

【实验研究】

光甘草定醇质体与立方液晶纳米粒皮肤滞留量比较及抗豚鼠皮肤光老化作用观察

王丽峰¹, 丁苗苗², 何新^{1,2*}, 王艳^{1*}, 刘昌孝^{1,3}

1. 天津中医药大学, 天津 301617

2. 广东药科大学, 广东 广州 510006

3. 天津药物研究院, 天津 300193

摘要:目的 制备光甘草定醇质体与立方液晶纳米粒, 通过测定2种纳米制剂在离体豚鼠皮肤中的滞留量优选出适合光老化经皮给药的制剂。建立光老化模型, 通过观察优选制剂对豚鼠光老化模型的治疗效果来评价药物的疗效。方法 采用注入法制备光甘草定醇质体, 高压均质法制备光甘草定立方液晶纳米粒, 利用Franz扩散装置考察光甘草定醇质体、立方液晶纳米粒凝胶离体鼠皮中的滞留量, 优选出光甘草定经皮给药治疗光老化的纳米制剂。紫外线照射背部剃毛豚鼠建立皮肤光老化模型。雌性豚鼠随机分为模型组、基质(给予空白凝胶0.5 g/只)组、维甲酸(阳性对照, 0.5 g/只)组和甘草定立方液晶纳米粒凝胶高、低剂量(0.50、0.25 g/只)组, 治疗2周后, 通过肉眼观察、HE染色、Masson染色等评价其治疗效果, 用水份测定仪观察其对豚鼠皮肤含水量的影响。结果 2种纳米制剂凝胶的鼠皮滞留量最高者为光甘草定立方液晶纳米粒凝胶。豚鼠皮肤光老化模型建立成功, HE染色、Masson染色等结果表明光甘草定立方液晶纳米粒对光老化有明显的治疗效果, 使光老化皮肤的含水量显著升高($P < 0.05$)。结论 光甘草定立方液晶纳米粒在离体鼠皮中的滞留较高, 对豚鼠皮肤光老化模型治疗效果显著, 为光甘草定的临床应用提供了新的方法与思路。

关键词: 光甘草定; 醇质体; 立方液晶纳米粒; 皮肤滞留量; 光老化

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2020) 10-1944-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.10.004

Comparison of skin retention amount of ethosomes and cubic liquid crystalline nanoparticles of glabridin and observation of its anti-photoaging effect on guinea pig skin

WANG Lifeng¹, DING Miaomiao², HE Xin^{1,2}, WANG Yan¹, LIU Changxiao^{1,3}

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

2. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

3. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To prepare the ethosomes and cubic liquid crystalline nanoparticles of glabridin and select the suitable formulation for transdermal delivery by determining the skin retention amount of two nanopreparations in guinea pig skin. To establish photoaging models and the efficacy of the drug was evaluated by observing the therapeutic effect of the optimized preparation on the photoaging model of guinea pigs. **Methods** Ethosomes of glabridin were prepared by injection method. High pressure homogenization combined with heat was used to prepare cubic liquid crystalline nanoparticles of glabridin. The nanopreparation of glabridin was optimized by investigating the skin retention amount of ethosomes of glabridin gel and cubic liquid

收稿日期: 2020-01-20

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(81602773)

第一作者: 王丽峰, 博士生, 从事中药化妆品及中药药理学研究。Tel: (022)59596158 E-mail: wanglif930@163.com

*通信作者: 何新, 博士, 教授, 从事中药药代动力学与药物代谢的研究。Tel: (022)59596231 E-mail: hexintn@163.com

王艳, 博士, 副教授, 从事中药新药和中药化妆品研究。Tel: (022)59596235 E-mail: paozhijiaoxue@126.com

crystalline nanoparticles of glabridin gel in guinea pig skin. Expose the guinea pigs to UV-A and UV-B light to establish the animal model of guinea pig skin photoaging. Female guinea pigs were randomly divided into six groups: model group, matrix (blank gel 0.5 g), retinoic acid (positive control group, 0.5 g) and glycyrrhizin cubic liquid crystalline nanoparticles gel high and low dose (0.50, 0.25 g) group. After two weeks of treatment, the therapeutic effect was evaluated by naked eye observation, HE staining and Masson staining. The water content of guinea pig skin was observed by moisture analyzer. **Results** The higher skin retention amount of the two kinds of nano gel in guinea pigs skin was cubic liquid crystalline nanoparticles of glabridin gel. The photoaging model of guinea pig skin was successfully established. HE staining and Masson staining showed that the Cubic liquid crystalline nanoparticles of glabridin gel had obvious therapeutic effect on photoaging, and the water content of photoaging skin was significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion** The cubic liquid crystalline nanoparticles of glabridin gel have a higher skin retention amount in the skin of guinea pigs *in vitro*, which has a remarkable therapeutic effect on photoaging of guinea pigs. It provided a new method and idea for the clinical application of glabridin.

Key words: glabridin; ethosomes; cubic liquid crystalline nanoparticles; skin retention amount; skin photoaging

长期暴露于紫外线中,紫外线辐射剂量逐渐累积,皮肤随之发生老化,称之为皮肤光老化^[1],主要表现为皮肤干燥、粗糙、皮革样病变、过早出现深大的皱纹及色斑等^[2]。目前,西医在治疗上基本采用物理防护避光等措施,或内服抗组胺药物联合外用激素等,副作用大且治疗效果不持久。近年来,含中草药的抗衰美白护肤品越来越受到青睐,人们发现光果甘草煮水洗脸具有美白抗衰的功效,能够防晒美白,淡化皱纹。研究证实发挥美白抗衰作用的主要为甘草中的黄酮类成分,其中光甘草定是光果甘草 *Glycyrrhiza glabra* L. 中的黄酮类成分之一,能够显著抑制酪氨酸酶的活性,因此具有美白的作用;能够抑制体内新陈代谢过程中所产生的自由基,因此可以预防并治疗与自由基氧化有关的某些病理变化,如皮肤粗糙、起皱、皮革样病变等。故光甘草定能够用于皮肤给药,治疗皮肤光老化。

光甘草定水溶性差,不是理想的经皮药物。醇质体是一种新型的含有一定量小分子醇的特殊脂质体,与脂质体相比醇质体由于含有一定量的醇而表现出更好的柔性,从而具有更优异的透皮性能,且有延缓药物释放的作用^[3]。立方液晶纳米粒是指两亲性脂质在过量水相中形成含双连续水区和闭合脂质双层的结构,立方液晶纳米粒有增溶、促进药物吸收的作用^[4]。因此本研究将光甘草定制备成醇质体与立方液晶纳米粒,利用 Franz 扩散装置考察光甘草定醇质体、立方液晶纳米粒在离体鼠皮中的滞留量,优选出光甘草定经皮给药治疗光老化的纳米制剂,而后建立豚鼠皮肤光老化模型,观察优选制剂对豚鼠皮肤光老化的治疗效果。

1 材料

1.1 仪器

高效液相色谱仪(日本岛津);高压均质

机(ATS);EX225DZH 十万分之一分析天平(奥豪斯仪器有限公司);万分之一分析天平(上海精密科学仪器有限公司);SZ-100 纳米颗粒分析仪(HORIBA);透射电子显微镜(Tecnaï G2 F20 S-TWIN FEI);SP88857106 磁力搅拌器(赛默飞世尔科技(中国)有限公司);紫外灯(PHILIPS);剃毛器(上海飞科电器股份有限公司);皮肤水分测定仪(CK);ASP200S 全自动组织脱水机、Leica EG1150H 组织包埋机、Leica RM2255 全自动切片机(德国徕卡公司);Ci-L 图象采集显微镜(日本尼康株式会社);IDA-2000 高清度数码显微图像分析系统(中科院北京空海科技发展有限公司)。

1.2 药品与主要试剂

光甘草定对照品(质量分数 $\geq 98\%$,天津一方科技有限公司,批号 Az71G001);光甘草定(南京普怡生物科技有限公司,批号 20170923);卵磷脂(上海迈瑞尔化学技术有限公司);胆固醇(Sigma-Aldrich);十八胺(上海源叶生物科技有限公司);葡聚糖凝胶 G-25(北京索莱宝科技有限公司);甘油单油酸酯(GMO,天津希恩思生化科技有限公司);泊洛沙姆 407(上海爱纯生物科技有限公司);卡波姆 940(天津泰士康制药科技有限公司);三乙醇胺(天津浩元精细化工股份有限公司);乌拉坦(上海山浦化工有限公司);甲醛溶液(天津市大茂化学试剂厂);Masson 染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司);苏木伊红染液(北京世济合力生物科技有限公司);其余试剂均为国产或进口的分析纯。

1.3 实验动物

雌性豚鼠,体质量 350~400 g,天津裕达实验动物养殖有限公司,实验动物生产许可证号 SCXK(津)2016-0001。

2 方法与结果

2.1 光甘草定分析方法的确定

2.1.1 色谱条件^[5] 流动相乙腈-水-冰乙酸(55:44:1), 体积流量为1 mL/min, 检测波长为280 nm, Hypersil ODS 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 柱温为30 ℃, 进样量为10 μL。

2.1.2 标准曲线的建立 精密称取光甘草定对照品2.25 mg, 置于25 mL量瓶中, 以甲醇定容, 制得质量浓度为90 mg/L的对照品储备液。将对照品储备液稀释, 得到一系列质量浓度为90、45、30、20、10、5、1 mg/L的光甘草定溶液, 按“2.1.1”项下进行色谱分析。在5~90 mg/L内光甘草定的峰面积与质量浓度之间有良好的线性关系, 标准曲线方程为 $Y=22\,746X-1\,049.3$ ($R^2=1$)。

2.1.3 精密度试验 取3个不同质量浓度(10、30、90 μg/mL)的光甘草定溶液, 按“2.1.1”项下进行色谱分析, 1 d内分别测定6次, 计算日内精密度; 每个浓度连续测定6 d, 计算日间精密度。日内精密度相对标准偏差(RSD)分别为0.48%、0.45%、0.40%, 日间精密度RSD分别为0.64%、0.50%、0.68%。

2.1.4 稳定性实验 取30 mg/L光甘草定溶液, 在室温条件下分别放置0、1、2、3、4、5、6、12、24 h后进样, 记录峰面积, 并计算RSD值。24 h内样品稳定性的RSD为0.45%。

2.2 光甘草定醇质体的制备及表征^[6]

2.2.1 光甘草定醇质体的制备^[7] 称取光甘草定15 mg、卵磷脂200 mg、胆固醇20 mg、十八胺10 mg、无水乙醇3 mL, 置于磁力搅拌器上, 水浴恒温30 ℃, 200 r/min搅拌30 min, 缓慢加入PBS(pH 6.8)至10 mL, 800 r/min继续搅拌60 min, 之后冰浴探头超声6 min, 高压均质3次, 即得光甘草定醇脂体。

2.2.2 光甘草定醇质体包封率的测定 取2.5 mL一次性注射器, 将玻璃棉放置在注射器中, 加葡聚糖凝胶G-25约至2.5 mL, 2 000 r/min离心3 min, 加PBS(pH=6.8)后, 离心, 重复3次。精密移取100 μL光甘草定醇质体, 置于微柱中, 2 000 r/min离心3 min, 加PBS(pH=6.8), 2 000 r/min离心3 min, 离心2次。取离心液置于容量瓶中, 加甲醇定容至5 mL, 50 W超声15 min, 过0.45 μm有机滤膜, 按照“2.1.1”项下进行色谱分析, 计算光甘草定醇质体的包封率, 为(92.7±0.63)%。

包封率=醇质体中光甘草定包封量/醇质体中光甘草定总量

2.2.3 光甘草定醇质体载药量的测定 将精密称取的卵磷脂、胆固醇、十八胺、光甘草定的质量求和, 计算光甘草定醇质体的载药量, 为(5.55±0.04)%。

载药量=醇质体中光甘草定总量/醇质体中固体试剂总量

2.2.4 光甘草定醇质体粒径、电位的测定 精密移取光甘草定醇质体100 μL, 加入4 mL PBS(pH 6.8)稀释, 纳米颗粒分析仪测量光甘草定醇质体的粒径及电位。粒径为(119.75±2.02) nm, 电位为(3.5±0.75) mV。

2.2.5 醇质体形态的观察 把醇质体稀释后滴加在覆有支持膜的铜网上, 静置5 min后用滤纸吸干, 再滴加2%磷钨酸负染3 min, 烤灯烘干后, 透射电镜观察其形态, 见图1。光甘草定醇质体颗粒为类球形, 分布均匀。

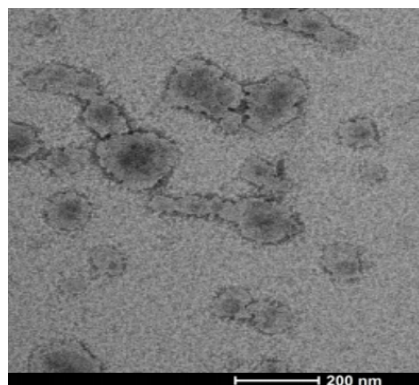


图1 光甘草定醇质体透射电镜图

Fig.1 Transmission electron microscopy of glabridin ethosomes

2.3 光甘草定立方液晶纳米粒的制备及表征

2.3.1 光甘草定立方液晶纳米粒的制备^[8] 称取处方量的GMO 1 g, 置于西林瓶中, 60 ℃恒温水浴磁力搅拌器中加热至GMO完全融化, 加入光甘草定75 mg, 加入磁转子使其混合均匀, 加入0.15 g泊洛沙姆407, 再次搅拌使其混合均匀, 作为油相。用注射器吸取60 ℃恒温水浴锅中预热的纯净水作为水相, 缓缓加入西林瓶中, 后转移至锥形瓶中补加纯净水至50 mL, 在1 000 r/min磁力搅拌条件下搅拌2 h, 超声分散20 min后, 探头超声6 min。之后在80 mPa压力下高压均质12次即得光甘草定立方液晶纳米粒。

2.3.2 光甘草定立方液晶纳米粒粒径和电位的测定 精密移取光甘草定立方液晶纳米粒100 μL, 加入4 mL纯净水摇匀, 纳米颗粒分析仪测量光甘草定

立方液晶纳米粒的粒径及电位,分别为 $(149.0 \pm 4.7) \text{ nm}$ 、 $(-48.00 \pm 0.62) \text{ mV}$ 。

2.3.3 光甘草定立方液晶纳米粒包封率与载药量的测定 采用超滤离心管法,取光甘草定立方液晶纳米粒 0.4 mL 于超滤离心管中,加 3.6 mL 5%的丙二醇溶液, $4\,000 \text{ r/min}$ 离心 30 min ,取管液体,甲醇定容到 25 mL ,过 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜,按照“2.1.1”项下进行色谱分析,得光甘草定立方液晶纳米粒中游离药物的含量;取光甘草定立方液晶纳米粒 0.4 mL ,加5%的丙二醇溶液 3.6 mL ,加甲醇适量超声 10 min ,甲醇定容到 25 mL , $4\,000 \text{ r/min}$ 离心 30 min ,取上清液过 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜,按照“2.1.1”项下进行色谱分析,得光甘草定立方液晶纳米粒中总药物的含量,计算包封率与载药量,分别为 $(93.42 \pm 0.25)\%$ 、 $(5.72 \pm 0.02)\%$ 。

包封率 = (液晶纳米粒中光甘草定总量 - 游离光甘草定的量) / 液晶纳米粒中光甘草定总量

载药量 = 液晶纳米粒中光甘草定总量 / 液晶纳米粒中固体试剂总量

2.3.4 立方液晶纳米粒形态学观察 把立方液晶纳米粒稀释后滴加在覆有支持膜的铜网上,静置 5 min 后用滤纸吸干,再滴加2%磷钨酸负染 3 min ,烤灯烘干后,透射电镜观察其形态,见图2。所制备的光甘草定立方液晶纳米粒为大小均一、圆整度较好的类球形粒子。



图2 光甘草定立方液晶纳米粒透射电镜图

Fig. 2 Transmission electron microscopy of GLA-LCNPs

2.4 统计学处理

使用SPSS 17.0软件进行数据统计与差异性分析(One-Way ANOVA或Two-Way ANOVA)。

2.5 光甘草定化合物及2种纳米制剂凝胶在离体鼠皮中的滞留量测定

2.5.1 光甘草定化合物及2种纳米制剂凝胶的制备^[9] 制备卡波姆溶液3份,每份称取 0.15 g 卡波

姆-940,加入 5 mL PBS溶液溶胀后,加入三乙醇胺得3份凝胶基质^[10]。称取光甘草定 0.03 g ,加水 20 mL ,震荡均匀得光甘草定混悬液,加入第1份凝胶基质中;取含相当于 0.03 g 光甘草定的醇质体加入第2份凝胶基质中;取含相当于 0.03 g 光甘草定的立方液晶纳米粒加入第3份凝胶基质中。3份凝胶加水到相同质量,边加边搅拌,均匀后静置 1 h ,备用。

2.5.2 光甘草定化合物及2种纳米制剂凝胶在离体鼠皮中的滞留量测定^[11] 取去毛的豚鼠,剪下腹部皮肤,除去皮下的脂肪组织,将处理好的鼠皮角质层向上固定于Franz扩散池上,以20%的乙醇-生理盐为接收液,使鼠皮内层完全与接收液接触,供给层分别加入 0.5 g 已制备好的光甘草定化合物凝胶及2种纳米制剂凝胶,各平行3组进行Frank扩散实验。分别在 $1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 \text{ h}$ 后去除离体鼠皮上的残留药物,鼠皮用生理盐水冲洗干净,滤纸吸干水分后剪碎,置于 10 mL 离心管中,加入甲醇 3 mL ,用组织匀浆机研磨成匀浆, $2\,000 \text{ r/min}$ 涡旋 5 min ,置于超声波清洗机中提取 15 min 后再涡旋 5 min 。 $5\,000 \text{ r/min}$ 离心 10 min ,取上清液于进样瓶中,按照“2.1.1”项下进行色谱分析,测定不同时间离体鼠皮中光甘草定滞留量。

光甘草定的不同制剂在离体鼠皮组织中的滞留量如图3所示,光甘草定立方液晶纳米粒凝胶在皮肤中的累积滞留量最高,与其他2种制剂相比差异有统计学意义($P < 0.05$),因此选择光甘草定立方液晶纳米粒凝胶作为治疗光损伤的外用制剂。

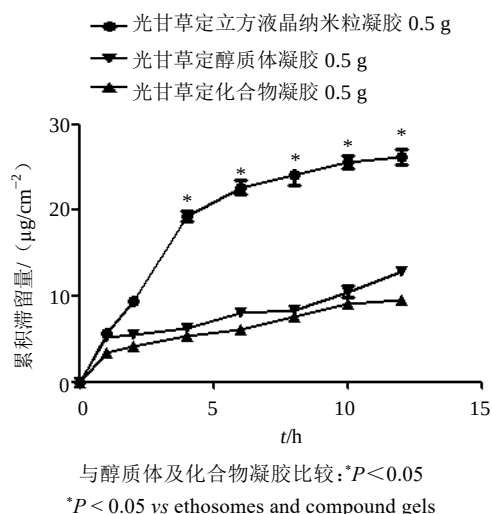


图3 光甘草定各种制剂在离体豚鼠皮肤中的滞留量

Fig. 3 Retention of various preparations of GLA in guinea pig skin in vitro

2.6 光甘草定立方液晶纳米粒对豚鼠皮肤光老化的治疗作用

2.6.1 豚鼠皮肤光老化模型的建立 48只豚鼠随机分为对照组(12只)和照射组(36只,其中6只用于模型的鉴定切片制作),用剃须刀除净背部鼠毛(4 cm×6 cm),照射组放入自制照射笼中,将照射笼置于距离光源(UVA联合UVB)15 cm处的正下方,开始时每天累计照射10 min,根据豚鼠的耐受程度逐渐延长照射时间^[12]。至18周时终止UV暴露(UVA、UVB辐照强度累计分别为210.42、30.53 J/cm²)。造模过程中每天观察动物背部皮肤有无水疱及糜烂等,一旦出现上述皮损,则停止照射2~3 d,待皮损恢复后继续照射。

2.6.2 豚鼠皮肤光老化模型的鉴定 造模18周后,肉眼观察豚鼠对照组与模型组皮肤的变化情况,比较两组豚鼠剃毛区裸露部位皮肤的区别^[13]。选取对照组与模型组豚鼠,用20%乌拉坦ip麻醉。取背部照射处1 cm×1 cm大小的皮肤组织块,置于10%甲醛液固定,进行HE和Masson染色,在显微镜下观察,评价造模情况。

肉眼观察,受照射部位皮肤表现为进行性厚度增加、弹性减退,皱纹形成并逐渐加深,皮革样外观,并伴有皮屑、色素沉着等改变,对照组豚鼠剃毛区皮肤没有明显变化。HE染色镜下观察可见,对照组皮肤各层结构完整,皮下毛囊和皮脂腺形态饱满、充盈,表皮较薄,真皮层厚度适中,纤维束排列有序且分布均匀,未见明显病理改变。模型组表皮不规则增厚、局部表皮角化不全,部分细胞空泡变、细胞核碎裂;真皮组织排列紊乱,血管扩张充血,炎性细胞浸润;毛囊受损,细胞变性。Masson染色结果显示,对照组真皮层胶原纤维排列较为有序,且分布较均匀;模型组真皮层胶原纤维排列紊乱,且分布不均,染色深浅不一。结果均符合皮肤光老化典型的病理生理及组织学变化,表明光老化模型建立成功,结果见图4。

2.6.3 药物治疗及效果观察 造模成功后将30只豚鼠随机分为模型组、基质(给予空白凝胶0.5 g/只)组、维甲酸(阳性对照,0.5 g/只)组和甘草定立方液晶纳米粒凝胶高、低剂量(0.50、0.25 g/只)组,每组6只,每天于皮损处均匀涂抹相应制剂,对照组每天剃毛观察,治疗2周后通过肉眼观察、HE和Masson染色评价其治疗效果^[14]。

肉眼观察,与模型组对比,甘草定立方液晶纳米粒凝胶高剂量组皮肤皱纹、皮革样外观、色素沉

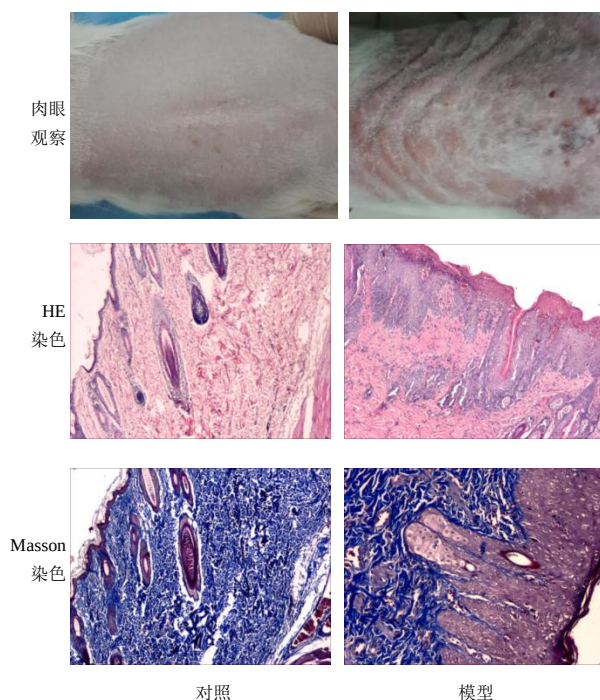


图4 对照组与模型组豚鼠皮肤外观观察、组织病理HE及Masson染色(×40)

Fig. 4 HE and Masson staining of skin tissue in guinea pigs of control and model group (×40)

着等症状明显减轻,低剂量组的皮肤改变处于高剂量组和基质组之间。维甲酸组的皮肤改变亦非常明显,皱纹几乎消失,但仍有发红、毛细血管扩张等现象,这可能跟维甲酸类药物的皮肤刺激性有关,基质组皮肤依旧表现为厚度增加、皮革样外观,弹性减退等皮肤光老化症状。结果提示,光甘草定立方液晶纳米粒凝胶对豚鼠皮肤光老化具有明显的治疗作用,而且避免了维甲酸类药物的皮肤刺激性等副作用。

HE染色镜下观察可见,与模型组比较,光甘草定立方液晶纳米粒凝胶高剂量组表皮明显变薄,接近正常皮肤,真皮变厚,炎症细胞浸润减轻;低剂量组虽然表皮稍有变薄,但分层不清,炎细胞浸润依然明显;维甲酸组豚鼠皮损处表皮轻度增厚,排列较整齐,分层清晰,血管未见明显扩张,基质组豚鼠皮损处表皮明显增厚,分层不清,血管扩张充血,周围炎细胞浸润。

Masson染色镜下观察可见。光甘草定立方液晶纳米粒凝胶高剂量组皮损处表皮未见明显增厚,分层较清,真皮胶原纤维排列较规则;低剂量组皮损处表皮增厚较明显,分层不清,真皮胶原纤维排列较紊乱;维甲酸组皮损处表皮轻度增厚,真皮胶原纤维轻度减少;基质组豚鼠皮损处表皮增厚,分

层不清,真皮胶原纤维减少且排列紊乱,结果见图5。

2.6.4 皮肤含水量测定 第20周末,用水份测定仪测试豚鼠皮肤的含水量。模型组与对照组比较,含水量显著降低($P<0.05$);维甲酸组和光甘草定

立方液晶纳米粒凝胶高、低剂量组与模型组比较,含水量显著升高($P<0.05$)。实验表明,光甘草定立方液晶纳米粒凝胶对光老化豚鼠皮肤含水量有提升的作用,且存在剂量相关性,结果见图6。

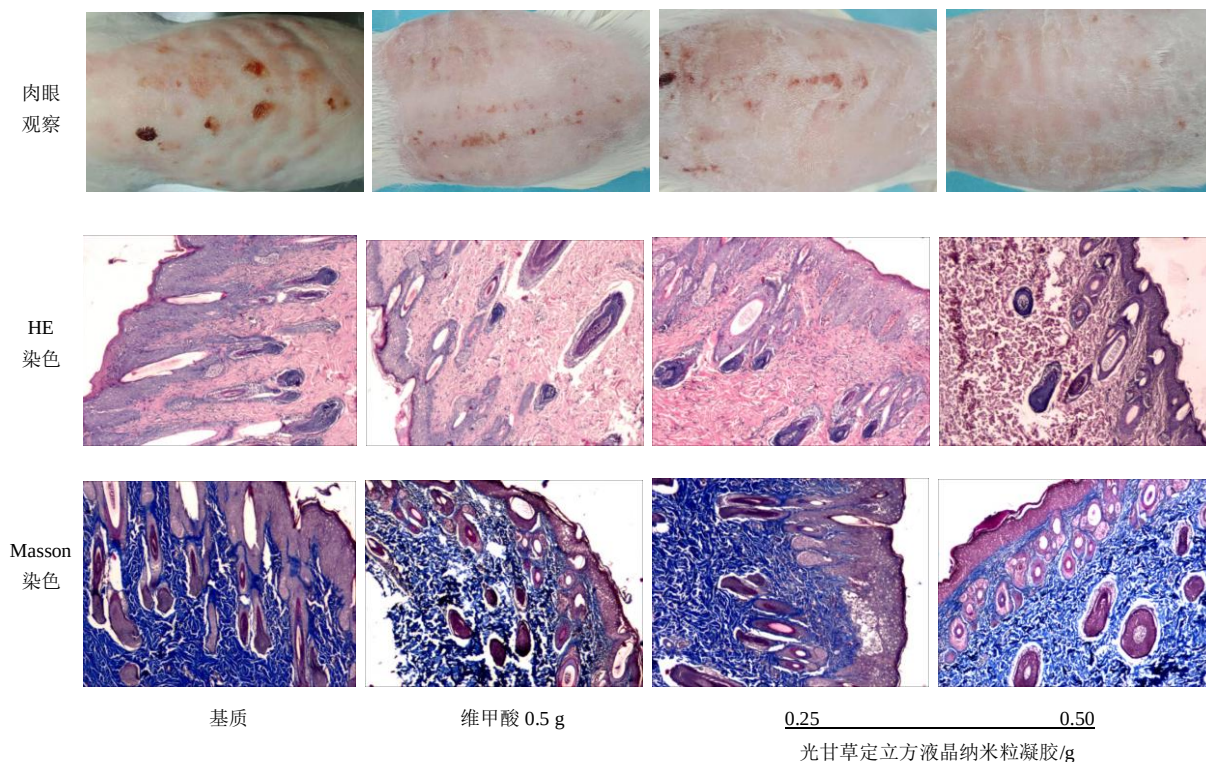
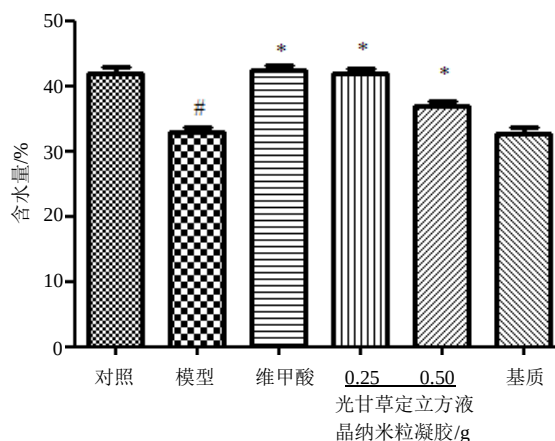


图5 给药后各组豚鼠皮肤外观观察、组织病理HE及Masson染色(×40)

Fig. 5 HE and Masson staining of skin tissue in guinea pigs of each group after treatment (×40)



与对照组比较: $^{\#}P<0.05$; 与模型组比较: $^{*}P<0.05$
 $^{\#}P<0.05$ vs control group; $^{*}P<0.05$ vs model group

图6 各组皮肤含水量图

Fig. 6 Skin moisture of each group

3 讨论

在对光甘草定醇质体包封率测定时首先尝试了透析袋的方法,因为光甘草定难溶于水,生理盐

水和PBS为透析液不可选,可以选择高浓度的有机溶剂,但有机溶剂对醇质体破坏作用强,所以综合考虑选择了葡聚糖凝胶,葡聚糖凝胶具有分子筛的原理,大分子物质先被洗脱下来,小分子物质后被洗脱下来,进行分离醇质体和未被包封的药物。

甘油单油酸酯的熔点为 $36\sim 40\text{ }^{\circ}\text{C}$,常温为白色蜡质糊状,黏性大,正是由于这一特点,制备成的立方液晶纳米粒具有较高的黏度,能够黏附于生物膜而发挥持久的疗效^[15]。本实验所制备的纳米制剂凝胶中光甘草定立方液晶纳米粒皮肤滞留量最优,考虑与此剂型的高黏附性有关。

在紫外照射造模的实验过程中,刚开始照射的时间不宜过长,因为豚鼠周数相对较短,耐受不住大剂量的紫外照射,即使皮肤不破损起泡,也必须控制在10 min左右。

本实验成功制备了光甘草定醇质体与立方液晶纳米粒,采用注入法制备了光甘草定醇质体,制得的醇质体的包封率为 $(92.70\pm 0.63)\%$,载药量

为 $(5.55 \pm 0.04)\%$, 粒径为 $(119.75 \pm 2.02) \text{ nm}$, 电位为 $(3.50 \pm 0.75) \text{ mV}$, 透射电镜图片显示其形状为类球形。采用高压均质法制得了符合条件的光甘草定立方液晶纳米粒, 包封率为 $(93.42 \pm 0.25)\%$, 载药量为 $(5.72 \pm 0.02)\%$, 粒径为 $(149.0 \pm 4.7) \text{ nm}$, Zeta 电位为 $(-48.00 \pm 0.62) \text{ mV}$, 透射电镜形态为类圆形的颗粒。

制备了光甘草定化合物及2种纳米制剂凝胶, 并对其在离体鼠皮中的滞留量进行了检测, 光甘草定立方液晶纳米粒凝胶在皮肤中的累积滞留量最高, 因此选择光甘草定立方液晶纳米粒凝胶作为治疗光老化的外用制剂。治疗2周后, 通过肉眼观察、HE染色、Masson染色评价其治疗效果, 结果显示, 光甘草定立方液晶纳米粒凝胶对皮肤光老化的豚鼠模型具有一定的治疗作用, 且疗效存在剂量相关性。

参考文献

- [1] Song H, Zhang S, Zhang L, et al. Effect of orally administered collagen peptides from bovine bone on skin aging in chronologically aged mice [J]. *Nutrients*, 2017, 9 (11): 1209.
- [2] Zhang S, Duan E. Fighting against skin aging: the way from bench to bedside [J]. *Cell Transplant*, 2018, 27(5): 729-738.
- [3] 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 Nanomed*, 2016, 11: 2279-2304.
- [4] Jin X, Zhang Z H, Sun E, et al. Enhanced oral absorption of 20(S)-protopanaxadiol by self-assembled liquid crystalline nanoparticles containing piperine: *in vitro* and *in vivo* studies [J]. *Int J Nanomed*, 2013, 8:641-652.
- [5] 叶柳青, 王 艳, 韩宛盈, 等. 光甘草定羟丙基- β -环糊精包合物的制备及其对透皮吸收的影响研究 [J]. *天津中医药*, 2015, 32(10): 622-625.
- [6] Paliwal S, Tilak A, Sharma J, et al. Flurbiprofen loaded ethosomes-transdermal delivery of anti-inflammatory effect in rat model [J]. *Lipids Health Dis*, 2019, 18 (1): 133.
- [7] 费雅蓉, 徐 畅, 周丹婷, 等. 延胡索乙素醇质体的制备及其离体皮肤渗透特性研究 [J]. *中草药*, 2019, 50(5): 1088-1094.
- [8] Lai J, Chen J, Lu Y, et al. Glyceryl monooleate/poloxamer 407 cubic nanoparticles as oral drug delivery systems: I. *In vitro* evaluation and enhanced oral bioavailability of the poorly water-soluble drug simvastatin [J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2009, 10(3): 960-966.
- [9] Matloub A A, AbouSamra M M, Salama A H, et al. Cubic liquid crystalline nano- particles containing a polysaccharide from *Ulva fasciata* with potent antihyperlipidaemic activity [J]. *Saudi Pharm J*, 2018, 26(2): 224-231.
- [10] 孙杏华, 李圣惠, 丁青龙, 等. 盐酸氟西汀醇质体凝胶剂的制备及其体外经皮渗透性研究 [J]. *中国新药杂志*, 2015, 24(24): 2843-2847, 2864.
- [11] Li J C, Zhu N, Zhu J X, et al. Self-assembled cubic liquid crystalline nano-particles for transdermal delivery of paeonol [J]. *Med Sci Monit*, 2015, 21: 3298-3310.
- [12] Yi R, Zhang J, Sun P, et al. Protective effects of kuding tea (*Ilex kudingcha* C. J. Tseng) polyphenols on UVB-induced skin aging in SKH1 hairless mice [J]. *Molecules*, 2019, 24(6): 1016.
- [13] 冯倩茹, 叶柳青, 刘园园, 等. 光甘草定平衡溶解度和油水分配系数的测定 [J]. *天津中医药大学学报*, 2017, 36 (1): 54-56.
- [14] Kim Y I, Oh W S, Song P H, et al. Anti-photoaging effects of low molecular-weight fucoidan on ultraviolet B-irradiated mice [J]. *Mar Drugs*, 2018, 16(8): 286.
- [15] 郭秀君, 刘志东, 黄 瑜, 等. 丹酚酸B立方液晶纳米粒的制备及大鼠在体肠吸收 [J]. *天津中医药大学学报*, 2014, 33(3): 177-180.