

一种新型离子液体-纳米乳抗疔中药凝胶贴膏的制备、表征及药效学研究

桂胜彬¹, 张静^{1#}, 陈子超², 刘名玉^{1*}, 张振^{1*}

1. 山东中医药大学中医药创新研究院, 山东 济南 250355

2. 山东中医药大学 实验中心, 山东 济南 250355

摘要: 目的 制备一种新型离子液体纳米乳凝胶贴膏 (ionic liquid-based nanoemulsion gel paste, IL-NGP), 用于抗疔中药复方 (anti-furuncle herbal combinations, FHC) 提取物经皮给药治疗疔痈。方法 以棕榈酸异丙酯为油相, 筛选出聚山梨酯-80 为乳化剂, 丙二醇为助乳化剂, 采用油、乳化剂和助乳化剂的用量为考察因素, 纳米乳 (nanoemulsions, NEs) 的粒径和多分散指数 (polydispersity index, PDI) 为考察指标, 使用 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface method, BBD-RSM) 优化 NEs 的处方, 并对最佳处方进行验证。将胆碱碳酸氢盐-己烯酸离子液体 (ionic liquid, IL) 引入 NEs, 形成 IL-NEs。以感官评价、初黏力、持黏力为评价指标, 通过单因素试验考察各辅料及 IL-NEs 用量, 优化出最佳 IL-NGP 处方。通过稳定性试验、皮肤渗透试验和抗菌活性测定对 IL-NGP 进行体外评价, 并采用药效学模型、疼痛模型和小鼠耳肿胀模型考察 IL-NGP 的体内疔痈治疗效果。结果 成功制备了 IL-NGP, 其稳定性良好, 与传统凝胶膏 (gel paste, GP) 相比, IL-NGP 的抑菌效果提高 1.32 倍, 其在 48 h 内的蟾毒灵释放量提高 2.42 倍, 并对二甲苯致小鼠耳肿胀、扭体疼痛、小鼠肉芽棉球增生、角叉菜胶引起的大鼠足趾肿胀有较好的抑制作用。结论 将传统中药方 FHC 制备成一种新型经皮递送的离子液体基质的 NGP, 其透皮性能优良, 疔痈治疗效果显著。

关键词: 纳米乳凝胶膏; 离子液体; Box-Behnken 设计-响应面法; 经皮给药; 抗疔痈; 中药复方提取物

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2025)10-3473-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.10.007

Preparation, characterization and pharmacodynamics of a novel ionic liquid-nanoemulsion anti-furuncle herbal gel paste

GUI Shengbin¹, ZHANG Jing¹, CHEN Zichao², LIU Mingyu¹, ZHANG Zhen¹

1. Innovation Institute of Chinese Medicine and Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

2. Experimental Center, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

Abstract: Objective To develop a novel ionic liquid-based nanoemulsion gel paste (IL-NGP) for the transdermal delivery of anti-furuncle herbal combination (FHC) extracts in the treatment of furunculosis. **Methods** Isopropyl palmitate was used as the oil phase, and Tween-80 as the surfactant with propylene glycol as the co-surfactant. The mass ratios of oil, surfactant, and co-surfactant were considered as factors, while the particle size and polydispersity index (PDI) of the nanoemulsions (NEs) were the evaluation indicators. The Box-Behnken design-response surface methodology (BBD-RSM) was applied to optimize the formulation of NEs, and the optimal formulation was validated. Choline bicarbonate-hexenoic acid ionic liquid (IL) was introduced into NEs to form IL-NEs. Sensory evaluation, initial adhesion, and retention adhesion were used as assessment indices, and the effects of different excipients and IL-NEs content were studied through single-factor experiments to optimize the best IL-NGP formulation. The IL-NGP was evaluated *in vitro* through stability tests, skin permeability tests, and antimicrobial activity assays. *In vivo* efficacy was assessed through pharmacological

收稿日期: 2025-01-17

基金项目: 国家自然科学基金项目 (21775061); 山东省泰山青年学者计划 (tsqn202211136); 山东省高等学校青创人才引育计划 (2021505031); 济南市高校 20 项创新计划项目 (202228085); 山东省自然科学基金项目 (ZR2022QH159)

作者简介: 桂胜彬, 硕士研究生, 研究方向为中药制剂研究。E-mail: CG17630959831@163.com

#共同第一作者: 张静, 硕士, 研究方向为中药药效物质基础与药物创新。E-mail: zj9812123@163.com

*通信作者: 刘名玉, 讲师, 研究方向为中药新剂型与新制剂研究。E-mail: liumingyu123123@126.com

张振, 教授, 研究方向为中药药效物质基础与药物创新。E-mail: zhangzhen19801981@126.com

models, pain models, and mouse ear edema models to evaluate the therapeutic effects on furunculosis. **Results** The IL-NGP was successfully prepared with good stability. Compared to traditional gel paste (GP), IL-NGP exhibited a 1.32 times higher antibacterial effect and a 2.42 times higher bufalin release within 48 h, and showed better inhibition on xylene-induced mouse ear edema, writhing pain, granuloma formation in mice, and carrageenan-induced rat paw edema. **Conclusion** The traditional Chinese medicine formula FHC was developed into a novel transdermal ionic liquid-based NGP, exhibiting excellent skin permeability and significant therapeutic effects in furunculosis treatment.

Key words: nanoemulsion gel paste; ionic liquid; Box-Behnken design-response surface methodology; transdermal drug delivery; antifurunculosis; traditional Chinese medicine formula extracts

疖是一种由毛囊和周围组织化脓性炎症引起的皮肤病,通常由金黄色葡萄球菌感染引发^[1-2]。其典型表现为组织肿胀、化脓性炎症等,严重者可引发毒血症、败血症等^[3-4]。目前,临床治疗主要依赖抗生素如莫匹罗星,或通过手术干预,然而这可能导致抗生素耐药性、感染复发等^[5]。因此,探索新的治疗方案具有一定的研究意义。

透皮给药作为一种能够有效穿透皮肤屏障、直接作用于感染部位的治疗途径,展示出其巨大的研究价值。天然来源的活性成分在治疗疖疮方面具有良好的疗效及较高的生物安全性,因而成为值得关注的治疗选择。抗疖中药复方(anti-furuncle herbal combinations, FHC)源自传统中药方剂“喉症丸”,该方最初受到古方“雷允上涌芬堂方”的启发,具有清热解毒的功效,可有效缓解疖肿等感染性疾病引起的局部炎症反应,促进组织修复。FHC 主要成分包括板蓝根、人工牛黄、冰片、猪胆粉、玄明粉、青黛、雄黄、硼砂、蟾酥和百草霜^[6-7]。现代医学研究表明,FHC 中的多种成分已被证实具有抑制金黄色葡萄球菌的活性,并能发挥消炎镇痛作用^[8-10]。因此,将 FHC 开发为新型透皮制剂用于治疗疖病,具有较好的临床应用潜力。

皮肤屏障在一定程度上限制了某些中药化物的有效性,导致药物渗透受限、需要频繁给药^[11]。纳米乳液凝胶膏(nanoemulsion gel paste, NGP)作为一种药物递送载体,因其能够改善药物渗透性、增加吸收能力,尤其是在解决皮肤应用过程中低黏度问题方面具有显著优势^[12]。然而,在 NGP 系统中某些活性成分可能在给药后迅速大量释放,这为药物的稳定性和持续释放带来了挑战。为解决这些问题,选择合适的乳化剂和稳定剂以优化配方显得尤为重要。

离子液体(ionic liquids, ILs)是由阳离子和阴离子组成的有机盐,能够通过调节药物的溶解度和稳定性,增强透皮吸收^[13]。将离子液体与纳米乳液

结合形成凝胶制剂,不仅可以确保药物的稳定性和缓释效果,还能提高药物在局部应用部位的滞留时间和吸收效率^[14]。

尽管 FHC 用于治疗疖肿等化脓性皮肤感染具有确切疗效,但存在生物利用度低、局部给药不便、药物渗透性差等局限性,难以充分发挥药效。因此本研究提出了一种基于离子液体的纳米乳凝胶贴膏用于经皮递送 FHC 提取物。利用离子液体的高渗透性及纳米乳贴膏的高黏性,增强皮肤渗透性和提高活性成分释放量及其生物利用度,旨在突破传统制剂在药物释放与局部递送方面的瓶颈,以期构建更加安全、高效、便捷的新型中药外用制剂。本实验选用棕榈酸异丙酯作为油相,聚山梨酯-80 作为乳化剂,丙二醇作为助乳化剂与水相混合制备纳米乳(nanoemulsions, NEs)以包载 FHC 提取物;将 IL 附着在 NEs 的表面形成离子液体纳米乳(IL-NEs),优化 IL-NGP 的处方,成功制备了 IL-NGP。通过体外评价,表明 IL-NGP 具有良好的稳定性、皮肤渗透性和抗菌活性。在动物模型中,IL-NGP 对小鼠的肿胀和疼痛表现出显著的治疗效果。本研究成功将 FHC 提取物开发为一种新型的经皮递送离子液体基质的纳米乳凝胶贴膏,其具有良好的经皮渗透性和疖病治疗效果,为中药复方经皮给药新剂型的研究提供了实验基础。

1 仪器与材料

1.1 主要仪器

U3000-Q Exactive Focus 型高分辨率液质联用分析仪、A51119600 型酶标仪、Quanta™ 450 PEG 型扫描电子显微镜(SEM),赛默飞世尔科技有限公司;1260 Infinity III 型高效液相色谱仪,安捷伦科技有限公司;HT7800 型透射电子显微镜(TEM),株式会社日立制作所;Leica RM225 型石蜡切片机,徠卡仪器有限公司;ZSU3100 型纳米粒度及电位分析仪,上海思百吉仪器系统有限公司;EX125DZH 型电子天平,奥豪斯仪器有限公司;FJ-200 型高速

分散均质机, 常州国宇仪器制造有限公司。

1.2 菌株

金黄色葡萄球菌(批号 SJ01139), 购自上海土峰生物科技有限公司。

1.3 药品与试剂

板蓝根(批号 2301011232)、人工牛黄(批号 Z10950107)、冰片(批号 220402)、猪胆粉(批号 81342303)、玄明粉(批号 2209018309)、青黛(批号 202204026)、雄黄(批号 1231001)、硼砂(批号 2106010417)、蟾酥(批号 20230401-01)、百草霜(批号 C202209001)均购自于山东中医药大学附属医院, 且经过山东中医药大学药学院张芳教授鉴定, 板蓝根为十字花科菘蓝属植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根, 人工牛黄 *Bovis Calculus Artificialis* 为由牛胆粉、胆酸、猪去氧胆酸、牛磺酸、胆红素、胆固醇、微量元素等加工制成, 冰片 *Borneolum Syntheticum* 为无色透明或白色半透明的片状松脆结晶, 猪胆粉为猪科野猪属哺乳动物猪 *Sus scrofa domestica* Brisson. 胆汁的干燥品, 玄明粉 *Natrii Sulfas Exsiccatus* 为芒硝经风化干燥制得[主含硫酸钠(Na_2SO_4)], 青黛为十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的叶或茎叶经加工制得的干燥粉末、团块或颗粒, 雄黄 *Realgar* 为硫化物类矿物雄黄族雄黄[主含二硫化二砷(As_2S_2)], 硼砂 *Borax* 为四硼酸钠($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), 蟾酥为蟾蜍科动物中华大蟾蜍 *Bufo bufo gargarizans* Cantor 的干燥分泌物, 百草霜 *Fuligo Plantae* 为稻草、麦秸、杂草燃烧后附于锅底或烟囱内的黑色烟灰。

盐酸(批号 10011018)、一水合柠檬酸(批号 10007118)、丙二醇(批号 30157018)、氢氧化铝(批号 20001060)、聚山梨酯-80(批号 30189828)、司盘-80(批号 30170828)和氧化锌(批号 10023918)购自于国药化学试剂有限公司; 氮酮(批号 20220115)购自于河南千特路化工产品有限公司; 乙醇(批号 DR-200923-3)购自于天津富宇精细化工有限公司; 甘油(批号 A501745-0500)购自于上海生工生物技术有限公司; 乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na, 批号 E8030)购自于湖北诺纳科技有限公司; 聚乙烯吡咯烷酮 K90 (PVP-K90, 批号 MB1925-1)购自于郑州博利安贸易有限公司; 羧甲基纤维素钠(CMC-Na, 批号 C104986)、聚丙烯酸钠(批号 S165277)、阿拉伯胶(A108975)购自于上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 棕榈酸异丙酯

(批号 S61528)、反式-2-己烯酸(批号 S30466)、胆酸(批号 B20274)、华蟾酥毒基(批号 B20542)购自于上海源叶生物科技有限公司; 巴豆油(批号 20220924)、松节油(批号 T819574)和色谱甲醇(批号 M813904)购自于上海麦克林生化有限公司; 蟾毒灵(批号 MB1178-1)购自于大连美仑生物技术有限公司; 告依春(批号 BP0543-1)购自于成都普瑞法科技开发有限公司; 靛玉红(批号 PS2608-0020)购自于普思生物科技有限公司; 胆碱碳酸氢盐(批号 A078739)购自于郑州阿尔法化工有限公司; 所有其他试剂和化学品均为分析级试剂。

1.4 动物

SPF 昆明(KM)小鼠(体质量 13~24 g)和 SD 大鼠(体质量 180~220 g)购自济南朋悦实验动物繁育有限公司。根据国际实验动物委员会的指导, 将小鼠置于标准环境条件[温度(25 ± 3) $^{\circ}\text{C}$, 湿度(55 ± 5)%, 12 h 明暗循环]下, 自由饲喂标准啮齿动物饲料和水。所有的动物实验都是在动物适应新环境 1 周后开始的。所有程序经山东中医药大学实验动物伦理委员会批准, 批准文号 SDUTCM20230309001。

2 方法与结果

2.1 FHC 提取物的制备和 UPLC-Q-Exactive-MS/MS 技术分析其主要活性成分

称取各药材(板蓝根 420 g、猪胆粉 400 g、雄黄 46 g、百草霜 16 g、牛黄 30 g、玄明粉 20 g、硼砂 20 g、冰片 14 g、青黛 12 g、蟾酥 40 g)混合, 水浸泡 30 min, 采用 10 倍量水回流提取 1 h, 再以 85%乙醇加热回流进行二次提取, 合并水提液与醇提液, 经浓缩、过筛后冻干, 制得药物提取物冻干粉, 并于室温干燥条件下保存。

为鉴别 FHC 提取物中的主要活性成分, 采用 UPLC-Q-Exactive-MS/MS 技术对其提取物进行分析, 正、负离子模式下的总离子流图如图 1 所示。通过质谱数据共鉴定出主要化学成分 11 种(表 1, 表中峰号对应图 1 中相应峰号), 包括蟾毒灵、芹菜素、蟾毒它灵、华蟾酥毒基、表告依春、日蟾毒它灵、靛玉红、紫花前胡苷、酯蟾毒配基、大黄素、牡荆素。

2.2 FHC 提取物中蟾毒灵定量测定方法的建立

2.2.1 对照品溶液的制备 称取蟾毒灵对照品 5.0 mg, 精密称定, 用甲醇溶解并定容至 10 mL 量瓶中, 得 0.5 mg/mL 蟾毒灵对照品溶液。

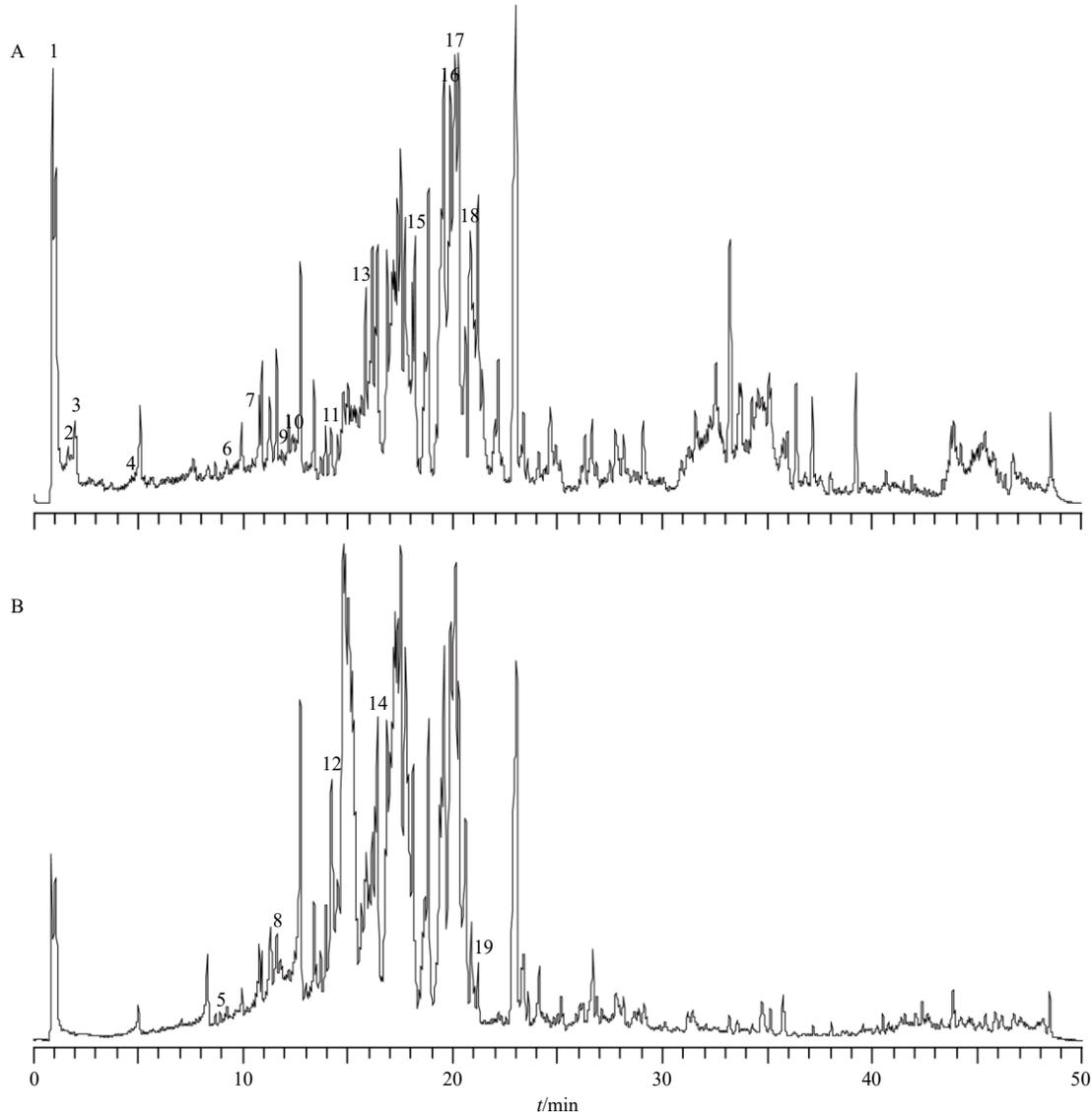


图 1 正离子模式 (A) 和负离子模式 (B) 下 FHC 的总离子流图
 Fig. 1 Total ion flow chromatogram of FHC in positive (A) and negative (B) ion modes

表 1 FHC 化学成分结构鉴定

Table 1 Structure identification of chemical components in FHC

| 峰号 | 成分名称 | <i>t_R</i> / min | 分子式 | 相对分 子质量 | 测量质荷比 | | 理论质荷比 | | 碎片离子 | 备注 | PubChem CID |
|----|-------|-------------------------------|---|------------|---------|-----|---------|-----|------------------------|-----|----------------|
| | | | | | 阳离子 | 阴离子 | 阳离子 | 阴离子 | | | |
| 3 | 表告伊春 | 2.29 | C ₅ H ₇ NOS | 129.18 | 130.065 | 19 | 130.032 | 11 | 70.065 89, 84.045 00 | M+H | 3032313 |
| 5 | 牡荆素 | 8.96 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀ | 432.40 | | | 431.098 | 36 | 283.061 46, 311.056 27 | M-H | 5280441 |
| 6 | 紫花前胡苷 | 9.76 | C ₂₀ H ₂₄ O ₉ | 408.40 | 409.180 | 91 | 409.149 | 31 | 247.096 27, 229.085 74 | M+H | 73191 |
| 7 | 日蟾毒它灵 | 10.81 | C ₂₄ H ₃₄ O ₅ | 402.50 | 403.247 | 31 | 403.247 | 90 | 303.209 05, 349.215 39 | M+H | 259803 |
| 12 | 芹菜素 | 14.34 | C ₁₅ H ₁₀ O ₅ | 270.24 | 271.059 | 78 | 271.060 | 10 | 153.018 10, 119.049 48 | M+H | 5280443 |
| 13 | 蟾毒它灵 | 15.80 | C ₂₆ H ₃₆ O ₆ | 444.60 | 445.258 | 21 | 445.258 | 46 | 349.215 73, 367.226 20 | M+H | 12302120 |
| 15 | 蟾毒灵 | 18.20 | C ₂₄ H ₃₄ O ₄ | 386.50 | 387.252 | 41 | 387.252 | 99 | 225.210 34, 81.070 44 | M+H | 9547215 |
| 16 | 华蟾酥毒基 | 19.67 | C ₂₆ H ₃₄ O ₆ | 442.50 | 443.242 | 31 | 443.242 | 82 | 105.071 07, 365.210 75 | M+H | 11969542 |
| 17 | 酯蟾毒配基 | 20.19 | C ₂₄ H ₃₂ O ₄ | 384.50 | 385.236 | 91 | 385.237 | 34 | 253.194 46, 367.226 23 | M+H | 6917974 |
| 18 | 靛玉红 | 20.47 | C ₁₆ H ₁₀ N ₂ O ₂ | 262.26 | 263.081 | 33 | 263.081 | 50 | 219.091 47, 235.086 32 | M+H | 10177 |
| 19 | 大黄素 | 21.78 | C ₁₅ H ₁₀ O ₅ | 270.24 | | | 269.045 | 81 | 225.055 15, 106.910 34 | M-H | 3220 |

2.2.2 供试品溶液的制备 称取 FHC 冻干粉 150.0 mg, 精密称定, 用甲醇超声 (150 W) 溶解并定容至 10 mL 量瓶中, 得供试品溶液。

2.2.3 HPLC 色谱条件 采用 Agilent 1260 Infinity II 型高效液相色谱系统, 配备 Agilent C₁₈ 反相色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水体系 (50:50); 柱温 30 °C; 检测波长 296 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μL。

2.2.4 线性关系考察 量取“2.2.1”项下对照品溶液 0.25、0.50、1.25、2.50、5.00 mL, 分别置于 25 mL 量瓶中, 甲醇定容, 制备系列质量浓度对照品溶液。按照“2.2.3”项下色谱条件进样分析, 以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 进行线性回归, 得回归方程 $Y=8.47X-22.26$, $R^2=0.9995$, 结果表明, 蟾毒灵在 5~100 μg/mL 呈良好的线性关系。

2.2.5 精密度试验 取“2.2.1”项下对照品溶液适量, 按照“2.2.3”项下色谱条件连续进样 6 次, 记录峰面积。测得蟾毒灵峰面积的 RSD 为 1.32%, 表明该仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 取“2.2.2”项下供试品溶液适量, 分别在室温下放置 0、2、4、6、8、12、24 h, 按照“2.2.3”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 结果蟾毒灵峰面积的 RSD 为 0.27%, 表明供试品溶液在室温放置 24 h 内稳定性良好。

2.2.7 重复性试验 精密量取 FHC 样品 6 份, 按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.2.3”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算蟾毒灵含量。结果蟾毒灵的平均质量分数为 1.02 μg/mg, RSD 为 0.67%, 表明该方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 称取 FHC 冻干粉 150.0 mg, 精密称定, 用甲醇超声 (150 W) 溶解并定容至 10 mL 量瓶后精密吸取 6 份, 每份 200 μL, 分别加入“2.2.1”项下对照品溶液 10 μL, 随后在“2.2.3”项下规定的色谱条件下进样测定, 记录峰面积, 代入线性方程中计算蟾毒灵质量浓度。结果蟾毒灵的平均加样回收率为 103.87%, RSD 为 1.98%, 表明该试验加样回收率较好。

2.2.9 样品测定 按照“2.2.2”项下方法制备各待测样品的供试品溶液, 按照“2.2.3”项下色谱条件进样测定, 并依据“2.2.4”项下回归方程计算得到 FHC 冻干粉中的蟾毒灵的平均质量分数为 0.107%, RSD 为 0.004%。

2.3 IL-NGP 的制备

2.3.1 NEs 制备处方工艺优化 棕榈酸异丙酯作为 NEs 的油相。为筛选乳化剂与助乳化剂, 采用饱和溶解度法。取 6 份过量 FHC 冻干粉, 分别加入 5 g 聚山梨酯-80、司盘-80、阿拉伯胶饱和液、丙二醇、乙醇和甘油, 涡旋超声溶解后, 于 37 °C 恒温振荡 48 h。经 12 000 r/min 离心 (离心半径 8.4 cm) 10 min 和 0.22 μm 滤膜滤过后, 采用 HPLC 法测定滤液中蟾毒灵的溶解度。后续研究以蟾毒灵在各辅料中的溶解度作为选择乳化剂和助乳化剂的依据。表 2 展示了蟾毒灵在几种选定乳化剂和助乳化剂中的溶解度顺序: 聚山梨酯-80>阿拉伯胶>司盘-80, 丙二醇>乙醇>甘油。因此, 选择聚山梨酯-80 作为乳化剂, 丙二醇作为助乳化剂。

表 2 蟾毒灵在乳化剂和助乳化剂中的溶解度 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 2 Solubility of bufalin in various surfactants and co-surfactants ($\bar{x} \pm s, n=3$)

| 乳化剂 | 溶解度/(μg·g ⁻¹) | 助乳化剂 | 溶解度/(μg·g ⁻¹) |
|---------|---------------------------|------|---------------------------|
| 聚山梨酯-80 | 15.67±0.07 | 丙二醇 | 21.25±0.04 |
| 司盘-80 | 7.99±0.01 | 乙醇 | 16.11±0.06 |
| 阿拉伯树胶 | 5.53±0.02 | 丙三醇 | 4.96±0.02 |

NEs 的基础工艺为将 5 g FHC 提取物冻干粉准确称定质量, 加入 25 g 棕榈酸异丙酯中超声溶解。加入 30 g 聚山梨酯-80 和 15 g 丙二醇, 250 r/min 旋转 10 min, 将所得混合物加入 100 g 磁搅拌水中, 即得 NEs。

采用 Design Expert 软件 (8.0.6 版), 基于 3 因素 3 水平 Box-Behnken 设计进行工艺优化。选取棕榈酸异丙酯 (X₁, 油相) 用量、聚山梨酯-80 (X₂, 乳化剂) 用量和丙二醇 (X₃, 助乳化剂) 用量作为自变量, 分别设定 3 个水平: 油相 (用量 10%、25%、40%)、乳化剂 (用量 20%、30%、40%) 和助乳化剂 (用量 10%、15%、20%)。以纳米乳的粒径 (Y₁) 和多分散指数 (PDI, Y₂) 为响应值, 软件自动生成 17 组随机化实验方案。通过实验测定各组纳米乳的粒径和 PDI 值, 利用软件进行模型拟合分析, 建立数学模型并预测最优处方^[15]。为验证模型可靠性, 按预测最优处方平行制备 3 批纳米乳, 比较粒径和 PDI 的预测值与实测值的偏差, 评估模型的预测准确性。表 3 总结了油相用量 (X₁)、乳化剂用量 (X₂) 和助乳化剂用量 (X₃) 3 个独立变量对 NEs 粒径 (Y₁) 及 PDI (Y₂) 的影响, 通过响应面分析法构建三维响应曲面 (图 2), 直观呈现各因素对 Y₁、Y₂ 的交互

表3 NEs配方的实验设计与响应值结果

Table 3 Experimental design and response results of NEs

| 处方 | X ₁ /% | X ₂ /% | X ₃ /% | Y ₁ /nm | Y ₂ | 处方 | X ₁ /% | X ₂ /% | X ₃ /% | Y ₁ /nm | Y ₂ |
|----|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|----------------|----|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|----------------|
| 1 | 40 | 30 | 20 | 33.15±1.05 | 0.39±0.01 | 10 | 25 | 30 | 15 | 25.45±0.06 | 0.36±0.00 |
| 2 | 25 | 30 | 15 | 27.17±0.28 | 0.38±0.02 | 11 | 40 | 40 | 15 | 70.77±1.90 | 0.53±0.11 |
| 3 | 10 | 30 | 20 | 29.50±0.29 | 0.38±0.01 | 12 | 40 | 30 | 10 | 41.13±0.07 | 0.38±0.02 |
| 4 | 25 | 30 | 15 | 23.75±0.15 | 0.36±0.00 | 13 | 25 | 20 | 10 | 59.64±0.28 | 0.44±0.01 |
| 5 | 10 | 40 | 15 | 48.85±0.79 | 0.50±0.08 | 14 | 10 | 20 | 15 | 64.19±0.13 | 0.48±0.00 |
| 6 | 40 | 20 | 15 | 23.79±0.16 | 0.35±0.02 | 15 | 25 | 30 | 15 | 24.03±0.12 | 0.37±0.00 |
| 7 | 25 | 20 | 20 | 24.55±0.16 | 0.36±0.01 | 16 | 25 | 30 | 15 | 25.03±0.32 | 0.37±0.01 |
| 8 | 25 | 40 | 10 | 68.64±0.15 | 0.50±0.00 | 17 | 25 | 40 | 20 | 49.12±0.18 | 0.47±0.00 |
| 9 | 10 | 30 | 10 | 64.05±0.18 | 0.48±0.01 | | | | | | |

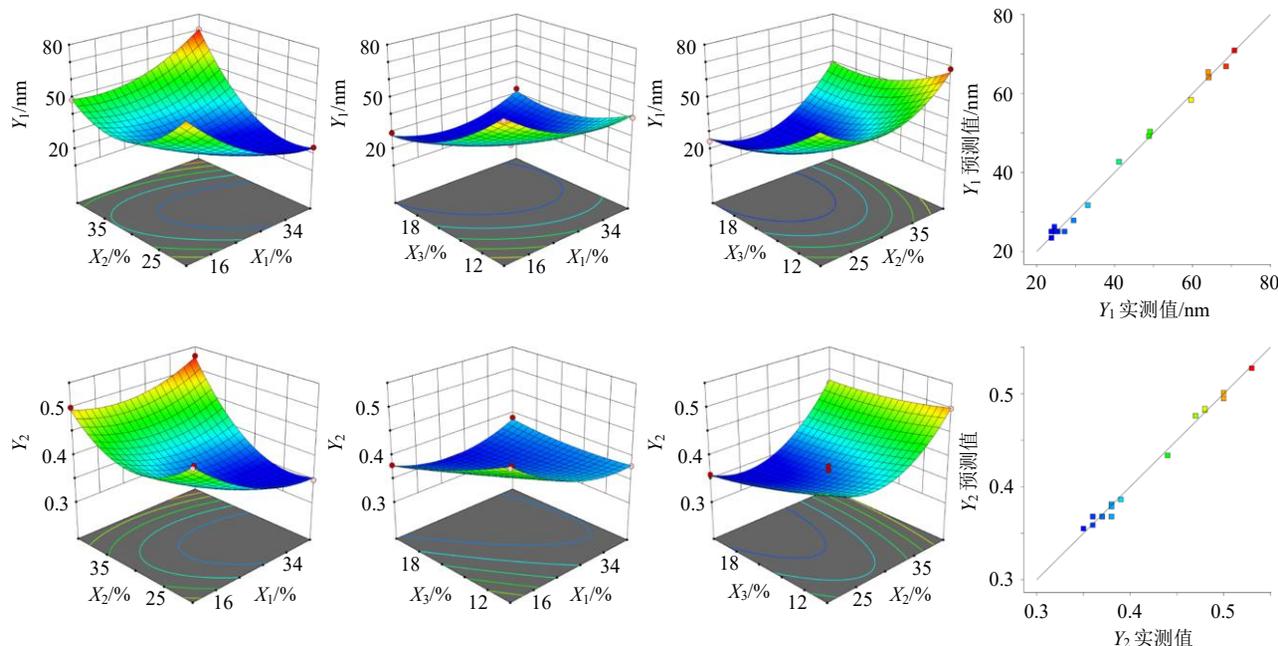


图2 油、乳化剂和助乳化剂用量对 Y₁ 和 Y₂ 的影响及其实际值与预测值的对比图

Fig. 2 Effect of oil, emulsifier, and co-emulsifier dosage on Y₁ and Y₂, and a comparison of actual values versus predicted values

影响。为验证模型可靠性，绘制了 NEs 粒径及 PDI 预测值与实测值的相关性曲线，结果表明模型具有良好的拟合优度和预测准确性。结合实验数据，软件拟合得到二次模型的公式如下： $Y_1 = 25.09 - 4.72 X_1 + 8.15 X_2 - 12.14 X_3 + 15.58 X_1 X_2 + 6.64 X_1 X_3 + 3.89 X_2 X_3 + 9.14 X_1^2 + 17.67 X_2^2 + 7.73 X_3^2$ ； $Y_2 = 0.37 - 0.024 X_1 + 0.047 X_2 - 0.025 X_3 + 0.04 X_1 X_2 + 0.027 X_1 X_3 + 0.014 X_2 X_3 + 0.03 X_1^2 + 0.066 X_2^2 + 0.009 06 X_3^2$ 。表 4 方差分析结果表明，二次模型对响应 Y₁ 和 Y₂ 的拟合效果均表现出优越性。对于 Y₁，模型显著性检验显示 X₁、X₂、X₃、X₁X₂、X₁X₃、X₂X₃、X₁²、X₂² 和 X₃² 均为显著项 (P<0.05)，整体模型的 F 值为 154.41 (P<0.05)，表明模型具有统计显著性；失拟项的 F 值为 3.40 (P=0.5345)，表明拟合质量

较好。模型的决定系数 R² 为 0.995 0，验证了其优异的拟合性能，预测 R² 值为 0.988 5，进一步证明了模型在预测 Y₁ 时的准确性和稳健性。对于 Y₂，方差分析结果显示，3 个因素及二次模型同样具有显著性强 (F 值为 70.92)，决定系数 R² 为 0.989 2，表明模型能很好地解释实验数据的变化；失拟项检验结果进一步验证了模型的优良拟合质量，显示模型拟合误差与纯误差相比无显著差异。

综上所述，二次模型在预测 Y₁ 和 Y₂ 时均表现出较高可靠性和准确性。采取满意度函数对各工艺评分^[16]，设定粒径 (Y₁) 在 20~50 nm 为目标范围，PDI (Y₂) 在 0.35~0.40 为目标范围，且 Y₁、Y₂ 的权重均为 0.5。经计算得出当使用油相 (棕榈酸异丙酯) 25%、乳化剂 (聚山梨酯-80) 30%和助乳化剂

表4 Y₁、Y₂的二次模型、实验因素方差分析及显著性评估结果

Table 4 Results of quadratic model and factor analysis of variance (ANOVA) with significance evaluation for Y₁, Y₂

| 项目 | 自由度 | Y ₁ | | | | | Y ₂ | | | | |
|-------------------------------|-----|----------------|----------|--------|----------|-----|-----------------------|-----------------------|--------|----------|-----|
| | | 平方和 | 均方 | F | P | 显著性 | 平方和 | 均方 | F | P | 显著性 |
| 模型 | 9 | 5 200.46 | 577.83 | 154.41 | <0.000 1 | 显著 | 0.061 0 | 6.81×10 ⁻³ | 70.92 | <0.000 1 | 显著 |
| X ₁ | 1 | 178.23 | 178.23 | 47.63 | 0.000 2 | 显著 | 4.62×10 ⁻³ | 4.62×10 ⁻³ | 48.17 | 0.000 2 | 显著 |
| X ₂ | 1 | 531.54 | 531.54 | 142.04 | <0.000 1 | 显著 | 1.80×10 ⁻² | 1.80×10 ⁻² | 185.34 | <0.000 1 | 显著 |
| X ₃ | 1 | 1 179.28 | 1 179.28 | 315.13 | <0.000 1 | 显著 | 4.98×10 ⁻³ | 4.98×10 ⁻³ | 51.84 | 0.000 2 | 显著 |
| X ₁ X ₂ | 1 | 970.95 | 970.95 | 259.46 | <0.000 1 | 显著 | 6.31×10 ⁻³ | 6.31×10 ⁻³ | 65.78 | <0.000 1 | 显著 |
| X ₁ X ₃ | 1 | 176.62 | 176.62 | 47.20 | 0.000 2 | 显著 | 2.87×10 ⁻³ | 2.87×10 ⁻³ | 29.94 | 0.000 9 | 显著 |
| X ₂ X ₃ | 1 | 0.61 | 0.61 | 16.20 | 0.005 0 | 显著 | 7.70×10 ⁻⁴ | 7.70×10 ⁻⁴ | 8.02 | 0.025 3 | 不显著 |
| X ₁ ² | 1 | 351.80 | 351.80 | 94.01 | <0.000 1 | 显著 | 3.84×10 ⁻³ | 3.84×10 ⁻³ | 40.04 | 0.000 4 | 显著 |
| X ₂ ² | 1 | 1 315.13 | 1 315.13 | 351.43 | <0.000 1 | 显著 | 0.018 0 | 0.018 0 | 190.18 | <0.000 1 | 显著 |
| X ₃ ² | 1 | 251.48 | 251.48 | 67.20 | <0.000 1 | 显著 | 3.46×10 ⁻⁴ | 3.46×10 ⁻⁴ | 3.60 | 0.099 5 | 不显著 |
| 残差 | 7 | 26.20 | 3.74 | | | | 6.72×10 ⁻⁴ | 9.60×10 ⁻⁵ | | | |
| 失拟项 | 3 | 18.82 | 6.27 | 3.40 | 0.134 0 | 不显著 | 2.62×10 ⁻⁴ | 8.72×10 ⁻⁵ | 0.85 | 0.534 5 | 不显著 |
| 净误差 | 4 | 0.74 | 1.84 | | | | 4.10×10 ⁻⁴ | 1.03×10 ⁻⁴ | | | |

(丙二醇) 15%来制备 NEs 时, 综合满意度评分最高, 为 0.83, 因此选用该工艺为最佳工艺。

结合既定的工艺参数, 平行制备 3 批 NEs, 优化后的实测 NEs 的粒径 25.26 nm 和 PDI 0.36 与预测值接近, 说明得到的回归方程预测性良好, 处方的优化较为理想。

2.3.2 IL-NGP 制备处方工艺优化 将 FHC 提取物冻干粉溶于油相(用量 25%)中, 再与聚山梨酯-80(用量 30%)和丙二醇(用量 15%)混合, 用磁力搅拌器搅拌, 并不断滴加纯化水, 搅拌 1 h, 搅拌速度为 1 000 r/min, 形成 NEs。参考 Hamadani 等试验方法^[17-18], 称取物质的量比为 1:2 的胆碱碳酸氢盐和反式-2-己烯酸, 在 40 °C 水浴搅拌 12 h, 在 60 °C 下旋蒸 2 h, 60 °C 真空干燥 48 h, 即得 IL。将 IL 和 NEs(质量比 1:1 000)混合, 以 300 r/min 搅拌 3 h, 即得 IL-NEs。

综合大量文献及预实验结果, 确定基础方为称取阿拉伯胶 0.30 g, PVPK90 0.70 g, 依次加入 5.0 g IL-NEs 在磁力搅拌器上混合后, 氧化锌 0.50 g, 柠檬酸 0.020 g, 氮酮 0.080 g, 用玻璃棒搅拌均匀后作为 A 相; 以 CMC-Na 0.25 g, 氢氧化铝 0.030 g, 聚丙烯酸钠 0.70 g、EDTA-2Na 5.0 mg, 甘油 3.0 g, 搅拌均匀作为 B 相。将 B 相加入 A 相中混合, 以 50 r/min 的速度搅拌均匀后涂布。

参照《中国药典》2020 年版^[19], 以感官评价、初黏力、持黏力为评价指标, 对各辅料及 IL-NEs 的用量进行单因素试验考察并进行综合评分, 具体计

算公式为综合评分=感官评分×0.4+初黏力×0.5+持黏力×0.1, 筛选出 IL-NGP 的最佳处方。各辅料及 IL-NEs 的平均综合评分、平均感官评分、平均初黏力评分、平均持黏力评分如表 5~13 所示。

最终优化后的制备工艺如下: 称取阿拉伯胶 0.30 g, PVP K90 0.70 g 和 IL-NEs 5.0 g, 于磁力搅拌器上混合均匀后, 依次加入氧化锌 0.50 g, 柠檬酸 0.020 g 和氮酮 0.080 g, 继续使用玻璃棒搅拌均匀, 所得混合物作为 A 相。另取 CMC-Na 0.25 g, 氢氧化铝 0.030 g, 聚丙烯酸钠 0.70 g, EDTA-2Na

表 5 PVP K90 用量考察

Table 5 Investigation on dosage of PVP K90

| PVPK90 用量/g | 平均综合评分 | 平均感官评分 | 平均初黏力评分 | 平均持黏力评分 |
|-------------|--------|--------|---------|---------|
| 0.60 | 62.2 | 55.2 | 72.6 | 38 |
| 0.65 | 55.6 | 20.0 | 84.2 | 42 |
| 0.70 | 72.3 | 54.2 | 88.6 | 41 |
| 0.75 | 64.0 | 27.7 | 96.2 | 48 |
| 0.80 | 59.5 | 13.7 | 100.0 | 40 |

表 6 氧化锌用量考察

Table 6 Investigation on dosage of zinc oxide

| 氧化锌 用量/g | 平均综合评分 | 平均感官评分 | 平均初黏力评分 | 平均持黏力评分 |
|----------|--------|--------|---------|---------|
| 0.40 | 55.6 | 23.3 | 85.8 | 34 |
| 0.45 | 61.7 | 41.5 | 82.4 | 39 |
| 0.50 | 72.6 | 64.8 | 84.8 | 43 |
| 0.55 | 65.4 | 23.0 | 80.4 | 56 |
| 0.60 | 55.0 | 13.3 | 82.6 | 84 |

表 7 IL-NEs 用量考察

Table 7 Investigation on dosage of IL-NEs

| IL-NEs 用量/g | 平均综合评分 | 平均感官评分 | 平均初黏力评分 | 平均持黏力评分 |
|-------------|--------|--------|---------|---------|
| 4.0 | 53.1 | 43.0 | 64.8 | 35 |
| 4.5 | 58.9 | 47.8 | 68.4 | 56 |
| 5.0 | 70.8 | 56.0 | 81.2 | 78 |
| 5.5 | 61.8 | 45.8 | 73.2 | 69 |
| 6.0 | 54.2 | 38.5 | 67.2 | 52 |

表 8 阿拉伯胶用量考察

Table 8 Investigation on dosage of arabic gum

| 阿拉伯胶 用量/g | 平均综合评分 | 平均感官评分 | 平均初黏力评分 | 平均持黏力评分 |
|-----------|--------|--------|---------|---------|
| 0.1 | 57.6 | 42.0 | 74.8 | 34 |
| 0.2 | 52.1 | 24.0 | 77.2 | 39 |
| 0.3 | 69.6 | 52.5 | 88.6 | 43 |
| 0.4 | 62.9 | 27.5 | 92.8 | 55 |
| 0.5 | 55.1 | 13.0 | 85.2 | 73 |

表 9 甘油用量考察

Table 9 Investigation on dosage of glycerol

| 甘油 用量/g | 平均综合评分 | 平均感官评分 | 平均初黏力评分 | 平均持黏力评分 |
|---------|--------|--------|---------|---------|
| 1.0 | 52.4 | 30.8 | 70.4 | 49 |
| 2.0 | 62.7 | 38.5 | 80.6 | 70 |
| 3.0 | 77.1 | 62.3 | 86.4 | 90 |
| 4.0 | 62.3 | 44.0 | 76.4 | 65 |
| 5.0 | 54.8 | 38.5 | 70.6 | 41 |

表 10 EDTA-2Na 用量考察

Table 10 Investigation on dosage of EDTA-2Na

| EDTA-2Na 用量/g | 平均综合评分 | 平均感官评分 | 平均初黏力评分 | 平均持黏力评分 |
|---------------|--------|--------|---------|---------|
| 4.0 | 62.3 | 44.0 | 74.6 | 74 |
| 5.0 | 55.8 | 38.0 | 70.8 | 52 |
| 6.0 | 64.2 | 56.8 | 77.2 | 29 |
| 7.0 | 72.5 | 60.8 | 84.8 | 58 |
| 8.0 | 59.7 | 51.0 | 70.4 | 41 |

表 11 聚丙烯酸钠用量考察

Table 11 Investigation on dosage of glycerol sodium polyacrylate

| 聚丙烯酸钠 用量/g | 平均综合评分 | 平均感官评分 | 平均初黏力评分 | 平均持黏力评分 |
|------------|--------|--------|---------|---------|
| 0.60 | 63.4 | 38.0 | 89.6 | 34 |
| 0.65 | 57.8 | 23.7 | 88.6 | 40 |
| 0.70 | 72.5 | 62.2 | 86.4 | 44 |
| 0.75 | 63.2 | 34.0 | 82.4 | 84 |
| 0.80 | 55.9 | 15.3 | 79.6 | 100 |

表 12 柠檬酸用量考察

Table 12 Investigation on dosage of citric acid

| 柠檬酸 用量/g | 平均综合评分 | 平均感官评分 | 平均初黏力评分 | 平均持黏力评分 |
|----------|--------|--------|---------|---------|
| 0.01 | 62.6 | 50.5 | 75.2 | 48 |
| 0.02 | 72.5 | 64.0 | 81.0 | 64 |
| 0.03 | 62.1 | 51.0 | 79.4 | 20 |
| 0.04 | 60.3 | 41.5 | 80.6 | 34 |
| 0.05 | 55.6 | 31.0 | 78.0 | 42 |

表 13 CMC-Na 用量考察

Table 13 Investigation on dosage of CMC-Na

| CMC-Na 用量/g | 平均综合评分 | 平均感官评分 | 平均初黏力评分 | 平均持黏力评分 |
|-------------|--------|--------|---------|---------|
| 0.10 | 57.1 | 39.0 | 74.4 | 43 |
| 0.15 | 60.1 | 46.5 | 70.4 | 63 |
| 0.20 | 67.1 | 58.0 | 76.6 | 56 |
| 0.25 | 72.8 | 56.0 | 86.4 | 72 |
| 0.35 | 54.5 | 21.3 | 79.2 | 64 |

5.0 mg 及甘油 3.0 g, 搅拌混匀, 作为 B 相。将 B 相缓慢加入 A 相中, 在 50 r/min 条件下搅拌均匀后, 涂布, 即得 IL-NGP。

2.4 IL-NGP 的表征

2.4.1 NEs 与 IL-NEs 的 TEM 观察 将 NEs 和 IL-NEs 于铜片上, TEM 观察其形态特征, 结果见图 3, 可见 NEs 和 IL-NEs 为均匀球形。与 NEs 相比, IL-NEs 的外表面可见一层光晕, 表明 IL 已成功涂覆在 NEs 表面。

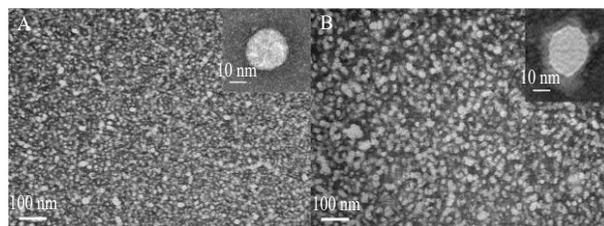


图 3 NEs (A) 和 IL-NEs (B) 的 TEM 图

Fig. 3 TEM of NEs (A) and IL-NEs (B)

2.4.2 NEs 与 IL-NEs 的粒径、多分散指数 (PDI) 和 ζ 电位 将 NEs 与 IL-NEs 超声分散均匀后加入样品池中, 测量其粒径分布和 ζ 电位, 结果见图 4、5, NEs 的粒径为 23.84 nm, ζ 电位为 -18.73 mV, 而 IL-NEs 的粒径增至 33.15 nm, ζ 电位略有上升至 -6.22 mV。

2.4.3 IL-NGP 的表征 IL-NGP 外貌形态见图 6-A, IL-NGP 呈现均匀的淡黄色, 质地柔软且富有弹性, 易于涂抹且无明显颗粒感。SEM 观察其微观形态,

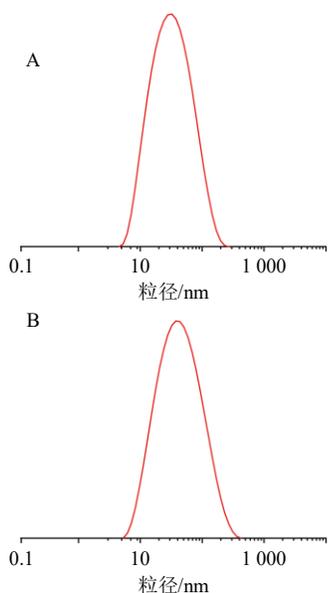


图4 NEs (A) 和 IL-NEs (B) 的粒径分布
Fig. 4 Particle size distribution of NEs (A) and IL-NEs (B)

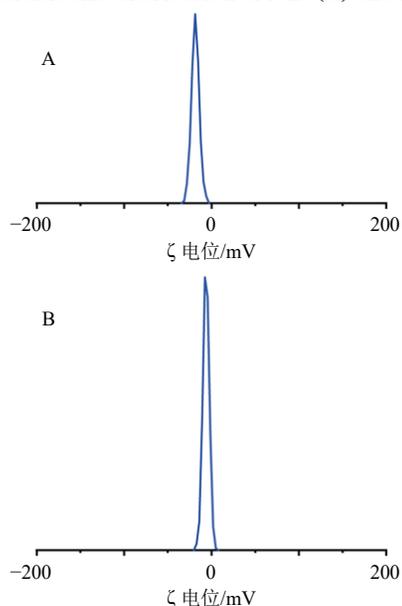


图5 NEs (A) 和 IL-NEs (B) 的ζ电位
Fig. 5 ζ potential of NEs (A) and IL-NEs (B)

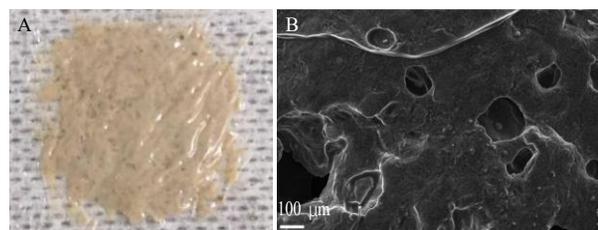


图6 IL-NGP 的外观 (A) 和 SEM 图 (B)

Fig. 6 Appearance (A) and SEM image (B) of IL-NGP

结果见图 6-B, IL-NGP 存在较多的空隙, 表明其具有较好的机械强度。

2.5 IL-NGP 的稳定性考察

根据《中国药典》2020 年版^[19], 本研究评估了 IL-NGP 的稳定性。在低温 (-4 °C)、高温 (40 °C) 和强光 (500~4 500 lx) 条件下^[20], 通过为期 30 d 的稳定性试验, 考察 IL-NGP 的外观特征、黏度、pH 值及分层情况 (表 14、15)。其中, pH 值的测定方法为称取 1 g 凝胶膏, 加入 100 g 水, 充分涡旋混匀后滤过, 使用酸度计测定 pH 值, 待示数稳定后记录数据, 实验重复 3 次并取平均值。黏度测定采用拖动板法, 具体操作为取适量贴膏剂均匀涂布在玻璃板上, 并用游标卡尺测量贴膏层的厚度 (h); 将玻璃板固定在水平平台上, 在贴膏剂表面放置一块可自由滑动的金属片 (已知接触面积 A), 并连接弹簧测力计, 以恒定速度 (v) 拉动金属片, 同时记录弹簧测力计的拉力 (F)。实验至少重复 3 次, 并取平均值。黏度 η 计算公式为 $\eta = Fh/Av$ 。

经过 30 d 的稳定性试验, IL-NGP 在各条件下外观未观察到明显变化, pH 值保持稳定且未发生分层现象。其中在低温 (-4 °C) 下, IL-NGP 的黏度有所下降, 但其他各项稳定性并未受到影响。

2.6 抗菌活性测定

为了测定 IL-NGP 的抗菌活性, 采用微量肉汤

表 14 IL-NGP 长期稳定性测试结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 14 Long-term stability test results of IL-NGP ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

| t/d | 外观特征 | 黏度/(mPa·s) | pH 值 | 分层情况 |
|-----|-----------------|----------------|-----------|------|
| 0 | 淡黄色膏体、质地均匀、硬度均匀 | 3 006.67±33.99 | 6.37±0.01 | 未分层 |
| 7 | 淡黄色膏体、质地均匀、硬度均匀 | 2 986.67±24.95 | 6.36±0.01 | 未分层 |
| 15 | 淡黄色膏体、质地均匀、硬度均匀 | 2 960.00±28.28 | 6.37±0.02 | 未分层 |
| 23 | 淡黄色膏体、质地均匀、硬度均匀 | 2 966.67±18.86 | 6.36±0.02 | 未分层 |
| 30 | 淡黄色膏体、质地均匀、硬度均匀 | 2 973.33±24.94 | 6.35±0.02 | 未分层 |

稀释法检测 IL、GP、NGP、IL-NGP 提取物以及阳性药青霉素钾的抗金黄色葡萄球菌活性 (图 7), 空白组无抑菌圈产生, 不同质量浓度的实验组均有抑

菌圈。采用 96 孔板法测定最低抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 和最低杀菌浓度 (minimum bactericidal concentration, MBC), IL、

表 15 IL-NGP 低温、高温和强光测试结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 15 Low temperature, high temperature and high light test results of IL-NGP ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

| 测试条件 | t/d | 外观特征 | 黏度/(mPa·s) | pH 值 | 分层情况 |
|------|-----|-----------------|----------------|-----------|------|
| 低温 | 0 | 淡黄色膏体、质地均匀、硬度均匀 | 2 700.00±32.66 | 6.33±0.01 | 未分层 |
| | 5 | 淡黄色膏体、质地均匀、硬度均匀 | 2 746.67±24.94 | 6.35±0.02 | 未分层 |
| | 10 | 淡黄色膏体、质地均匀、硬度均匀 | 2 666.67±41.09 | 6.34±0.01 | 未分层 |
| 高温 | 0 | 淡黄色膏体、质地均匀、硬度均匀 | 2 926.67±24.94 | 6.34±0.02 | 未分层 |
| | 5 | 淡黄色膏体、质地均匀、硬度均匀 | 2 846.67±41.09 | 6.36±0.01 | 未分层 |
| | 10 | 淡黄色膏体、质地均匀、硬度均匀 | 2833.33±24.94 | 6.37±0.02 | 未分层 |
| 强光 | 0 | 淡黄色膏体、质地均匀、硬度均匀 | 2986.67±41.09 | 6.33±0.01 | 未分层 |
| | 5 | 淡黄色膏体、质地均匀、硬度均匀 | 2926.67±24.94 | 6.34±0.01 | 未分层 |
| | 10 | 淡黄色膏体、质地均匀、硬度均匀 | 2880.00±32.65 | 6.37±0.01 | 未分层 |

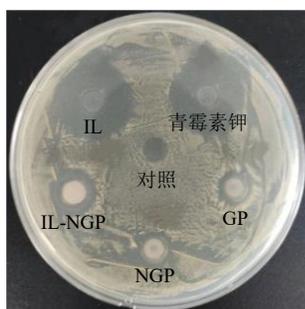


图 7 GP、NGP、IL-NGP 提取物的平板抑菌图

Fig. 7 Antibacterial plate images of GP, NGP, IL-NGP extracts and IL

GP、NGP、IL-NGP 提取物的抑菌圈直径分别为 (24.99±0.99)、(11.65±0.77)、(11.79±0.96)、(15.61±0.46) mm。IL、IL-NGP 和 NGP 的 MIC 分别为 125.00、4.00、62.50 μg/mL, MBC 分别为 250.00、8.00、250.00 μg/mL。此外, NGP 和 IL-NGP 的半数抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC₅₀) 分别为 32.57、3.41 μg/mL (表 16)。由 IL-NGP 抑菌圈直径 (15.61±0.46) mm 与 NGP 抑菌圈直径 (11.79±0.96) mm 之比得出, IL-NGP 的抑菌效果约为 NGP 的 1.32 倍, 表明 NGP 经离子液体修饰为 IL-NGP 后具备更强的抑菌活性。

表 16 IL、NGP 和 IL-NGP 的抗菌效果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 16 Antibacterial effects of IL, NGP and IL-NGP ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

| IL/(μg·mL ⁻¹) | 生存率/% | NGP/(μg·mL ⁻¹) | 生存率/% | IL-NGP/(μg·mL ⁻¹) | 生存率/% |
|---------------------------|---------------|----------------------------|---------------|-------------------------------|---------------|
| 0 | 100.00 | 0 | 100.00 | 0 | 100.00 |
| 7.825 | 90.24±8.55 | 7.825 | 78.04±3.09** | 0.500 | 102.46±4.61 |
| 15.625 | 82.43±8.70* | 15.625 | 81.42±0.56** | 1.000 | 103.95±4.58 |
| 31.250 | 59.00±10.32** | 31.250 | 51.20±5.01*** | 2.000 | 88.02±7.98 |
| 62.500 | 38.03±4.51*** | 62.500 | 29.92±0.31*** | 4.000 | 38.64±0.46*** |
| 125.000 | 26.70±0.85*** | 125.000 | 31.34±0.74*** | 8.000 | 39.80±0.34*** |
| 250.000 | 27.76±0.17*** | 250.000 | 33.09±5.03*** | | |

与质量浓度 0 μg·mL⁻¹ 组比较: *P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001。

*P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001 vs mass concentration 0 μg·mL⁻¹ group.

2.7 皮肤渗透试验及皮肤积累量考察

将大鼠脱颈处死后, 使用脱毛膏去除背部毛发, 随后用手术刀轻轻剥离一层完整的背部皮肤, 确保皮肤完整无损。以大鼠背部皮肤为透皮膜, 使大鼠皮肤真皮层与接收液接触, 角质层与 GP、NGP、IL-NGP 直接接触, 在 Franz 扩散池中进行皮肤渗透性试验^[21]。受体室中加入 6.5 mL 50%乙醇-生理盐水, 去泡后稳定 30 min, 连续搅拌 48 h。扩散室温度保持 37 °C。在预先设定的时间间隔内取 200 μL 样品

并补齐等体积新鲜接收液, HPLC 进样 [色谱条件: 采用 Agilent 1260 Infinity II 型高效液相色谱系统, 配备 Agilent C₁₈ 反相色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以甲醇-水为流动相梯度洗脱: 0~5 min, 20%~40%甲醇; 5~10 min, 40%~60%甲醇; 10~25 min, 60%~80%甲醇; 25~35 min, 80%~100%甲醇; 35~40 min, 100%甲醇; 柱温 30 °C; 检测波长 296 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μL] 测定渗透过皮肤的药物活性成分 (图 8-A~C) 及各

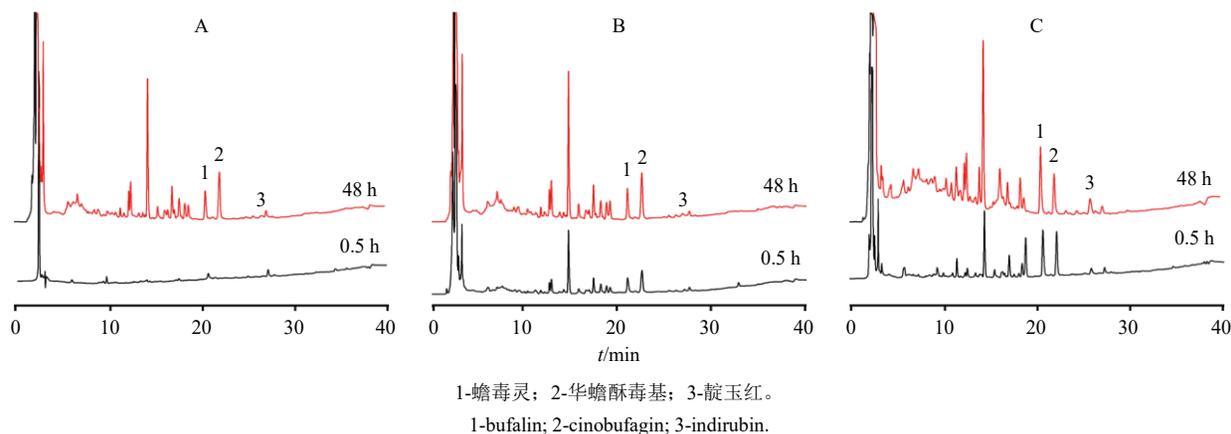


图 8 GP (A)、NGP (B)、IL-NGP (C) 在 0.5、48 h 时透过皮肤的药物活性成分的 HPLC 图谱
Fig. 8 HPLC profiles of GP (A), NGP (B), IL-NGP (C) permeating skin at 0.5 and 48 h

时间点蟾毒灵的累积渗透量 (图 9)。

实验结束后, 收集皮肤, 并用温生理盐水冲洗。随后将皮肤切成小块, 用 2 mL 甲醇在 25 °C 下提取 0.5 h, 得到样品溶液, 再通过 HPLC 法测定蟾毒灵的含量, 结果见表 17。结果显示, IL-NGP 组的蟾毒灵皮肤渗透量在 48 h 时较 0.5 h 增加了 4.52 倍, 而华蟾酥毒基和靛玉红的渗透量变化不显著。因此, 后续 3 组制剂的药物累积渗透曲线选择蟾毒灵作为标志物。

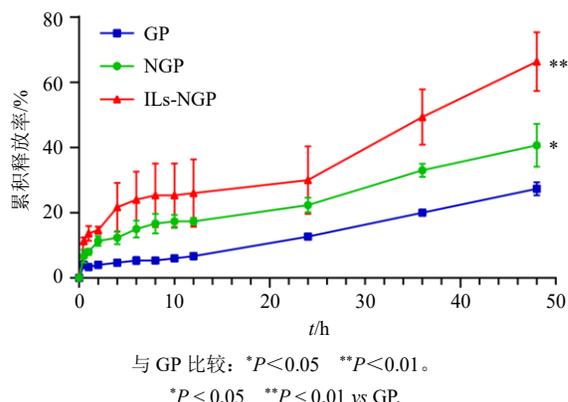


图 9 GP、NGP、IL-NGP 中蟾毒灵在 48 h 内的药物累积渗透曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 9 Cumulative permeation curves of bufalin in GP, NGP and IL-NGP within 48 h ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

表 17 48 h 蟾毒灵的皮肤积累量 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 17 Skin accumulation of bufalin at 48 h ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

| 样品 | 皮肤积累量/($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) |
|--------|--|
| GP | 6.06 ± 2.40 |
| NGP | 17.08 ± 3.85** |
| IL-NGP | 21.87 ± 1.89*** |

与 GP 比较: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。
** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs GP.

如图 9 所示, 将 GP 制备成 NGP 后, 蟾毒灵在 48 h 内的释放量由原来的 27.48% 提升到 40.91%; 经由离子液体修饰后, IL-NGP 中蟾毒灵在 48 h 内的释放量进一步提升到 GP 的 2.42 倍 (66.53%)。此外, IL-NGP 组的蟾毒灵在 10 h 时开始迅速释放, 并且能够持续释放至 48 h 以上。由上述结果可知, 相比于 GP, 将中药 FHC 提取物制备成 IL-NGP 能够在提高药物的释放量的同时延长药物的释放时间 ($P < 0.01$)。局部给药后, 收集皮肤样本并量化蟾毒灵在皮肤中的积累 (表 17)。结果显示, NGP 组和 IL-NGP 组在 48 h 时的皮肤蟾毒灵沉积量均显著高于 GP 组 ($P < 0.01$)。

2.8 全层背侧皮肤的组织学研究

按照文献方法建立改良疔痈动物模型^[22]。用 1 mL 胰岛素注射器, 将含有体积分数 0.2% 巴豆油的松节油合剂于每只小鼠背部中部脊椎处, 皮内注射 0.06 mL, 以出现白色疔痈伴红肿, 且脓包上切面高出周围皮肤 1~2 mm 为造模完成标准。小鼠给药示意图见图 10。昆明小鼠 35 只, 随机分组为对照组、阳性药组 (莫匹罗星组)、喉症丸 ig 组 (Gavage) 和喉症丸涂抹组 (Varnish)、GP 组、NGP 组、IL-NGP 组, 5 只/组。根据喉症丸说明书指导^[23], 各组给药剂量为 5.85 mg/(kg·d), 1 次/d; 莫匹罗星均匀涂抹在患处, 1 次/d; GP 组、NGP 组和 IL-NGP 均



图 10 小鼠给药示意图

Fig. 10 Schematics of mouse administration

为每 2 天 1 贴/只，对照组 ig 给予等量生理盐水。在 4、9 d 给药结束后，拍照记录小鼠的给药处皮肤状态，结果见图 11-A，将小鼠处死后立即取背部贴

药处皮肤，用 4%多聚甲醛浸润固定 24 h 后，进行脱水、包埋、切片、染色于光学倒置显微镜下观察其病理结构（图 11-B）。

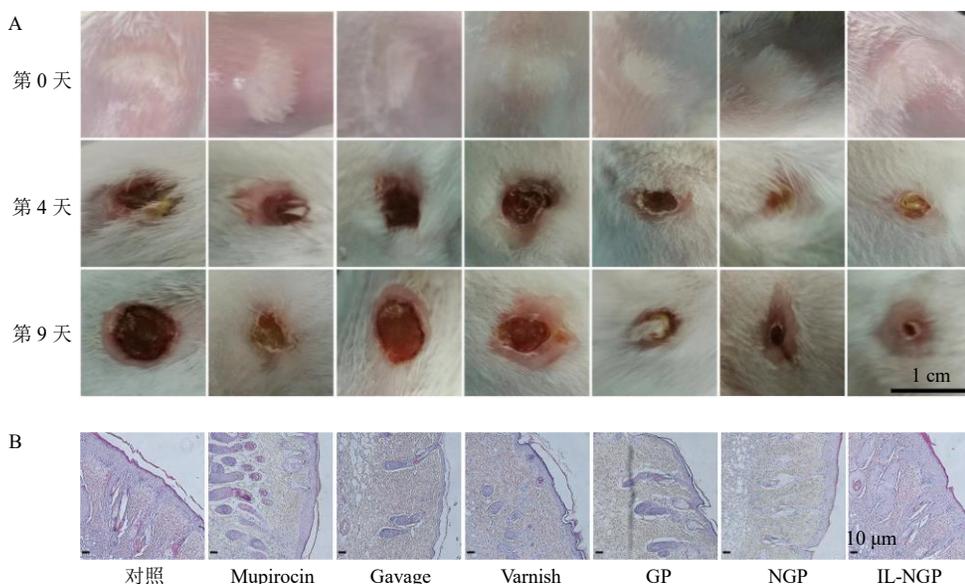


图 11 不同给药天数下小鼠疔肿变化照片图 (A) 和不同组皮肤的 H&E 染色图 (B)

Fig. 11 Maps of furuncle changes in mice with different days of administration (A) and H&E staining of different skin groups (B)

IL-NGP 对疔痈模型小鼠的影响肉眼观察结果见图 11-A 显示，第 4 天时，与对照组比较，GP、NGP 和 IL-NGP 组伤口均表现出不同程度的减小；第 9 天给药结束后，对比对照组，GP、NGP 和 IL-NGP 组的小鼠伤口均表现出不同程度的减小，其中 NGP 和 IL-NGP 组在第 4 天时已显现愈合趋势。到第 9 天，GP 和 NGP 组的治疗有效，IL-NGP 组的小鼠伤口几乎完全愈合，可明显促进造模处疔痈康复，说明 IL-NGP 在治疗小鼠疔痈效果最为显著。组织切片（图 11-B）显示，对比对照组，IL-NGP 可有效减小疔痈创口宽度和加速坏死组织清除，造模处修复良好，可见较多新生肉芽组织、新生毛细血管和较少的炎症细胞和坏死组织等。

2.9 其他药效学研究

通过热板疼痛实验、肉芽肿性棉球增生实验、

扭体疼痛实验、二甲苯致耳肿胀实验和足趾肿胀实验观察 IL-NGP 的其他治疗效果^[24-28]。小鼠随机分 4 组，每组 5 只，分别为对照组、阳性药组（壮骨麝香止痛膏，MSBP）、喉症丸涂抹组（Varnish）、IL-NGP 组。表 18 结果显示，与对照组相比，Varnish、MSBP 和 IL-NGP 组均能增加小鼠的热板镇痛阈值 ($P < 0.05, 0.01$) 与扭体疼痛抑制率 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$)，表明 IL-NGP 能够有效抑制小鼠热板疼痛和扭体疼痛；与对照组相比，其他组均对小鼠肉芽棉球增生 ($P < 0.05, 0.001$)、二甲苯导致的鼠耳肿胀 ($P < 0.05, 0.01$) 均有抑制作用，而在 8 h 时，仅 IL-NGP 组对角叉菜胶引起的大鼠足肿胀有明显抑制作用 ($P < 0.05$)，表明 IL-NGP 能够有效抑制小鼠肉芽棉球增生，鼠耳肿胀及足趾肿胀且效果优于市售喉症丸的涂抹效果。

表 18 各组药效学实验结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 18 Pharmacodynamic experimental results of each group ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

| 组别 | 剂量/ (mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹) | 热板镇痛阈值/s | | 肉芽增生 质量/mg | 扭体疼痛 抑制率/% | 耳肿胀 率/% | 8 h 足趾肿 胀率/% |
|---------|--|-------------|----------------|-----------------------------|-----------------|------------------------------|-----------------------------|
| | | 给药前 | 给药后 | | | | |
| 对照 | — | 7.73 ± 2.00 | 8.03 ± 2.30 | 38.66 ± 8.35 | 0.00 ± 10.77 | 107.17 ± 27.50 | 73.82 ± 22.38 |
| MSBP | 5.85 | 7.17 ± 2.28 | 11.98 ± 2.64* | 26.19 ± 7.19* ^{ΔΔ} | 16.38 ± 12.41* | 77.83 ± 11.99* ^{ΔΔ} | 74.49 ± 21.04 ^{ΔΔ} |
| Varnish | 5.85 | 7.97 ± 1.36 | 13.09 ± 2.32** | 25.63 ± 5.46* ^{ΔΔ} | 21.39 ± 9.44** | 64.83 ± 22.81* ^{ΔΔ} | 78.89 ± 52.39 ^{ΔΔ} |
| IL-NGP | 5.85 | 7.55 ± 2.02 | 13.51 ± 2.08** | 18.34 ± 4.05*** | 25.41 ± 6.99*** | 48.17 ± 30.60** | 63.65 ± 37.02* |

与对照组比较：* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ ；与 IL-NGP 组比较：^{ΔΔ} $P < 0.01$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group; ^{ΔΔ} $P < 0.01$ vs IL-NGP group.

2.10 统计研究

所有数据用 GraphPad Prism 8.0.2 进行绘图和统计分析, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表达。组间比较采用单向 ANOVA, 两组间比较采用 t 检验。

3 讨论

经皮给药可克服口服给药的肝脏首过效应, 消除了皮下注射过程中的疼痛, 提高了患者的依从性。此外, 经皮给药的患者可以自主给药, 使用方便, 减少给药次数; 绿色溶剂 IL 通常作为一种乳化剂、促渗透剂和抑菌剂^[29], 不仅可以稳定纳米乳, 增加药物渗透性, 并且可以提高对金黄色葡萄球菌的抑制率; 传统贴膏因药物溶解度和透皮性较差, 限制了其临床应用, 而离子液体基质的纳米乳凝胶贴膏因其较强的溶解能力^[30]和较低的挥发性, 能够有效提高药物的溶解度和皮肤透过性, 增强药物的生物利用度^[31], 从而为传统药物递送技术提供了有力补充, 具有广泛的临床应用前景。

通过 UPLC-Q-Exactive-MS/MS 对 FHC 中活性成分进行分析, 其中蟾毒灵等作为蟾酥的主要成分以及靛玉红等已被证明具有抑制金黄色葡萄球菌的作用^[32-34]; 在皮肤渗透试验中 IL-NGP 组中的各药物渗透量显著高于其他组, 其原因可能是: 离子液体具有强电离特性, 能够渗透到皮肤角质层的脂质双层中, 通过减少脂质间的连接, 破坏皮肤屏障的完整性, 这种改变角质层脂质结构的作用促进了皮肤的水合作用, 使脂质双层流化, 从而增强药物的透皮吸收^[35]。此外, 离子液体还能通过调节细胞膜的通透性, 影响膜通道蛋白的功能, 进而在透皮吸收中起到双重作用: 既促进水分子和药物的渗透, 又控制了某些离子的透过率^[36]。

综上所述, 本研究首次证实利用 IL 制备的 FHC 提取物纳米乳凝胶膏不仅能够提升药物的透皮性能, 还可显著增强其对金黄色葡萄球菌的抑制效果。此外, 本研究存在一定的局限性: 由于处方成分复杂, 缺乏内部分子机制和作用靶点的深入研究。因此, 未来的重点将放在 IL-NGP 的皮肤渗透机制上, 为治疗疔疮等皮肤病提供更完善的实验支持。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 徐海涛, 唐瑶. 创灼膏在儿童疔肿治疗中的疗效观察 [J]. 中国中西医结合皮肤性病学期刊, 2020, 19(1): 72-73.
- [2] 巴元明, 丁霁, 姚杰. 蚤星消肿止血散治疗疔疮的临床

观察 [J]. 中国中医急症, 2015, 24(9): 1530-1532.

- [3] Yang Y, Li S Y, Zhang L X, *et al.* Skin and soft tissue infection of nontuberculous *Mycobacterium* after injection lipolysis [J]. *J Cosmet Dermatol*, 2023, 22(4): 1207-1212.
- [4] 张琳娜. 会阴部疔肿致败血症 1 例报告 [J]. 首都医药, 2010, 17(20): 25.
- [5] 姚洪英. 莫匹罗星软膏治疗疔疮 51 例疗效分析 [J]. 保健医学研究与实践, 2009, 6(4): 83.
- [6] 李金鑫, 张京华, 陈达, 等. 喉症丸中 2 种成分溶出度测定及不同制丸方法比较 [J]. 中成药, 2020, 42(5): 1124-1128.
- [7] 刘册家, 王真, 刁瑞丽, 等. HPLC 法测定喉症丸中华蟾酥毒基和脂蟾毒配基的含量 [J]. 亚太传统医药, 2019, 15(4): 51-54.
- [8] Kong W J, Zhao Y L, Shan L M, *et al.* Microcalorimetric studies of the action on four organic acids in *Radix Isatidis* on the growth of microorganisms [J]. *Chin J Biotech*, 2008, 24(4): 646-650.
- [9] Yi X T, He J M, Wei X J, *et al.* A polyphenol and ϵ -polylysine functionalized bacterial cellulose/PVA multifunctional hydrogel for wound healing [J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 247: 125663.
- [10] Zhao J, Wang Y T, Huang X D, *et al.* Liu Shen Wan inhibits influenza virus-induced secondary *Staphylococcus aureus* infection *in vivo* and *in vitro* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 277: 114066.
- [11] Ansari M N, Soliman G A, Rehman N U, *et al.* Crisaborole loaded nanoemulsion based chitosan gel: Formulation, physicochemical characterization and wound healing studies [J]. *Gels*, 2022, 8(5): 318.
- [12] Martini Garcia I, Jung Ferreira C, de Souza V S, *et al.* Ionic liquid as antibacterial agent for an experimental orthodontic adhesive [J]. *Dent Mater*, 2019, 35(8): 1155-1165.
- [13] Ali M K, Moshikur R M, Goto M, *et al.* Recent developments in ionic liquid-assisted topical and transdermal drug delivery [J]. *Pharm Res*, 2022, 39(10): 2335-2351.
- [14] Hamadani C M, Dasanayake G S, Gorniak M E, *et al.* Development of ionic liquid-coated PLGA nanoparticles for applications in intravenous drug delivery [J]. *Nat Protoc*, 2023, 18(8): 2509-2557.
- [15] Said M, Elsayed I, Aboelwafa A A, *et al.* Transdermal agomelatine microemulsion gel: Pyramidal screening, statistical optimization and *in vivo* bioavailability [J]. *Drug Deliv*, 2017, 24(1): 1159-1169.
- [16] 许海燕, 侯敏娜, 陈衍斌, 等. 多指标响应面-满意度函数优化秦岭龙胆提取工艺研究 [J]. 安徽农业科学, 2024, 52(23): 162-166.

- [17] Hamadani C M, Goetz M J, Mitragotri S, *et al.* Protein-avoidant ionic liquid (PAIL)-coated nanoparticles to increase bloodstream circulation and drive biodistribution [J]. *Sci Adv*, 2020, 6(48): eabd7563.
- [18] Tanner E E L, Curreri A M, Balkaran J P R, *et al.* Design principles of ionic liquids for transdermal drug delivery [J]. *Adv Mater*, 2019, 31(27): e1901103.
- [19] 中国药典 [S]. 四部. 2020: 457.
- [20] Anwer M K, Aldawsari M F, Iqbal M, *et al.* Diosmin-loaded nanoemulsion-based gel formulation: Development, optimization, wound healing and anti-inflammatory studies [J]. *Gels*, 2023, 9(2): 95.
- [21] Niu J X, Yuan M, Gao P P, *et al.* Microemulsion-based keratin-chitosan gel for improvement of skin permeation/retention and activity of curcumin [J]. *Gels*, 2023, 9(7): 587.
- [22] 姜霁洋, 徐涵, 白雪婷, 等. 朱槿花苞提取物治疗皮肤疔痈溃疡及其机制研究 [J]. *中国药理学通报*, 2015, 31(8): 1085-1091.
- [23] 高清伟. 喉症丸治疗急性扁桃体炎 86 例疗效观察 [J]. *中国校医*, 2010, 24(1): 69.
- [24] Lim H J, Bak S G, Park E J, *et al.* Retrofractamide C derived from *Piper longum* alleviates xylene-induced mouse ear edema and inhibits phosphorylation of ERK and NF- κ B in LPS-induced J774A.1 [J]. *Molecules*, 2020, 25(18): 4058.
- [25] Arai I, Tsuji M, Takahashi K, *et al.* Analyzing the antinociceptive effect of interleukin-31 in mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(14): 11563.
- [26] Xu J X, Tai B, Jiao S G, *et al.* The ethanol extract of *Syringa oblata* heartwood, a Mongolian folk medicine containing major lignans, exerts analgesic and sedative effects on mice [J]. *Chem Biodivers*, 2023, 20(1): e202200984.
- [27] Jo S K, Lee H J, Kim S R, *et al.* Antiinflammatory activity of an herbal preparation (HemoHIM) in rats [J]. *Phytother Res*, 2007, 21(7): 625-628.
- [28] Guo J, Tang J K, Wang B F, *et al.* Phillygenin from *Forsythia suspensa* leaves exhibits analgesic potential and anti-inflammatory activity in carrageenan-induced paw edema in mice [J]. *J Food Biochem*, 2022, 46(12): e14460.
- [29] 姜毓鑫, 姜琦, 王迪, 等. 离子液体在药物递送中的应用 [J]. *药学学报*, 2022, 57(2): 331-342.
- [30] Caparica R, Júlio A, Baby A R, *et al.* Choline-amino acid ionic liquids as green functional excipients to enhance drug solubility [J]. *Pharmaceutics*, 2018, 10(4): 288.
- [31] Navti P D, Pandey A, Nikam A N, *et al.* Ionic liquids assisted topical drug delivery for permeation enhancement: Formulation strategies, biomedical applications, and toxicological perspective [J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2022, 23(5): 161.
- [32] 郭满. 蟾酥对金黄色葡萄球菌抑菌作用及机理的初步研究 [D]. 牡丹江: 牡丹江师范学院, 2015.
- [33] 林健, 林志立, 陈良善, 等. 靛玉红对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的抗菌作用 [J]. *九江学院学报: 自然科学版*, 2017, 32(1): 92-94.
- [34] 梁勤, 乔登嫣, 马小明, 等. 甘肃道地中药大黄、黄芩对多重耐药菌的抑菌活性 [J]. *西部中医药*, 2014, 27(5): 5-7.
- [35] Islam M R, Uddin S, Chowdhury M R, *et al.* Insulin transdermal delivery system for diabetes treatment using a biocompatible ionic liquid-based microemulsion [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, 13(36): 42461-42472.
- [36] Liu J, Wang Y L, Gao B, *et al.* Ionic liquid gating induces anomalous permeation through membrane channel proteins [J]. *J Am Chem Soc*, 2024, 146(19): 13588-13597.

[责任编辑 郑礼胜]