

三七总皂苷传递体的制备及其治疗大鼠急性软组织损伤作用研究

陈思思, 郑杭生*, 王娟, 方蓉, 邢小静

浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 310053

摘要: 目的 优化三七总皂苷(PNS)传递体的处方, 验证其治疗大鼠急性软组织损伤的作用。方法 采用薄膜分散法制备 PNS 传递体, 以传递体弹性为指标, 通过均匀设计法优化其处方工艺; 分别以挤出法、离心超滤法测定传递体的弹性与包封率; 通过对实验动物的损伤症候指数、血液流变学及组织形态学的观测评价传递体对大鼠急性软组织损伤的治疗作用, 并与阳性对照药青鹏软膏进行比较。结果 PNS 传递体最佳处方为 PNS 100 mg、胆固醇 15 mg、大豆磷脂 120 mg、维生素 E 2 mg、中药挥发油(柠檬烯-柠檬醛 4:1) 80 mg、水化液[磷酸盐缓冲液(PBS), pH 5.0] 10 mL; 以最佳处方制得的成品弹性为 (2.74 ± 0.32) min、粒径为 (123.60 ± 0.36) nm、Zeta 电位为 (-36.67 ± 2.29) mV, 人参皂苷 Rg₁ 与 人参皂苷 Rb₁ 的包封率分别为 $(82.42 \pm 0.69)\%$ 、 $(94.40 \pm 0.74)\%$; 药效学实验结果显示, 与模型组相比 PNS 传递体可显著降低实验动物的损伤证候指数 ($P < 0.01$)、全血黏度及血浆黏度 ($P < 0.05$), 有效改善病灶部位组织形态。结论 所得 PNS 传递体粒径适宜, 弹性与药物包封率良好, 疗效确切。

关键词: 三七总皂苷; 传递体; 薄膜分散法; 弹性; 急性软组织损伤

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)14-2070-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.14.009

Study on preparation of *Panax notoginseng* saponins transfersomes and their effects on acute soft tissue injury in rats

CHEN Si-si, ZHENG Hang-sheng, WANG Juan, FANG Rong, XING Xiao-jing

College of Pharmacy, Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, China

Abstract: Objective To optimize the formulation of *Panax notoginseng* saponins (PNS) transfersomes and to verify their effects on acute soft tissue injury in rats. **Methods** Thin film dispersion method was employed to prepare PNS transfersomes. Based on the elasticity of transfersomes, PNS transfersomal formulation was optimized by a uniform experimental design. Extrusion method and centrifugation-ultrafiltration method were respectively adopted to determine the elasticity and the entrapment efficiency (EE) of PNS transfersomes. The therapeutic effects of PNS transfersomes on acute soft tissue injury in rats were evaluated by observing the indexes of injury symptom, the hemorheology and the histomorphology with Qingpeng Ointment being used as positive control. **Results** The optimum formulation was as follows: PNS 100 mg, cholesterol 15 mg, soybean phospholipid 120 mg, vitamin E 2 mg, volatile oils (limonene-citral = 4:1) 80 mg, and hydration liquid (phosphate buffered saline, pH 5.0) 10 mL. The optimized PNS transfersomes had elasticity of (2.74 ± 0.32) min, average size of (123.6 ± 0.36) nm, Zeta potential of (-36.67 ± 2.29) mV, and EE of $(82.42 \pm 0.69)\%$ and $(94.40 \pm 0.74)\%$ for ginsenoside Rg₁ and ginsenoside Rb₁, respectively. The results of pharmacodynamical tests showed that the PNS transfersomes could significantly improve the injury symptom indexes ($P < 0.01$) and hemorheology ($P < 0.05$) of the rats compared with model control, and it could also improve their histomorphology. **Conclusion** The optimized PNS transfersomes with an appropriate size, desired elasticity, and drug EE are effective for the acute soft tissue injury in rats.

Key words: *Panax notoginseng* saponins; transfersomes; thin film dispersion method; elasticity; acute soft tissue injury

三七是五加科 (Araliaceae) 植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根及根茎, 是 中医传统用于体内外各种出血证及跌打损伤、瘀滞肿痛的要药^[1]。三七总皂苷 (*Panax notoginseng*

收稿日期: 2015-03-30

基金项目: 高等学校博士学科点专项科研基金 (20123322120002); 浙江中医药大学校级科研基金人才专项项目 (2012ZR06)

作者简介: 陈思思 (1991—), 女, 硕士在读, 研究方向为经皮吸收新剂型及其体内过程。Tel: (0571)86633173 E-mail: sherrychen5916@163.com

*通信作者 郑杭生, 男, 博士, 硕士生导师, 主要从事经皮吸收新剂型及其体内过程研究。Tel: (0571)86613524 E-mail: hs-zheng@163.com

saponins, PNS) 是其主要有效部位, PNS 中主要成分有人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Rb_1 、人参皂苷 Re 和三七皂苷 R_1 等。现代药理学研究表明, PNS 药理作用主要有活血、镇痛、抗炎及促进骨折愈合, 同时, 还具有改善微循环、增加血流量、扩张血管等作用, 从而使骨内外的血液动力学和血液流变学得以改善、骨内压下降、恢复生理代谢、软骨组织得以修复、症状得以缓解。在临床上 PNS 广泛用于软组织损伤、骨折的愈合、骨关节损伤及肢体功能的恢复等^[2]。但是, 目前 PNS 的市售剂型主要以口服给药制剂及静注制剂为主, 这对于身体局部软组织损伤的治疗并不是理想的给药途径, 而药物皮肤应用常可以提高用药部位皮肤下局部组织药物浓度。

传递体 (transfersomes) 是一种高效的经皮给药载体, 其外壁由磷脂等脂质材料和边缘活化剂 (edge activators) 构成, 边缘活化剂的加入使外壁双分子层具有变形性, 同时皮肤水化梯度造成的渗透力对传递体进入皮肤有驱动作用^[3-4]。传递体技术因其安全、高效且与皮肤相容性好而成为近年来国内外经皮药物传输系统研究的焦点^[5-10]。故将 PNS 制成传递体经皮给药制剂可以提高 PNS 在病灶部位的有效浓度, 提高其生物利用度。本实验以 PNS 传递体的弹性为指标, 优化了传递体的处方, 并对所得传递体治疗大鼠急性软组织损伤作用进行评价, 研究结果可以为 PNS 传递体的制剂开发与临床应用提供依据。

1 仪器与材料

LC-2130 高效液相色谱仪、LC-2030 紫外检测器, 上海天美科学仪器有限公司; BS124S 电子天平, 德国萨多利斯公司; R-502 旋转蒸发器, 上海申胜生物技术有限公司; Q501 恒温水浴锅, 巩义市英峪高科仪器厂; HOMOEX-25 高压膜挤出器, 上海赫默仕机电科技有限公司; BX51 光学显微镜, 日本奥林巴斯公司; pH-3C pH 计, 上海精密科学仪器有限公司; 5804R 冷冻离心机, 德国 Eppendorf 公司; XL2000 超声破碎仪, 美国 Misonix 公司; Nano-ZS90 激光粒度仪, 英国 Malvern 公司; JEM-1200EX 型透射电子显微镜, 日本 Jeol 公司; Microcon 离心超滤管, 1×10^5 , 美国 Millipore 公司; 聚碳酸酯径迹蚀刻膜, 0.05、0.1 μm , 英国 Whatman 公司; 自制重物自由落体打击装置, 自制; FASCO-3020B 全自动血液流变快测仪, 重庆大学维

多生物工程研究所有限公司。

PNS, 注射级, 批号 HB20081103, 云南植物药业有限公司; 对照品人参皂苷 Rg_1 (质量分数 97.7%, 批号 110703-200726)、人参皂苷 Rb_1 (质量分数 92.6%, 批号 110704-200921), 中国食品药品检定研究院; 高纯胆固醇 (CH), 注射级, 批号 B01221, 上海艾伟特医药科技有限公司; 维生素 E (VE), 批号 V20121103, 浙江新和成股份有限公司; 大豆卵磷脂 (sbPC), 注射级, $PC \geq 70\%$, 批号 091208, 上海太伟药业有限公司; 柠檬烯 (质量分数 $\geq 98.3\%$, 批号 140825)、柠檬醛 (质量分数 $\geq 97.5\%$, 批号 141006), 吉安市聚鹏天然香料油有限公司; 青鹏软膏, 批号 140805, 西藏奇正藏药股份有限公司; 乙腈, 色谱纯, 美国 Honeywell 公司; HPLC 用水为双蒸水, 其余试剂均为分析纯。

清洁级 SD 大鼠 (180 ± 20) g, 雄性, 由浙江中医药大学动物实验中心提供, 合格证号 SCXK 沪 2012-0002。所有动物实验均按照浙江中医药大学动物饲养和使用指南进行。

2 方法与结果

2.1 PNS 传递体的制备

根据前期单因素考察的结果, 处方暂定: PNS 100 mg、CH 15 mg、sbPC 120 mg、VE 2 mg、混合中药挥发油 (柠檬烯-柠檬醛 1:1) 40 mg、水化液 [磷酸盐缓冲液 (PBS), pH 6.8, 相对离子浓度为 1/10, 相对离子浓度 1 所对应的水化液为 1/15 mol/L 磷酸二氢钾溶液-1/15 mol/L 磷酸氢二钠溶液 (53.4:46.6) 的混合液] 10 mL。

称取处方量的 PNS、CH、sbPC、VE、中药挥发油, 溶于 35 mL 甲醇-二氯甲烷 (3:4) 混合溶剂中, 转移至 500 mL 茄形瓶中, 在避光、45 $^{\circ}\text{C}$ 、50 r/min 下减压旋转蒸发去除溶剂, 得到干膜, 继续旋转蒸发 2 h 以确保有机溶剂除尽, 加入 10 mL 水化液, 振摇至水化完全, 放置过夜后进行超声破碎处理 (温度 25 $^{\circ}\text{C}$, 功率 19 W, 时间 1 min, 开 5 s, 关 5 s), 并将传递体混悬液在 40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴、氮气压条件下依次挤压通过 100 nm 与 50 nm 孔径的聚碳酸酯径迹蚀刻膜 (挤出压力分别为 0.25、0.49 MPa), 即得 PNS 传递体样品。

2.2 PNS 传递体包封率测定

2.2.1 人参皂苷 Rg_1 与 Rb_1 的定量测定 采用 HPLC 法^[11]。色谱柱为 CNWSIL C_{18} 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相为水-乙腈, 梯度洗脱, 洗

脱程序为 0~12 min, 19%乙腈; 13~60 min, 19%~36%乙腈; 61~62 min, 36%~100%乙腈; 体积流量为 1.0 mL/min; 进样量为 20 μ L; 柱温为 30 $^{\circ}$ C; 检测波长为 203 nm。以峰面积 (A) 对质量浓度 (C) 进行线性回归, 得人参皂苷 R_{g1} 、 R_{b1} 的回归方程依次为 $A=5\,000\,000\,C-11\,689$, $r=0.999\,7$; $A=6\,000\,000\,C-4\,583.2$, $r=0.999\,7$; 人参皂苷 R_{g1} 、 R_{b1} 分别在 33.91~339.10 μ g/mL 与 31.00~310.00 μ g/mL 呈良好线性关系。

2.2.2 包封率测定 以 HPLC 法结合离心超滤法进行测定^[12]。取待测传递体混悬液样品, 摇匀, 精密量取 200 μ L, 置于超滤离心管内, 进行冷冻离心(离心力 3 000 g , 温度 4 $^{\circ}$ C), 收集全部外水相, 转移至 1 mL 量瓶中, 以流动相定容, 摇匀, 按“2.2.1”项测定人参皂苷 R_{g1} 及 R_{b1} 的峰面积, 按标准曲线计算外水相中药物的量, 按下式计算包封率, 每个样品平行测定 3 次。

$$\text{包封率}=(W_S-W_{EA})/W_S$$

W_S 为取样量样品中人参皂苷 R_{g1} 或 R_{b1} 的量, W_{EA} 为取样量样品外水相中人参皂苷 R_{g1} 或 R_{b1} 的量

2.3 PNS 传递体弹性评价

精密量取 10 mL PNS 传递体样品, 置于高压膜挤出器中, 在 0.49 MPa 氮气压条件下, 挤过 50 nm 聚碳酸酯径迹蚀刻膜, 记录所有样品完全挤过所用时间, 将此时间记为传递体的弹性。时间越短表明传递体弹性越好, 反之弹性越差。

2.4 PNS 传递体粒径与 Zeta 电位测定

取适量 PNS 传递体样品, 以蒸馏水稀释 10 倍后, 用激光粒度仪测定其粒径及 Zeta 电位。所有样品在室温条件下, 平行测定 3 次。

2.5 PNS 传递体显微形态观察

将 PNS 传递体稀释至适当倍数, 吸取少量滴加到铜网正面, 过多样品液用滤纸吸去, 用 2%醋酸双氧铀溶液负染 3 min, 取出铜网, 用滤纸吸取过多染液, 将铜网正面朝上置于玻璃皿中, 自然晾干, 于透射电子显微镜下观察, 拍照。

2.6 均匀设计试验优化传递体处方

通过预实验及单因素考察, 选择柠檬烯与柠檬醛的比值 (X_1)、挥发油用量 (X_2) 及水化液 pH 值 (X_3) 作为考察因素, 每个因素设置 7 个水平, 以传递体的弹性 (Y) 为指标, 对传递体处方进行优化。选用 $U_{14}^*(14^5)$ 表, 根据其使用规定, 挑选 1、2、3 列安排因素, 构成 $U_{14}^*(14^3)$ 表, 通过拟水平法安排

试验。

采用统计软件 SPSS17.0 进行多元逐步回归分析 ($\alpha=0.05$), 按不同方法得到多个逐步回归方程, 根据各方程的回归系数、 F 值及其显著性检验, 结合实验原理, 选出最优回归方程 $Y=22.788-5.956\,X_1-0.462\,X_2+8.119\,X_3$, $F=183.308$, $P=0.000$, $r^2=0.982$, 回归方程拟合度良好。 X_1 、 X_2 、 X_3 的偏回归效果检验 P 值均 <0.05 , 即偏回归效果显著, 对 Y 有明显影响, 影响力 $X_3>X_1>X_2$ 。均匀设计试验安排与结果见表 1。根据传递体的应用特性, 以弹性最大为优, 即 Y 值最小, 在均匀设计方案范围内, 经优化和综合考虑, 确定最优值为 $X_1=4:1$, $X_2=80.00\text{ mg}$, $X_3=5.00$ 。回归方程预测优化条件下传递体的弹性为 2.60 min。

表 1 均匀设计试验安排与结果

Table 1 Arrangement and results of uniform design test

试验号	X_1	X_2/mg	X_3	Y/min
1	1:1	30.00	6.50	60.00
2	1:1	50.00	8.00	57.47
3	1:2	70.00	6.00	34.98
4	1:2	20.00	8.00	72.70
5	2:1	40.00	6.00	45.20
6	2:1	60.00	7.50	43.38
7	1:3	80.00	5.50	30.47
8	1:3	20.00	7.50	75.25
9	3:1	40.00	5.50	28.28
10	3:1	60.00	7.00	35.52
11	1:4	80.00	5.00	23.60
12	1:4	30.00	7.00	60.85
13	4:1	50.00	5.00	14.13
14	4:1	70.00	6.50	20.67

2.7 最优处方验证

按最优处方, 即 PNS 100 mg、CH 15 mg、sbPC 120 mg、VE 2 mg、中药挥发油(柠檬烯-柠檬醛 4:1) 80 mg、水化液(PBS, pH 5.0, 相对离子浓度为 1/10) 10 mL, 进行 3 次重复验证试验, 制备 3 批 PNS 传递体。测得传递体的弹性为 (2.74 ± 0.32) min, 粒径为 (123.60 ± 0.36) nm, Zeta 电位为 (-36.67 ± 2.29) mV, 人参皂苷 R_{g1} 与 R_{b1} 的包封率分别为 $(82.42\pm0.69)\%$ 、 $(94.40\pm0.74)\%$ 。以 PNS 的总量计, 传递体的载药量为 9.69%。传递体的透射电镜图、粒径及 Zeta 电位图见图 1、2。

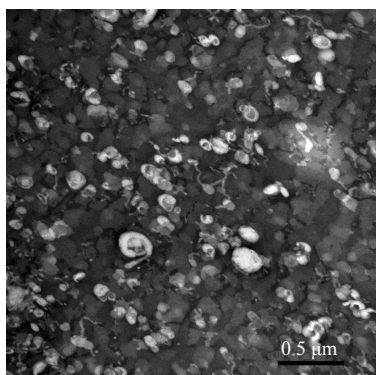


图 1 PNS 传递体的透射电镜图

Fig. 1 TEM image of PNS transfersomes

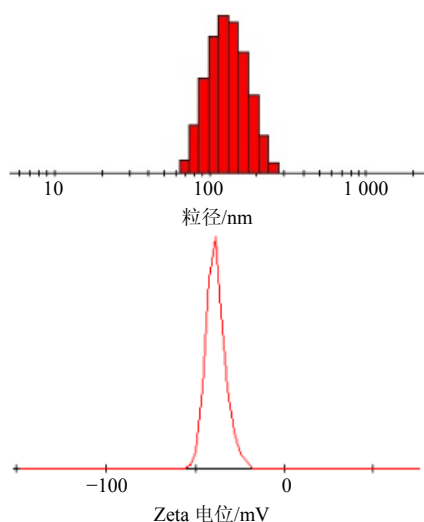


图 2 PNS 传递体粒径和 Zeta 电位

Fig. 2 Size and Zeta potential of PNS transfersomes

2.8 PNS 传递体治疗大鼠急性软组织损伤的作用考察

2.8.1 大鼠急性软组织损伤模型建立 采用定量化重力打击法进行造模^[13]。造模前 24 h, 用剃毛器脱去大鼠右下肢小腿部的毛发。在实验前, ip 3 mL/kg 2%戊巴比妥钠将大鼠麻醉, 采用自制的重物自由落体打击装置建立大鼠急性软组织损伤模型。具体操作方法为通过一金属导杆引导的金属重物 160 g, 于

140 cm 的高处垂直下落, 对大鼠右下肢腓肠肌外侧进行打击, 造成面积约 4 cm² 大小有明显皮下出血及肿胀的急性软组织损伤模型。实验过程中, 避免大鼠皮肤的破损和骨折。造模后经肉眼观察, 损伤处明显肿胀、皮下瘀斑以及肌肉颜色明显变深, 说明造模成功。

2.8.2 分组与给药 将造模成功的大鼠随机分为 3 组, 分别为模型组、PNS 传递体经皮给药组 (实验组) 和青鹏软膏组 (阳性对照组), 另设一组正常对照组, 每组 20 只。于实验动物造模 24 h 后开始给药, 模型组与正常对照组给予一定量生理盐水, 阳性对照组给予 0.2 g/cm² 的青鹏软膏, 实验组按 1.4 mL/(kg·d) 给予最优处方 PNS 传递体 (按 PNS 临床口服最低剂量, 通过等效剂量系数折算所得)。除实验组以非封闭状态给药 (每天给药 2 次, 连续给药 5 d) 外, 其他 3 组均以纱布包扎 (每天换药 1 次, 连续给药 5 d)。

2.8.3 损伤证候指数观测^[14] 每天观察伤肢皮下瘀血、肌肉肿胀和肌肉颜色的变化并进行评分, 评分标准: 皮下瘀血 (受损组织局部多量块状计 3 分, 少量点状计 2 分, 无瘀血者计 1 分); 肌肉肿胀 (受损局部肌肉明显肿胀计 3 分, 稍有肿胀计 2 分, 无肿胀者计 1 分); 肌肉颜色 (受损局部肌肉呈暗紫色深计 3 分, 暗红色浅计 2 分, 色泽正常计 1 分)。

实验观察发现, 给药 1 d 后实验组和阳性对照组大鼠损伤证候情况都有不同程度的改善, 模型组大鼠则无明显改善; 给药 2 d 后实验组和阳性对照组大鼠损伤证候指数明显降低, 模型组下降有限; 给药 3 d 后实验组和阳性对照组大鼠基本无肉眼可见损伤证候, 模型组大鼠无明显足肿胀, 但仍存在不同程度的皮下瘀血和肌肉变色情况; 给药 5 d 后模型组大鼠基本无肉眼可见损伤证候。用 SPSS17.0 软件对所有数据进行单因素方差分析, 统计结果见表 2。

表 2 各组损伤证候指数比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison on injury symptom indexes among different observation groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	给药 1 天后 (n=20)	给药 2 天后 (n=20)	给药 3 天后 (n=20)	给药 5 天后 (n=10)
PNS 传递体	6.45±1.15 ^{***}	5.65±1.50 ^{***}	3.10±0.31 ^{**}	3.00±0.00 ^{**}
青鹏软膏	6.50±0.89 ^{***}	5.45±1.50 ^{***}	3.05±0.22 ^{**}	3.00±0.00 ^{**}
正常对照	3.00±0.00 ^{**}	3.00±0.00 ^{**}	3.00±0.00 ^{**}	3.00±0.00 ^{**}
模型	8.75±0.55 ^{▲▲}	6.80±0.83 ^{▲▲}	4.75±1.07 ^{▲▲}	3.70±0.95 ^{▲▲}

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与正常对照组比较: ▲ $P < 0.05$ ▲▲ $P < 0.01$, 表 3 同

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group; ▲ $P < 0.05$ ▲▲ $P < 0.01$ vs normal group, same as Table 3

2.8.4 血液流变学测定 分别于给药 3 d 及 5 d 后各组随机取部分大鼠, 于大鼠腹主动脉采集静脉血约 5 mL, EDTA 抗凝, 使用血液流变仪进行血液流变学测定。采血后的大鼠进行集中处死。

给药 3 d 后实验组与阳性对照组大鼠的全血黏

度及血浆黏度皆下降明显, 模型组无明显改善; 给药 5 d 后实验组与阳性对照组的全血黏度及血浆黏度皆接近正常对照组, 模型组依然偏高。用 SPSS 17.0 软件对所有数据进行单因素方差分析, 统计结果见表 3。

表 3 各组血液流变学比较 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Comparison on hemorheology among different observation groups ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	全血黏度 (200 s^{-1})/(mPa·s)		全血黏度 (30 s^{-1})/(mPa·s)		全血黏度 (3 s^{-1})/(mPa·s)		血浆黏度/(mPa·s)	
	给药 3 d 后	给药 5 d 后	给药 3 d 后	给药 5 d 后	给药 3 d 后	给药 5 d 后	给药 3 d 后	给药 5 d 后
PNS 传递体	3.65 ± 0.79	3.25 ± 0.89	$4.38 \pm 1.30^*$	4.15 ± 1.17	$7.52 \pm 1.50^{**}$	$7.11 \pm 1.47^*$	$1.29 \pm 0.09^*$	1.26 ± 0.06
青鹏软膏	3.57 ± 0.82	3.33 ± 0.89	$4.22 \pm 1.25^{**}$	4.16 ± 1.27	$7.49 \pm 1.52^{**}$	$7.12 \pm 1.46^*$	$1.31 \pm 0.09^\Delta$	1.25 ± 0.09
正常对照	$3.33 \pm 0.56^*$	$3.21 \pm 0.53^*$	$4.09 \pm 0.76^{**}$	3.91 ± 0.84	$7.21 \pm 0.94^{**}$	$7.06 \pm 1.01^*$	$1.20 \pm 0.10^{**}$	$1.23 \pm 0.15^*$
模型	$4.23 \pm 1.06^\Delta$	$3.93 \pm 0.80^\Delta$	$5.59 \pm 1.05^{\Delta\Delta}$	4.98 ± 1.44	$9.36 \pm 1.33^{\Delta\Delta}$	$8.41 \pm 1.08^\Delta$	$1.39 \pm 0.13^{\Delta\Delta}$	$1.32 \pm 0.08^\Delta$

2.8.5 组织形态学观察 于给药 5 d 后各组随机取部分大鼠, 处死, 分离损伤中心组织, 割取适宜大小的组织块。用中性缓冲福尔马林溶液固定取出的组织块, 制作石蜡切片, HE 染色, 在光镜下观察创伤局部组织形态及炎性细胞的浸润状态。

正常对照组肌纤维形态较一致, 肌细胞呈长梭形, 胞浆丰富, 无病理变化 (图 3-A); 造模 24 h

后可见肌纤维变形, 甚至断离, 且伴有水肿、出血、大量炎细胞浸润, 局部组织变性坏死 (图 3-B)。给药 5 d 后, 实验组与阳性对照组肌纤维肿胀、肌组织内瘀血、水肿、出血灶基本消失, 血管增生、胶原纤维增生与正常组织相比已基本恢复 (图 3-C、D); 模型组有的可见部分肌纤维肿胀, 有的可见白细胞弥漫性浸润 (图 3-E)。

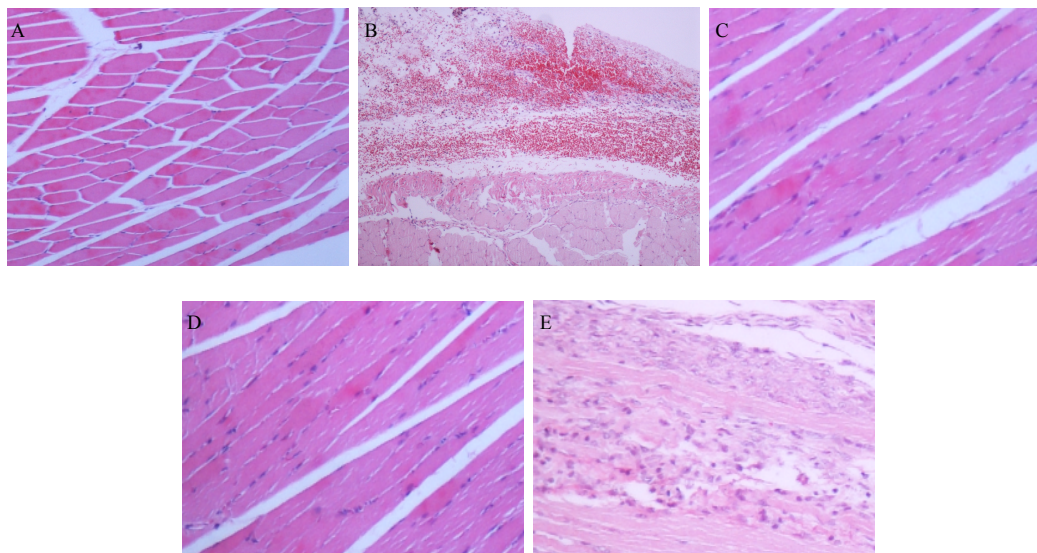


图 3 正常对照组 (A)、造模 24 h 后 (B)、PNS 传递体实验组 (C)、青鹏软膏组 (D) 和模型组 (E)

Fig. 3 Normal control group (A), 24 h after model established (B), PNS transfersomes test group (C), positive control group with Qingpeng Ointment (D), and model group (E)

3 讨论

本研究以 PNS 为模型药物, 采用薄膜分散法制备 PNS 传递体经皮给药制剂, 并通过均匀设计法对传递体的处方进行了优化, 所制得的传递体粒径适宜, 弹性及包封率优良。同时药效学实验结果表明,

PNS 传递体对大鼠急性软组织损伤有良好的治疗和修复作用, 明显缩短其治疗周期, 具有活血、抗炎和改善血液流变学等作用。

根据文献报道提示挥发油具有柔化脂质体与增加皮肤通透性 2 方面性质^[15-16], 在本制剂处方中选

用混合中药挥发油作为边缘活化剂,有效提高了传递体的变形性。与传统的边缘活化剂(胆酸盐、吐温类等表面活性剂)相比中药挥发油皮肤刺激性小,更加安全;在制备中与脂质材料有更好的相容性。

以往对于囊泡制剂的处方工艺研究,大多以药物包封率作为指标进行处方工艺优选^[17-19]。然而,本实验中制得的PNS传递体药物包封率较高,不同处方工艺所得样品包封率无显著差异,故药物包封率在本实验中不适宜作为处方工艺优选的指标。此外囊泡制剂用于经皮给药时,优良的弹性对于提高药物的经皮渗透速率起到了至关重要的作用。因此本实验中选用传递体弹性作为优选指标较为合适。

本研究仅从模型动物的损伤症候指数、血液流变学及组织形态学方面证实了PNS传递体对急性软组织损伤的治疗作用,而未进行炎症因子及损伤修复因子等的检测,无法对上述治疗作用的机制进行深入探讨,故这方面的研究有待进一步开展。

参考文献

- [1] 陈斌,许慧琳,贾晓斌.三七炮制研究进展与研究思路[J].中草药,2013,44(4):482-487.
- [2] 付开礼.三七总皂苷在骨科的药理与临床研究进展[J].云南中医中药杂志,2006,27(2):49-51.
- [3] Cevc G, Blume G. Lipid vesicles penetrate into intact skin owing to transdermal osmotic gradients and hydration force[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1992, 1104(1): 226-232.
- [4] Cevc G, Schatzlein A, Richardsen H. Ultradeformable lipid vesicles can penetrate the skin and other semi-permeable barriers unfragmented: Evidence from double label CLSM experiments and direct size measurements[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1564(1): 21-30.
- [5] Lei W, Yu C Q, Lin H Q, *et al.* Development of tacrolimus-loaded transfersomes for deeper skin penetration enhancement and therapeutic effect improvement in vivo[J]. *Asian J Pharm Sci*, 2013, 8(6): 336-345.
- [6] Malakar J, Sen S O, Nayak A K, *et al.* Formulation, optimization and evaluation of transferosomal gel for transdermal insulin delivery[J]. *Saudi Pharm J*, 2012, 20(4): 355-363.
- [7] Chaudhary H, Kohli K, Kumar V. Nano-transfersomes as a novel carrier for transdermal delivery[J]. *Int J Pharm*, 2013, 454(1): 367-380.
- [8] Bavarsad N, Fazly Bazzaz B S, Khamesipour A, *et al.* Colloidal, *in vitro* and *in vivo* anti-leishmanial properties of transfersomes containing paromomycin sulfate in susceptible BALB/c mice[J]. *Acta Tropica*, 2012, 124(1): 33-41.
- [9] Duangjit S, Opanasopit P, Rojanarata T, *et al.* Evaluation of meloxicam-loaded cationic transfersomes as transdermal drug delivery carriers[J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2013, 14(1): 133-140.
- [10] 张亚军,杨建宏,韩娇娇,等.在体皮肤微透析技术评价苦参碱传递体的透皮释药性能[J].中草药,2013,44(23):3341-3345.
- [11] 方蓉,郑杭生,陈思思.离体皮肤渗透法测定三七总皂苷传递体经皮吸收特性[J].中草药,2015,46(4):513-519.
- [12] 方蓉,郑杭生,李范珠,等.HPLC法测定三七总皂苷传递体中2个成分的含量和包封率[J].药物分析杂志,2014,34(2):264-268.
- [13] 马忆南.闭合性软组织损伤造模方法及存在问题的研究[J].中国现代医学杂志,2014,24(3):20-23.
- [14] 韩学哲,崔刚,刘传镐,等.展筋活血散对大鼠软组织损伤的影响[J].中药药理与临床,2014,30(6):151-154.
- [15] El Maghraby G M, Williams A C, Barry B W. Interactions of surfactants (edge activators) and skin penetration enhancers with liposomes[J]. *Int J Pharm*, 2004, 276(1/2): 143-161.
- [16] Dragicevic-Curic N, Scheglmann D, Albrecht V, *et al.* Temoporfin-loaded invasomes: Development, characterization and *in vitro* skin penetration studies[J]. *J Controlled Release*, 2008, 127(1): 59-69.
- [17] 郑杭生,黄绳武,李范珠,等.盐酸青藤碱脂质体的制备工艺研究[J].中草药,2013,44(4):408-413.
- [18] 李莎莎,宋艳丽,危红华,等.传明酸传递体的制备及其性质考察[J].中草药,2013,44(22):3141-3146.
- [19] 袁海玲,胡继民,魏玉辉,等.布洛芬乙醇脂质体的制备及体外透皮特性研究[J].中国新药杂志,2013,22(3):351-354.