

柚皮素胶束温敏凝胶的制备、质量评价及药效学研究

罗倩菲^{1,2}, 马若馨², 孙文进², 刘庭宇², 张浩琛², 靳茗扬², 周俊芳², 王建辉², 刘树玲², 崔 腾^{2*}, 王慧云^{2*}

1. 山东第二医科大学药学院, 山东 潍坊 261053

2. 济宁医学院药学院, 山东 日照 276800

摘要: 目的 制备柚皮素胶束温敏凝胶 (naringenin micelles-loaded thermosensitive gel, NMTG), 评价其生物安全性和抗炎活性, 并考察其对苯扎氯铵诱导干眼症 (dry eye disease, DED) 大鼠的治疗作用。方法 采用薄膜分散法制备柚皮素胶束 (naringenin micelles, NM), 并对其外观、粒径、 ζ 电位、透射电子显微镜 (scanning electron microscopy, TEM)、包封率和载药量、稳定性等进行质量评价。以泪液稀释前、后 NMTG 相变温度 T_{gel} 和 $T_{atd\ gel}$ 为考察指标, 优选泊洛沙姆 188 (Poloxamer 188, P188) 和泊洛沙姆 407 (Poloxamer 407, P407) 的用量, 将最优用量的 P188 和 P407 溶于 NM 中形成 NMTG; 研究其生物安全性、抗炎活性和对苯扎氯铵诱导 DED 大鼠的治疗作用。结果 制备的 NM 外观澄清透明, TEM 观察 NM 呈类球形, 平均粒径为 (21.56 ± 0.16) nm, 多分散指数 (polydispersity index, PDI) 为 0.053 ± 0.033 , ζ 电位为 (-18.63 ± 1.94) mV, 包封率为 (73.96 ± 0.24) %, 载药量为 (7.34 ± 0.38) %, 在 14 d 内稳定性良好。以 P188、P407 用量分别为 5.29% 和 16.24% 制得最佳 NMTG; NMTG 具有良好的生物安全性和抗炎活性, 并且药效学实验证明 NMTG 对 DED 大鼠具有良好的治疗作用。结论 成功制备 NMTG, 提高柚皮素溶解度以使其具有良好的 DED 治疗作用, 将为柚皮素在眼部应用的新适应证提供支持, 并为柚皮素新剂型的开发提供候选方案。

关键词: 柚皮素; 胶束; 温敏凝胶; 干眼症; 薄膜分散法; 星点设计-效应面法; 药效学; 生物安全性; 抗炎活性

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253 - 2670(2026)06 - 2098 - 11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.06.009

Preparation, quality evaluation and pharmacodynamic study of naringenin micellar thermosensitive gel

LUO Qianfei^{1,2}, MA Ruoxin², SUN Wenjin², LIU Tingyu², ZHANG Haochen², JIN Mingyang², ZHOU Junfang², WANG Jianhui², LIU Shuling², CUI Teng², WANG Huiyun²

1. School of Pharmacy, Shandong Second Medical University, Weifang 261053, China

2. School of Pharmacy, Jining Medical University, Rizhao 276800, China

Abstract: Objective To prepare naringenin micelles-loaded thermosensitive gel (NMTG), evaluate its biological safety and anti-inflammatory activity, and investigate its therapeutic effects on dry eye disease (DED) induced by benzalkonium chloride (BAC) in rats. **Methods** Naringenin micelles (NM) were prepared by the thin-film dispersion method. Quality evaluations of the prepared NM included appearance, particle size, ζ potential, transmission electron microscopy, encapsulation efficiency, drug loading and stability. Concentrations of Poloxamer 188 (P188) and Poloxamer 407 (P407) were optimized based on the phase transition temperatures (T_{gel} and $T_{atd\ gel}$) of NMTG before and after dilution with tear fluid. Optimal concentrations of P188 and P407 were dissolved in NM to form NMTG. Biological safety, anti-inflammatory activity, and therapeutic effects on BAC-induced DED rats were investigated. **Results** Prepared NM was clear and transparent. Transmission electron microscopy showed near-spherical particles with an average particle size of (21.56 ± 0.16) nm, a polydispersity index (PDI) value of 0.053 ± 0.033 , and a ζ potential of (-18.63 ± 1.94) mV. Encapsulation efficiency and drug loading were (73.96 ± 0.24) % and (7.34 ± 0.38) %, respectively, and the stability was good within 14 d. The optimal

收稿日期: 2025-10-29

基金项目: 山东省自然科学基金项目 (ZR2019BH070); 济宁医学院大学生创新创业训练计划项目重点项目 (cx2024018z)

作者简介: 罗倩菲 (2000—), 女, 硕士研究生, 研究方向为纳米药物递送系统。E-mail: luoqianfei@126.com

*通信作者: 崔 腾 (1987—), 女, 讲师, 研究方向为纳米药物递送系统。E-mail: cuitengsd@126.com

王慧云 (1967—), 女, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为纳米药物递送系统。E-mail: wang_huiyun@126.com

NMTG was achieved with concentrations of 5.29% P188 and 16.24% P407. NMTG demonstrated good biological safety and anti-inflammatory activity. Pharmacological experiments indicated that NMTG showed favorable therapeutic effects on DED rats. **Conclusion** The successful preparation of NMTG improve the solubility of naringenin, which endow it with good DED therapeutic effects. This will provide support for new indications of naringenin in ocular applications and offer candidate solutions for the development of new naringenin dosage forms.

Key words: naringenin; micelles; thermosensitive gel; dry eye disease; thin-film dispersion method; star-point design-response surface method; pharmacodynamics; biological safety; anti-inflammatory activity

干眼症 (dry eye disease, DED) 是一种多因素导致的眼表疾病, 由泪膜稳定性降低、角膜和结膜炎症反应加重、神经感觉异常所致, 临床症状多样, 以眼部干涩、视觉障碍为主。DED 的患病率逐年攀升, 成为一个不容忽视的公共卫生问题^[1]。该病的临床治疗主要包括手术干预 (泪小点栓塞术、手术治疗)、非手术干预 (如人工泪液、激素类滴眼液) 等, 但上述方法均存在不同程度的风险和不良反应。目前, 学者普遍认为角膜、结膜炎症反应是 DED 发病的关键因素, 因此开发高效低毒的抗炎药物已成为其临床治疗的核心策略^[2]。

由于中医药具有高安全性和多靶点作用的优势, 所以成为研究热点。研究证实, 中药及其提取物、单体对 DED 均有明显的治疗作用^[3-5]。柚皮素是一种分布于柑橘类植物中的黄酮类化合物, 在治疗眼部疾病中展现出良好疗效, 包括抑制眼部角膜新生血管生成、防止视网膜损伤以及延缓糖尿病视网膜病变等^[6-8]。研究报道柚皮素具有良好的抗炎活性, 表明其具有潜在的 DED 治疗作用, 然而极低的水溶性限制了其在眼部治疗中的应用^[9-10]。

胶束是一种由两亲性嵌段共聚物自组装形成的核壳结构纳米体系, 该体系能有效增加药物溶解度, 并提高其稳定性和生物利用度^[11]。然而, 单独将胶束应用于眼部递药时受角膜屏障和泪液冲刷的影响, 存在眼部滞留时间短和生物利用度低等问题。胶束温敏凝胶 (micellar thermosensitive gel) 是一种将胶束分散在凝胶基质中形成的新型复合凝胶, 常温下为液态, 在温度高于胶凝温度的给药部位可立即转为半固体凝胶状态, 所以应用于眼部时可以延长胶束在角膜上的滞留时间, 从而延缓药物释放和增加药物吸收^[12-13]。

本研究首先制备了柚皮素胶束 (naringenin micelles, NM) 和 NM 温敏凝胶 (naringenin micelles loaded-thermosensitive gel, NMTG), 并对其质量进行评价, 然后进行了 NMTG 的生物安全性考察和抗炎活性评价, 最后验证了 NMTG 对 DED 大鼠的

治疗作用, 以期柚皮素在眼部应用的新适应证提供支持, 并为柚皮素新剂型的开发提供候选方案。

1 仪器与材料

1.1 仪器

LC-20AT 型高效液相色谱仪, 日本岛津公司; Nano ZS90 型粒径电位分析仪, 英国 Malvern 公司; JEM-2100 Plus 型透射电子显微镜, 日本电子株式会社; Sigma 300 型扫描电子显微镜, 德国 Zeiss 公司; pH-25 型 pH 计, 上海仪电科学仪器股份有限公司; Sorvall ST 8R 型高速冷冻离心机, 赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司; RE-52AA 型旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; LC-10N-50A 型真空冷冻干燥机、SHA-B 型水浴恒温振荡器, 上海力辰邦西仪器科技有限公司; SNDX-100D 型超声波清洗机, 宁波经济技术开发区朝日科技有限公司; BSH 系列数显恒温水浴锅, 群安科学仪器 (浙江) 有限公司; SC600 型生物显微镜, 意大利 Optika 公司。

1.2 动物

健康新西兰兔, 雄性, 体质量 (2.5±0.5) kg, 购自济南金丰实验动物有限公司, 生产许可证号为 SCXK (鲁) 2023-0008。健康 SD 大鼠, 雄性, 体质量 (200±20) g, 购自济南朋悦实验动物繁殖有限公司, 生产许可证号为 SCXK (鲁) 2022-0006。实验过程遵循济宁医学院有关实验动物管理规定, 均符合 3R 原则, 动物伦理批准号 JNMC-2025-DW-234。

1.3 试剂

柚皮素对照品 (批号 JB334600, HPLC≥98%)、柚皮素原料药 (批号 L21O10Q100513, 质量分数 98%)、泊洛沙姆 188 (P188, 批号 A15IS212741)、泊洛沙姆 407 (P407, 批号 N07IS231357) 均购自上海源叶生物科技有限公司; 甲醇, 批号 K2214070, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 无水乙醇, 批号 20250212, 天津市恒兴化学试剂制造有限公司; 氯化钠, 批号 2018625, 天津市鼎盛鑫化工厂有限公司; 氯化钾 (批号 20210513)、二水氯化钙 (批

号 20210220)、碳酸氢钠(批号 20180912)均购自国药集团化学试剂有限公司;苯扎氯铵,批号 20220116A,江苏思腾生物科技有限公司;双氯芬酸钠滴眼液,批号 36091102,珠海联邦制药股份有限公司;0.1%玻璃酸钠滴眼液,批号 3L442M05,齐鲁制药有限公司;花生四烯酸,批号 ZX-AJS-0002,西安展迅生物科技有限公司;BCA 试剂盒,批号 03942450,上海雅酶生物医药科技有限公司。

2 方法与结果

2.1 NM 的制备

采用薄膜分散法制备 NM^[14]。精密称取 10 mg 柚皮素和 270 mg P407,置于 100 mL 茄形瓶中,加入 10 mL 无水乙醇,200 W 功率下超声 10 min 至充分溶解,于 50 °C、100 r/min 条件下,旋转蒸发除去乙醇得到均匀分散的薄膜。加入 6 mL 去离子水,200 W 功率下超声水化 40 min,过 0.22 μm 微孔滤膜,即得 NM 溶液。不含柚皮素的空白胶束溶液同法制备。

2.2 HPLC 法测定柚皮素含量

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Nucifera C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-水(72:28);检测波长为 290 nm;柱温为 30 °C;体积流量为 1.0 mL/min;进样量为 10 μL。

2.2.2 NM 供试品溶液的配制 精密吸取 NM 溶液 0.5 mL,置于 10 mL 量瓶中,加入甲醇定容至刻度,40 °C、200 W 功率下超声水化 40 min 破乳,过 0.22 μm 微孔滤膜,即得 NM 供试品溶液。

不含柚皮素的空白胶束溶液作为阴性样品供试品溶液,同法操作。

2.2.3 柚皮素对照品溶液的配制 精密称取柚皮素对照品 10 mg,置于 100 mL 量瓶中,加入甲醇定容至刻度,得到质量浓度为 100 μg/mL 的柚皮素对照品储备液。

2.2.4 线性关系考察 精密量取柚皮素对照品储备液适量,加入甲醇稀释,得到质量浓度分别为 1.0、2.0、4.0、8.0、12.0、16.0、20.0 μg/mL 的系列对照品溶液。按照“2.2.1”项下色谱条件测定柚皮素各质量浓度(X)对应的峰面积(Y),进行线性回归,得到标准曲线线性回归方程 $Y=38.71X+0.9740$, $R^2=0.9999$,结果表明柚皮素在 1.0~20.0 μg/mL 线性关系良好。

2.2.5 专属性考察 取“2.2.3”项下的柚皮素对照品储备液、“2.2.2”项下 NM 供试品溶液以及阴性

样品供试品溶液,按照“2.2.1”项下色谱条件进样测试,结果见图 1,结果表明辅料及溶剂对柚皮素色谱峰的测定无干扰,专属性高。

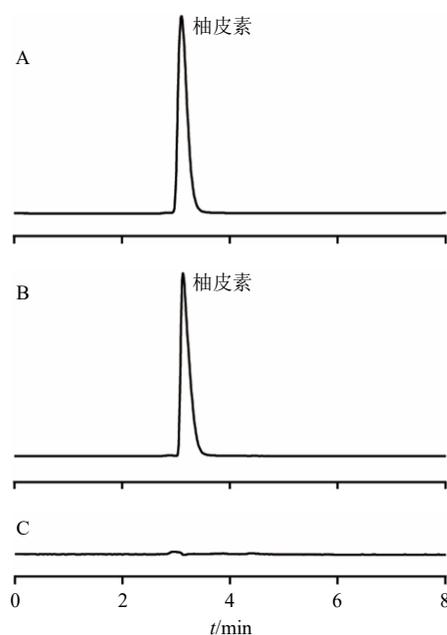


图 1 NM 供试品溶液(A)、柚皮素对照品溶液(B)和阴性供试品溶液(C)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC spectrum of NM test sample (A), naringenin reference substance (B) and negative test sample (C)

2.2.6 精密度考察 取质量浓度分别为 2、8、16 μg/mL 的柚皮素对照品溶液,按照“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次,计算得柚皮素低、中、高质量浓度峰面积的 RSD 分别为 0.62%、1.03%、0.32%,结果表明该仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性考察 取 NM 供试品溶液,分别于制备后 0、3、6、9、12、24 h 进样 10 μL,按照“2.2.1”项下色谱条件测定柚皮素峰面积,计算得柚皮素峰面积的 RSD 为 0.29%,结果表明 NM 供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.8 重复性考察 取同一份 NM 溶液,按照“2.2.2”项下方法制备 6 份供试品溶液,按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定柚皮素峰面积,计算柚皮素质量浓度的 RSD 为 0.70%,结果表明该方法重复性良好。

2.2.9 加样回收率考察 精密吸取 100 μg/mL 的柚皮素对照品储备液 9 份,置于 100 mL 量瓶中,分别加入 0.5 mL 空白胶束溶液,混匀后甲醇超声破乳,定容至刻度,配制成质量浓度分别为 2、8、16 μg/mL 的供试品溶液,按照“2.2.1”项下色谱条件测定柚皮素总量。计算得低、中、高质量浓度柚皮

素的平均加样回收率分别为 102.59%、99.11%、100.40%，RSD 分别为 0.62%、1.03%、0.32%，结果表明该方法准确度较高。

2.3 NM 溶液的质量评价

2.3.1 外观观察 精密移取适量 NM 溶液，在可见光下观察，稀释 5 倍后以激光（激光功率为 5 mW）照射，结果见图 2，室温下 NM 为澄清透明的液体，稀释后以激光照射可产生明显的丁达尔现象。

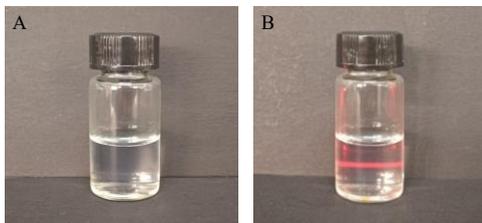


图 2 NM 溶液的外观性状 (A) 和稀释后丁达尔现象 (B)
Fig. 2 Appearance and properties (A) and Tyndall phenomenon after dilution (B) of NM solution

2.3.2 粒径和 ζ 电位测定 按照“2.1”项下平行制备 3 批 NM 溶液，精密移取适量 NM 溶液，稀释 20 倍后使用马尔文粒径仪测量其平均粒径、多分散指数 (polydispersity index, PDI) 及 ζ 电位，结果见图 3，NM 的平均粒径为 (21.56 ± 0.16) nm ($n=3$)，PDI 值为 0.053 ± 0.033 ($n=3$)， ζ 电位为 (-18.63 ± 1.94) mV ($n=3$)，呈正态分布。

2.3.3 透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM) 观察 精密移取适量 NM 溶液，稀释 20 倍后滴在覆盖有碳膜的铜网上，用滤纸吸

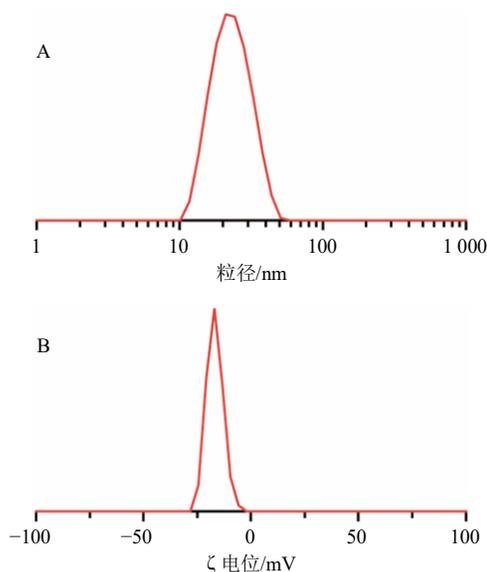


图 3 NM 溶液的粒径 (A) 和 ζ 电位 (B)
Fig. 3 Particle size (A) and ζ potential (B) of NM solution

去铜网周围多余的样品，滴加质量分数为 2.0% 的磷钨酸溶液负染 2 min，用滤纸吸取多余的染液，自然晾干后置于 TEM 下观察并拍照^[15]。结果见图 4，NM 为类球形，大小均一，边界规整清晰。



图 4 NM 的 TEM 图 ($\times 50\ 000$)
Fig. 4 TEM image of NM ($\times 50\ 000$)

2.3.4 包封率和载药量测定 采用超滤法测定包封率和载药量^[16]。精密移取适量 NM 溶液，置于超滤管（截留相对分子质量为 3 000）中，10 000 r/min 离心（离心半径 12 cm）20 min，取滤液适当稀释后使用 HPLC 测定游离药物量 ($W_{\text{总游离}}$)。取同体积 NM 溶液，甲醇破乳后使用 HPLC 测定总药物含量 ($W_{\text{总药量}}$)，根据 $W_{\text{总药量}}$ 计算得到 NM 的包封率为 $(73.96 \pm 0.24)\%$ ($n=3$)，根据所用辅料和药物的总质量 ($W_{\text{总用量}}$)，计算得 NM 的载药量为 $(7.34 \pm 0.38)\%$ ($n=3$)。

$$\text{包封率} = (W_{\text{总药量}} - W_{\text{总游离}}) / W_{\text{总药量}}$$

$$\text{载药量} = (W_{\text{总药量}} - W_{\text{总游离}}) / W_{\text{总用量}}$$

2.3.5 稳定性考察 精密移取适量 NM 溶液，4 $^{\circ}\text{C}$ 下避光放置，分别在第 0、7、14 天测定 NM 溶液的粒径、PDI 和包封率，考察 NM 溶液的稳定性^[17]。结果见表 1，表明 14 d 内 NM 的粒径、PDI 和包封率均无明显变化，稳定性良好。

表 1 NM 溶液的稳定性考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Stability study of NM solution ($\bar{x} \pm s, n=3$)

t/d	粒径/nm	PDI	包封率/%
0	21.21 \pm 0.30	0.045 \pm 0.007	73.11 \pm 1.40
7	23.06 \pm 0.12	0.046 \pm 0.011	73.86 \pm 0.87
14	23.31 \pm 0.46	0.053 \pm 0.012	72.72 \pm 0.55

2.4 NMTG 的制备

采用冷溶法制备 NMTG^[18]。精密称取适量 P407 和 P188，加至 NM 溶液中，加水补充质量至 20 g，搅拌溶解，置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中溶胀 24 h，即得澄清均匀的 NMTG 溶液。

2.5 NMTG 稀释前后相变温度的测定

采用倾斜法测定相变温度^[19]。精密移取适量

NMTG 溶液置于 10 mL 西林瓶中, 橡胶塞中间打孔后插入温度计 (精度 0.1 °C), 水浴平衡温度 10 min 后以 0.5 °C/min 的速度缓慢升高温度, 每 30 s 倾斜西林瓶 60°, 记录 NMTG 溶液凝固时的温度, 即为相变温度 (T_{gel}), 平行测定 6 份。另精密移取适量 NMTG 溶液置于 10 mL 西林瓶中, 以 40:7 的体积比加入人工泪液 (精密称取氯化钠 6.78 g、氯化钾 1.38 g、碳酸氢钠 2.18 g、二水氯化钙 0.084 g, 加水至 1 L, 即得) 进行稀释, 混匀后同法测定相变温度, 此温度即为泪液稀释后的相变温度 ($T_{atd\ gel}$), 平行测定 6 份。

2.6 单因素考察 NMTG 处方

2.6.1 P407 用量对 NMTG 相变温度的影响 固定 P188 用量为 3%, 设置 P407 用量分别为 14%、15%、16%、17%、18%, 按照“2.4”项下方法制备 NMTG, 按照“2.5”项下方法测定其 T_{gel} 和 $T_{atd\ gel}$ 。结果 (表 2) 表明, 随着 P407 用量的增加, T_{gel} 和 $T_{atd\ gel}$ 均逐渐降低; 当 P407 用量 < 15% 时, $T_{atd\ gel}$ 高于 40 °C, 所以选择 15%、16% 和 17% 进行后续星点设计。

表 2 P407 用量对 NMTG 相变温度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effects of P407 concentration on phase transformation temperature ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

P407/%	$T_{gel}/^{\circ}C$	$T_{atd\ gel}/^{\circ}C$	P407/%	$T_{gel}/^{\circ}C$	$T_{atd\ gel}/^{\circ}C$
14	33.0±0.1	40.4±0.3	17	23.7±0.4	34.0±0.3
15	27.1±0.2	35.9±0.2	18	22.9±0.3	30.7±0.5
16	24.4±0.2	34.5±0.4			

2.6.2 P188 用量对 NMTG 相变温度的影响 固定 P407 用量为 15%, 设置 P188 用量分别为 1%、2%、3%、4%、5%, 按照“2.4”项下方法制备 NMTG, 按照“2.5”项下方法测定其 T_{gel} 和 $T_{atd\ gel}$ 。结果 (表 3) 表明, 随着 P188 用量的增加, T_{gel} 和 $T_{atd\ gel}$ 均逐渐升高; 当 P188 用量 < 3% 时, $T_{atd\ gel}$ 均低于 35 °C, 所以选择 3%、4% 和 5% 进行后续星点设计。

2.7 星点设计-效应面法 (central composite design-response surface method, CCD-RSM) 优化处方

2.7.1 实验设计 根据单因素实验结果, 选择 P407

表 3 P188 用量对 NMTG 相变温度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Effects of P188 concentration on phase transformation temperature ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

P188/%	$T_{gel}/^{\circ}C$	$T_{atd\ gel}/^{\circ}C$	P188/%	$T_{gel}/^{\circ}C$	$T_{atd\ gel}/^{\circ}C$
1	23.7±0.2	28.6±0.2	4	28.8±0.3	36.4±0.2
2	24.3±0.2	29.9±0.3	5	30.2±0.4	38.0±0.2
3	25.6±0.3	34.9±0.2			

用量 (X_1) 和 P188 用量 (X_2) 为考察因素, 以 T_{gel} 和 $T_{atd\ gel}$ 为响应值, 利用 Design Expert 软件进行 2 因素 5 水平 CCD-RSM 实验设计, 各因素水平的代码值及实际处方量见表 4, 实验安排和结果见表 4。

表 4 NMTG 处方优选的各因素水平的代码值及实际处方量和实验安排及结果

Table 4 Code values and actual prescription quantity of each factor level and experimental arrangement and results of NMTG prescription optimization

实验号	$X_1/\%$	$X_2/\%$	$T_{gel}/^{\circ}C$	$T_{atd\ gel}/^{\circ}C$
1	16.00 (0)	5.41 (+1.414)	26.6	34.0
2	16.00 (0)	4.00 (0)	28.7	36.0
3	15.00 (-1)	5.00 (+1)	30.5	38.5
4	16.00 (0)	4.00 (0)	28.5	36.5
5	16.00 (0)	2.59 (-1.414)	24.8	33.5
6	16.00 (0)	4.00 (0)	27.5	36.7
7	14.59 (-1.414)	4.00 (0)	27.5	38.5
8	17.00 (+1)	5.00 (+1)	24.9	32.5
9	17.00 (+1)	3.00 (-1)	25.6	33.0
10	17.41 (+1.414)	4.00 (0)	25.0	32.9
11	15.00 (-1)	3.00 (-1)	23.7	37.5
12	16.00 (0)	4.00 (0)	27.0	37.0
13	16.00 (0)	4.00 (0)	27.5	36.6

2.7.2 模型拟合和方差分析 应用 Design Expert 软件对实验结果进行方差分析 (表 5) 以及多元二次回归方程拟合, 得编码自变量二次多项式回归方程:

$T_{gel} = 34.65 - 0.25 X_1 + 2.28 X_2 - 2.73 X_1 X_2 - 1.09 X_1^2 - 1.49 X_2^2$, 该拟合模型 $P < 0.01$, 表明具有极显著性差异, 模型系数 $R^2 = 0.9135$, 表明该模型预测值与测定值的相关性良好, 失拟项 $P = 0.4623 > 0.05$, 不具有显著性, 表明方程拟合度和可信度良好; $T_{atd\ gel} = 36.56 - 2.30 X_1 + 0.15 X_2 - 0.37 X_1 X_2 - 0.27 X_1^2 - 1.24 X_2^2$, 该拟合模型 $P < 0.0001$, 表明具有极显著性差异, 模型系数 $R^2 = 0.9606$, 表明该模型预测值与测定值的相关性良好, 失拟项 $P = 0.0991 > 0.05$, 不具有显著性, 表明方程拟合度和可信度良好。

2.7.3 效应面预测分析与处方优化 利用 Design Expert 软件绘制实验结果的三维响应面图, 结果见图 5, 表明固定 P407 用量, 随着 P188 用量的增大, T_{gel} 和 $T_{atd\ gel}$ 值均先升高后降低; 固定 P188 用量, 随着 P407 用量增大, T_{gel} 值先升高后降低, $T_{atd\ gel}$ 值降低。理想眼用凝胶室温 25 °C 为液体, 当滴入结膜囊内 35 °C 迅速形成凝胶, 根据图 5, Design Expert 软件拟合得到的最优处方: P407、P188 用量分别为

表5 方差分析结果

Table 5 Results of variance analysis

误差来源	T_{gel}					$T_{atd\ gel}$				
	平方和	自由度	均方	F值	P值	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	39.84	5	7.97	14.78	0.001 3	53.97	5	10.79	34.12	<0.000 1
X_1	0.27	1	0.27	0.50	0.502 4	42.41	1	42.41	134.05	<0.000 1
X_2	22.30	1	5.09	41.36	0.000 4	0.18	1	0.18	0.58	0.472 8
X_1X_2	14.06	1	14.06	26.08	0.001 4	0.56	1	0.56	1.78	0.224 2
X_1^2	3.86	1	2.89	7.16	0.031 7	0.50	1	0.50	1.57	0.250 0
X_2^2	7.24	1	12.12	13.42	0.008 0	10.74	1	10.74	33.94	0.000 6
残差	3.77	7	1.01			2.21	7	0.32		
失拟项	1.66	3	1.65	1.05	0.462 3	1.68	3	0.56	4.22	0.099 1
纯误差	2.11	4	0.53			0.53	4	0.13		
总离差	43.61	12				56.19	12			

表6 优选基质处方验证结果

Table 6 Verification results of optimized matrix prescription

编号	$T_{gel}/^{\circ}C$			$T_{atd\ gel}/^{\circ}C$		
	预测值	实际值	偏差/%	预测值	实际值	偏差/%
1	26.69	26.80	0.41	34.00	34.50	1.47
2	26.69	26.70	0.04	34.00	34.40	1.18
3	26.69	26.90	0.79	34.00	34.30	0.88
均值	26.69	26.80	0.41	34.00	34.40	1.18

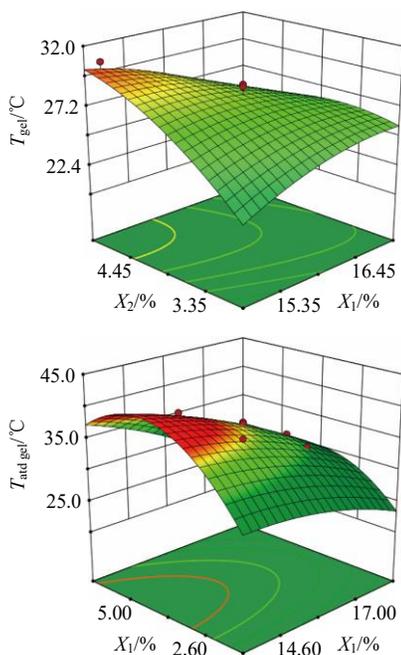


图5 因素 X_1 和 X_2 对 T_{gel} 及 $T_{atd\ gel}$ 的三维响应面图

Fig. 5 Three-dimensional response surface maps of factors

X_1 and X_2 on T_{gel} and $T_{atd\ gel}$

16.24%、5.29%，预测 T_{gel} 、 $T_{atd\ gel}$ 值分别为 26.69、34.00 °C。

2.7.4 处方验证 按照“2.7.3”项下筛选出的最优处方平行制备3批NMTG，测定 T_{gel} 值和 $T_{atd\ gel}$ 值，结果见表6， T_{gel} 的RSD值为0.22%， $T_{atd\ gel}$ 的RSD值为0.29%，偏差绝对值均小于3%，以下实验均使用该优化条件制备的NMTG进行。

2.8 NMTG 的质量评价

2.8.1 外观观察 精密移取适量NMTG置于西林瓶中，观察其在25、35 °C时的外观，结果见图6，NMTG在25 °C为无色透明的溶液，流动性好；在

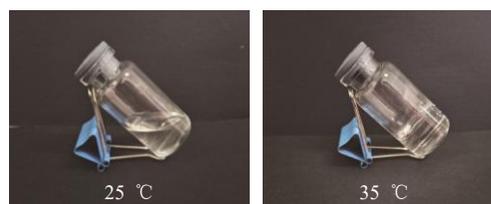


图6 NMTG在25、35 °C时的外观

Fig. 6 Appearance of NMTG at 25, 35 °C

35 °C时为无色透明的半固体，无流动性，表明NMTG具有良好的温度敏感性。

2.8.2 扫描电子显微镜 (scanning electron microscope, SEM) 观察 将NMTG冷冻干燥，取适量冻干样品进行喷金处理，使用SEM观察NMTG发生胶凝后的微观结构形态^[20]。结果见图7，可见胶凝后的NMTG为典型的三维网格孔洞结构，孔隙相互贯通，结构整齐。

2.8.3 TEM 观察 精密移取适量NMTG溶液，按照“2.3.3”项下操作，结果见图8，NM在NMTG中保持其类球形完整结构，大小均一，分散均匀。

2.8.4 pH 值测定 按“2.7.3”项下筛选出的最优处方平行制备3批NMTG，使用pH计于室温下测定其pH值，各平行测定3次。结果表明，3批次NMTG

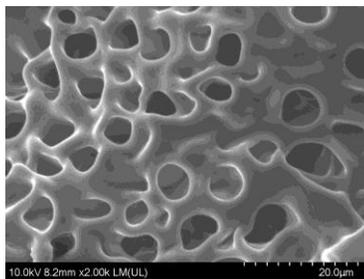


图7 NMTG的SEM图(×2 000)
Fig. 7 SEM image of NMTG (× 2 000)

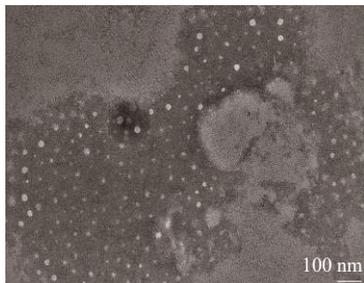


图8 NMTG的TEM图(×50 000)
Fig. 8 TEM image of NMTG (× 50 000)

的pH值分别为 6.47 ± 0.04 、 6.41 ± 0.05 、 6.40 ± 0.08 ($n=3$), 符合眼用制剂pH值6.0~8.0的要求。

2.8.5 稳定性考察 精密移取适量NMTG, 置于西林瓶中, $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下放置2d, 然后在 $40\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下放置2d, 反复冻融3次, 观察NMTG的外观变化^[21], 结果NMTG反复冻融3次后的 T_{gel} 值分别为 (27.1 ± 0.4) 、 (27.0 ± 0.1) 、 $(27.1 \pm 0.1)\text{ }^\circ\text{C}$ ($n=3$), $T_{\text{atd gel}}$ 值分别为 (35.0 ± 0.2) 、 (34.9 ± 0.2) 、 $(35.0 \pm 0.2)\text{ }^\circ\text{C}$ ($n=3$)。结果表明, NMTG反复冻融后无分层和沉淀, T_{gel} 值和 $T_{\text{atd gel}}$ 值无显著变化, 稳定性良好。

2.8.6 流变学性质考察 精密移取适量NMTG, 置于流变仪的平行板模具上, 温度设定为 $35\text{ }^\circ\text{C}$ (使之发生胶凝), 振荡模式下应变设置为1%, 范围设置为 $0.01 \sim 100.00\text{ Hz}$, 记录储能模量(G')或损耗模量(G'')-频率曲线^[22]。结果见图9, NMTG在扫描频率为 $0.1 \sim 100\text{ Hz}$ 时, G' 始终大于 G'' , 表明在此条件下, NMTG具有明显的黏弹性固体性质, 能够始终保持结构的稳定性。

2.8.7 体外释药行为研究 采用透析袋法测定柚皮素的体外释药度^[23]。精密移取柚皮素原料药以及适量NMTG (柚皮素含量均为 5 mg) 置于两端扎口的透析袋 (截留相对分子质量为 $8\ 000 \sim 10\ 000$) 中, 以含1%聚山梨酯-80的人工泪液为释放介质, 设置仪器转速为 100 r/min , 介质温度为 $35\text{ }^\circ\text{C}$, 分别于

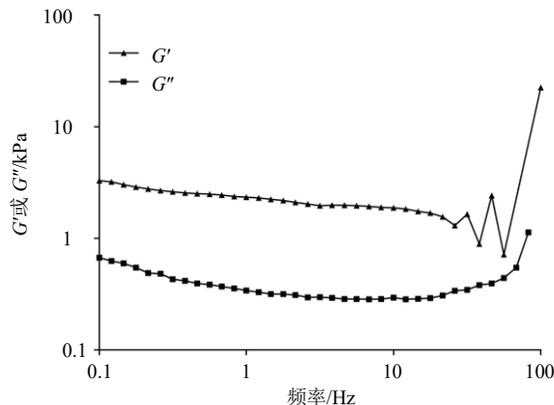


图9 NMTG的频率扫描考察

Fig. 9 Frequency scanning investigation of NMTG

0.25、0.5、1、2、4、6、8、10、12、24、36、48 h 取样 3 mL , 立即补充等量同温释放介质。测定柚皮素质量浓度, 计算累积释放率, 结果见图10, 游离柚皮素的48 h累积释放率高达 $(90.48 \pm 2.30)\%$, 而NMTG的48 h累积释放率仅为 $(72.27 \pm 0.19)\%$, 表明柚皮素制备成NMTG后可以延缓药物的释放。

对NMTG的累积释放率分别进行零级、一级、Higuchi、Ritger-Peppas以及Weibull动力学方程拟合, 结果见表7, NMTG各模型的拟合优度为

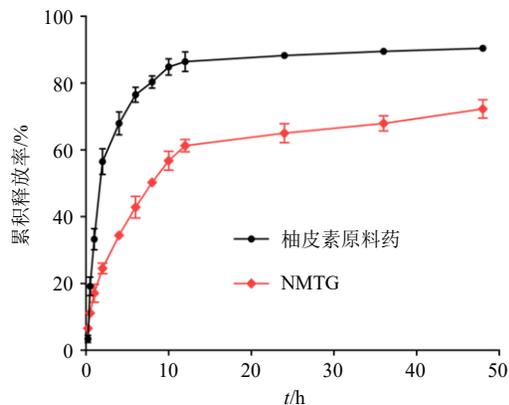


图10 柚皮素原料药和NMTG的体外释药曲线($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 10 *In vitro* drug release curve of naringenin and NMTG ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

表7 NMTG的体外释放拟合结果

Table 7 *In vitro* release fitting results of NMTG

模型	拟合方程
零级释放	$Q=1.207\ 2\ t+27.432\ 6$, $R^2=0.652\ 0$
一级释放	$Q=68.594\ 7(1-e^{-0.122\ 7\ t})$, $R^2=0.973\ 6$
Higuchi 释放	$Q=10.305\ 6\ t^{1/2}+12.338\ 5$, $R^2=0.863\ 0$
Ritger-Peppas 释放	$\ln Q=0.322\ 2\ \ln t+3.129\ 9$, $R^2=0.924\ 9$
Weibull 释放	$\ln \ln [1/(1-Q)]=0.891\ 0\ \ln t-1.166\ 3$, $R^2=0.994\ 4$

Weibull 释放模型 > 一级释放模型 > Ritger-Peppas 释放模型 > Higuchi 释放模型 > 零级释放模型, 表明 NMTG 更符合 Weibull 释放模型, 为扩散和溶蚀共同作用的释药机制。

2.9 NMTG 的生物安全性考察

2.9.1 NMTG 的眼部刺激性考察 取新西兰兔 6 只, 将其左眼作为对照眼, 给予 50 μL 生理盐水; 将其右眼作为实验眼, 给予等量 NMTG。分别记录单次给药后 2、6、12、24、48、72、96、120、144、168 h 时兔眼的角膜、结膜、虹膜及其他前节组织情况, 按照 Draize 眼刺激实验评分标准进行眼部刺激性考察, 具体标准见表 8、9^[24]。结果表明, 各时间点家兔双眼均未见角膜、虹膜和结膜损伤, 眼部无充血红肿且未见分泌物, 评分均在 0~3 分的无刺激性范围内。

表 8 Draize 眼刺激反应评分指标

眼前节组织	眼刺激反应	评分
角膜	无浑浊	0
	散在或弥散性浑浊, 虹膜清晰可见	1
	半透明区易分辨, 虹膜模糊不清	2
	出现灰白色半透明区, 虹膜细节不清瞳孔大小勉强看清	3
虹膜	角膜不透明, 虹膜无法确认	4
	正常	0
	褶皱明显加深、充血、肿胀, 角膜周围有轻度充血, 瞳孔对光仍有反应	1
结膜	出血, 肉眼可见坏死, 瞳孔对光无反应	2
	血管正常	0
	血管充血呈鲜红色	1
	血管充血呈深红色, 且血管不易分辨	2
	血管弥散性充血呈紫红色	3
	无水肿	1
	轻微水肿 (包括眼睑)	2
明显水肿, 伴有部分眼睑外翻	3	
水肿至眼睑超过半闭合	4	
分泌物	无分泌物	0
	少量分泌物	1
	分泌物使眼睑和睫毛潮湿或黏着	2
	分泌物使整个眼区潮湿或黏着	3

表 9 Draize 眼刺激实验评分标准

评分	标准	评分	标准
0~3	无刺激性	9~12	中度刺激
4~8	轻度刺激	13~16	严重刺激

2.9.2 NMTG 对兔眼角膜组织学的影响 取“2.9.1”项下新西兰兔, 于最后 1 次滴入 NMTG 12 h 后处死, 取出眼球并分离角膜, 4% 多聚甲醛固定 24 h 后逐级脱水, 石蜡包埋后切片, 进行 HE 染色, 使用光学显微镜观察; 取另 1 只滴入生理盐水的对照眼同法操作。结果见图 11, 滴入 NMTG 的兔眼角膜上皮细胞分层良好, 基质层纤维排列规则, 未见炎症浸润, 与对照眼相比无明显差异, 表明 NMTG 对角膜无刺激性。

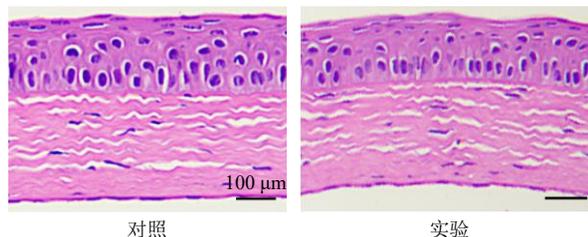


图 11 生物安全性考察中角膜组织病理切片 ($\times 200$)

Fig. 11 Pathological section of corneal tissue in biological safety assessment ($\times 200$)

2.10 NMTG 的抗炎活性评价

2.10.1 模型的建立和分组与给药 将适应性喂养 7 d 的 SD 雄性大鼠随机分为对照组、模型组、阳性对照组 (双氯芬酸钠滴眼液, 1.0 mg/mL) 和 NMTG (0.4 mg/mL) 组, 每组 10 只。将其左眼为对照眼, 不采取处理; 将其右眼作为实验眼。除对照组外, 其余各组实验眼以 5 μL 对应药物处理 1 次, 给药 30 min 后, 滴入 0.5% 花生四烯酸钠溶液 (arachidonic acid sodium salt, SAS) 5 μL ^[25-26]。

2.10.2 蛋白浓度测定和白细胞计数 给予 SAS 后 6 h 时, 清洗各组大鼠眼部分泌物, 抽提房水, 采用 BCA 法测定房水蛋白浓度, 使用血细胞计数板检测房水中的白细胞数目。结果见表 10, 与对照组相比,

表 10 各组大鼠蛋白质量浓度和白细胞数目 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ ($\mu\text{L} \cdot \text{只}^{-1}$)	蛋白/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	白细胞数量/ ($\text{个} \cdot \mu\text{L}^{-1}$)
对照	-	3.82 \pm 0.27	36.33 \pm 4.04
模型	-	8.75 \pm 0.61***	402.67 \pm 14.64***
阳性对照	5	5.85 \pm 0.99##	117.33 \pm 11.01####
NMTG	5	3.29 \pm 0.17####	82.67 \pm 16.80####

与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$ #### $P < 0.001$; 表 11 同。

*** $P < 0.001$ vs control group; ## $P < 0.01$ #### $P < 0.001$ vs model group; Same as table 11.

模型组的房水蛋白浓度及白细胞数量均显著升高 ($P < 0.001$), 说明造模成功。与模型组比, 阳性对照组和 NMTG 组的房水蛋白浓度显著降低 ($P < 0.01$ 、 0.001), 阳性对照组和 NMTG 组的白细胞数量显著降低 ($P < 0.001$), 说明双氯芬酸钠滴眼液和 NMTG 均具有良好的抗炎活性, 并且 NMTG 的抗炎活性更佳。

2.10.3 HE 染色观察 在给予 SAS 后 6 h 时处死大鼠, 取出眼球并分离角膜, 4%多聚甲醛固定 24 h 后

逐级脱水, 石蜡包埋后切片, 进行 HE 染色, 使用光学显微镜观察。结果见图 12, 与对照组相比, 模型组角膜上皮层变薄, 并有部分细胞坏死及炎症浸润, 说明造模成功。与模型组相比, 阳性对照组和 NMTG 组的角膜上皮结构清晰, 炎症浸润程度降低, 说明双氯芬酸钠滴眼液和 NMTG 均具有良好的抗炎活性, 并且阳性对照组基质层细胞排列疏松且核间距较大, NMTG 组基质层细胞排列紧密且形态正常, 说明 NMTG 的抗炎活性更佳。

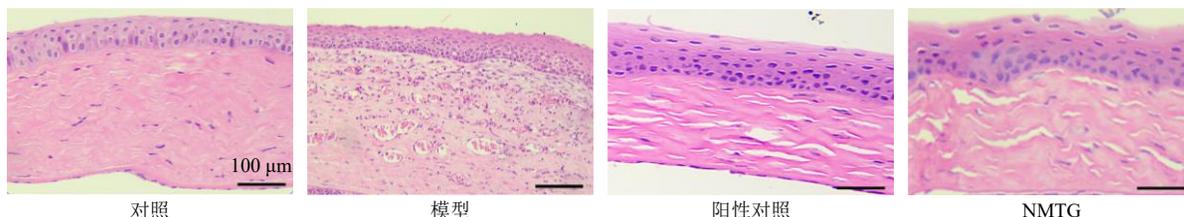


图 12 抗炎活性评价中角膜组织病理切片 ($\times 200$)

Fig. 12 Pathological section of corneal tissue in evaluation of anti-inflammatory activity ($\times 200$)

2.11 NMTG 的药效学研究

2.11.1 模型的建立和分组 将适应性喂养 7 d 的 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、阳性对照组 (0.1% 玻璃酸钠滴眼液) 和 NMTG 组, 每组 10 只。除对照组外, 其余各组给予 2 mg/mL 的苯扎氯铵溶液滴眼 (每次 5 μ L, 3 次/d), 连续 10 d^[25,27]。

2.11.2 给药 造模成功后, 按照实验分组于大鼠双眼各滴入对应药物 (每次 5 μ L, 3 次/d), 连续 10 d。对照组大鼠双眼滴入生理盐水 (每次 5 μ L, 3 次/d), 连续 10 d。给药同时给予苯扎氯铵维持。

2.11.3 泪液分泌量 (schirmer I test, SIT) 测定 采用酚红棉线测定大鼠 SIT^[27-28]。本实验在适宜的温湿度和安静的环境下进行。在给药的第 0 天和第 10 天, 使用异氟烷麻醉大鼠并固定后, 将酚红棉线一端约 1 mm 置于大鼠下睑内侧 1/3 结膜囊内, 30 s 后取出, 测量被泪液浸湿的酚红棉线红色部分长度, 结果见表 11。第 0 天时, 各组大鼠的 SIT 均无显著性差异。第 10 天时, 模型组大鼠的 SIT 显著低于对照组 ($P < 0.001$), 说明造模成功。与模型组比较,

表 11 各组大鼠泪液分泌量 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 11 SIT of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (μ L·只 ⁻¹)	泪液分泌量/mm	
		第 0 天	第 10 天
对照	-	8.97 \pm 0.23	8.80 \pm 0.26
模型	-	8.73 \pm 0.32	3.46 \pm 0.81***
阳性对照	5	8.90 \pm 0.17	5.47 \pm 0.25##
NMTG	5	8.80 \pm 0.46	6.83 \pm 0.21###

阳性对照组和 NMTG 组的 SIT 显著升高 ($P < 0.01$ 、 0.001), 说明 0.1% 玻璃酸钠滴眼液和 NMTG 均可改善 DED 大鼠的泪液分泌作用, 并且 NMTG 的 DED 治疗效果更佳。

2.11.4 HE 染色观察 取“2.11.3”项下大鼠, 于测定 SIT 后处死大鼠, 取出眼球并分离角膜, 4%多聚甲醛固定 24 h 后逐级脱水, 石蜡包埋后切片, 进行 HE 染色, 使用光学显微镜观察, 结果见图 13。与对照组相比, 模型组角膜基质层胶原纤维排列紊乱稀疏, 说明造模成功。与模型组相比, 阳性对照组和 NMTG 组基质层胶原纤维排列相对整齐, 说明 0.1%

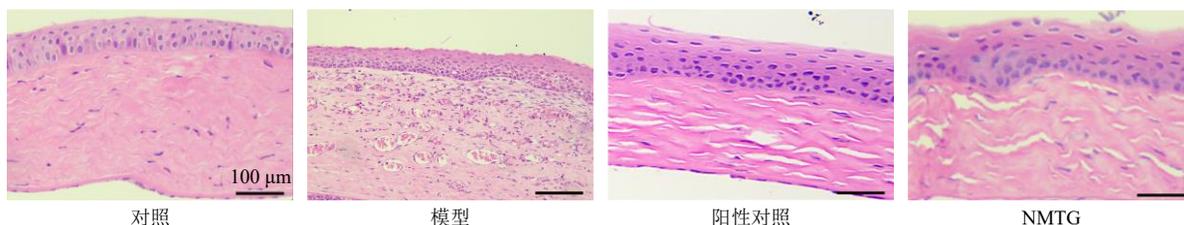


图 13 药效学研究中角膜组织病理切片 ($\times 200$)

Fig. 13 Pathological section of corneal tissue in pharmacodynamics studies ($\times 200$)

玻璃酸钠滴眼液和 NMTG 均可修复 DED 大鼠的角膜结构损伤, 并且 NMTG 组基质层胶原纤维排列更加紧密整齐, 说明 NMTG 的 DED 治疗效果更佳。

2.12 统计学方法

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 值表示, 采用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析。组间差异通过单因素方差分析进行检验, $P < 0.05$ 时判定组间具有显著性差异, $P < 0.01$ 时判定组间具有极显著性差异。

3 讨论

近年来, 越来越多的研究者发现炎症在 DED 的发病机制中发挥着关键作用。柚皮素具有良好的抗炎活性, 基于炎症水平与 DED 病程的相关性推测其具有潜在的 DED 治疗作用。然而柚皮素水溶性极低, 并且受到角膜屏障和泪液冲刷的影响, 导致其在眼部治疗中的应用受到很大限制。因此如何增加柚皮素溶解度并将提高其眼部利用效率, 成为柚皮素治疗 DED 亟待解决的问题。

本研究首先将柚皮素制备成 NM 以有效增加药物溶解度, 开展的溶解度测定实验结果证实柚皮素制备成 NM 后溶解度由 $12.52 \mu\text{g/mL}$ 提升至 $5\ 881.94 \mu\text{g/mL}$ 。但 NM 进入眼部后会很快地被泪液稀释冲刷, 导致柚皮素在角膜的滞留时间短, 使得眼部病患处药物浓度低。本研究进一步将 NM 均匀分布在 P188 和 P407 中形成 NMTG, 不仅能防止 NM 的聚集融合以提高其稳定性, 而且以溶液状态给药后能迅速形成凝胶黏附于角膜, 可缓慢地透过角膜屏障递送药物并减少眼泪的冲刷, 提高药物生物利用度, 并避免持续大剂量给药引起的多种不良反应以提高患者适应性^[29]。

本研究首先制备了 NM 并对其质量评价, 结果表明 NM 为大小均一的类球形, 平均粒径为 $(21.56 \pm 0.16) \text{ nm}$, PDI 值为 0.053 ± 0.033 , 这与文献报道相符, NM 粒径小, 分散性好, 柚皮素溶解度增加, 向角膜扩散的浓度梯度高, 这些因素都有利于增强药物向角膜的渗透, 提高眼部的治疗效果^[30]。然后将 NM 分散于 P188 和 P407 中得到 NMTG 并对其质量评价, 结果显示, NMTG 在 25°C 为无色透明溶液, 而在 35°C 时为无色透明半固体, 且在 35°C 条件下为扩散和溶蚀共同作用的释药机制, 表明 NMTG 有良好的温度敏感性, 当以液体状态均匀给药后可在结膜囊内迅速形成凝胶, 随后有效释放药物发挥药效。

生物安全性考察和抗炎活性评价表明 NMTG

刺激性小, 生物安全性高, 具有优于双氯芬酸钠滴眼液的抗炎活性。药效学研究中 SIT 测定和 HE 染色观察均表明 NMTG 具有优于 0.1% 玻璃酸钠滴眼液的 DED 治疗作用。

综上, 本实验制备的 NMTG 在解决柚皮素溶解度低这一难题的同时, 可以增加柚皮素在眼部的滞留以延缓药物释放和增加药物吸收, 为柚皮素综合利用和抗 DED 新药开发提供解决方案。但也存在不足之处: 首先, 本研究中 NM 的封装率与载药量尚未达到理想水平, 需进一步优化处方 (比如载体材料可采用 PEG 嵌段共聚物和聚氨基酸类嵌段共聚物等) 和工艺 (比如可采用自组装溶剂挥发法和乳化-溶剂挥发法等) 以提升药物装载能力。其次, 由于体外药物释放行为与体内真实释放过程存在异质性, 本研究仅进行了 NMTG 的体外释药性为研究, 而 NMTG 的体内跨膜转运机制涉及细胞摄取效率、胞内转运路径及角膜穿透能力等多重环节, 其调控因素在体外模型中难以完全模拟。最后, 本研究通过 Draize 眼刺激实验评分和 HE 染色证明了 NMTG 的生物安全性, 可进一步采用更细致的安全性指标比如使用 AccuPen 眼压计评价眼压变化, 采用荧光素染色法测定泪膜破裂时间, 使用裂隙灯观察角膜上皮损伤, 使安全评价更加充分完整。因此, 亟需通过体内药动学研究结合细胞模型系统解析 NMTG 的跨膜转运路径及影响因素, 为 NMTG 的临床应用提供更精准的基础支撑。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 邢悦, 张晓梅. 干眼病因的研究进展 [J]. 中国现代医学杂志, 2021, 31(18): 49-54.
- [2] 熊涛, 张宸, 邵佳, 等. 干眼症治疗的研究进展 [J]. 新疆医科大学学报, 2025, 48(6): 858-863.
- [3] 张琰琨, 康菊英, 刘彩萍, 等. 益气聪明汤激活 Nrf2/HO-1 通路调节氧化应激在缓解大鼠干眼症中的机制研究 [J]. 眼科新进展, 2025, 45(10): 781-786.
- [4] 赵丽琼, 魏瑞华. 虎杖苷对干眼症大鼠炎症反应的影响及机制 [J]. 中国药房, 2024, 35(18): 2213-2218.
- [5] Song S J, Hyun S W, Lee T G, et al. Topical application of *Liriope platyphylla* extract attenuates dry eye syndrome induced by particulate matter [J]. *J Ophthalmol*, 2019, 2019: 1429548.
- [6] 马钰. 眼用柚皮素微乳的制备及其抗小鼠角膜新生血管的研究 [D]. 郑州: 河南中医药大学, 2022.
- [7] Zeng L, Ying Q, Lou H D, et al. Protective effect of the

- natural flavonoid naringenin in mouse models of retinal injury [J]. *Eur J Pharmacol*, 2024, 962: 176231.
- [8] Salimi A, Makhmalzadeh B S, Feghi M, *et al*. Evaluation of the effect of naringenin liposomal formulation on retinopathy in an experimental rabbit model [J]. *Kafkas Univ Vet Fak*, 2022, 28(4): 469-479.
- [9] 陈孟瑶, 乐音子, 颜帅. 柚皮素治疗消化系统疾病的药理作用及机制研究进展 [J]. *中草药*, 2024, 55(13): 4622-4632.
- [10] Razavi M S, Ebrahimnejad P, Fatahi Y, *et al*. Recent developments of nanostructures for the ocular delivery of natural compounds [J]. *Front Chem*, 2022, 10: 850757.
- [11] 万安平, 周雄, 冯育林, 等. 中药菊花挥发油聚合物胶束温敏凝胶的制备与评价 [J]. *中国新药杂志*, 2023, 32(11): 1163-1170.
- [12] 曾妮, 蒋林芮, 苗青山, 等. 聚合物胶束-水凝胶复合体的制备及作为生物医用材料的应用研究进展 [J]. *生物医学工程学杂志*, 2021, 38(3): 609-620.
- [13] 刘敏华, 南开辉, 陈杨军. 合成高分子基温敏水凝胶在眼病治疗中的研究进展 [J]. *高分子学报*, 2021, 52(1): 47-60.
- [14] 朱君君, 沈成英, 王镜, 等. 甘草酸-F127/TPGS 混合纳米胶束的制备及其大鼠在体肠吸收研究 [J]. *中草药*, 2020, 51(7): 1845-1851.
- [15] 董丹丹, 焦红军, 郝海军. 根皮素聚乙二醇-聚乳酸纳米胶束的制备、表征及口服药动力学研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(3): 779-788.
- [16] 王晶, 邓丽菁, 曾韵. 基于泊洛沙姆的温敏凝胶在局部药物递送系统中的应用 [J]. *中国医学创新*, 2024, 21(22): 183-188.
- [17] 欧阳泽垚, 苗开元, 赵新颖, 等. 甘草查耳酮 A 柔性脂质体的制备及其抗炎活性研究 [J]. *中草药*, 2025, 56(20): 7355-7367.
- [18] 徐科, 吴赞杰, 李金洋, 等. 复方紫草温敏凝胶的制备与质量评价 [J]. *四川农业大学学报*, 2021, 39(6): 791-798.
- [19] 邹智琳, 李翔, 胡雪婉, 等. 地榆皂苷 II 胶束温敏凝胶的制备及缓解干眼症作用 [J]. *中国医院药学杂志*, 2025, 45(13): 1452-1460.
- [20] 管咏梅, 张煜薇, 陶颖, 等. 参柏温敏凝胶的制备及其对痔疮模型大鼠的药效作用 [J]. *中草药*, 2024, 55(23): 7999-8010.
- [21] 马野, 郑冰心, 姜明燕. 响应面法优化阿昔洛韦凝胶处方及其稳定性研究 [J]. *中国药师*, 2020, 23(7): 1423-1429.
- [22] 刘艳菊, 闫晓宇, 王永飞, 等. 聚乙二醇修饰大黄素/大黄酸脂质体温敏凝胶的制备、表征及对溃疡性结肠炎的治疗作用 [J]. *中草药*, 2025, 56(14): 5006-5018.
- [23] 张利竣, 吴盈盈, 吴瑾瑾, 等. 灯盏花素温敏型鼻用原位凝胶的体外释放和生物黏附性考察 [J]. *中国现代应用药学*, 2020, 37(23): 2863-2867.
- [24] 李维, 陈梁, 尹丹, 等. 川芎嗪眼用脂质体温敏凝胶的制备及体内外特性评价 [J]. *中国药房*, 2021, 32(3): 320-327.
- [25] 王惠. 增溶型柚皮素滴眼液的制备及其有效性实验研究 [D]. 青岛: 青岛科技大学, 2021.
- [26] Weng Y H, Ma X W, Che J, *et al*. Nanomicelle-assisted targeted ocular delivery with enhanced antiinflammatory efficacy *in vivo* [J]. *Adv Sci*, 2017, 5(1): 1700455.
- [27] 杜婧, 李勇, 高金荣, 等. 白介素 1 受体相关激酶 1 (IRAK1) 和 NF- κ B 在苯扎氯铵诱导的干眼症小鼠角膜和结膜组织中的表达 [J]. *眼科新进展*, 2019, 39(3): 223-228.
- [28] 羊佳, 何振瑞, 刘恩荔, 等. 重组 III 型人源化胶原蛋白液对干眼症的改善作用 [J]. *山西医科大学学报*, 2025, 56(4): 413-419.
- [29] 李江丽, 唐希阳, 黄曦, 等. 原位热敏凝胶眼部给药系统的研究进展 [J]. *生物医学工程与临床*, 2025, 29(4): 578-584.
- [30] 徐若瑄, 吴钰颖, 柯学. 氯替泼诺眼用微乳的制备、表征及质量评价 [J]. *中国药学杂志*, 2023, 58(10): 915-924.

[责任编辑 郑礼胜]