

## 丙酸氯倍他索脂质体的制备和药效学研究

徐由全<sup>1</sup>, 薛霞<sup>1\*</sup>, 庞静<sup>2</sup>

(1. 山东大学第二医院, 山东 济南 250000; 2. 山东中医药大学附属眼科医院, 山东 济南 250000)

**摘要** 为了考察不同粒径丙酸氯倍他索脂质体的体外渗透性及对银屑病模型大鼠的疗效, 采用薄膜分散法、聚碳酸酯膜反复挤出过滤制备不同粒径的丙酸氯倍他索 (CP, Clobetasol Propionate) 脂质体; 通过 CE7Smart 自动溶出仪考察其体外释放; 通过 franz 扩散池和大鼠腹部皮肤进行体外渗透研究, 荧光倒置显微镜考察脂质体渗透深度及储存部位, 试图寻找脂质体给药的最佳粒径; 普通 CP 软膏做对照, 采用尾部银屑病大鼠模型验证其药效。结果显示粒径  $\geq 400$  nm 的脂质体不能将其活性药物有效地递送到皮肤深层; 而粒径  $\leq 300$  nm 的脂质体则可在表皮与真皮之间停留, 达到最大药物延迟释放。通过脂质体体外渗透与表皮荧光对比, 发现粒径  $\leq 200$  nm 脂质体凝胶起到了很好地缓释靶向给药作用。大鼠尾部银屑病模型验证, CP 脂质体体内抗银屑病活性显著。实验证明 CP 脂质体能起到靶向缓释给药, 比传统 CP 软膏疗效更好。

**关键词** 丙酸氯倍他索; 脂质体; 体外渗透; 银屑病

**中图分类号** R94 **文献标志码** A **文章编号** 1005-8915(2021)05-0453-06

doi:10.19526/j.cnki.1005-8915.20210503

丙酸氯倍他索 (CP) 是一种治疗慢性湿疹、银屑病、神经性皮炎等多种皮肤病的高效局部外用糖皮质激素类药物, 具有较强的抗炎、抗瘙痒和毛细血管收缩作用。常见剂型以乳膏、软膏、凝胶等普通剂型为主, 普通剂型一般都存在穿透性差、吸收不理想、疗效欠佳等缺点。简单采用添加渗透促进剂, 虽渗透增加, 但皮肤滞留量明显减少, 药物成分大部分进入血液循环, 多次给药后, 血药峰浓度和谷浓度呈上升趋势, 易引起全身不良反应, 如过敏性皮炎、类固醇痤疮、皮肤萎缩、色素沉着、以及肾上腺皮质形态和功能的抑制等<sup>[1-4]</sup>。

为提高 CP 疗效, 减少不良反应, 国内外研究使用了不同类型的新型局部给药载体, 如微乳凝胶<sup>[5]</sup>、几丁质纳米凝胶<sup>[6]</sup>、脂质核纳米胶囊<sup>[7]</sup>、纳米结构脂质载体<sup>[8]</sup>、壳聚糖纳米结构脂质载体<sup>[9]</sup>、卵磷脂-壳聚糖纳米粒<sup>[10]</sup>等, 可见脂质载体是皮肤外用制剂常用的药物载体; 其作用机制为通过水合、融合、穿透等作用渗透进表皮与真皮之间, 形成缓释药库, 延长作用时间, 减少药物进入血液的量, 以达到减少不良反应的目的。本试验在总结国内外 CP 研究基础上, 进一步研究不同粒径 CP 脂质体的制备、体外渗透结果及其抗银屑病作用。

### 1 仪器与试剂

TUC-32 型超声波清洗器 (广东洁康超声波公司); R-

1005 型旋转蒸发仪 (郑州长城科工贸有限公司); ST8R 型台式高速离心机 (Thermo Fisher Scientific Inc.); Ulti Mate™ 3000 型高效液相色谱仪 (Thermo Fisher Scientific Inc.); 透皮吸收试验仪 (上海玉研科学仪器有限公司); BX53MRF-S 显微镜 (Olympus); IX73 型荧光倒置显微镜 (Olympus); CE7Smart 自动溶出仪 (瑞士 SOTAX); 气动式脂质体挤出器 (美国 genizer)。

CP (百灵威科技有限公司, 含量 98%); 胆固醇 (上海爱必信生物科技有限公司); 氢化大豆卵磷脂 (上海源叶生物科技有限公司); 甲醇、乙醇、三氯甲烷、甘油 (西陇化工股份有限公司); 罗丹明 110 (Sigma Aldrich); 蔗糖、磷酸二氢钾、氢氧化钠 (上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 卡波姆 934 (大连美仑生物技术有限公司); 曙红 Y 染料 (上海麦克林生化科技有限公司); 血红蛋白 (西安康诺化工有限公司); 丙酸氯倍他索软膏 (上海通用药业股份有限公司)。

### 2 实验方法与结果

#### 2.1 CP 脂质体的制备

根据参考文献<sup>[11-13]</sup>及前期预实验结果, 采用薄膜分散法制备 CP 脂质体, 处方比例: CP 140 mg, 胆固醇 14 g, 氢化大豆卵磷脂 70 g, 0.01% 的罗丹明 110 于 2 000 mL 的茄形瓶中, 加入适量三氯甲烷溶解。置于旋转蒸发仪, 45 °C 水

收稿日期: 2020-10-26 修回日期: 2020-11-18

基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (No. 81402962)。

作者简介: 徐由全, 本科, 药师, 研究方向: 新药研发, Tel: 0531-85875507; E-mail: xyquan602@163.com。

\* 通信作者: 薛霞, 副主任药师, 研究方向: 新药研发, Tel: 0531-85875711; E-mail: xue\_1209@hotmail.com。

浴回收有机溶剂,真空干燥箱过夜除去残留有机溶剂。加入适量5%蔗糖缓冲溶液,50℃充分旋转至混合均匀。放至室温,平均分成7份,适当超声后加入挤出机中,分别通过600,500,400,300,200,100,50 nm的聚碳酸酯滤膜,反复10次,得到粒径均一的CP脂质体溶液,5%蔗糖缓冲溶液定容到100 mL,制得含0.02% CP的脂质体混悬液。

## 2.2 CP脂质体的表征

2.2.1 粒径测定 取脂质体溶液1 mL,2 mL,用5%蔗糖缓冲溶液稀释,充分混匀后,室温静置5 min,加入到比色皿中,激光粒度仪测定其粒径分布,结果见表1。

Tab 1 Particle size distribution of liposomes ( $\bar{x} \pm s$ )

Filter membrane/nm	Particle size/nm
600	645.3 ± 51.6
500	537.2 ± 41.4
400	423.8 ± 33.1
300	327.5 ± 22.6
200	213.8 ± 20.6
100	110.9 ± 13.5
50	55.2 ± 7.6

2.2.2 脂质体形态观察 用玻璃棒蘸取少量不同粒径脂质体溶液,放于载玻片上,液氮急速冷冻10 s,刀片切割;干冰保温,生物显微镜观察其表面及切面状态。

2.2.3 包封率测定 根据文献<sup>[14-16]</sup>,经过条件验证、全波长扫描,确定色谱条件:UltiMate™ 3000型热电高效液相色谱仪,Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18(5 μm,4.6 mm × 250 mm);流动相:甲醇-水(60:40);检测波长:240 nm;柱温:25℃;体积流量:1.0 mL/min;进样量:20 μL。在此条件下,进行方法学考察。

标准曲线的制备:精密称取干燥恒重的CP标准品10 mg至50 mL容量瓶,甲醇超声溶解并定容;分别吸取1,5,10,15,20 mL至100 mL容量瓶,甲醇定容得到系列标准溶液;分别进样,以峰面积为纵坐标,标准品浓度为横坐标进行线性回归;结果表明浓度在2~40 μg范围内,线性关系良好;回归方程为 $Y=91.061X-24.429$ , $r=0.9998$ 。

精密度试验:取10 μg/mL的标准品溶液,重复进样6次,记录峰面积。计算相对平均标准偏差为0.51%,表明该方法精密度良好。

稳定性实验:取10 μg/mL的标准品溶液,分别放置0,2,4,6,8,12,24,36 h后,测定CP含量,记录其峰面积。结果显示CP峰面积RSD为0.79%,表明CP样品在36 h内比较稳定。

样品含量测定:分别吸取各粒径脂质体混悬液1 mL,至10 mL容量瓶中,甲醇定容,超声5 min破乳;HPLC测定峰面积,计算样品含量,结果见表2。

Tab 2 Contents of liposomes with different particle sizes ( $\bar{x} \pm s$ )

Particle size/nm	Content/mg
600	19.96 ± 0.13
500	19.89 ± 0.17
400	19.95 ± 0.21
300	19.94 ± 0.16
200	19.93 ± 0.19
100	19.96 ± 0.24
50	19.97 ± 0.31

回收率试验:精密称取CP对照品19.98 mg,置100 mL量瓶中,甲醇超声定容,作为对照品储备液A,质量浓度为199.8 μg/mL。分别量取粒径600 nm CP脂质体混悬液和储备液A各5 mL,100 mL容量瓶甲醇定容,超声5 min破乳;按照上述方法制备6份样品;HPLC测定含量,记录色谱图,计算回收率。结果显示,丙酸氯倍他索的加样回收率为99.68%,RSD=0.95%。

包封率测定:采用超速离心法测定游离CP的含量,量取1 mL,各粒径CP脂质体混悬液,超速离心机10 000 r/min,4℃条件下高速离心40 min;吸取上清液,HPLC测定游离CP含量<sup>[11-13]</sup>。按照公式,包封率=(CP总含量含量-游离CP含量)/CP含量,计算CP脂质体包封率,结果见表3。

Tab 3 Entrapment efficiency of liposomes with different particle sizes ( $\bar{x} \pm s$ )

Particle size/nm	Envelopment efficiency/%
600	91.32 ± 1.54
500	89.38 ± 2.52
400	88.27 ± 2.39
300	82.55 ± 2.81
200	80.73 ± 3.25
100	78.36 ± 1.37
50	75.83 ± 4.16

2.2.4 体外释药 CP脂质体的体外释放采用透析检测方法<sup>[17-18]</sup>。采用USP Type IV法溶出仪(SOTAXCE7Smart流通池自动溶出仪),采用闭环系统。精确量取相当于5 mg CP的脂质体混悬液,放置于脂质体适配器中,再生纤维素透析膜的截留相对分子质量为1 500~2 500,5%蔗糖缓冲液洗涤。溶出介质为900 mL磷酸盐缓冲液(pH 7.4),温度为(37 ± 0.5)℃,体积流量8 mL/min,取样体积1 mL/次,玻璃珠用量3.5 g/个,取样点0.5,1,2,4,6,8,12,18,24 h。HPLC测定含量,计算不同时间CP脂质体的释放百分比,并绘制CP溶出曲线。结果见表4,图1。

Tab 4 Release rate of liposomes with different particle sizes

t/h	Release rate/%						
	600 nm CP	500 nm CP	400 nm CP	300 nm CP	200 nm CP	100 nm CP	50 nm CP
0.5	5.36	6.12	6.86	8.01	8.99	10.25	14.33
1	7.56	8.65	9.97	13.24	15.33	18.81	25.27
2	12.66	15.93	17.54	21.28	24.68	28.2	33.39
4	19.45	24.88	27.14	33.69	39.36	47.25	51.22
6	29.38	36.69	41.85	52.09	56.74	62.62	64.38
8	44.22	51.87	57.79	64.48	63.31	66.24	69.32
12	59.64	62.35	69.08	71.74	67.82	71.92	71.88
18	67.26	68.89	72.54	74.28	75.39	73.97	71.87
24	71.53	75.39	77.58	78.16	77.82	76.77	73.82

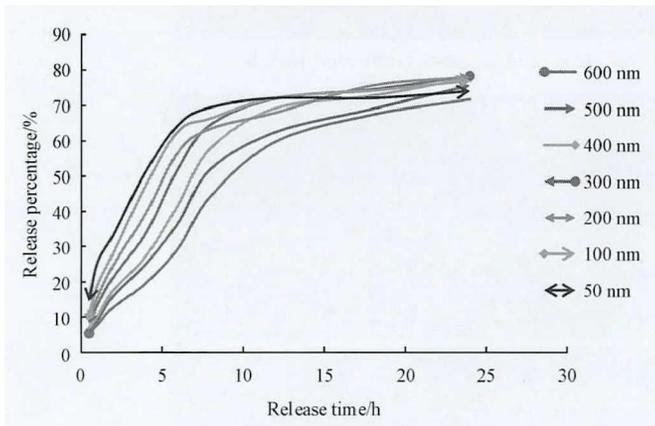


Fig 1 Release curves of liposomes with different particle sizes

### 2.3 凝胶的制备

根据参考文献<sup>[19-20]</sup>及前期研究,以凝胶成形及质量为考察指标,筛选出凝胶基质材料及制备工艺。如下:将卡波姆 934(3% W/V)、甘油(8% W/V)分散在磷酸盐缓冲液中,机械搅拌 2 h,得到均匀的分散体。然后,静置 30 min,排出空气。加入三乙胺,保持凝胶的 pH 值(7.4)和透明度。在此过程中,加入 CP 脂质体混悬液(相当于 2 mg 的 CP)到凝胶中以获得各粒径脂质体凝胶;相同的操作,处理

CP(2 mg)乙醇溶液和脂质体同处方量的胆固醇、氢化大豆卵磷脂、罗丹明 110,以获得物理混合凝胶(WLHH);以及在凝胶中加入脂质体同处方量的胆固醇、氢化大豆卵磷脂、罗丹明 110,以获得空白凝胶(KB)。

### 2.4 大鼠皮肤渗透研究

根据参考文献[21],采用相同体重的雌性大鼠,采集腹部皮肤;切除皮下脂肪,保证其厚度相同并均一,并进行预水化处理,保证皮肤重现性。切取 3.14 cm<sup>2</sup> 面积的皮肤,转移到 franz 扩散池上,排除真皮与接收池之间的气泡,分别涂抹各粒径脂质体凝胶、物理混合凝胶、空白凝胶;给药量 200 μg(相当于 200 μg CP 的凝胶),均匀涂抹在大鼠皮肤表面。接收池体积 20 mL,接收溶剂为磷酸盐缓冲液(pH 7.4),温度 37.0 °C,磁力搅拌器转速 500 r/min。分别渗透 1,12,24 h 后取样检测,计算渗透率,结果见表 5。渗透 12,24 h 后,分别收集皮肤表面多余的凝胶,并以少量甲醇清洗干净。收集凝胶及清洗液,转移到 10 mL 容量瓶中。超声破乳 5 min,放至室温,甲醇定容至刻度,测定渗透 CP 含量,结果见表 6。分别取渗透 1,12,24 h 后的皮肤样品,液氮冷冻 40 s,迅速切片,厚度约为 5 μm,制做玻片,置于荧光倒置显微镜的载玻台上,观察记录荧光强度、荧光位置及荧光深度。结果见图 2~图 4。

Tab 5 Permeability of liposomes with different particle sizes

t/h	Permeability/%								WLHH	KB
	600 nm CP	500 nm CP	400 nm CP	300 nm CP	200 nm CP	100 nm CP	50 nm CP			
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
12	0	0	0	1.3	4.7	5.5	6.8	23.6	0	
24	0	0	0	5.6	7.9	8.3	11.8	57.9	0	

Tab 6 Contents of liposomes with different particle sizes/%

t/h	CP contents/%								WLHH	KB
	600 nm CP	500 nm CP	400 nm CP	300 nm CP	200 nm CP	100 nm CP	50 nm CP			
12	95.3	93.7	76.3	41.2	31.3	24.7	17.9	45.4	0	
24	88.2	85.6	62.8	22.4	18.9	13.2	7.1	21.9	0	

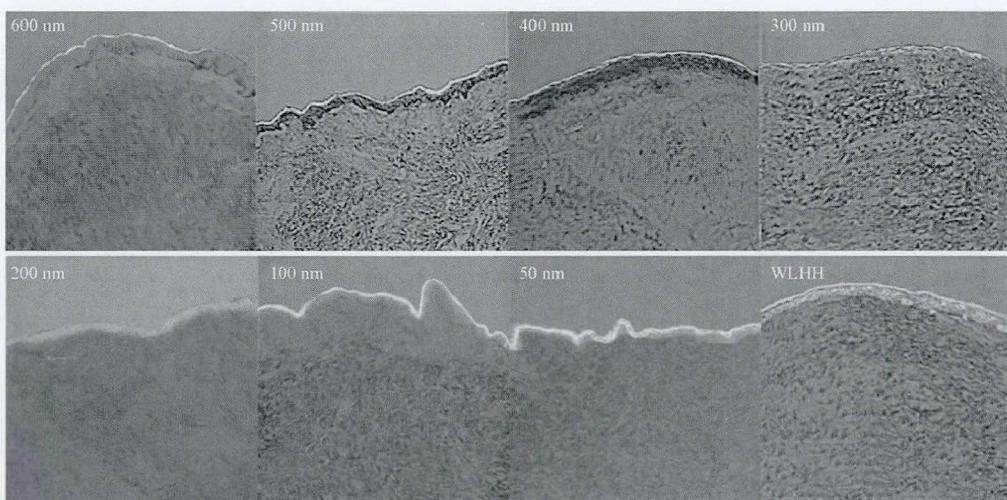


Fig 2 Fluorescence images of liposomes with different particle sizes permeated in 1 h

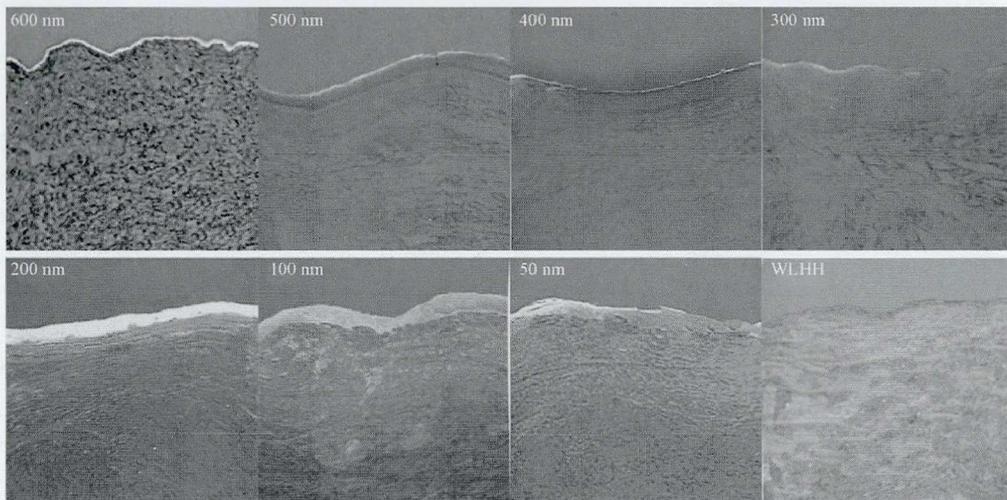


Fig 3 Fluorescence images of liposomes with different particle sizes permeated in 12 h

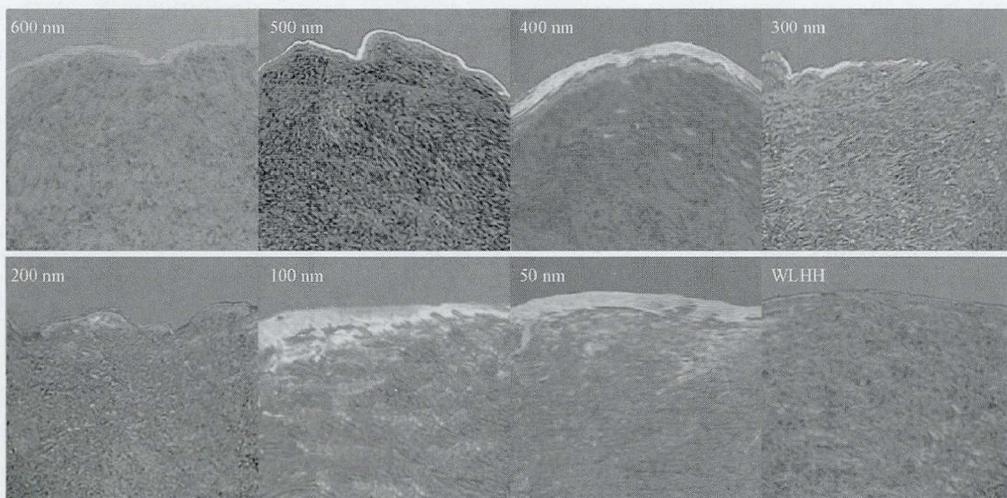


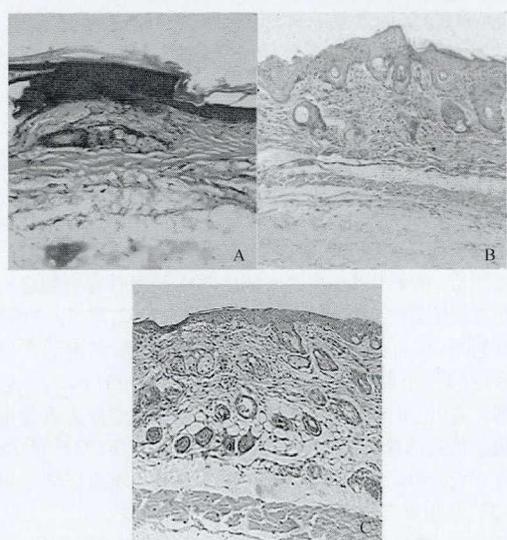
Fig 4 Fluorescence images of liposomes with different particle sizes permeated in 24 h

## 2.5 体内抗银屑病研究

抗银屑病能力的探索使用大鼠尾巴模型<sup>[22]</sup>。将模型大白鼠分为3组(每组6只):(1)对照组:未处理;(2)CP

脂质体凝胶组:渗透最优粒径CP脂质体凝胶(相当于CP 0.02% W/V);(3)CP凝胶组:市售CP普通凝胶(0.05% W/V)。每天一次,每次100 mg,连续2 w。最后一次使用凝

胶 24 h 后,给予麻醉剂(过量服用戊巴比妥钠),并脱颈椎处死。切除尾部,解剖以去除下肢软骨。皮肤采样经过适当处理,然后用血红蛋白和曙红 Y 染料进行组织病理学评价。用显微镜观察皮肤样品上皮区域是否存在颗粒状表皮和表皮厚度,结果见图 5。



A: Control group; B: CP liposomes group; C: Common CP group  
Fig 5 CP Liposome Gel for anti-psoriasis *in vivo*

## 2.6 数据统计和分析

数据分析采用 Microsoft excel 和 SPSS 2.0。结果表示为 3 个独立样本的平均标准误差,以均数  $\pm$  标准差表示。组间比较采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  时具有统计学意义。

## 3 讨论

### 3.1 脂质体的表征

经过聚碳酸酯膜反复挤压,所制备的脂质体均为单层脂质体结构。粒径 600, 500, 400 nm 为椭圆形或者类圆形;其余均为完整圆球形。激光粒度仪测得其粒径均一性均较好。对色谱条件进行方法学考察,显示其色谱条件稳定可靠。不同粒径脂质体的包封率,随着粒径的减小而减小。可能其在挤压过程中,CP 渗漏进入了缓冲溶液中。

采用透析方法测定体外释放,小粒径脂质体相比于大粒径脂质体释放较快;600, 500 nm 大粒径脂质体 24 h 内逐渐释放,但未达到释药终点,能够很好的控制 CP 的溶出,起到一定的缓释作用。400, 300 nm 中间粒径脂质体,24 h 内达体外到了释药终点。200, 100, 50 nm 小粒径脂质体释放较快,释放 12 h 已经达到释药终点。体外释药阐明 CP 脂质体的释放模式,粒径增加,体积增大,比表面积减小,从而减少了药物从脂质体中的释放,药物释放与药物浓度无关,遵循零级动力学模型。这有助于延长药物的疗效,并保持最大治疗活性的恒常药物水平。

### 3.2 体外透皮实验结果

在脂质体中,磷脂可与细胞间脂质混合,从而引起细胞

间脂质的膨胀但不改变角质层的多层结构。粒径大小可以影响脂质体的渗透,600, 500 nm 大粒径脂质体 24 h 内未见渗透;400, 300 nm 中间粒径脂质体渗透较慢,24 h 内渗透量较少;200, 100, 50 nm 小粒径脂质体渗透较快,12 h 已经开始渗透。物理混合凝胶,渗透较快,渗透量较大;综合可知,小粒径脂质体,在细胞间脂质融合较快,能够快速穿过皮肤;物理混合组因其含有卵磷脂,起到一定的渗透压促进作用,因而加快了其渗透作用。粒径越大其未渗透量越大,粒径越小其未渗透量越少,物理混合凝胶其渗透作用也较大,这也验证了以上说法。

渗透 1 h, 600, 500, 400 nm 粒径脂质体在角质层表面均未出现荧光;300, 200 nm 粒径脂质体在角质层表面出现少量荧光;100, 50 nm 物理混合凝胶在角质层内部出现较淡荧光。渗透时间 12 h, 600, 500 nm 粒径脂质体在角质层浅表面出现少量荧光;400 nm 粒径脂质体在角质层浅表面出现较亮荧光;300 nm 粒径脂质体在角质层出现亮荧光,真皮层部位出现较淡荧光;200, 100, 50 nm 在角质层与真皮层出现极亮荧光层带,真皮层出现较亮荧光;物理混合凝胶在角质层及真皮层均出现较亮荧光。渗透时间 24 h, 600, 500 nm 粒径脂质体仍然只在角质层表面出现荧光;400 nm 粒径脂质体在真皮层出现较淡荧光;300, 200, 100, 50 nm 在角质层与真皮层仍维持极亮荧光层带;物理混合凝胶在角质层及真皮层荧光变淡。

与大粒径脂质体相比,小粒径脂质体具有更好的渗透性。粒径  $\geq 400$  nm 的脂质体不能将其内容物输送到皮肤的更深层。这些脂质体停留在角质层上,干燥后可形成脂质层,进一步加强了角质层的屏障特性,阻碍了药物的进入。粒径  $\leq 300$  nm 的脂质体能在一定程度上将其内容物送入皮肤深层。然而,粒径  $\leq 100$  nm 的脂质体在真皮和活性表皮中都表现出最大的荧光。

与物理混合凝胶相比,小粒径脂质体凝胶在角质层与真皮之间出现了长时间亮荧光带,表明脂质体贮存,形成了药物储库,起到定向给药作用。随着时间延长,储库荧光仍然较强,说明脂质体在体内起到一定的药物缓释作用,对病变部位作用更长时间,药效更强。同时,避免药物过多渗透进入血液,引起副作用。

综上,渗透率、未渗透量以及皮层荧光分析,粒径 200 nm 脂质体凝胶起到了很好地缓释靶向给药作用。与普通 CP 凝胶相比,粒径 200 nm 脂质体凝胶使角质化面积增加、表皮鳞屑减少、皮肤褶皱松弛、表皮厚度减小、颗粒状表皮增加,均有显著性差异。由此可知,其对银屑病的治疗明显优于市售产品。

## 4 结论

研究发现,脂质体粒径的大小与其透皮能力有极大的关系。粒径  $\geq 400$  nm 的脂质体不能将其活性药物有效地递送到皮肤深层,而主要滞留于角质层表面,干后形成一层

脂膜加强了角质层的屏障作用。粒径 $\leq 300$  nm的脂质体将活性药物有效递送到皮肤深层,并能够在表皮与真皮之间停留,起到药物储库作用,达到最大药物有效载荷和延迟释放,减少了给药次数及给药剂量,减少了CP的全身吸收和不良反应。采用小鼠尾巴银屑病模型,比较CP脂质体凝胶与普通CP凝胶体内抗银屑病活性,CP脂质体凝胶具有显著的治疗效果,并得到组织病理学结果的进一步支持,为临床进一步应用提供了依据。

### 参考文献

- [ 1 ] Franz TJ, Parsell DA, Myers JA, et al. Clobetasol propionate foam 0.05%: A novel vehicle with enhanced delivery [ J ]. *Int J Dermatol*, 2000, **39**(7): 535-538.
- [ 2 ] 王擎, 葛树春, 杨中万, 等. 咪康唑氯倍他素凝胶皮肤刺激与过敏性试验研究 [ J ]. *吉林医药学院学报*, 2008, **28**(4): 201-202.
- [ 3 ] 兰莹, 欧阳五庆, 宋冠男, 等. 复方丙酸氯倍他素纳米乳的制备及安全性评价 [ J ]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2012, **40**(3): 29-33.
- [ 4 ] Wiedersberg S, Leopold CS, Guy RH. Bioavailability and bioequivalence of topical glucocorticoids [ J ]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2008, **68**(3): 453-466.
- [ 5 ] Patel HK, Barot BS, Parejiya PB, et al. Topical delivery of clobetasol propionate loaded microemulsion based gel for effective treatment of vitiligo: ex vivo permeation and skin irritation studies [ J ]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2013, **102**: 86-94.
- [ 6 ] Panonnummal R, Jayakumar R, Sabitha M. Comparative anti-psoriatic efficacy studies of clobetasol loaded chitin nanogel and marketed cream [ J ]. *Eur J Pharm Sci*, 2017, **96**: 193-206.
- [ 7 ] Fontana MC, Rezer JF, Coradini K, et al. Improved efficacy in the treatment of contact dermatitis in rats by a dermatological nanomedicine containing clobetasol propionate [ J ]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2011, **79**(2): 241-249.
- [ 8 ] Nagaich U, Gulati N. Nanostructured lipid carriers (NLC) based controlled release topical gel of clobetasol propionate: design and *in vivo* characterization [ J ]. *Drug Deliv Transl Res*, 2016, **6**(3):

- 289-298.
- [ 9 ] Silva LA, Andrade LM, de Sá FA, et al. Clobetasol-loaded nanostructured lipid carriers for epidermal targeting [ J ]. *J Pharm Pharmacol*, 2016, **68**(6): 742-750.
- [ 10 ] Senyigit T, Sonvico F, Rossi A, et al. *In vivo* assessment of clobetasol propionate-loaded lecithin-chitosan nanoparticles for skin delivery [ J ]. *Int J Mol Sci*, 2016, **18**(1): 32.
- [ 11 ] 刘娟娟, 胡敢, 王昆. 丙酸氯倍他素脂质体的制备和豚鼠湿疹模型药效学研究 [ J ]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2008, **28**(10): 1240-1244.
- [ 12 ] 谭敏, 胡敢, 王昆. 丙酸氯倍他素脂质体的药效和安全性评价 [ J ]. *重庆医科大学学报*, 2009, **34**(4): 463-465.
- [ 13 ] 丁燕飞, 姚瑶, 陶昱斐, 等. 槲皮素纳米脂质体的处方工艺优化 [ J ]. *中草药*, 2008, **39**(4): 522-524.
- [ 14 ] 廖辉怡, 申放. HPLC法同时测定酮康唑软膏中酮康唑和丙酸氯倍他素的含量 [ J ]. *药物分析杂志*, 2002, **22**(5): 395-397.
- [ 15 ] 李旭梅, 祝永明, 涂厉标. HPLC法测定丙酸氯倍他素搽剂的含量 [ J ]. *中国临床药学杂志*, 2007, **16**(1): 51-52.
- [ 16 ] 胡守莲, 范玉峰. HPLC法测定丙酸氯倍他素尿素乳膏中丙酸氯倍他素的含量 [ J ]. *中国医药导报*, 2009, **6**(22): 74-75.
- [ 17 ] 李晓光, 翟所迪. 甘草酸单铵脂质体体内外药剂学行为研究 [ J ]. *中国新药杂志*, 2003, **12**(11): 915-918.
- [ 18 ] 林巧平, 郭仁平, 王青松, 等. 注射用多西他赛脂质体的制备、体外释放及细胞毒作用 [ J ]. *中国药科大学学报*, 2008, **39**(5): 417-421.
- [ 19 ] 张爱军, 刘文灵, 李兴华, 等. 丙酸氯倍他素凝胶剂的制备与质量控制 [ J ]. *中国药房*, 2003, **14**(2): 84-85.
- [ 20 ] 宋洪涛, 陈雅婷, 张倩, 等. 复方酮康唑凝胶剂的制备 [ J ]. *中国医院药学杂志*, 2007, **27**(1): 106-108.
- [ 21 ] Verma DD, Verma S, Blume G, Fahr A. Particle size of liposomes influences dermal delivery of substances into skin [ J ]. *Int J Pharm*, 2003, **258**(1-2): 141-151.
- [ 22 ] Neelam Devia, Sunil Kumara, Minakshi Prasad, et al. Eudragit RS100 based microsponges for dermal delivery of clobetasol propionate in psoriasis management [ J ]. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2020, (55): 1-11.

## Preparation and Pharmacodynamics of Clobetasol Propionate Liposomes

XU You-quan<sup>1</sup>, XUE Xia<sup>1\*</sup>, PANG Jing<sup>2</sup>

(1. No. 2 Hospital of Shandong University, Ji'nan 250000, China; 2. Eye Hospital Affiliated to Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250000, China)

**Abstract** To investigate the *in vitro* permeability of Clobetasol propionate liposomes with different particle sizes and its therapeutic effect on rat psoriasis model, CP liposomes with different particle sizes were prepared by membrane dispersion and polycarbonate membrane extrusion and filtration. The release of CP liposomes *in vitro* was investigated by Ce7 smart auto-dissolution apparatus, and the permeation *in vitro* was studied by Franz diffusion cell and rat abdominal skin, in order to find the best size of liposome. The penetration depth and storage site of liposome were examined by fluorescence inverted microscope, and its efficacy was verified by tail psoriasis rat model. Compared with common CP ointment, the liposomes with particle size  $\geq 400$  nm could not deliver the active drug to the deep skin effectively, while the liposomes with particle size  $\leq 300$  nm could stay between epidermis and dermis to achieve the maximum delayed drug release. It has significant activity according to the tail psoriasis rat test. Cp liposome can be used for targeted and sustained-release drug delivery, which is better than traditional CP ointment.

**Key words** Clobetasol propionate, Liposome, *In vitro* permeability, Psoriasis