

他克莫司类脂囊泡的构建及表征

叶仕锋^{1*}, 陈日来^{1#}, 李玉珍², 刘妮妮², 刘君波², 李红侠¹(1.深圳市福田区第二人民医院药剂科, 广东深圳 518049; 2.广东医学院附属福田医院药剂科, 广东深圳 518033)

中图分类号 R944.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)34-4853-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.34.33

摘要 目的:制备他克莫司类脂囊泡(Tac-NS)并进行体外表征。方法:采用薄膜水化-超声法制备 Tac-NS。以包封率(EE%)、载药量、平均粒径及粒径分布(PDI)的综合评分为指标,设计正交试验对硬脂山梨坦(Span-60)浓度、Span-60与胆固醇的摩尔比、Span-60与脱氧胆酸钠(SDC)的摩尔比进行优化。考察所制 Tac-NS 的外观形态、平均粒径、PDI、Zeta 电位及 EE%,并通过体外经皮渗透试验比较 Tac-NS 与 Tac 和 NS 物理混合物的累积经皮渗透量(Q)、累积皮肤滞留量(Q_s)。结果:最优处方为 Span-60 0.025 mol/L, Span-60 与胆固醇的摩尔比 10:1, Span-60 与 SDC 的摩尔比 15:1, 药载比 5%。所制 Tac-NS 形态圆整、分散均匀、很少有聚集,平均粒径为(233.0±6.48) nm, PDI 为 0.266±0.021, Zeta 电位为(-41.7±0.32) mV, EE% 为(76.83±4.61)%。经皮渗透试验表明,24 h 后 Tac-NS 的 Q_s 值约为物理混合物的 2.4 倍,而二者 Q 值相当。结论:成功制得 EE% 高、粒径小、分布均匀、透皮效果较为理想的 Tac-NS。

关键词 他克莫司;类脂囊泡;表征;体外经皮渗透试验;正交试验

Construction and Characterization of Tacrolimus Niosomes

YE Shi-feng¹, CHEN Ri-lai¹, LI Yu-zhen², LIU Ni-ni², LIU Jun-bo², LI Hong-xia¹(1.Dept. of Pharmacy, Shenzhen Futian District Second People's Hospital, Guangdong Shenzhen 518049, China; 2.Dept. of Pharmacy, the Affiliated Futian Hospital of Guangdong Medical College, Guangdong Shenzhen 518033, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare Tacrolimus niosomes (Tac-NS) and evaluate their characteristics *in vitro*. METHODS: Tac-NS were prepared by a film hydration-ultrasonic method. Using the comprehensive score of encapsulation efficiency (EE%), drug-loading amount, mean particle size and PDI as the evaluation index, orthogonal design was used to optimize the concentration of sorbitan monostearate (Span-60), mole ratio of Span-60 to cholesterol, mole ratio of Span-60 to SDC. The morphology, mean particle size, PDI, Zeta-potential and EE% of Tac-NS were investigated. Accumulative percutaneous penetration (Q) and accumulative retention amount (Q_s) of Tac-NS and physical mixture of Tac and NS were compared by percutaneous penetration test *in vitro*. RESULTS: The optimal formulation was as follows as Span-60 0.025 mol/L, mole ratio of Span-60 to cholesterol 10:1, mole ratio of Span-60 to SDC 15:1, drug-loading amount of 5%. Tac-NS was spherical and distributed evenly, but hardly congregated. The mean particle size, PDI, Zeta-potential and EE% were (233.0±6.48) nm, 0.266±0.021, (-41.7±0.32) mV and (76.83±4.61)%, respectively. The results of *in vitro* permeability study showed that Q_s of Tac-NS was 2.4 times of physical mixture; in addition, Q of the two were similar. CONCLUSIONS: Tac-NS, owning high EE%, small particle size, uniform distribution and ideal permeation effect, is prepared successfully.

KEYWORDS Tacrolimus; Niosomes; Characterization; Transdermal permeation test *in vitro*; Orthogonal test

他克莫司(Tacrolimus, Tac)是从土壤真菌中提取的一种大环内酯类免疫抑制剂,其结构与环孢素 A(CsA)相似,但作用强于 CsA 约 10~100 倍^[1]。Tac 系统给药主要适用于器官移植所致免疫排斥反应的预防或治疗,局部给药主要用于治疗特异性皮炎、银屑病等各类皮肤性疾病^[2-3],疗效较为肯定。但 Tac 为强亲脂性药物($\lg P=6.09$),且大环内酯结构刚性较强、分子质量较大,使得它难以穿透角质层屏障进入皮肤^[4]。

类脂囊泡(Niosome, NS)是由非离子表面活性剂及胆固醇(CH)等材料自组装形成的单室或多室囊泡^[4]。NS 能明显增强药物进入皮肤的能力并具有缓释的作用,且其双分子层结构能负载水/脂溶性药物,可改善 Tac 在皮肤的透过与滞留,从而进一步提高 Tac 的疗效。本研究构建了他克莫司类脂囊泡(Tac-NS),并对其形态、粒径、包封率、体外经皮渗透性等进行评价,为 Tac 新型外用制剂的研发提供参考。

* 主管药师。研究方向:临床药学。电话:0755-83116181。E-mail:709594922@qq.com

通信作者:主任药师。研究方向:临床药学。电话:0755-83116181。E-mail:1310428986@qq.com

1 材料

1.1 仪器

LC-2010C 高效液相色谱仪(日本岛津公司);RE-52AA 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);Nano-ZS90 激光粒度分析仪(英国 Malvan 公司);TGL-20M 离心机(长沙英泰仪器有限公司);Tecnai-F20 透射电子显微镜(美国 FEI 公司);Branson digital sonifier 超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司);TK-12B 透皮扩散试验仪(上海铠凯科技贸易有限公司)。

1.2 试剂

Tac 原料药(湖北盛天恒创生物科技有限公司,批号:20130509,纯度:98.9%);CH(AR 级,国药集团化学试剂有限公司);硬脂山梨坦(Span-60,西陇化工股份有限公司);脱氧胆酸钠(SDC)、三氯甲烷(国药集团化学试剂有限公司);乙腈、乙醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

1.3 动物

长白种乳猪,♀♂兼有,体质量 10~15 kg,购自湖南省疾控中心[实验动物合格证号:SCXK(湘)2011-0004]。

2 方法与结果

2.1 Tac含量测定

2.1.1 色谱条件^[5] 色谱柱: Agilent TC-C₁₈(2)(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.25%磷酸溶液(80:20, V/V); 流速: 1.2 ml/min; 柱温: 50 °C; 检测波长: 210 nm; 进样量: 20 μl。

2.1.2 对照品贮备液的制备 精密称取 Tac 原料药 25 mg, 置于 50 ml 棕色量瓶中, 用少量乙腈超声溶解后加乙腈至刻度, 摇匀, 即得 Tac 对照品贮备液(Tac 质量浓度为 500 μg/ml), 置于 4 °C 冰箱中避光保存。临用时按照需要制备成所需质量浓度的对照品溶液。

2.1.3 样品溶液的制备 吸取 Tac-NS 混悬液(制备方法见“2.3.1”项下) 500 μl, 置于 5 ml 量瓶中, 加适量乙腈, 超声 15 min 使其破乳, 再加乙腈定容至刻度, 摇匀, 即得。

2.1.4 专属性考察 按“2.1.3”项方法处理空白 NS 混悬液(无 Tac, 其余材料同 Tac-NS)、Tac-NS 混悬液(Tac 质量浓度为 100 μg/ml) 和 Tac 对照品溶液(Tac 质量浓度为 100 μg/ml), 取上述溶液过 0.45 μm 微孔滤膜后按“2.1.1”项下色谱条件进样分析, 记录色谱。结果, Tac 出峰时间在 7.7 min 左右, 峰形良好, 处方中的辅料对药物测定无干扰, 色谱图见图 1。

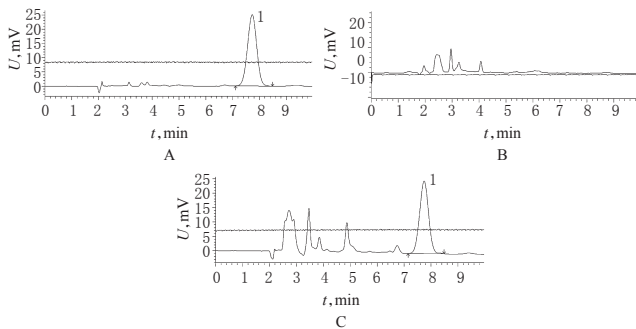


图 1 高效液相色谱图

A. Tac 对照品溶液; B. 空白 NS 混悬液; C. Tac-NS 混悬液; 1. Tac

Fig 1 HPLC chromatograms

A. Tac control solution; B. blank NS suspension; C. Tac-NS suspension; 1. Tac

2.1.5 标准曲线的绘制 精密吸取对照品贮备液适量, 用乙腈逐级稀释成质量浓度分别为 2、5、10、25、50、100、200 μg/ml 的 Tac 对照品溶液, 按“2.1.1”项色谱条件进样, 记录色谱图。以 Tac 峰面积(x)为横坐标、质量浓度(y)为纵坐标进行线性回归, 得回归方程为 $y=14\ 226.77x+2\ 609.19$ ($r=0.999\ 9$), 权重为 $1/C$ 。结果表明, Tac 检测质量浓度线性范围为 2~200 μg/ml。

2.1.6 定量下限与检测限 以标准曲线上的最低点质量浓度作为定量下限(LLOQ), 则 Tac 溶液的定量下限为 2.0 μg/ml ($S/N \geq 10$)。以 $S/N=3$ 时, 测得检测限为 0.5 μg/ml。

2.1.7 精密度与方法回收率试验 用乙腈制备成低、中、高质量浓度(5、25、100 μg/ml)的 Tac 溶液, 平行 5 份, 按“2.1.1”项色谱条件进样, 记录色谱图。同日内每个质量浓度连续测定 5 次, 连续测定 3 d, 考察日内、日间精密度, 结果, 日内、日间 RSD 均小于 2.90% ($n=5$)。取 Tac 贮备液适量, 用空白 NS 混悬液制备成低、中、高质量浓度(5.0、25、100 μg/ml)的加药混悬液, 平行 5 份, 按“2.1.3”项下方法处理后, 按“2.1.1”项下色谱条件进样, 记录色谱。将所得值代入“2.1.5”项下标准曲线计算 Tac 质量浓度并计算方法回收率, 结果 Tac 平均方法回收率为 98.57%~103.43%, RSD<1.85% ($n=5$)。

2.2 包封率测定

包封率(EE%)是评价 NS 质量的一个重要指标。测定 NS EE% 的方法通常有葡聚糖凝胶过滤法、离心法、透析法、超滤

法等。本文采用低速离心与超滤离心相结合的方法测定 Tac-NS 的 EE%, 具体操作如下: 将制得的 Tac-NS 混悬液离心(2 580×g) 5 min 后, 取上清液 400 μl, 加至截留分子质量为 100 kD 的 0.5 ml Millipore 超滤管中, 离心(5 160×g) 15 min, 取出被截留的 Tac-NS, 经乙腈超声破乳后, 按“2.1.1”项下色谱条件进样分析, 记录色谱。计算被包封的 Tac 浓度($c_{\text{包封}}$)。未经破乳处理的 Tac-NS 混悬液按“2.1.3”项下方法处理后进样分析, 得到 Tac-NS 混悬液中 Tac 总浓度($c_{\text{总}}$), $EE\% = c_{\text{包封}}/c_{\text{总}} \times 100\%$ 。平行操作 3 次。

2.3 Tac-NS 的制备

2.3.1 制备工艺 称取处方量 Span-60、Tac、CH 于 250 ml 圆底烧瓶中, 加入氯仿 5 ml, 超声溶解, 在 40 °C 下减压(0.02~0.03 MPa) 旋转蒸发, 待有机溶剂挥尽, 得到均匀半透明的薄膜。再加入 SDC 水溶液 10 ml 及水化珠, 60 °C 下水化 1 h, 继续探头超声 2.5 min, 得 Tac-NS 混悬液^[6]。

2.3.2 正交试验设计优选处方 根据前期单因素试验结果, 选取 Span-60 浓度(A)、Span-60 与 CH 摩尔比(B)、Span-60 与 SDC 摩尔比(C)、药载比(g/g, %)(D)为考察因素, 根据 L₉(3⁴) 正交表设计试验, 以 EE%、载药量、平均粒径、粒径分布(PDI) 为评价指标, 对上述指标分别赋予 30、30、20、20 分, 总分 100 分。采用综合加权评分法处理所得结果, 综合评分=(EE%/EE%最大值×30+载药量/载药量最大值×30+平均粒径最小值/平均粒径×20+PDI 最小值/PDI×20), 以综合评分结果为分析指标。因素与水平见表 1, 正交试验设计与结果见表 2, 方差分析结果见表 3。

表 1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素			
	A, mol/L	B, mol/mol	C, mol/mol	D, %
1	0.025	7:1	5:1	5.0
2	0.037 5	10:1	10:1	7.5
3	0.05	13:1	15:1	10.0

表 2 正交试验设计与结果

Tab 2 Design and result of orthogonal test

试验编号	A, mol/L	B, mol/mol	C, mol/mol	D, %	综合评分
1	0.025	7:1	5:1	5.0	76.81
2	0.025	10:1	10:1	7.5	82.68
3	0.025	13:1	15:1	10.0	82.85
4	0.037 5	7:1	10:1	10.0	60.76
5	0.037 5	10:1	15:1	5.0	75.20
6	0.037 5	13:1	5:1	7.5	61.58
7	0.05	7:1	15:1	7.5	75.64
8	0.05	10:1	5:1	10.0	65.86
9	0.05	13:1	10:1	5.0	75.85
I	80.78	71.07	68.08	75.95	
II	65.85	74.58	73.10	73.30	
III	72.45	73.43	77.90	69.82	
R _i	14.93	3.51	9.81	6.13	

表 3 方差分析结果

Tab 3 Results of analysis of variance

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F	P
A	335.997	2	167.999	17.496	不显著
B	19.204	2	9.602	1.000	不显著
C	144.475	2	72.238	7.523	
D	56.704	2	28.352	2.953	不显著
误差	19.200	2			

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$

Note: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$

根据正交试验和方差分析结果可知,各因素对 Tac-NS 的影响大小顺序为 A>C>D>B; 优选处方为 A₁B₂C₃D₁, 即 Span-60 浓度为 0.025 mol/L, Span-60 与 CH 摩尔比为 10:1, Span-60 与 SDC 摩尔比为 15:1, 药载比为 5%。

2.4 验证试验及 Tac-NS 的表征

根据优选处方制备 3 批 Tac-NS 并进行体外表征。将 Tac-NS 混悬液滴至碳网上,于探照灯下晾干,在透射电子显微镜下观察(透射电镜图见图 2)所制 Tac-NS 的外观形态。结果显示, Tac-NS 形态较为圆整,且分散均匀、很少聚集。取 Tac-NS 混悬液适量,用超纯水稀释 10 倍后,以马尔文激光纳米粒度测定仪测得其平均粒径、PDI 及 Zeta 电位分别为 (233.0 ± 6.48) nm, 0.266 ± 0.021, (-41.7 ± 0.32) mV, RSD 分别为 2.7%、7.9%、0.77% (n=3); 按“2.2”项下方法测得其 EE% 为 (76.83 ± 4.61)%, RSD=6.0% (n=3)。

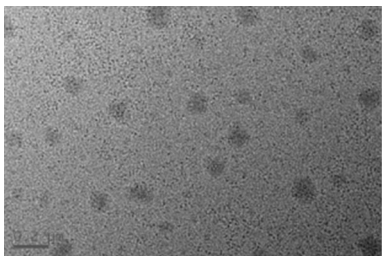


图 2 Tac-NS 的透射电镜图(×15 000)
Fig 2 TEM of Tac-NS(×15 000)

2.5 体外经皮渗透试验

将处理好的乳猪皮固定于直立式 Franz 扩散池上,角质层面向上,真皮层面向下,加入 0.1% 十二烷基硫酸钠-磷酸盐缓冲液(pH 7.4)作为接收液。用移液枪取 1 ml Tac-NS 混悬液和同质量浓度 Tac 与辅料的物理混合液均匀分布于角质层面的皮肤上,将接收池置于 (32 ± 1) °C 恒温水浴中,200 r/min 磁力搅拌。分别于 2、8、12、24 h 后取出 2 ml 接收液,同时补充等体积同温的空白介质。待试验结束,用手术刀轻轻刮去角质层上剩余软膏,将皮肤置于 5 ml 28% 乙腈水溶液中荡洗,重复洗涤 2 次,滤纸吸干皮肤表面溶剂,称质量。将皮肤剪碎,加入乙腈 10 ml,涡旋 5 min,超声 10 min,离心(16 770×g)5 min 后,分取上层提取液。按上述方法重复提取 4 次,合并提取液。将接收液及提取液按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,计算累积经皮渗透量(Q)和累积皮肤滞留量(Q_s)。Q=(c_nV+∑c_iV_i)/A,式中 Q 为 t 时间单位面积的累积渗透量(ng/cm²),V 为接收池内溶液的体积(8.5 ml),c_n 为第 n 次样品的实测浓度,c_i 为 n-1 次样品的实测浓度,A 为有效渗透面积(3.14 cm²);Q_s=cV/m,其中 Q_s 为单位质量皮肤中药物的含量(ng/g),c 为皮肤药物的浓度,V 为皮肤萃取后稀释的体积,m 为皮肤质量。Tac-NS 的经皮渗透曲线见图 3, Tac-NS 的皮肤滞留量测定结果见图 4。

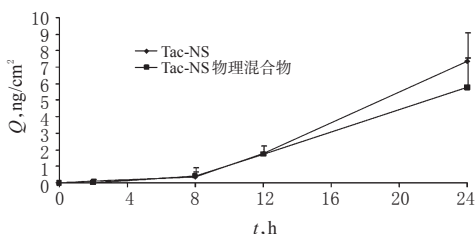


图 3 Tac-NS 的经皮渗透曲线
Fig 3 Percutaneous penetration curves of Tac-NS

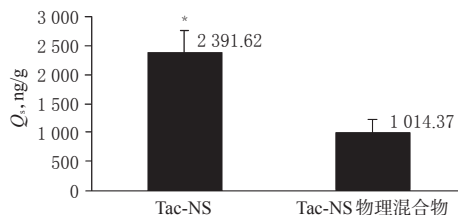


图 4 Tac-NS 的皮肤滞留量测定结果($\bar{x} \pm s, n=5$)
注:与 Tac-NS 物理混合物比较, *P<0.05

Fig 4 The skin retention amount of Tac-NS($\bar{x} \pm s, n=5$)
Note: vs. Tac-NS physical mixture, *P<0.05

由图 3 可知,作用 24 h 时 Tac-NS 的 Q 值较同浓度 Tac-NS 物理混合物稍高,其他时间点的 Q 值基本一致,差异均无统计学意义(P>0.05)。由图 4 可知, Tac-NS 的 Q_s 明显高于 Tac-NS 物理混合物,约为其 2.4 倍,差异有统计学意义(P<0.05)。以上结果提示,将 Tac 制成 NS 后,在不明显增加 Tac 渗透量的同时可显著增加其在皮肤中的滞留量。

3 讨论

非离子表面活性剂是 NS 的主要成囊材料,一般要求其具有生物可降解、毒性低、与药物相容性好等特点,比较常用的有聚甘油脂肪酸类、脂肪酸山梨坦(Span)类、聚山梨酯(Tween)类、聚氧乙烯脂肪酸醚(Brij)类以及合成的嵌段共聚物等。据文献报道,采用 Span、Brij 系列的表面活性剂作为囊材往往能获得粒径均一、稳定性好的 NS^[7-9]。笔者在前期试验中用 Span-40、Span-60、Brij-52 及 Brij-93 为囊材制备 Tac-NS,发现均能形成粒径均一的 Tac-NS,但 Span-40、Brij-52、Brij-93 对 Tac 的 EE% 远低于 Span-60。这可能是由于链长不同的表面活性剂对药物的亲和性不同引起,Span-60 对亲脂性药物 Tac 有较好的亲和性^[9],易于形成 EE% 高、稳定性好的 NS。因此笔者选择 Span-60 作为囊材。制得的 NS 粒径约为 (233.0 ± 6.48) nm, PDI 为 0.266 ± 0.021, 粒径小且均一;而 Zeta 电位为 (-41.7 ± 0.32) mV, 说明其稳定性较好(一般 Zeta 电位绝对值在 25 mV 以上粒子就较为稳定);同时还具有较高的 EE%, 约为 (76.83 ± 4.61)%, 这些结果也进一步印证了上述论说。

NS 能使被包封的药物较快透过皮肤角质层,在皮肤中蓄积,从而起到提高药物局部浓度、减少全身吸收、降低系统毒性的作用。目前,关于 NS 渗透机制的报道^[9]有很多,主要观点有: NS 结构与人体细胞膜结构相似,与皮肤角质层紧密接触后,可与人体表皮细胞进行类脂交换、融合,将包裹的药物输入到细胞中;同时, NS 与皮肤的紧密结合及吸附能使皮肤界面处的药物热力学活度梯度显著提高,成为药物穿透皮肤的推动力,促进药物的渗透; NS 中表面活性剂可作为透皮促进剂促进药物的渗透; NS 可进入角质细胞间隙中,破坏角质层的屏障作用; NS 脂质双分子层可作为药物的限速膜,发挥局部缓释作用等。

特异性皮炎等皮肤病的发病机制与表皮及真皮层的 T 淋巴细胞异常活化、炎症介质分泌异常等有关^[10], 因此, Tac 滞留于皮肤内可以增加药物的治疗作用,而减少 Tac 透过则可减少系统不良反应。体外经皮渗透试验结果表明, Tac-NS 在 24 h 内的 Q 值与其物理混合物相当,而 Q_s 约为其物理混合物的 2.4 倍,这说明将 Tac 制成 NS 后能显著增加药物在皮肤靶部位的治疗浓度,但不增加 Tac 药物透过皮肤进入大循环的量。

参考文献

[1] Patel P, Patel H, Panchal S, et al. Formulation strategies

柚皮苷脂质体凝胶的处方制备工艺及质量控制研究

王海燕*, 梁利香, 李娟, 陈月华, 陈琼[#](信阳农林学院生物技术系, 河南信阳 464000)

中图分类号 R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)34-4856-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.34.34

摘要 目的: 优选柚皮苷脂质体凝胶处方制备工艺, 并建立其质量控制方法。方法: 以包封率为指标, 采用单因素试验考察柚皮苷脂质体的制备方法, 正交试验对脂质体处方中的磷脂质量浓度、磷脂-胆固醇质量比及脂药比水平进行优化; 以成型性、涂展性、稳定性的综合评分为指标, 采用正交试验对凝胶处方中的卡波姆用量、三乙醇胺用量和载药量进行优化; 初步建立凝胶的质量控制方法。结果: 确定柚皮苷脂质体制备方法为乙醇注入法; 脂质体的优化处方条件为磷脂质量浓度 30 mg/ml、磷脂-胆固醇质量比 3:1、脂药比 10:1; 凝胶的优化处方条件为卡波姆 0.30 g、三乙醇胺 1.0 g、载药量 1.0 g/20 g。验证试验中脂质体平均包封率为 40.19% (RSD=0.10%, n=3); 凝胶综合评分为 9.8, 柚皮苷平均含量为 0.58% (占标示量的 96.67%)。建立了该制剂的鉴别、含量测定等质量控制方法。结论: 本优化处方可行, 制剂质量可控。

关键词 柚皮苷; 脂质体; 凝胶; 制备; 处方; 优化; 正交试验; 质量控制

Study on the Preparation Process and Quality Control of Naringin Liposome Gel

WANG Hai-yan, LIANG Li-xiang, LI Juan, CHEN Yue-hua, CHEN Qiong (Dept. of Biotechnology, Xinyang College of Agriculture and Forestry, Henan Xinyang 464000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the preparation process of Naringin liposome gel, and to establish the quality control method of the gel. METHODS: The preparation method of Naringin liposome was investigated by single factor test with encapsulation percentage as index. The phosphatide concentration, the proportion of phosphatide to cholesterol and the proportion of phosphatide to drug in the liposomes were optimized by orthogonal design. Using formability, spread performance and stability as comprehensive evaluation indicator, the dosage of carbopol and triethanolamine and drug-loading amount in the gels were optimized by orthogonal design. The quality control method of the gel was established preliminarily. RESULTS: Naringin liposomes were prepared by the method of ethanol injection; the optimal formulation of the liposomes was as follows as phosphatide 30 mg/ml, the proportion of phosphatide to cholesterol 3:1, the proportion of phosphatide to drug 10:1; that of the gels was as follows as carbopol 0.30 g, triethanolamine 1.0 g, drug-loading amount 1.0 g/20 g. Average encapsulation efficiency of validation test was 40.19% for Liposome (RSD=0.10%, n=3); comprehensive score was 9.8, average content of naringin was 0.58% (accounting for 96.67% of label amount) for gels. The quality control method of the preparation was established, i.g. identification, content determination. CONCLUSIONS: The optimal preparation formulation is feasible, and the preparation is controllable in quality.

KEYWORDS Naringin; Liposome; Gel; Preparation; Formulation; Optimization; Orthogonal design; Quality control

- for drug delivery of tacrolimus: an overview[J]. *Int J Pharm Invest*, 2012, 2(4): 169.
- [2] Lee YJ, Kim SW, Seo KY. Application for tacrolimus ointment in treating refractory inflammatory ocular surface diseases[J]. *Am J Ophthalmol*, 2013, 155(5): 804.
- [3] Onumah N, Kircik L. Pimecrolimus cream and tacrolimus ointment in the treatment of atopic dermatitis: a pilot study on patient preference[J]. *Am J Drugs Dermatol*, 2013, 12(10): 1 145.
- [4] Yamanaka M, Yokota S, Lwao Y, et al. Development and evaluation of a tacrolimus cream formulation using a binary solvent system[J]. *Int J Pharm*, 2014, 464(1/2): 19.
- [5] 吴燕, 张福成, 林敏. 他克莫司软膏的基质处方优选及含量测定[J]. *中国药房*, 2011, 22(9): 826.
- [6] 周彦彬, 何花, 赵欢喆, 等. 甲氨蝶呤非离子表面活性囊泡的构建及表征[J]. *中国新药杂志*, 2014, 23(16): 1 946.
- [7] Bayindir ZS, Yuksel N. Characterization of niosomes prepared with various nonionic surfactants for paclitaxel oral delivery[J]. *J Pharm Sci*, 2010, 99(4): 2 049.
- [8] Junyaprasert VB, Singhsa P, Suksiriworapong J, et al. Physicochemical properties and skin permeation of Span 60/Tween 60 niosomes of ellagic acid[J]. *Int J Pharm*, 2012, 423(2): 303.
- [9] Balakrishnan P, Shanmugam S, Lee WS, et al. Formulation and in vitro assessment of minoxidil niosomes for enhanced skin delivery[J]. *Int J Pharm*, 2009, 377(1/2): 1.
- [10] DaVeiga SP. Epidemiology of atopic dermatitis: a review[J]. *Allergy and Asthma Proceedings*, 2012, 33(3): 227.
- (收稿日期: 2015-08-21 修回日期: 2015-10-09)
(编辑: 林静)