影响药物有效渗透的第一道屏障。

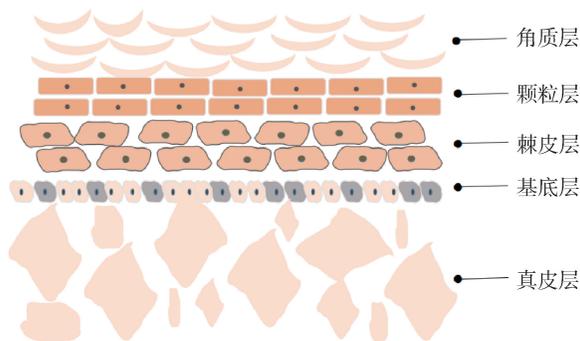


图 1 皮肤结构示意图

Fig 1 Schematic diagram of skin structure

原蛋白、弹性蛋白和蛋白聚糖,为皮肤提供具有支撑作用和韧性的细胞基质。其中,胶原蛋白提供支撑作用,蛋白聚糖为真皮提供粘性和水合作用,而弹性蛋白则为皮肤提供韧性/弹性^[16]。除成纤维细胞外,真皮还包含有毛细血管、神经末梢、汗腺和皮脂腺、毛囊等的复杂的网状结构。其中,毛囊、汗腺和皮脂腺直接开口于皮肤表面,可作为药物输送到皮肤微循环的直接途径^[17]。而毛细血管可将递送到真皮层的药物吸收进入全身循环。真皮对大多数药物的渗透没有阻碍作用,但会减少亲脂性药物向皮肤深层的递送^[18]。

皮下组织上接真皮,下接深部组织,是皮肤的最内层。虽然该组织在涉及药物输送到皮肤的讨论中经常被忽略,但它在向表皮和真皮提供能量、物理支撑及温度调节等方面起着相关的作用^[15]。通过总结皮肤的结构不难看出 SC 是药物经皮递送最需要克服的屏障。

1.2 药物经皮渗透的途径 药物经皮渗透的途径主要有细胞间、跨细胞和皮肤附属器这三种途径(图 2)。其中,皮肤附属器途径是指药物通过毛囊、汗腺和皮脂腺直接进入皮肤微循环。虽然药物通过皮肤附属器途径进入体内的速度快于细胞间和跨细胞途径,但是,毛囊和腺管仅占皮肤总面积的约 0.1% 和 0.01%。因此,该途径一般不视为药物输送的主要方式^[19]。然而,对于离子型和极性

真皮主要由成纤维细胞组成,这些细胞产生胶

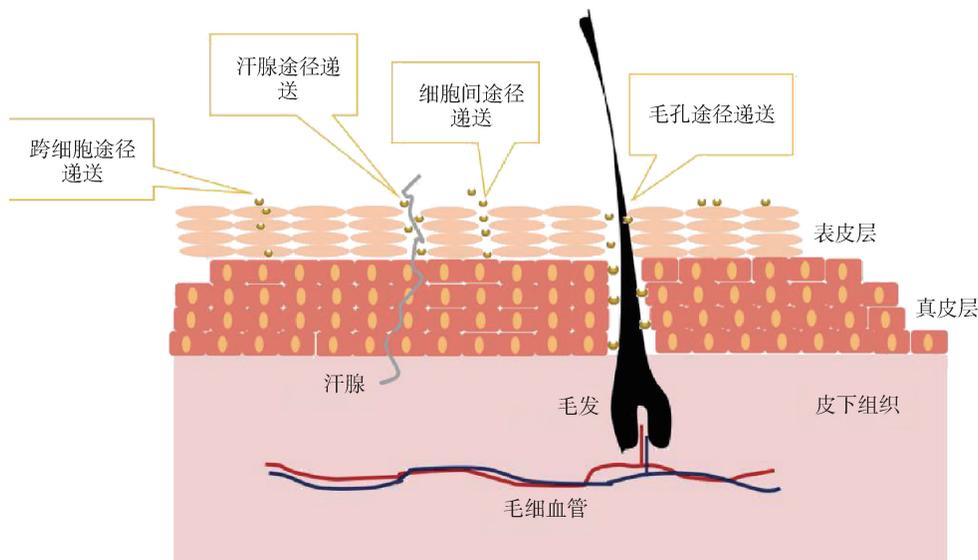


图 2 药物经皮渗透途径

Fig 2 The pathway of drug transdermal permeation

药物分子靶向作用于皮肤时,该途径发挥了重要的作用。此外,在开发新型局部制剂的过程中,对发生在毛囊中的疾病的治疗也优先考虑该途径。例如,Marto 等^[8]开发了一种负载灰黄霉素的醇质体,其可用于治疗毛囊中的疾病,并通过荧光示踪揭示所制备的醇质体在毛囊中大量积聚。

跨细胞途径需要通过水性环境(细胞内部)和疏水部分(细胞膜和细胞之间的脂质基质)运输药物。在正常条件下,药物很难通过这种途径进行输送^[20]。而细胞间途径适用于亲脂性药物,它是通过 SC 中脂质基质的被动扩散来输送药物,是药物经皮渗透的主要途径^[19]。Manca 等^[7]在体外透皮机制研究中表明,负载克霉唑的醇质体与角质细胞间的脂质基质存在相互作用,从而促进了药物的经皮渗透效果。

2 影响药物经皮渗透的因素

2.1 生理因素 皮肤的完整性和屏障功能因性别、年龄、种属、皮肤水合(水化)作用和新陈代谢的不同而存在差异,其差异主要表现在皮肤的渗透性^[21]。与日龄较大的动物相比,新生幼崽皮肤的渗透性更高。此外,水合作用也能显著提高皮肤渗透性。水化是指皮肤含水量高于正常状态的现象,皮肤水化后,组织变软、膨胀、皱褶消失,皮肤通透性显著增加,而随着年龄的增长,皮肤的水分含量会降低,表皮连接处被破坏,可用于传输到真皮的区域减少^[22]。因此可以预见,同一经皮给药的产品其在动物幼崽的经皮渗透速率会比成年动物更快。此外,有研究表明,温度对皮肤渗透性也有一定程度的影响,动物皮肤的温度约为 32 ~ 37 °C,皮肤温度上升 5 °C,其通透性可提高 0.7 ~ 1.5 倍^[21],这提示我们可以通过热能法,如添加低浓度的 NaOH 溶液、薄荷脑溶液等来提高动物局部皮肤的温度,从而进一步提高药物经皮渗透的效率。据报道,利多卡因加热贴片中含有的氧激活加热成分可增强利多卡因经皮渗透效果^[23]。

2.2 药物的理化性质 药物经皮渗透的效果与药物的理化性质密切相关,据报道,理想的经皮渗透药物应具有以下特征:合适的亲疏水性($1 \leq \log P \leq 3$),

分子量 ≤ 400 ,低熔点等^[24-26]。对于高度亲脂性药物($\log P > 3$),多通过细胞间途径渗透,而对于高度亲水性药物($\log P < 1$),则多是通过跨细胞途径渗透^[27]。皮肤 SC 类似于脂膜,而活性表皮是亲水性组织,脂溶性太差的药物不容易通过 SC,脂溶性太强的药物很难渗透进入活性表皮^[28]。因此,同时具有合适水溶性和脂溶性的药物更适合开发成经皮给药制剂。此外,分子量较小、低熔点的药物更容易透过皮肤,对于有机弱酸、有机弱碱类药物以及分子型药物的经皮渗透效果较好,而离子型药物则很难渗透到皮肤深层^[18]。

2.3 药物的递送系统 虽然理论上具有合适亲疏水性的药物更易于透过皮肤,而某些具有很好疗效的药物恰巧又不具备合适的理化性质,比如疫苗等大分子药物,其经皮渗透无疑是困难的。而药物递送系统可通过辅料来帮助改善或掩蔽药物的不良理化性质,而使得药物(或药物粒子)表现出良好的皮肤亲和力。如上所述由于皮肤的水化作用,在皮肤局部含水量较高时,药物可表现出较强的透皮性能。同时由于角质细胞间间隙较小^[11](~ 60 nm),因此液态的药物纳米粒(如脂质体、醇质体、传递体)更具优势。另外,某些递送系统可以提高药物经皮渗透的一个重要因素是递送系统的流动性。许多研究报告,这种渗透增强作用归因于递送系统中磷脂与 SC 中脂质的融合^[29]。比如虽然水杨酸甲酯比水杨酸更具亲脂性,当水杨酸以脂质载体进行递送作用于皮肤时,其表现出更高的经皮渗透效率^[30]。

3 醇质体在经皮递送中的研究进展

3.1 醇质体的优势 第一代透皮递送系统主要递送分子量小、亲脂性的低剂量药物,第二代递送系统则使用化学促渗透剂,非空化超声和离子电渗疗法等^[6]。这些方法旨在通过改变 SC 的物理结构或提高药物的渗透性,使药物到达皮肤深层,最终达到治疗效果。然而,物理技术对仪器设施的要求较高,而且会对皮肤造成一定程度的损伤,这极大地限制了它们在兽医临床中的应用。

而醇质体将药物包载后可将药物原本的理化性质隐藏起来,而表现出醇质体组分(水、磷脂、短

链醇)的性质,同时磷脂的加入使其具有较好的生物相容性,提高了对皮肤的安全性^[31]。磷脂是细胞膜的主要成分,在短链醇和水的存在下以及通过适当的外力,磷脂会以双层的形式分布,而把水包含在内腔中,即醇质体实为类似细胞膜结构。因此,醇质体在流动状态下具有磷脂双层的特性,并具有较高的膜渗透性,使其易于与角质膜相融合,从而使醇质体对 SC 屏障有较强的渗透性,而使携带的药物易于到达皮肤深层^[7]。更重要的是,醇质体的制备多依赖于旋转搅拌作用力,其粒径的大小可通过滴水的速率和搅拌器的转速来控制,而无需消耗额外的机械工,且蠕动泵和搅拌设备对人员的专业要求也较低。此外,由于磷脂在醇和水作用下的分散效果,使得醇质体初始粒径也较小。因此,综合考虑下醇质体在增加兽用药物的经皮渗透中有着巨大的应用前景。

3.2 醇质体的制备方法

3.2.1 冷法 冷法是制备醇质体最常用的方法,可分为两个不同的步骤。第一步是有机相的制备,在室温下将磷脂和亲脂性药物溶解在醇中,然后将混合物剧烈搅拌并水浴加热至 30 ℃。第二步制备水相,将水单独加热至 30 ℃。接下来,以恒定的速率将制备好的有机相滴加入到水相中,加完之后继续搅拌 5 min,该过程应该保持密封^[32]。制备好的制剂在室温下冷却,并且可以通过超声处理或挤压实现所期望的囊泡尺寸^[33]。药物可以加入有机相或水相中,这取决于其理化性质。Shen 等^[34]利用上述方法制备了负载芹菜素的醇质体,其粒径范围为 $36.61 \pm 1.78 \sim 698.33 \pm 124.30$ nm。

3.2.2 热法 热法也分为两个不同的步骤。首先,将磷脂溶解在水中并将其水浴加热至 40 ℃,直至获得胶体溶液。在不同的容器中,将乙醇和丙二醇混合,加热至 40 ℃,然后将其加入到水相中。同样地,也可以通过超声处理或挤压来减小囊泡大小^[33]。Touitou^[35]将大豆卵磷脂悬浮液和水加热至 60 ~ 70 ℃,然后将分散体系在冰浴中冷却并搅拌 30 min,将加热好的无水乙醇和丙二醇溶液加至上述体系,最后进行超声处理减小囊泡的大小。除了

经典冷法和热法外,采用跨膜 pH 梯度法来制备醇质体也有报道^[36-37]。然而此法相较于前两者步骤较为复杂,在兽药制备过程中不具备很强借鉴意义。

3.3 醇质体的透皮机制研究 醇质体是由磷脂、短链醇(乙醇、乙二醇、丙醇、异丙醇、丙三醇)和水组成的直径约为 150 ~ 200 nm 的球形或近似球形囊泡^[10]。磷脂使囊泡具有一定的刚度,并减少了囊泡融合的可能性,其添加的浓度范围为 0.5% ~ 10%^[38]。高浓度的醇(20% ~ 45%)增加了囊泡的弹性,同时改变了 SC 中脂质分子规则的紧密排列,导致细胞间隙变大,脂质流动性增加^[39]。一些研究表明,乙醇与皮肤 SC 中极性头基区域的脂质分子相互作用,导致 SC 中脂质的转变温度和密度降低,脂质的流动性和细胞膜通透性增加,从而促进药物的经皮渗透^[40]。其次,短链醇可提供负表面电荷,从而减少囊泡的聚集^[41]。据报道,配方中添加丙二醇可以减少囊泡的聚集,提高醇质体的稳定性^[40]。除了醇和磷脂的协同组合提高经皮渗透效果外,还有“醇质体效应”,包括皮肤水化作用、醇质体与 SC 融合和细胞间隙直接透过等,而导致药物在深度和数量上的递送增强^[41](图 3)。

除了醇质体的关键组分(水、短链醇、磷脂)可以改善皮肤的通透性之外,醇质体小的粒径尺寸也是其可高效经皮递送的关键原因。一般来说,直径超过 600 nm 的囊泡无法将包裹的药物输送到皮肤的更深层,这些囊泡倾向于停留在皮肤表面的 SC 内或 SC 上,并可能在干燥后在皮肤上形成脂质层^[42-43]。直径为 300 nm 以下的纳米囊泡能够在一定程度上将其包裹的药物输送到更深的皮肤层。Godin 等^[44]制备了含有 1% ~ 3% 杆菌肽的醇质体,其粒径范围为 96 ~ 115 nm。根据体外和体内皮肤递送研究,发现杆菌肽被有效递送至 SC、活性表皮和真皮中,最大到达深度达 200 μm。粒径范围为 10 ~ 210 nm 的囊泡可能会优先通过皮肤附属器途径递送药物^[45]。据报道,Zeb 等^[46]制备了包裹甲氨蝶呤的醇质体,粒径约为 100 nm,猜测其可能会优先由皮肤附属器途径实现全身递送。而粒径为 60 nm 以下的纳米囊泡,由于可直

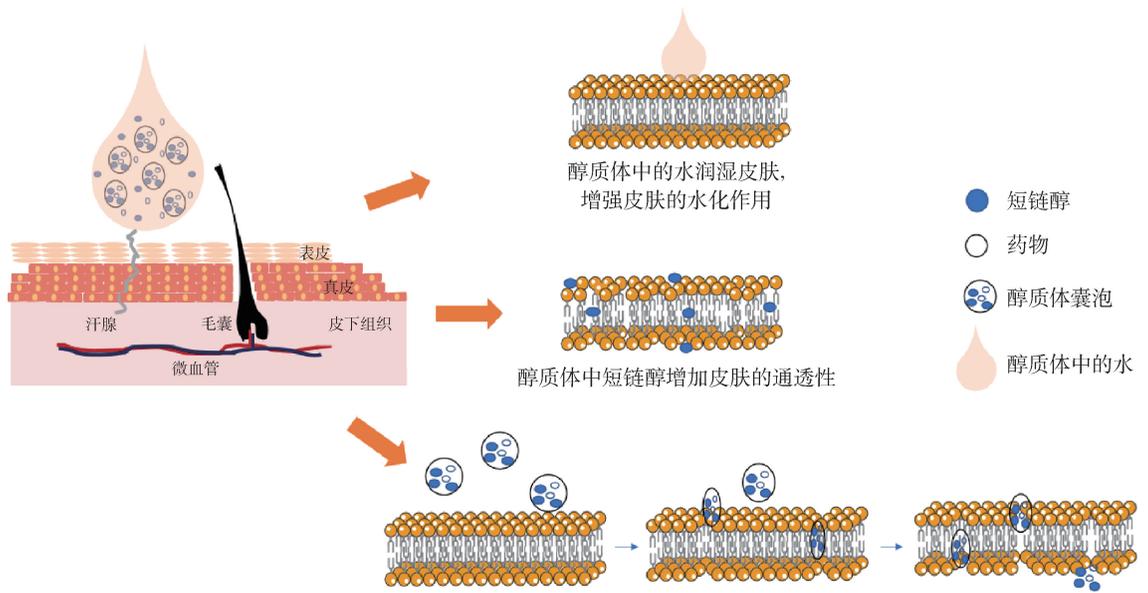


图 3 醇质体的透皮机制

Fig 3 The transdermal mechanism of ethosomes

接通过 SC 细胞间途径进行渗透,其在真皮层和表皮层中都显示出较大的药物沉积^[42-43]。粒径小于 36 nm 的纳米囊泡可以通过水孔吸收,而粒径小于 6 ~ 7 nm 的纳米囊泡可以通过脂质经皮途径被吸收^[47]。如上所述,粒径 ≤ 60 nm 的药物粒子透皮效率比粒径 > 60 nm 的药物粒子更易于渗透到皮肤深层吸收而进入全身循环,同时不同粒径范围的醇质体将会被递送到不同的皮肤深度。因此,要开发出具有高透皮递送速率,可靶向不同皮肤结构的药物醇质体粒子,需控制醇质体粒子的粒径。虽然有很多方法可以用来控制药物粒子的大小,如超声破碎、乳化分散、高压均质等。但这些技术对仪器设备的需求较高,且 60 nm 属于较小尺寸,要达到这样的粒径需要消耗更多的机械能,这显然会增加产品的制备成本。而如上所述醇质体的制备多依赖于旋转搅拌作用力,其粒径的大小可通过滴水的速率和搅拌器的转速来控制,而无需消耗额外的机械工。此外,由于磷脂在醇和水作用下的分散效果,醇质体初始粒径也较小。因此,很多研究中也致力于利用醇质体来增加兽用药物的经皮递送效率(表 1)。

表 1 不同粒径的经皮递送系统的透皮机制

Tab 1 Transdermal mechanism of transdermal delivery systems with different particle size

粒径范围	透皮机制	文献
> 600 nm	药物停留在 SC	[42-43]
< 300 nm	深层皮肤	[44]
10 ~ 210 nm	皮肤附属器途径	[45-46]
< 60 nm	SC 细胞间途径	[42-43]
< 36 nm	水孔吸收	[47]
$< 6 \sim 7$ nm	脂质经皮途径	[47]

3.4 醇质体在兽药中的应用

3.4.1 抗真菌药 真菌性皮肤病在宠物和食品动物疾病中占有很大比例,并且有易复发、难防控的特点,严重影响宠物和饲养者的健康。相关调查显示^[48],真菌性皮肤病约占宠物皮肤病总数的 52.9%。然而,口服抗真菌药物可能会对肝脏和肾脏造成一定的损伤。而以醇质体作为皮肤递送载体治疗真菌性皮肤病,可直接靶向皮肤感染部位,从而减少药物全身吸收引起的不良反应。

克霉唑是一种咪唑类抗真菌药,其具有广谱抗真菌活性。Maheshwari 等^[49]研究了含有克霉唑的

醇质体等在大鼠腹部皮肤的透皮量。结果表明,与柔性脂质体和克霉唑的乙醇溶液相比,负载克霉唑的醇质体除了显示出更高的透皮量还表现出更强的体外抗真菌活性。Manca 等^[7]利用乙醇、克霉唑(10 mg/mL)、水($\leq 10\%$)和甘油等制备的二元醇质体在体外渗透研究中表明,克霉唑在表皮和真皮中积聚($\sim 12\%$),特别是在皮下($\sim 22\%$),醇质体比市售乳膏显示出更高的深层聚集量。对白色念珠菌感染的皮肤抑菌活性结果表明,该醇质体比市售乳膏更能减少白色念珠菌菌落的数量。进一步的透皮机制研究表明,该醇质体囊泡与 SC 和生物体液的成分之间存在相互作用,促进了醇质体中磷脂对 SC 的渗透。此外,醇质体与凝胶技术结合也有报道。Izhar 等^[9]评估了装载特比萘芬的醇质体凝胶长时间将药物输送到目标部位的潜力。在体外扩散研究中,醇质体凝胶延长了药物在靶向部位的停留时间,且醇质体凝胶的溶出曲线遵循零级释放,这是透皮药物释放最合适的溶出曲线。

3.4.2 抗细菌药 动物细菌性皮肤感染在兽医临床也较为常见,因此,醇质体也用来增强抗生素类药物的经皮递送。Godin 和 Touitou^[44]研究了杆菌肽醇质体的真皮和细胞内递送的潜力。根据体外和体内皮肤递送研究,杆菌肽被有效递送至 SC、活性表皮和真皮中,最大深度可达 200 μm 。此外,在荧光激活细胞分选试验中获得的数据表明,装载杆菌肽的醇质体与成纤维细胞外膜的融合为醇质体穿透细胞膜提供了可能。Godin 等^[50]的研究表明,负载红霉素的醇质体在体外和体内均显示出更好的抗菌活性,且在细胞毒性试验中,负载红霉素的醇质体对培养的 3T3 真皮成纤维细胞无明显毒性。治疗试验表明,负载红霉素的醇质体处理的动物没有表现出皮肤坏死或损伤的迹象,而未处理组和红霉素乙醇溶液处理组则表现出持续的细菌生长,导致皮肤坏死或损伤。因此,醇质体是将红霉素递送至位于皮肤深层的细菌以根除葡萄球菌感染的有效载体。

3.4.3 抗寄生虫药 动物的寄生虫病为多发、群发性疾病,同时也是人畜共患性疾病。据报道,抗

寄生虫药是宠物药品中使用量最大的药物,也是畜禽养殖中常用的药物。抗寄生虫药物的经皮递送产品是兽用药物中具有较大市场潜力的标的。Meng 等^[12]研究表明与蛇床子素的乙醇溶液和传递体相比,负载蛇床子素的醇质体透皮量($6.73 \pm 1.6 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$)比传递体($3.57 \pm 1.0 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$)高 1.9 倍,比药物溶液($2.47 \pm 0.9 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$)高 2.7 倍。并且装载蛇床子素的醇质体的药时曲线下面积(AUC)和峰浓度(C_{max})显著高于其余两组,说明醇质体可作为一种有效的抗寄生虫类药物的经皮递送载体。醇质体在透过皮肤后,不仅在给药处可形成局部的药物储库,以长时间释放药物;还可将药物持续输送到皮肤真皮层以供全身吸收,从而治疗肠道内以及皮肤深处的寄生虫疾病。

3.4.4 非甾体抗炎药 酮洛芬是一种具有镇痛、抗炎和解热特性的非甾体抗炎药,其在治疗动物的关节炎方面被广泛应用。Chourasia 等^[51]选用大豆卵磷脂(1% ~ 3%)和乙醇(20% ~ 40%)制备负载酮洛芬的醇质体,其粒径范围为 120 ~ 410 nm。体外透皮试验表明,与酮洛芬乙醇溶液相比,酮洛芬醇质体具有更高的透皮量。基于体外透皮试验预测的体内血浆浓度表明,负载酮洛芬的醇质体经皮给药后,预期可在体产生治疗所需浓度,而纯药物溶液仅表现出亚治疗药物浓度。美洛昔康作为一种动物常用的强效非甾体抗炎药,常被用于治疗宠物和奶牛的关节炎、骨关节炎和退行性关节炎等。其口服给药可能会造成胃痛和消化不良等的不良反应。在 Ahad 等^[52]的研究中开发了一种美洛昔康透皮递送的醇质体,与脂质体相比,负载美洛昔康的醇质体粒径更小、包封率更高且透皮递送量增加。透皮实验结果表明,粒径为 $\sim 142.3 \text{ nm}$ 的醇质体实现了 $10.42 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$ 的透皮量,与脂质体相比,醇质体渗入皮肤的药物量增加了 3.77%。因此,可见醇质体是美洛昔康透皮给药的有效载体。大麻酚是一种治疗动物风湿性疾病的新候选药物,然而其口服给药有许多缺点。Lodzki 等^[53]将负载大麻酚的醇质体应用于裸鼠后发现药物在皮肤和底层肌肉中显著积聚。于 ICR 小鼠腹部给药

后,药物在毛囊贮库中积累,并在24 h内达到抗炎治疗的浓度并至少持续到实验结束(72 h)。

3.4.5 抗肿瘤药 犬的肿瘤是犬尤其是老年犬死亡的重要原因之一,目前对于犬(宠物)肿瘤的治疗多建议手术切除。如对于骨肉瘤(最常发生在前后肢长骨)的治疗通常采取截肢手术。犬类常见的皮肤瘤有黑色素瘤、鳞状上皮细胞癌以及恶性软组织瘤,而目前临床上对于这些皮肤肿瘤治疗效果并不乐观^[54]。虽然专门用于宠物肿瘤治疗的药物并不常见,但与食品动物不同,宠物药物与人用药物界限没有如此明显,或许可以从人用抗肿瘤药物的醇质体中得到一些启发。Yu 等^[55]制备了一种用于黑色素瘤经皮治疗的米托蒽醌醇质体凝胶。体外透皮试验揭示了该醇质体凝胶显著增强了米托蒽醌的皮肤渗透性(作者猜测这可能与高变形性有关)。此外,将不同的米托蒽醌透皮制剂应用于患有黑色素瘤的大鼠,结果显示,米托蒽醌醇质体凝胶实现了68.44%的肿瘤抑制率,该抑制水平显著高于其它制剂。皮肤肿瘤难以根治主要是因为普通的经皮制剂难以使药物到达皮肤深层,而达不到治疗所需的浓度及维持时间。而且专门针对宠物的物理的电穿孔、微针等仪器设备并不常见,且费用较为昂贵。而醇质体及其凝胶技术无疑为更好的治疗宠物的皮肤浅层乃至深层的肿瘤提供了想象空间。

3.4.6 激素类药 一般激素类药物其分子量较大且难溶于水或短链醇,因此采用常规的方法难以制备这类药物的醇质体。但有研究表明,可以通过添加助溶剂的方法来帮助该类药物醇质体的制备。Meng 等^[56]通过添加两种表面活性剂(十六烷基三甲基溴化铵和 Cremophor EL-35)来增加睾酮在水中的溶解度,从而帮助制备和修饰透皮睾酮醇质体。雄性小鼠的皮肤渗透实验表明,与脂质体相比,醇质体的透皮渗透增强了5倍。此外,利用激光共聚焦显微镜进一步评估了皮肤渗透性,与脂质体相比(120 μm 的渗透深度),负载睾酮的醇质体能够渗透到更深的皮肤层(260 μm)。进一步体内研究表明,负载睾酮的醇质体具有更高的 AUC 和

C_{max} ,以及比脂质体更稳定的血药浓度和更长的消除半衰期^[56]。这就为动物长效激素类药物产品的开发提供了参考,比如经皮的宠物用长效激素类避孕药(表2)。

表2 醇质体应用实例

Tab 2 Examples of application of ethosomes			
药物分类	药物	效果	文献
抗真菌药	克霉唑	更高的透皮量,更强的体外、体内抗真菌活性	[7, 49]
	特比萘芬	透皮量:144.61 ± 1.3 μg · cm ⁻² · h ⁻¹ ,药物在靶向部位的停留时间延长	[9]
抗细菌药	杆菌肽	被有效递送至 SC、活性表皮和真皮中,最大深度为 200 μm	[44]
	红霉素	更好的体外、体内抗菌活性,安全性高	[50]
抗寄生虫药	蛇床子素	透皮量:6.73 ± 1.6 μg · cm ⁻² · h ⁻¹ ,更高的 AUC 和 C _{max}	[12]
非甾体抗炎药	酮洛芬	更高的透皮量	[51]
	美洛昔康	与脂质体相比,渗入皮肤的药物量增加了 3.77%	[52]
	大麻酚	在皮肤和底层肌肉中显著积聚	[53]
抗肿瘤药	米托蒽醌	渗透性增强,实现了 68.44% 的肿瘤抑制率	[55]
激素类药	睾酮	与脂质体相比,透皮渗透增强了 5 倍,更高的 AUC 和 C _{max}	[56]

4 展望

经皮给药制剂具有使用方便、安全、能够有效延长药物释放时间及减少动物应激等优势。然而,常规的透皮制剂由于透皮效率低等问题,使得药物不能有效发挥治疗作用,严重影响了其在兽医临床的使用。而醇质体作为经皮递送载体,已被证明具有良好的促渗透作用,并可以输送具有不同理化特性的药物。同时,其制备工艺简便、关键组分(短链醇、磷脂和水)价廉易得、对人员专业素养及设备要求低,是兽医临床上极具应用前景的经皮递送系统。

然而,醇质体相关经皮制剂要在兽医临床中广泛应用也还面临着一些问题。如醇质体中的水在动物体表挥发快,这就导致醇质体制剂产品中药物

容易在皮肤表面堆积。为保证皮肤的水合作用,可通过添加水凝胶(如卡波姆、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯醇等)来避免水分的过快挥发。例如 Iizhar 等^[9]通过添加三乙醇胺制备了装载特比萘芬的醇质体凝胶, Yu 等^[55]添加羟丙基甲基纤维素制备了用于黑色素瘤透皮治疗的米托蒽醌醇质体凝胶。此外,苯并咪唑类虽具有较强的杀虫活性,与阿维菌素类联用也可以起到同时驱除体内外寄生虫的作用。但苯并咪唑类药物在水和短链醇(醇质体的关键组分)中的溶解度均较小。针对这一类药物,可以添加适当的与水和短链醇互溶的助溶剂(二甲亚砜, N,N-二甲基甲酰胺, 吐温-80, 乙酸乙酯, 碱性物质等)来提高药物在水或短链醇中的溶解度。据报道, Meng 等^[56]通过添加十六烷基三甲基溴化铵和 Cremophor EL-35(增加鞣酮在水中的溶解度)制备了具有高透皮效率的鞣酮醇质体。

另一方面,除了以上提到的小分子类药物,疫苗这一大分子药物在兽医临床中使用更为普遍。目前的动物疫苗几乎均为注射给药,在大规模集约化养殖的过程中,注射给药无疑要付出更多的人力、物力。最近的研究表明, Fu 等^[57]成功制备了负载胸腺素 $\beta-4$ (大分子蛋白质药物)的醇质体凝胶。这提示动物用的大分子类药物(如疫苗)的经皮递送或许将不再是神话,若能实现疫苗的经皮免疫,将会节省畜禽养殖过程中大量的人力和物力,从而降低养殖成本。此外,醇质体还可以与中兽医的针灸经络学说进行结合,来进一步提高其在动物皮肤的渗透效率和治疗效果。这将为中医这一祖国的瑰宝在兽医临床上大放异彩提供无限可能。

参考文献:

[1] Homayun B, Lin X, Choi H J. Challenges and Recent Progress in Oral Drug Delivery Systems for Biopharmaceuticals[J]. *Pharmaceutics*, 2019, 11(3): 129.

[2] Alkilani A Z, McCrudden M T, Donnelly R F. Transdermal Drug Delivery: Innovative Pharmaceutical Developments Based on Disruption of the Barrier Properties of the stratum corneum[J]. *Pharmaceutics*, 2015, 7(4): 438-470.

[3] Menon G K, Cleary G W, Lane M E. The structure and function

of the stratum corneum[J]. *Int J Pharm*, 2012, 435(1): 3-9.

[4] Patlolla R R, Desai P R, Belay K, *et al.* Translocation of cell penetrating peptide engrafted nanoparticles across skin layers[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(21): 5598-5607.

[5] Ashtikar M, Langelüddecke L, Fahr A, *et al.* Tip-enhanced Raman scattering for tracking of invasomes in the stratum corneum[J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2017, 1861(11): 2630-2639.

[6] Schoellhammer C M, Blankschtein D, Langer R. Skin permeabilization for transdermal drug delivery: recent advances and future prospects[J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2014, 11(3): 393-407.

[7] Manca M L, Usach I, Peris J E, *et al.* Optimization of innovative three-dimensionally-structured hybrid vesicles to improve the cutaneous delivery of Clotrimazole for the treatment of topical candidiasis[J]. *Pharmaceutics*, 2019, 11(6): 18.

[8] Marto J, Vitor C, Guerreiro A, *et al.* Ethosomes for enhanced skin delivery of griseofulvin[J]. *Colloid Surf B - Biointerfaces*, 2016, 146: 616-623.

[9] Iizhar S A, Syed I A, Satar R, *et al.* In vitro assessment of pharmaceutical potential of ethosomes entrapped with terbinafine hydrochloride[J]. *J Adv Res*, 2016, 7(3): 453-461.

[10] Ascenso A, Raposo S, Batista C, *et al.* Development, characterization, and skin delivery studies of related ultradeformable vesicles: transfersomes, ethosomes, and transethosomes[J]. *Int J Nanomedicine*, 2015, 10: 5837-5851.

[11] Pouillot A, Dayan N, Polla A S, *et al.* The stratum corneum: a double paradox[J]. *J Cosmet Dermatol*, 2008, 7(2): 143-148.

[12] Meng S, Zhang C, Shi W, *et al.* Preparation of osthole-loaded nano-vesicles for skin delivery: Characterization, *in vitro* skin permeation and preliminary *in vivo* pharmacokinetic studies[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2016, 92: 49-54.

[13] Arda O, Göksütür N, Tüzün Y. Basic histological structure and functions of facial skin[J]. *Clin Dermatol*, 2014, 32(1): 3-13.

[14] Wong R, Geyer S, Weninger W, *et al.* The dynamic anatomy and patterning of skin[J]. *Exp Dermatol*, 2016, 25(2): 92-98.

[15] Kanitakis J. Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin[J]. *Eur J Dermatol*, 2002, 12(4): 390-399.

[16] Hoenig L J. Molecular Mechanisms of Skin Aging and Age-Related Diseases[J]. *Skinmed*, 2017, 15(3): 240.

- [17] Elbe – Bürger A. Skin architecture and function[M]//Handbook of burns. Springer, Vienna, 2012; 29 – 46.
- [18] Pastore M N, Kalia Y C N, Horstmann M, *et al.* Transdermal patches: history, development and pharmacology[J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172(9): 2179 – 2209.
- [19] Chen X. Current and future technological advances in transdermal gene delivery[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2018, 127: 85 – 105.
- [20] Schneider – Rauber G, Argenta D F, Caon T. Emerging Technologies to Target Drug Delivery to the Skin – the Role of Crystals and Carrier – Based Systems in the Case Study of Dapsone[J]. *Pharm Res*, 2020, 37(12): 240.
- [21] Singh I, Morris A P. Performance of transdermal therapeutic systems; Effects of biological factors[J]. *Int J Pharm Investig*, 2011, 1(1): 4 – 9.
- [22] Fore J. A review of skin and the effects of aging on skin structure and function [J]. *Ostomy Wound Manage*, 2006, 52 (9): 24 – 35.
- [23] Curry S E, Finkel J C. Use of the Synera patch for local anesthesia before vascular access procedures: a randomized, double – blind, placebo – controlled study[J]. *Pain Med*, 2007, 8:497 – 502.
- [24] Khan N R, Harun M S, Nawaz A, *et al.* Nanocarriers and their Actions to Improve Skin Permeability and Transdermal Drug Delivery[J]. *Curr Pharm Des*, 2015, 21(20): 2848 – 2866.
- [25] Wang Y, Zeng L, Song W, *et al.* Influencing factors and drug application of iontophoresis in transdermal drug delivery: an overview of recent progress[J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2022, 12(1): 15 – 26.
- [26] Dhote V, Bhatnagar P, Mishra P K, *et al.* Iontophoresis: a potential emergence of a transdermal drug delivery system[J]. *Sci Pharm*, 2012, 80(1): 1 – 28.
- [27] Marwah H, Garg T, Goyal A K, *et al.* Permeation enhancer strategies in transdermal drug delivery[J]. *Drug Deliv*, 2016, 23(2): 564 – 578.
- [28] Subedi R K, Oh S Y, Chun M K, *et al.* Recent advances in transdermal drug delivery[J]. *Arch Pharm Res*, 2010, 33(3): 339 – 351.
- [29] Honeywell – Nguyen P L, de Graaff A M, Groenink H W, *et al.* The *in vivo* and *in vitro* interactions of elastic and rigid vesicles with human skin[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1573(2): 130 – 140.
- [30] Yeoh S C, Goh C F. Topical delivery of salicylates[J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2021, 147: 120 – 126.
- [31] Sharma G, Goyal H, Thakur K, *et al.* Novel elastic membrane vesicles (EMVs) and ethosomes – mediated effective topical delivery of aceclofenac: a new therapeutic approach for pain and inflammation[J]. *Drug Deliv*, 2016, 23(8): 3135 – 3145.
- [32] Abdulbaqi I M, Darwis Y, Khan N A, *et al.* Ethosomal nanocarriers; the impact of constituents and formulation techniques on ethosomal properties, *in vivo* studies, and clinical trials[J]. *Int J Nanomedicine*, 2016, 11: 2279 – 2304.
- [33] Pandey V, Golhani D, Shukla R. Ethosomes: versatile vesicular carriers for efficient transdermal delivery of therapeutic agents [J]. *Drug Deliv*, 2015, 22(8): 988 – 1002.
- [34] Shen L N, Zhang Y T, Wang Q, *et al.* Enhanced *in vitro* and *in vivo* skin deposition of apigenin delivered using ethosomes[J]. *Int J Pharm*, 2014, 460(1 – 2): 280 – 288.
- [35] Toutou E. Composition for applying active substances to or through the skin; US, 5716638[P]. 1998.
- [36] Zhang Z, Chen Y, Xu H, *et al.* 5 – Aminolevulinic acid loaded ethosomal vesicles with high entrapment efficiency for *in vitro* topical transdermal delivery and photodynamic therapy of hypertrophic scars[J]. *Nanoscale*, 2016, 8(46): 19270 – 19279.
- [37] Zhou Y, Wei Y, Liu H, *et al.* Preparation and *in vitro* evaluation of ethosomal total alkaloids of *Sophora alopecuroides* loaded by a transmembrane pH – gradient method[J]. *AAPS PharmSciTech*, 2010, 11(3): 1350 – 1358.
- [38] Ma H, Guo D, Fan Y, *et al.* Paeonol – Loaded Ethosomes as Transdermal Delivery Carriers: Design, Preparation and Evaluation[J]. *Molecule*, 2018, 23(7): 1756.
- [39] Paiva – Santos A C, Silva A L, Guerra C, *et al.* Ethosomes as Nanocarriers for the Development of Skin Delivery Formulations [J]. *Pharm Res*, 2021, 38(6): 947 – 970.
- [40] Elsayed M M, Abdallah O Y, Naggat V F, *et al.* Lipid vesicles for skin delivery of drugs: reviewing three decades of research [J]. *Int J Pharm*, 2007, 332(1 – 2): 1 – 16.
- [41] Dragicevic – Curic N, Gräfe S, Gitter B, *et al.* Surface charged temoporfin – loaded flexible vesicles: *in vitro* skin penetration studies and stability [J]. *Int J Pharm*, 2010, 384(1 – 2): 100 – 108.
- [42] Verma D D, Verma S, Blume G, *et al.* Particle size of liposomes influences dermal delivery of substances into skin [J]. *Int J Pharm*, 2003, 258(1 – 2): 141 – 151.
- [43] Hua S. Lipid – based nano – delivery systems for skin delivery of drugs and bioactives[J]. *Front Pharmacol*, 2015, 6: 219.
- [44] Godin B, Toutou E. Mechanism of bacitracin permeation enhancement through the skin and cellular membranes from an ethosomal carrier [J]. *J Control Release*, 2004, 94(2 – 3):

365 – 379.

- [45] Geusens B, Strobbe T, Bracke S, *et al.* Lipid – mediated gene delivery to the skin[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2011, 43(4): 199 – 211.
- [46] Zeb A, Qureshi O S, Kim H S, *et al.* Improved skin permeation of methotrexate via nanosized ultradeformable liposomes[J]. *Int J Nanomedicine*, 2016, 11: 3813 – 3824.
- [47] Verma D D, Verma S, Blume G, *et al.* Liposomes increase skin penetration of entrapped and non – entrapped hydrophilic substances into human skin: a skin penetration and confocal laser scanning microscopy study[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2003, 55(3): 271 – 277.
- [48] 彭明媛, 杨雅茹, 郭峰, 等. 内江市部分地区宠物犬真菌性皮肤病感染情况调查[J]. *四川畜牧兽医*, 2021, 48(11): 18 – 23.
- Peng M Y, Yang Y R, Guo F, *et al.* Investigation on fungal dermatosis infection of pet dogs in some areas of Neijiang city[J]. *Sichuan Animal And Veterinary Sciences*, 2021, 48(11): 18 – 23.
- [49] Maheshwari R G S, Tekade R K, Sharma P A, *et al.* Ethosomes and ultradeformable liposomes for transdermal delivery of clotrimazole: a comparative assessment[J]. *Saudi Pharm J*, 2012, 20(2): 161 – 170.
- [50] Godin B, Touitou E. Erythromycin ethosomal systems: physico-chemical characterization and enhanced antibacterial activity[J]. *Curr Drug Deliv*, 2005, 2(3): 269 – 275.
- [51] Chourasia M K, Kang L, Chan S Y. Nanosized ethosomes bearing ketoprofen for improved transdermal delivery [J]. *Results Pharma Sci*, 2011, 1(1): 60 – 67.
- [52] Ahad A, Raish M, Al – Mohizea A M, *et al.* Enhanced anti – inflammatory activity of carbopol loaded meloxicam nanoethosomes gel[J]. *Int J Biol Macromol*, 2014, 67: 99 – 104.
- [53] Lodzki M, Godin B, Rakou L, *et al.* Cannabidiol – transdermal delivery and anti – inflammatory effect in a murine model [J]. *J Control Release*, 2003, 93(3): 377 – 387.
- [54] 王靖媛, 吴乔兴, 余锐, 萍, 等. 44 例宠物犬肿瘤病理诊断及分析[J]. *中国畜牧兽医*, 2017, 44(3): 935 – 940.
- Wang J Y, Wu Q X, She R P, *et al.* Pathological diagnosis and analysis of 44 cases of pet dog tumors[J]. *Chinese Animal Husbandry And Veterinary Medicine*, 2017, 44(3): 935 – 940.
- [55] Yu X, Du L, Li Y, *et al.* Improved anti – melanoma effect of a transdermal mitoxantrone ethosome gel[J]. *Biomed Pharmacother*, 2015, 73: 6 – 11.
- [56] Meng S, Chen Z X, Yang L Q, *et al.* Enhanced transdermal bio-availability of testosterone propionate via surfactant – modified ethosomes[J]. *Int J Nanomedicine*, 2013, 8: 3051 – 3060.
- [57] Fu X L, Shi Y B, Wang H, *et al.* Ethosomal gel for improving transdermal delivery of Thymosin beta – 4[J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14: 9275 – 9284.

(编辑:侯向辉)