

# 大豆分离蛋白稳定膜荚黄芪水提取物-艾纳香精油皮克林乳液的制备与协同促伤口修复研究

王立<sup>1,2,3</sup>, 汪祖华<sup>1,2,3\*</sup>, 周英<sup>1,2</sup>, 朱月<sup>1,2,3</sup>, 陈滕<sup>1,2,3</sup>, 陈智勇<sup>1,2,3</sup>, 庞玉新<sup>1\*</sup>

1. 贵州中医药大学药学院, 贵州 贵阳 550025
2. 贵州省现代中药创制全省重点实验室, 贵州 贵阳 550025
3. 中药制剂与大健康产品开发贵州省科技创新领军人才工作站, 贵州 贵阳 550025

**摘要:** 目的 构建基于大豆分离蛋白 (soybean protein isolate, SPI) 稳定、负载膜荚黄芪水提取物 (*Astragalus membranaceus* water extract, AMWE) 的艾纳香精油 (*Blumea balsamifera* oil, BBO) 皮克林乳液 (AMWE-BBO Pickering emulsion, AMWE-BBO@PE), 评价其理化性质、抗菌活性及对小鼠伤口愈合的作用。方法 以 SPI 为稳定剂、BBO 为油相, 采用超声乳化法制备 AMWE-BBO@PE; 通过单因素实验考察 AMWE 质量浓度、油水比及超声功率等关键参数, 优化制备工艺; 表征乳液的粒径、 $\zeta$  电位、多分散指数 (polydispersity index, PDI) 及稳定性, 借助透射电子显微镜 (transmission electron microscopy, TEM) 和光学显微镜观察微观形态, 并评价其经皮渗透、抗菌及促创面愈合效果。结果 最优工艺参数为油水比 4%、AMWE 质量浓度 0.020 g/mL、超声功率 30 W; 所得乳液呈规整椭圆形, 其平均粒径 ( $422.2 \pm 2.2$ ) nm, PDI  $0.076 \pm 0.019$ ,  $\zeta$  电位 ( $-33.95 \pm 0.54$ ) mV, 稳定性良好; 48 h 累积透皮量达 4.857 mg, 透皮速率较 BBO 组提升约 6.3 倍。该乳液对大肠杆菌 *Escherichia coli*、金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 具有明显抑菌效果, 可加速胶原纤维沉积与重塑, 显著促进小鼠皮肤创面愈合。结论 AMWE-BBO@PE 皮克林乳液兼具良好抗菌活性与促伤口愈合能力, 为开发高效、稳定的中药水提取物经皮递送系统提供了新思路。

**关键词:** 艾纳香精油; 膜荚黄芪; 水提取物; 皮克林乳液; 抗菌活性; 伤口愈合

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)09-3329-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.09.007

## Preparation of *Astragalus membranaceus* water extract-*Blumea balsamifera* oil Pickering emulsion stabilized by soybean protein isolate and its synergistic wound healing-promoting effect

WANG Li<sup>1,2,3</sup>, WANG Zuhua<sup>1,2,3</sup>, ZHOU Ying<sup>1,2</sup>, ZHU Yue<sup>1,2,3</sup>, CHEN Teng<sup>1,2,3</sup>, CHEN Zhiyong<sup>1,2,3</sup>, PANG Yuxin<sup>1</sup>

1. School of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China
2. Guizhou Provincial Key Laboratory of Modern Chinese Medicine Innovation, Guiyang 550025, China
3. Traditional Chinese Medicine Preparation and Big Health Products Development-Guizhou Provincial Science and Technology Innovation Leading Talent Workstation, Guiyang 550025, China

**Abstract: Objective** To construct a *Blumea balsamifera* oil (BBO) Pickering emulsion (AMWE-BBO@PE) stabilized by soybean protein isolate (SPI) and loaded with *Astragalus membranaceus* water extract (AMWE), and evaluate its physicochemical properties, antibacterial activity, and effect on wound healing in mice. **Methods** AMWE-BBO@PE was prepared by ultrasonic emulsification method using SPI as the stabilizer and BBO as the oil phase. Key process partners including the concentration of AMWE, oil-water ratio, and ultrasonic power were optimized via single-factor experiments. The particle size,  $\zeta$  potential, polydispersity index (PDI), and

收稿日期: 2025-12-17

基金项目: 贵州省现代中药创制全省重点实验室(黔科合平台[2025]019); 贵州中医药大学纳米药物技术研究中心(贵中医 ZX 合字[2024]070); 中药制剂与大健康产品开发贵州省科技创新领军人才工作站(黔科合平台 KXJZ[2025]042)

作者简介: 王立(1998—), 男, 硕士研究生, 研究方向为药物新剂型、新制剂和新技术。E-mail: 985057347@qq.com

\*通信作者: 汪祖华, 男, 教授, 博士生导师, 主要从事药物新剂型、新制剂和新技术研究。E-mail: wangrui551601@163.com

庞玉新, 男, 教授, 博士生导师, 主要从事中药及民族药资源分类鉴定与质量控制等研究工作。E-mail: pyxmarx@126.com

stability of the emulsion were characterized; its micromorphology was observed by transmission electron microscopy (TEM) and optical microscopy. Additionally, its transdermal penetration ability, antibacterial activity, and wound healing-promoting effect were evaluated. **Results** The optimal process partners were determined as follows: oil-water ratio of 4%, AMWE mass concentration of 0.020 g/mL, and ultrasonic power of 30 W. The prepared emulsion exhibited a regular elliptical shape with an average particle size of  $(422.2 \pm 2.2)$  nm, PDI of  $0.076 \pm 0.019$ , and  $\zeta$  potential of  $(-33.95 \pm 0.54)$  mV, showing good stability. The cumulative transdermal amount within 48 h reached 4.857 mg, and the transdermal rate was approximately 6.3-fold higher than that of the BBO group. Furthermore, the emulsion displayed significant antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, accelerated the deposition and remodeling of collagen fibers, and remarkably promoted the healing of skin wounds in mice. **Conclusion** The AMWE-BBO@PE Pickering emulsion possesses excellent antibacterial activity and wound healing-promoting capacity, providing a novel strategy for the development of efficient and stable transdermal delivery systems for aqueous extracts of traditional Chinese medicines.

**Key words:** *Blumea balsamifera* oil; *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge; water extract; Pickering emulsion; antibacterial activity; wound healing

皮肤创伤不仅破坏其生理结构和功能,还可引发感染、炎症反应延迟愈合,甚至导致慢性溃疡或瘢痕形成,严重影响患者的生活质量<sup>[1-3]</sup>。膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge 为豆科黄芪属多年生草本植物,是我国传统中医药体系中的代表性“补气要药”,其药用历史可追溯至《神农本草经》,被列为上品,记载其“主痈疽久败疮,排脓止痛,大风癩疾,五痔,鼠瘻”。《本草纲目》进一步明确黄芪“补气固表,托毒排脓,敛疮生肌”的核心功效,在历代方剂中广泛用于创伤修复、体虚乏力、免疫低下等病症的治疗<sup>[4-5]</sup>。在创伤修复领域,黄芪干预创伤修复的作用机制已得到系统、深入的阐释。研究显示,黄芪中的活性成分黄芪多糖与黄芪甲苷可通过调节巨噬细胞极化(促进 M2 型巨噬细胞活化)、抑制炎症因子肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)释放、上调抗炎因子 IL-10 表达,减轻创伤局部炎症反应,为组织修复创造良好微环境<sup>[6-9]</sup>。此外,黄芪还具有显著的抗氧化活性,可通过清除氧自由基、提高超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性、降低丙二醛含量,减轻氧化应激对创伤组织的损伤,进一步加快修复进程<sup>[10-11]</sup>。然而,黄芪活性成分多为水溶性或半水溶性,存在生物利用度低、体内代谢快、经皮递送效率不佳等问题,限制了其在创伤修复领域的临床应用。

传统给药方式(如外用敷贴等),难以实现活性成分的有效递送,导致药效发挥不充分。因此,开发新型药物递送系统(如纳米乳液<sup>[12]</sup>、纳米凝胶<sup>[13]</sup>、脂质体<sup>[14]</sup>等)以改善黄芪活性成分的稳定性、提高经皮渗透效率、增强靶向性,成为近年来的研究热点。Pickering 乳液,以固体微粒(如纤维素纳米晶

等)替代传统表面活性剂稳定油水界面,为上述挑战提供了创新解决方案<sup>[15-17]</sup>。其卓越的物理稳定性有效防止体系分层,并规避了化学乳化剂的风险。优异的载药能力使其可同时包封亲水与亲油活性成分。综上,本研究以艾纳香精油(*Blumea balsamifera* oil, BBO)作为油相,大豆分离蛋白(soybean protein isolate, SPI)为稳定剂,构建了负载膜荚黄芪水提物(*Astragalus membranaceus* aqueous extract, AMWE) Pickering 乳液递送系统,以期进一步强化皮肤创伤修复效果,为开发高效、安全、稳定的天然活性成分经皮给药新剂型提供坚实的实验依据和理论支撑。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

JY92-IIN 型超声波细胞粉碎机,宁波新芝生物科技股份有限公司; 84003-71 型磁力搅拌器,科尔帕默仪器上海有限公司; Beckman Delsa Max Pro 型纳米粒度/Zeta 电位分析仪,美国贝克曼库尔特公司; AXLK1820-2 型超纯水机,重庆阿修罗科技发展有限公司; EX21 型光学显微镜,宁波舜宇仪器有限公司; TG16 型高速离心机,上海卢湘仪离心机仪器有限公司; PHS-3E pH 计,上海仪电科学仪器股份有限公司; AE/240 型电子天平,上海梅特勒仪器有限公司; TP-6 型智能透皮实验,天津盛达三台光学仪器有限公司; GCMS-QP2020NX 型气相色谱质谱联用仪,日本岛津公司; DHP-360BS 恒温培养箱,天津赛得利斯实验分析仪器制造厂; Thermo Scientific™ Multiskan Sky 酶标仪,美国赛默飞世尔科技公司。

### 1.2 材料

BBO, 自制, 含左旋龙脑 43.62%; SPI, 批号

D23113, 合肥博美生物科技有限公司; 黄芪, 批号 BCSW250308-3, 贵州同济堂药房连锁有限公司, 经贵州中医药大学药学院王志威教授鉴定为豆科黄芪属植物膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根; 京万红软膏, 批号 Z12020440, 天津达仁堂京万红药业有限公司; 亚甲基蓝, 批号 20220111, 上海沪试实验室器材股份有限公司; 苏丹红 III, 批号 Q/12HB 3854-2009, 天津市科密欧化学试剂有限公司; 左旋龙脑对照品 (批号 L2116096, 质量分数  $\geq 98.0\%$ )、水杨酸甲酯 (批号 H2111263)、醋酸乙酯 (批号 F2306774), 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; LB 营养琼脂 (923Y03)、LB 肉汤 (1118D031), 北京索莱宝科技有限公司; 磷酸盐缓冲溶液 (PBS, 批号 2024032002), 浙江森瑞生物科技有限公司; 金黄色葡萄球菌 (ATCC 25923) 和大肠杆菌 (PV 1393), 贵州医科大学基础医学院提供。

### 1.3 动物

本实验所需动物由长沙市天勤生物技术有限公司提供, 合格证号 SCXK2024-0021。所选成年 SD 大鼠均为健康清洁级, 共 8 只, 雄鼠, 体质量 200 g 左右。动物实验方案已通过贵州中医药大学动物实验伦理委员批准, 批准号 20251009003, 所有操作符合实验动物伦理相关规定。

## 2 方法与结果

### 2.1 药物的制备与鉴定

**2.1.1 AMWE 的制备** 称取 200 g 黄芪, 置于 3 000 mL 圆底烧瓶中, 加入 8 倍量水, 回流提取 2 h, 滤过, 收集滤液。滤渣加 8 倍量水重提 2 次, 每次 2 h, 合并滤液。滤液在 8 000 r/min 下离心 (离心半径为 5 cm) 10 min, 取上清液旋蒸后转移至 500 mL 蒸发皿中挥干, 制得 AMWE 中固形物, 得率为 4.595%。

**2.1.2 AMWE 化学成分鉴定** 采用 UPLC/Q-TOF-MS 法对 AMWE 中的主要成分进行了分析。AMWE 样品, 在 Waters HSS T3 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8  $\mu$ m) 上进行分析, 温度为 40  $^{\circ}$ C, 进样量 2  $\mu$ L, 体积流量为 0.3 mL/min。采用 0.1% 甲酸水溶液 (A)-0.1% 甲酸乙腈溶液 (B) 为流动相, 梯度洗脱: 0~1.0 min, 100% A; 1.0~12.0 min, 100%~5% A; 12.0~13.0 min, 5% A; 13.0~13.1 min, 5%~100% A; 13.1~17.0 min, 100% A。

采用美国 Thermo 公司 Q Exactive HFX 高分辨质谱系统进行一级、二级谱图的采集。配备有电喷

雾离子源 (electron spray ionization, ESI), 鞘气 40 arb, 辅助气 10 arb, 离子喷雾电压 +3 000 V/-2 800 V, 温度 350  $^{\circ}$ C, 离子传输管温度 320  $^{\circ}$ C。扫描模式为 Full-ms-ddMS<sup>2</sup>, 扫描方式为正离子、负离子。一级质谱扫描范围为 (scan *m/z* range) 70~1 050, 一级分辨率为 70 000, 二级分辨率为 17 500。原始数据使用 Progenesis Q1 (美国 Waters 公司) 软件进行基线过滤、峰识别、峰匹配、保留时间校正、峰对齐等前处理, 得到 1 个包含保留时间、质荷比和峰强度的数据矩阵。

利用中草药二级质谱数据库及相应裂解规律对含有二级质谱数据的峰进行鉴定。结果显示, AMWE 中共鉴定出 1 258 种化合物, 表 1 中列举了在 AMWE 中鉴定出的 15 种代表性成分, 主要以黄酮类、皂苷类、萜类和生物碱为主, 包括黄芪甲苷 IV、香叶木素-7-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷、异紫堇定、帝汶皂苷 C 和仙鹤草内酯等。这些成分具有良好的抗炎、抗氧化等药理活性作用, 是协同发挥促进伤口愈合作用的药效物质基础<sup>[18-19]</sup>。

### 2.2 AMWE-BBO@PE 的制备与表征

**2.2.1 SPI-黄芪提取物固体颗粒 (SHPs) 的制备** 精密称取 1 g SPI 缓慢加入 100 mL 烧杯中, 在 600 r/min 下磁力搅拌 2 h, 随后在 4  $^{\circ}$ C 静置过夜, 使蛋白质充分水化。将 SPI 溶液调至 pH 7.0, 9 000 r/min 离心 15 min (离心半径为 5 cm), 取上清液, 用孔径 0.22  $\mu$ m 的微孔滤膜滤过, 去除不溶性物质。称取不同比例的 AMWE 溶解于 100 mL SPI 水溶液中, 用 0.22  $\mu$ m 的微孔滤膜滤过, 即可得到 SHPs。

**2.2.2 不同质量浓度 SHPs 溶液的外观及粒径和  $\zeta$  电位测定** 制备不同质量浓度 SHPs 溶液, 其中, AMWE 与 SPI 比例为 1:1、1.5:1、2:1、3:1、4:1。将获得的 SHPs 分散液装在 5 mL 的样品瓶中, 观察外观并拍照记录。采用纳米粒度仪进行 GHPs 粒径和  $\zeta$  电位分析。将 SHPs 分散液稀释 40 倍, 取 1.0 mL 分散液于比色皿中, 设定仪器温度 25  $^{\circ}$ C, 分散相为水, 平衡时间 60 s, 每个样品测量 3 次。结果如图 1 所示, 当药物质量浓度为 0.010、0.040 g/mL 时, SHPs 的粒径分别为 (121.7 $\pm$ 4.5) nm 和 (212.6 $\pm$ 0.6) nm (表 2), 可知随着药物质量浓度的增加其粒径也逐渐增大。

**2.2.3 油水比筛选** 将 2 g AMWE 加入 100 mL 烧杯中, 再加入水合后的 SPI 溶液 100 mL 超声溶解, 于 9 000 r/min 下离心 (离心半径为 5 cm) 15 min,

表 1 AMWE 主要成分分析

Table 1 Analysis of main components in AMWE

编号	tr/ min	鉴定	分子式	加合离子	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	MS/MS (m/z)
1	6.126	香叶木素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	461.108 9	461.110 4	284.032 8, 299.056 7
2	6.228	大豆苷	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	417.118 0	417.117 8	255.065 1, 86.097 1
3	6.346	脱乙酰基印楝素烯	C <sub>26</sub> H <sub>32</sub> O <sub>6</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	441.227 1	441.223 0	357.180 9, 120.081 1
4	6.449	plucheoside B aglycone	C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	265.120 3	265.118 3	265.118 2, 187.086 7
5	6.512	8-C-(2-鼠李糖基-6-脱氧己吡喃糖基)木犀草素	C <sub>27</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	607.166 0	607.170 5	193.049 6, 134.037 8
6	6.580	异琥珀红苷 B	C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	477.137 0	477.139 3	315.086 2, 300.062 8
7	6.615	蕨苷 T	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>9</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	412.197 1	412.197 6	412.198 3, 353.149 5
8	6.684	巴豆苷 C	C <sub>24</sub> H <sub>42</sub> O <sub>12</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	522.291 4	522.292 8	86.097 0, 522.258 6
9	7.321	isocorydine	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	359.196 5	359.196 3	342.169 7, 359.198 3
10	7.688	仙鹤草内酯 6-O-葡萄糖苷	C <sub>24</sub> H <sub>28</sub> O <sub>10</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	477.175 5	477.175 5	137.059 8, 191.070 2
11	7.726	黄芪异黄烷苷,7,2'-二羟基-3',4'-二甲氧基异黄烷	C <sub>23</sub> H <sub>26</sub> O <sub>10</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	521.166 2	521.167 7	299.093 2, 269.045 5
12	7.998	凝血素 L	C <sub>34</sub> H <sub>50</sub> O <sub>12</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	651.337 5	651.333 8	567.292 6, 633.325 1
13	8.240	黄芪甲苷	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	785.468 1	785.468 4	143.106 7, 437.341 3
14	8.586	16-氧化千层塔烯二醇	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	457.367 6	457.367 8	97.029 1, 95.085 7
15	10.125	知母皂苷 C	C <sub>45</sub> H <sub>74</sub> O <sub>18</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	867.473 7	867.474 6	157.049 7, 97.028 9

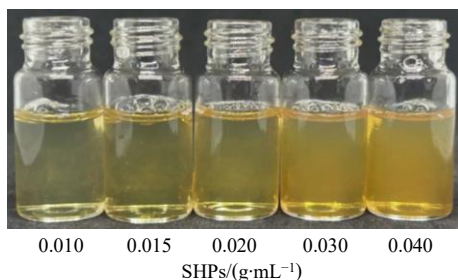


图 1 不同质量浓度 SHPs 溶液的外观

Fig. 1 Appearance of SHPs solutions at different concentrations

表 2 不同质量浓度 SHPs 溶液的粒径、多分散指数 (PDI) 和 ζ 电位 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 2 Particle size, polydispersity index (PDI), and ζ potential of SHPs solutions at different concentrations ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

SHPs/(g·mL <sup>-1</sup> )	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV
0.010	121.7±4.5	0.421±0.050	-36.57±0.68
0.015	144.9±0.9	0.352±0.030	-38.17±0.19
0.020	163.3±2.2	0.284±0.010	-38.54±0.67
0.030	191.5±5.1	0.255±0.010	-35.09±0.67
0.040	212.6±0.6	0.233±0.020	-33.69±0.19

上清液用 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 去除不溶性物质。随后, 加入对应比例的 BBO (2%、4%、6%、8%、10%), 再用超声波细胞粉碎机, 在 30 W 功率下冰

浴超声 5 min 得到成品, 并将部分成品转入固定体积的玻璃瓶中, 密封保存于 4 °C, 用于乳液稳定性观察和粒径等理化性质评价。经筛选, 当油相为 4% 时, 能形成粒径较小、分布最均一的乳液, 该乳液的平均粒径 (422.2±2.2) nm、PDI 0.076±0.02 及 ζ 电位 (-33.95±0.54) mV 为最优 (图 2 和表 3)。

2.2.4 AMWE 质量浓度筛选 将不同质量 AMWE (1.0、1.5、2.0、3.0、4.0 g) 加入 100 mL 烧杯中, 再加入水合后的 SPI 溶液 100 mL 超声溶解, 于 9 000 r/min 下离心 15 min, 上清液用 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 去除不溶性物质。随后, 加入 4% BBO, 再用超声波细胞粉碎机, 在 30 W 功率下冰浴超声 5 min 得到成品, 并将部分成品转入固定体积的玻璃瓶中, 密封保存于 4 °C, 用于乳液稳定性观察和粒径等理

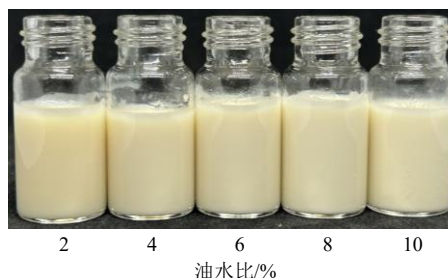


图 2 不同油水比乳液的外观

Fig. 2 Appearance of emulsions with different oil-water ratios

表3 不同油水比乳液的粒径、PDI和ζ电位 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

**Table 3 Particle size, PDI, and ζ potential of emulsions with different oil-water ratios ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )**

油水比/%	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV
2	282.4±6.1	0.157±0.020	-28.86±0.68
4	422.2±2.2	0.076±0.020	-33.95±0.54
6	489.9±37.4	0.275±0.200	-31.73±0.15
8	1 381.0±303.0	1.000	-29.31±0.56
10	1 404.7±284.2	0.475±0.440	-28.34±0.72

化性质评价。如图 3 所示，当药物质量浓度达到 0.030 g/mL 及 0.040 g/mL 时，乳液有明显的颗粒物，可能是由于界面负载饱和与竞争吸附的原因导致乳液不稳定，当 AMWE 质量浓度为 0.010、0.015、0.020 g/mL 时，其乳液粒径、PDI 及电位较优（表 4），因此，最终选择药物质量浓度最高（0.020 g/mL）为最佳条件。

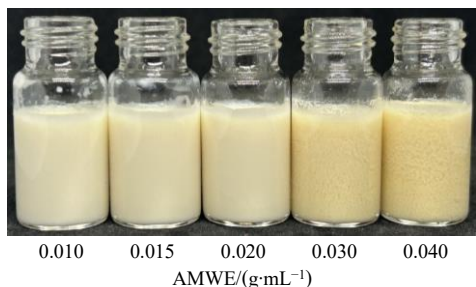


图3 不同浓度质量度 AMWE 乳液的外观

Fig. 3 Appearance of emulsions with different concentrations of AMWE

表4 不同质量浓度 AMWE 乳液的粒径、PDI 和 ζ 电位 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

**Table 4 Particle size, PDI, and ζ potential of emulsions with different concentrations of AMWE ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )**

AMWE/(g·mL <sup>-1</sup> )	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV
0.010	366.1±13.7	0.148±0.030	-39.87±0.03
0.015	383.3±11.6	0.053±0.050	-37.45±0.29
0.020	435.8±16.2	0.080±0.090	-34.58±0.27
0.030	1 665.3±138.4	0.225±0.070	-29.86±0.61
0.040	2 284.7±181.3	0.431±0.070	-30.31±0.36

**2.2.5 超声功率的筛选** 将 2 g AMWE 加入 100 mL 烧杯中，再加入水合后的 SPI 溶液 100 mL，超声溶解，于 9 000 r/min 下离心（离心半径为 5 cm）15 min，上清液用 0.22 μm 微孔滤膜滤过，去除不溶性物质。随后，加入 4% BBO，再用超声波细胞粉碎机，在对应功率下（20、25、30、35、40 W）冰浴中超声 5 min 得到成品，并将部分成品转入固定体积的玻璃瓶中，密封保存于 4 °C，用于乳液稳

定性观察和粒径等理化性质评价。结果由图 4 和表 5 可知，在超声功率为 30 W 时，乳液形成更稳定，且耗能最小。

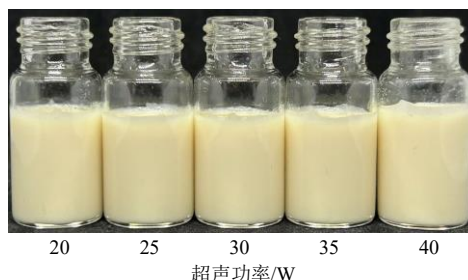


图4 不同超声功率乳液的外观

Fig. 4 Appearance of emulsions prepared under different ultrasonic powers

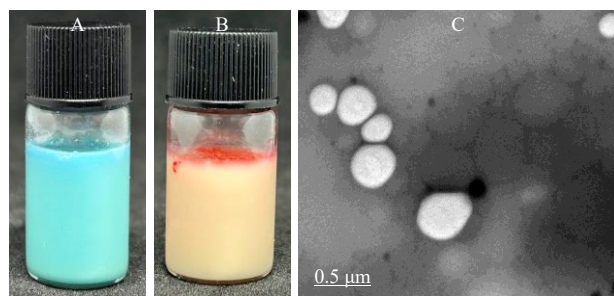
表5 不同超声功率乳液的粒径、PDI 和 ζ 电位 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

**Table 5 Particle size, PDI, and ζ potential of emulsions under different ultrasonic powers ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )**

超声功率/W	粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV
20	397.5±5.1	0.064±0.050	-34.52±1.45
25	417.0±16.1	0.123±0.100	-33.83±0.46
30	387.3±17.4	0.120±0.030	-34.25±0.57
35	364.0±9.7	0.088±0.040	-33.38±0.50
40	372.1±4.1	0.104±0.030	-33.80±0.10

**2.2.6 AMWE-BBO@PE 的乳液类型的鉴别及透射电子显微镜 (transmission electron microscopy, TEM) 观察** 采用染色法对 AMWE-BBO@PE 的乳液类型进行鉴别。分别取 4 mL AMWE-BBO@PE 于 2 个 5 mL 玻璃瓶中，一个加入一定量油溶性染料苏丹红 III，另一个玻璃瓶中加入水溶性染料的亚甲基蓝，然后观察两者在乳液中的扩散速度。结果显示，当加入水溶性染料亚甲基蓝后其在 AMWE-BBO@PE 中迅速扩散，而当加入油溶性染料苏丹红 III 后未观察到扩散现象。由此可判断，AMWE-BBO@PE 为 O/W 型乳液（图 5-A、B）。将 AMWE-BBO@PE 液逐滴施加 TEM 铜网上，随后静置 3 min，并使用滤纸轻柔吸附去除表面多余溶液。继而，滴加磷钨酸负染色试剂，实施 2 min 的染色处理，之后彻底吸净染色液，于室温条件下自然风干。最终，借助 TEM 对 AMWE-BBO@PE 的微观结构形态进行观测与分析。结果如图 5-C 所示，AMWE-BBO@PE 在 TEM 下呈现规整的椭圆形状，粒径在 400 nm 左右。

**2.2.7 AMWE-BBO@PE 的光学显微形态分析** 分别将不同比例的皮克林乳液，滴加到载玻片上，采用 EX21 型光学显微镜（10×目镜）观察样品，使



A、B 分别为 AMWE-BBO@PE 中加入油性染料苏丹红 III、水溶性染料亚甲基蓝；C 为 AMWE-BBO@PE 的 TEM 图 ( $\times 5\ 000$ )。A, B are AMWE-BBO@PE added with oil-soluble dye Sudan III and water-soluble dye methylene blue respectively; C is the TEM diagram of AMWE-BBO@PE ( $\times 5\ 000$ ).

图 5 AMWE-BBO@PE 的乳液类型及微观形态分析

Fig. 5 Analysis of emulsion type and microscopic morphology of AMWE-BBO@PE

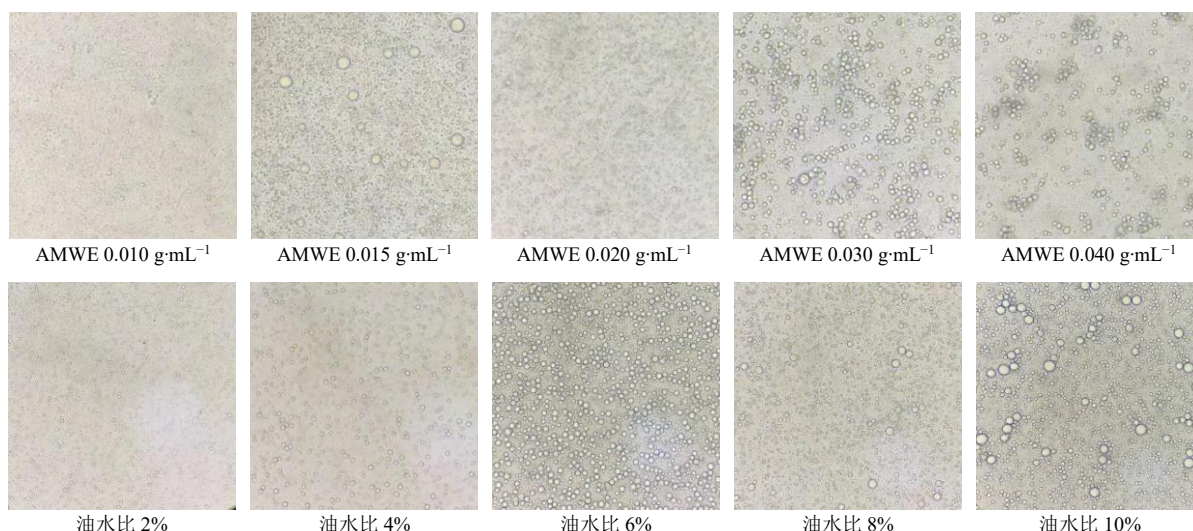


图 6 单因素考察乳液制备显微图

Fig. 6 Micrographs of emulsion preparation under single-factor investigation

比大于 4% 时, 界面面积激增, 颗粒不足, 覆盖率下降, 液滴易聚并, 乳液粒径较大, 且随着油相比例的增加乳液粒径也随之增大, 进一步确定最佳药物质量浓度为 0.020 g/mL, 最佳油水比为 4%。

### 2.3 AMWE-BBO@PE 的稳定性考察

**2.3.1 离心稳定性** 取 1.5 mL AMWE-BBO@PE, 分别于不同转速下 (2 000、4 000、6 000、8 000、10 000 r/min) 离心 10 min (离心半径为 5 cm), 测量离心后乳液的粒径、 $\zeta$  电位、PDI, 利用公式 (1) 来计算其离心稳定率, 并观察其外观。其中,  $V_c$  为样品中保持均匀、未发生沉降或乳析的清液层体积,  $V_0$  为离心前样品的总体积。结果如表 6 和图 7 所示, 乳液经不同转速离心后, 其粒径、 $\zeta$  电位和 PDI 无明显变化, 且离心稳定率均为 100%, 外观呈

用 40 $\times$  物镜 (总放大倍数 400 $\times$ ) 观察并拍照。在此基础上, 使用光学显微镜观察 AMWE-BBO@PE 的微观形态。图 6 显示, 在 AMWE 质量浓度为 0.015 g/mL 时, 乳液粒径大小差异较大, 当药物质量浓度为 0.030、0.040 g/mL 时, 所形成的 SHPs 较大, 这可能归因于 SPI 颗粒的界面负载饱和与聚集<sup>[20]</sup>。同时, AMWE 中含有的多糖、黄酮、皂苷等亲水大分子, 会与 SPI 颗粒在界面发生竞争吸附, 从而导致乳液粒径不稳定。在 AMWE 质量浓度为 0.010、0.020 g/mL 时, 乳液形态较优。

油水比小于 4% 时, 界面面积不足, SPI 颗粒分散于水相, 无法形成连续界面膜, 稳定性下降; 油水比为 4% 时, SPI 颗粒在油水界面形成单分子层紧密排列, 覆盖率最大, 可形成稳固机械屏障; 油水

表 6 离心稳定性考察 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 6 Investigation of centrifugal stability ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

离心转速/(r·min <sup>-1</sup> )	粒径/nm	PDI	$\zeta$ 电位/mV
未离心	426.3 $\pm$ 6.9	0.086 $\pm$ 0.030	-34.56 $\pm$ 0.26
2 000	429.5 $\pm$ 7.4	0.077 $\pm$ 0.040	-36.02 $\pm$ 0.32
4 000	421.9 $\pm$ 7.8	0.085 $\pm$ 0.060	-35.60 $\pm$ 0.29
6 000	418.9 $\pm$ 6.7	0.096 $\pm$ 0.050	-36.23 $\pm$ 0.41
8 000	414.0 $\pm$ 7.1	0.089 $\pm$ 0.070	-33.19 $\pm$ 0.36
10 000	409.4 $\pm$ 6.1	0.093 $\pm$ 0.050	-34.64 $\pm$ 0.42

均匀的乳白色, 无分层、破乳的现象, 表明其具有极好的离心稳定性。

$$\text{离心稳定率 (SR)} = V_0/V_c \quad (1)$$

**2.3.2 热稳定性** 在一定的温度 (20、40、60、80  $^{\circ}\text{C}$ ) 下, 分别取 4 mL AMWE-BBO@PE 乳液进行水浴处

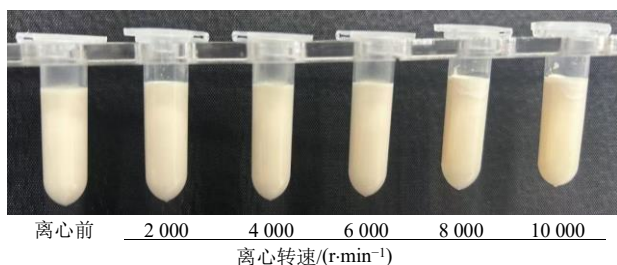


图7 不同转数离心前后 AMWE-BBO@PE 的外观  
Fig. 7 Appearance of AMWE-BBO@PE before and after centrifugation at different rotation speeds

理, 处理时间为 12 h, 后观察其外观并测定其粒径、 $\zeta$  电位和 PDI 变化情况。结果如表 7 和图 8 所示, AMWE-BBO@PE 在不同温度水浴后, 粒径、 $\zeta$  电位和 PDI 无明显变化, 外观呈均匀的乳白色, 无分层、破乳的现象, 表明 AMWE-BBO@PE 具有良好的热力学稳定性。

表 7 热稳定性考察 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 7 Thermal stability study ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

温度/°C	外观	粒径/nm	PDI	$\zeta$ 电位/mV
处理前	均匀	424.4±5.8	0.079±0.180	-32.68±0.44
20	均匀	426.3±6.8	0.083±0.180	-34.22±0.44
40	均匀	436.6±7.0	0.088±0.120	-35.94±0.18
60	均匀	435.2±7.2	0.097±0.040	-36.28±0.27
80	均匀	442.2±7.5	0.103±0.160	-35.52±0.53

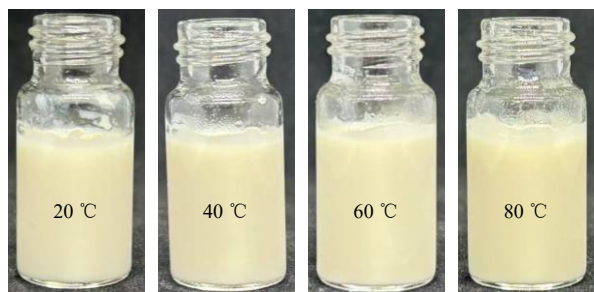


图8 不同温度水浴后 AMWE-BBO@PE 的外观  
Fig. 8 Appearance of AMWE-BBO@PE after water bath treatment at different temperatures

**2.3.3 冻融稳定性** 取 AMWE-BBO@PE 样品置于 -20 °C 下冷冻 24 h, 随后在室温中解冻 2 h 作为 1 个完整的冻融循环。然后, 观察并记录不同循环次数后的外观及微观性质变化。结果如表 8 及图 9 所示, AMWE-BBO@PE 乳液在经历 3 次冻融循环后, 外观始终保持均一, 未见分层或沉淀。进一步的数据还显示, 该乳液在冻融循环过程中表现出优异的稳定性的。其平均粒径由初始的 (425.8±6.4) nm 略微增加至第 3 次循环后的 (448.3±9.3) nm, 整体变化幅度较小; 同时, 体系的 PDI 始终维持在 0.1

表 8 冻融稳定性考察 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 8 Freeze-thaw stability study ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

冻融次数	粒径/nm	PDI	$\zeta$ 电位/mV
冻融前	425.8±6.4	0.078±0.020	-33.48±0.17
第 1 次	436.2±7.9	0.082±0.040	-34.95±0.60
第 2 次	442.1±8.6	0.085±0.030	-35.48±0.63
第 3 次	448.3±9.3	0.094±0.050	-34.86±0.13

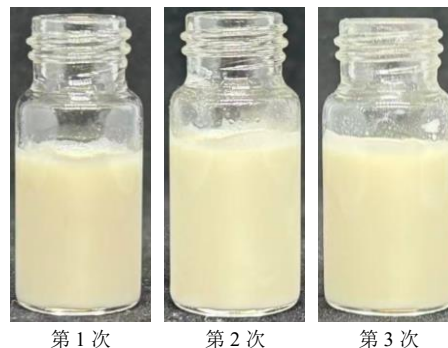


图9 不同冻融次数后 AMWE-BBO@PE 的外观  
Fig. 9 Appearance of AMWE-BBO@PE after different numbers of freeze-thaw cycles

以下的低水平 (表 8),  $\zeta$  电位也稳定在约 -34 mV, 无明显波动。表明 AMWE-BBO@PE 具有优异的冻融稳定性, 其稳定机制可能归因于 AMWE-BBO 形成的致密界面膜具有足够的机械强度, 能有效抵抗冷冻过程中冰晶生长所产生的挤压和穿刺应力, 从而保护了内部油相, 防止了液滴的聚并<sup>[21]</sup>。

**2.3.4 乳析指数** 按照油水比 2%、4%、6%、8%、10% 和 AMWE 质量浓度 0.01、0.015、0.02、0.03、0.04 g/mL 分别各配制 3 批乳液, 在制备后第 1、3、7、14 天进行乳液稳定性观察, 依据公式 (2) 计算乳析指数。结果如表 9、10 所示, 在第 3 天时, 油水比为 2% 及 4% 的乳液仍然稳定, 在第 14 天时, 油水比为 4% 时, 乳析指数达到 (15.45±0.45) %, AMWE 为 1.0、1.5、3.0、4.0 g 的乳液都有不同程度

表 9 不同油水比乳液在 14 d 内的乳析指数 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
Table 9 Creaming index of emulsions with different oil-water ratios within 14 d ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

油水比/%	乳析指数/%			
	1 d	3 d	7 d	14 d
2	0	0.15±0.26	5.45±0.26	23.94±0.26**
4	0	0	6.06±0.23	15.45±0.45
6	0.45±0.45	6.06±0.26	16.21±0.09	24.70±0.26**
8	5.60±0.26	15.00±0.45	20.45±0.45	36.06±0.26**
10	5.30±0.26	14.70±0.69	20.60±0.23	32.58±0.26***

与油水比 4% 比较: \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ 。  
\*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs oil-water ratio of 4%.

表 10 不同质量浓度 AMWE 乳液在 14 d 内的乳析指数  
( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 10 Creaming index of emulsions with different concentrations of AMWE within 14 d ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

AMWE/ (g·mL <sup>-1</sup> )	乳析指数/%			
	1 d	3 d	7 d	14 d
0.010	0	0.30±0.26	14.24±0.26	16.67±0.26**
0.015	0	0.15±0.26	11.52±0.26	15.15±0.26**
0.020	0	0	0	11.36±0.26
0.030	9.70±0.26	18.94±0.26	23.79±0.26	24.24±0.26***
0.040	14.24±0.26	24.24±0.26	30.15±0.26	32.12±0.26***

与 AMWE 0.020 g·mL<sup>-1</sup> 比较: \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ 。

\*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs AMWE 0.020 g·mL<sup>-1</sup>。

度的析出, 2 g AMWE 所制备的乳液乳析指数为最小, 达到 (11.36±0.26) %。

乳析指数 = 分层相的高度/乳液的总高度 (2)

### 2.4 AMWE-BBO@PE 的经皮渗透研究

通过测定透皮前、后油相 BBO 中的左旋龙脑含量, 评估 AMWE-BBO@PE 的经皮渗透性能。方法如下: 精密称定 1.8 mg 的左旋龙脑于 10 mL 量瓶中, 加入醋酸乙酯定容, 吸取 100、300、500、700、900、1 100 μL 于 10 mL 量瓶中, 加入醋酸乙酯定容, 配制成 0.18、0.54、0.90、1.26、1.62、1.80 μg/mL 左旋龙脑对照品溶液, 建立不同质量浓度的左旋龙脑的线性关系曲线 ( $R^2 \geq 0.9995$ )。

将处理后的大鼠腹部皮肤固定于 Franz 扩散池之间 (扩散池有效扩散面积为 0.785 cm<sup>2</sup>, 接收池体积为 15 mL), 真皮层面向接收池。供给池分别加入 2 mL 供试品溶液, BBO 组 ( $n=3$ ) 为对照组 (80 μL BBO 与 1.92 mL 大豆油混匀), 温度设置为 (37.0±0.5) °C 并持续搅拌 (350 r/min)。分别于 1、2、4、6、8、10、12、24、48 h 在接收池取样 1 mL, 并补充等体积的空白接收液, 然后测定每个时间点中左旋龙脑含量。以累积释放量评估其渗透功能, 计算公式 (3) 如下。

$$Q_n = (VC_n + \sum_{i=1}^{n-1} V_i C_i) / A \quad (3)$$

$Q_n$  为该取样时间的累积渗透量,  $V$  和  $V_i$  分别为接收池的体积和第  $i$  次采样时所取样品的体积,  $C_n$  和  $C_i$  分别是采样时间  $n$  和第  $i$  次 ( $n-1$ ) 采样时接收池中龙脑的质量浓度 (mg/mL),  $A$  为有效渗透面积 (0.785 cm<sup>2</sup>)

结果如图 10 所示, AMWE-BBO@PE 的经皮渗透过程呈现出 3 个特征阶段。在滞后期 (约 0~10 h), 药物从 AMWE-BBO@PE 中逐步释放并穿透皮肤角质层屏障, 因皮肤屏障的初步阻挡作用, 接收

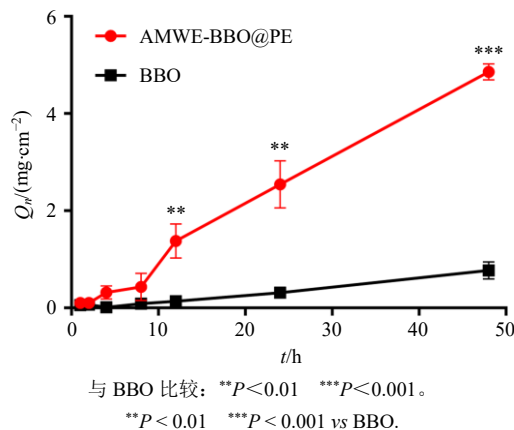


图 10 左旋龙脑经皮渗透曲线 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 10 Transdermal penetration profile of L-(-)-borneol ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

液中左旋龙脑累积速率缓慢, 未出现明显的渗透峰值。在快速渗透期 (10~12 h), 当左旋龙脑突破角质层屏障后, 皮肤主要屏障被成功穿透, 同时建立起稳定的扩散通道, 此时左旋龙脑渗透速率显著提升, 接收液中左旋龙脑累积量快速增加。在缓慢增长期 (12~48 h), 随着渗透时间延长, 皮肤内左旋龙脑浓度逐渐趋于饱和, 左旋龙脑从 AMWE-BBO@PE 向皮肤内的扩散驱动力减弱, 导致渗透速率明显减慢, 接收液中药物累积量增长幅度大幅降低。渗透速率减慢, 可能原因是皮肤内左旋龙脑浓度趋于饱和所导致。结果显示, AMWE-BBO@PE 在 48 h 内左旋龙脑  $Q_n$  (4.857±0.166) mg 显著高于对照组 (0.772±0.176) mg, 约为对照组的 6.3 倍, 表明其具有良好的经皮渗透性能。

### 2.5 AMWE-BBO@PE 乳液的抑菌作用评价

**2.5.1 抑菌圈实验** 将菌悬液  $1 \times 10^6$  cfu/mL 均匀涂布于 Mueller-Hinton 琼脂平板上。制备直径 6 mm 的孔洞, 加入 20 μL 的各待测样品。抗生素 (硫酸庆大霉素 10 μg/mL) 和生理盐水分别作为阳性和阴性对照。经 4 °C 预扩散 2 h 后, 平板于 37 °C 培养 18 h。使用校准游标卡尺测量抑菌圈直径 (含孔洞直径)。实验独立重复 3 次, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。

结果如表 11 和图 11 所示, AMWE-BBO@PE、BBO 及 AMWE 对测试菌株均具有一定的抑菌活性。对于金黄色葡萄球菌, 其抑菌圈直径大小排序为抗生素 > AMWE-BBO > BBO > AMWE, 对于大肠杆菌, 其抑菌圈大小为抗生素 > BBO > AMWE-BBO > AMWE。结果表明, AMWE-BBO@PE 对 2 种细菌均具有良好的抑制作用 ( $P < 0.01$ )。

**2.5.2 抑菌率测定** 采用琼脂平板法研究 AMWE-

表 11 不同实验组对 2 种菌株的抑菌圈直径比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Table 11 Comparison of inhibition zone diameters of different experimental groups against two bacterial strains ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

组别	剂量/ μL	抑菌圈直径/mm	
		金黄色葡萄球菌	大肠杆菌
硫酸庆大霉素	20	22.45 ± 0.30	22.42 ± 0.34
AMWE-BBO@PE	20	21.38 ± 0.82**	18.73 ± 0.22**
BBO	20	18.93 ± 0.19**	19.02 ± 0.36**
AMWE	20	17.29 ± 0.55***	15.08 ± 0.55***

与硫酸庆大霉素组比较: \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ 。

\*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs gentamicin sulfate group.

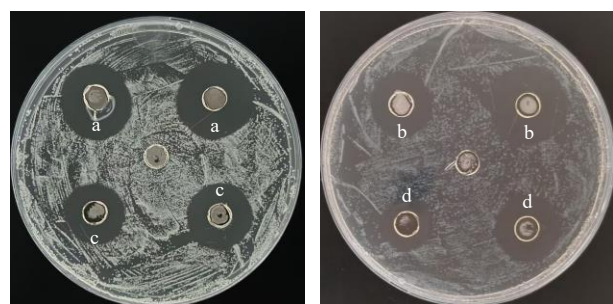


图 11 AMWE-BBO@PE (a)、硫酸庆大霉素 (b)、AMWE (c) 和 BBO (d) 对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抗菌效果

Fig. 11 Antibacterial effects of AMWE-BBO@PE (a), gentamicin sulfate (b), AMWE (c), and BBO (d) against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

BBO@PE 的抑菌活性。将共培养分为 4 个组, 均加入 20 μL 各最优条件下制备的乳液, 分别为 AMWE-BBO@PE 组、BBO 组 (溶于 2% 聚山梨酯 80 水溶液中)、AMWE 组 (19.2 mg/mL)、对照 (生理盐水) 组, 按照药物-肉汤-1 × 10<sup>6</sup> cfu/mL 菌液 1 : 1 : 1 的比例加入 2 mL 离心管中, 另设置空白对照组; 各组药物按照 1 : 1 的方式加入肉汤 18 h 后, 将其置于 37 °C、220 r/min 恒温摇床中培养 18 h, 采用酶标仪测定 625 nm 波长处吸光度 ( $A$ ) 值, 吸取 200 μL 培养液进行涂板后 37 °C 培养箱培养 12 h, 观察平板的菌生长情况, 根据式 (4) 计算抑菌率。结果如表 12 和图 12 所示, AMWE-BBO@PE 组的菌落数量明显低于 BBO 组、AMWE 组以及空白对照组,

表 12 不同实验组对 2 种菌株的抑菌率比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Table 12 Comparison of antibacterial rates of different experimental groups against two bacterial strains ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

组别	剂量/ mL	抑菌率/%	
		金黄色葡萄球菌	大肠杆菌
对照	-	0	0
AMWE-BBO@PE	1	55.9 ± 2.9***	56.9 ± 4.1***
BBO	1	52.4 ± 1.9***	55.6 ± 3.2***
AMWE	1	12.8 ± 1.8	31.9 ± 5.1**

与对照组比较: \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ ; 表 14、15 同。

\*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs control group; same as tables 14, 15.

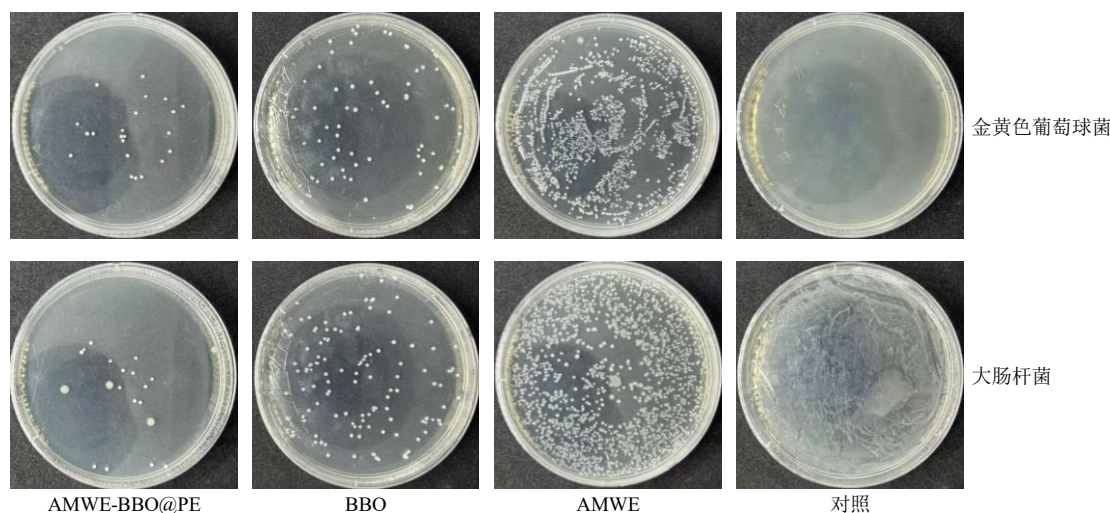


图 12 不同处理方式下 24 h 后的金黄色葡萄球菌和大肠杆菌菌落图

Fig. 12 Colony morphologies of *S. aureus* and *E. coli* after 24 h under different treatments

AMWE-BBO@PE 可显著抑制大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的生长, 抗菌率分别为 56.9% 和 55.9% ( $P < 0.001$ ), 而相比之下 AMWE 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的抑制作用则并不明显, 抑菌率仅为 31.9%、

12.8%。

$$\text{抑菌率} = (A_{\text{阴性对照}} - A_{\text{实验}}) / (A_{\text{阴性对照}} - A_{\text{空白对照}}) \quad (4)$$

2.5.3 最低抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 与最低杀菌浓度 (minimum

bactericidal concentration, MBC)测定 采用微量肉汤稀释法测定 AMWE-BBO@PE, 96孔板首列为阴性对照(纯肉汤),末列为阳性对照(菌液+肉汤),第2~11孔构建连续梯度浓度体系:首孔加入100 μL AMWE-BBO@PE进行倍比稀释至第11孔,各孔补加1×10<sup>6</sup> cfu/mL菌悬液100 μL。37℃培养24 h后测定600 nm处A值,设3复孔验证,基于MIC结果选取30~480 μg/mL质量浓度梯度样本,以0 μg/mL为对照。取各孔混合液100 μL均匀涂布琼脂

平板,37℃培养20 h后判定MBC值,以培养皿无可见菌落(杀菌率≥99.9%)的最低处理质量浓度作为MBC。结果显示,AMWE-BBO@PE对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均表现出显著的抑菌作用,其对2种病原菌的MIC值均为120 μg/mL。如图13和表13所示,当AMWE-BBO@PE的质量浓度达到240 μg/mL时,琼脂平板上未见大肠杆菌和金黄色葡萄球菌生长,表明该质量浓度下细菌已被完全清除,因此确定MBC值为240 μg/mL。

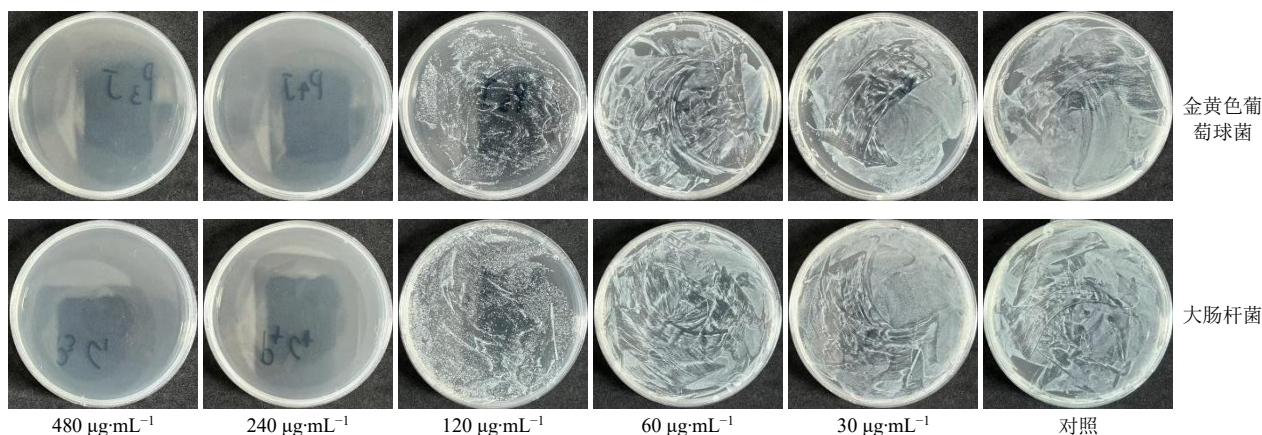


图13 AMWE-BBO@PE的MBC

Fig. 13 MBC of AMWE-BBO@PE

表13 AMWE-BBO@PE的MIC和MBC

Table 13 MIC and MBC of AMWE-BBO@PE

菌株	MIC/(μg·mL <sup>-1</sup> )	MBC/(μg·mL <sup>-1</sup> )
大肠杆菌	120	240
金黄色葡萄球菌	120	240

## 2.6 AMWE-BBO@PE乳液的体内促皮肤创伤修复作用研究

**2.6.1 大鼠皮肤创伤模型的制备** 实验选用SPF级SD大鼠,适应性饲养3 d后,经7.2%水合氯醛(5 μL/g) ip麻醉,剪去创口边缘1 cm处毛发,先用碘伏消毒创口区,再用75%乙醇局部消毒创口区,每只大鼠于耳连线中间向背部下4 cm近颈侧以脊柱为中线位制作4个约1 cm<sup>2</sup>全层皮肤创口,形成急性机械性损伤动物模型。造模后大鼠伤口暴露,单笼饲养。

**2.6.2 体内促皮肤创伤修复作用研究** 大鼠皮肤创伤模型构建成功后,随机分为4组,即模拟生理盐水、AMWE(100 μL/d)、京万红(0.1 g/d)和AMWE-BBO@PE(100 μL/d)组。每组平行2只大鼠,每只平行4个创面(n=4),分别于第7、14天取材用于病理切片分析。另取2只大鼠作为正常组。涂抹

给药后,每日定时局部涂抹给药1次,分别持续给药7、14 d,定期用相机拍摄记录每组大鼠的创面愈合图像,并采用图像分析软件(Image J)计算创面面积,根据公式(5)计算创面愈合率。

创面愈合率=(原始创面面积-现创面面积)/原始创面面积 (5)

在实验第7、14天,每组分别处死1只大鼠,完整采集皮肤创口组织样本,立即浸入4%多聚甲醛固定液(pH 7.4)中24 h完成组织固定。经梯度乙醇脱水(70%~100%)、二甲苯透明及石蜡浸渍包埋后,连续切片,进行HE染色及Masson染色分析,并采用光学显微镜评估创面组织结构的完整性。结果如图14所示,所有实验组均未出现创口感染,且无动物死亡情况,表明实验模型稳定性良好。结果显示,给药后第3天,京万红组、AMWE组及AMWE-BBO@PE治疗组的创面被一层暗红色新生薄皮覆盖,创口边缘皮肤收缩褶皱现象明显。给药后第14天,AMWE-BBO@PE组创口几乎完全愈合。创面愈合率数据显示(表14),治疗后第3天,与模型组相比,京万红组和AMWE组的创面愈合率均显著降低(P<0.001),而AMWE-BBO@PE组

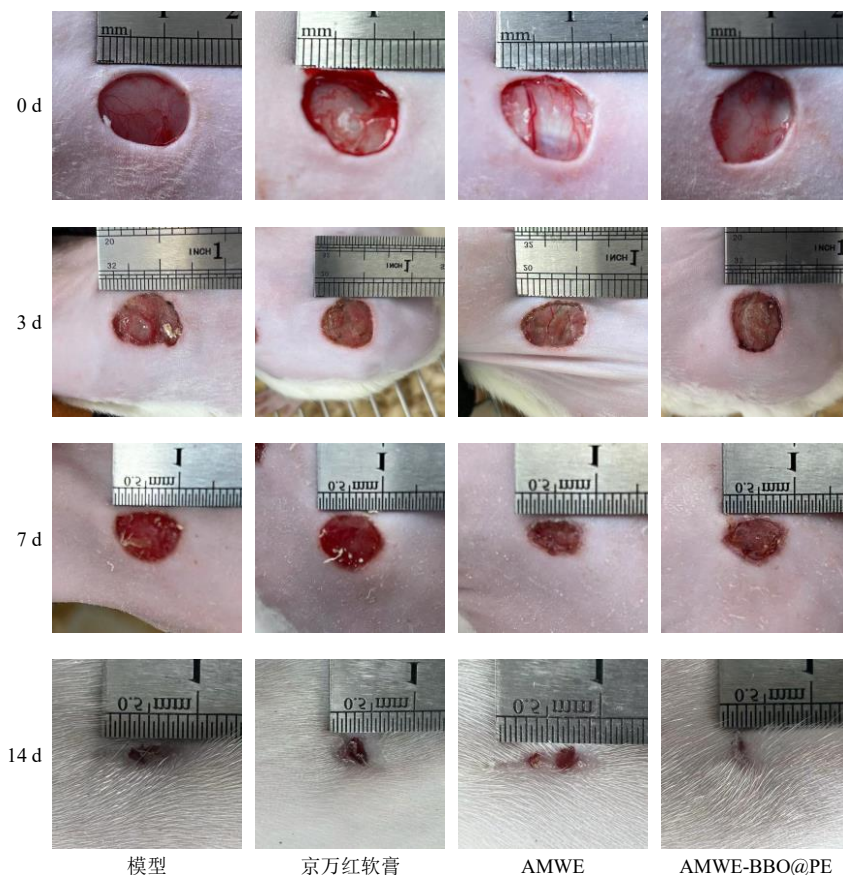


图 14 经治疗后 0、3、7、11、14 d 各组小鼠皮肤伤口代表性图像

Fig. 14 Representative images of skin wounds in mice from each group at 0, 3, 7, 11, 14 d after treatment

表 14 在 3、7、14 d 各组小鼠皮肤愈合率比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Table 14 Comparison of skin wound healing rates of mice in different treatment groups at 3, 7, 14 d post-wounding ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

组别	愈合率/%		
	3 d	7 d	14 d
模型	40.34 ± 1.21***	45.69 ± 0.27***	91.15 ± 0.34***
京万红软膏	34.02 ± 0.21***	76.15 ± 0.32	92.48 ± 0.22***
AMWE	30.96 ± 0.36***	44.69 ± 0.41***	92.25 ± 0.36***
AMWE-BBO@PE	50.64 ± 0.89	72.26 ± 1.85	97.09 ± 0.07

愈合率明显高于模型组。在第 7 天时京万红组与 AMWE-BBO@PE 组的创面愈合率均显著高于模型组 ( $P < 0.001$ ), 但 AMWE 组与模型组相比无统计学差异。第 14 天, 模型组、京万红组及 AMWE 组的创面愈合率与 AMWE-BBO@PE 组相比, 均存在显著差异 ( $P < 0.001$ )。以上结果表明, 本研究制备的 AMWE-BBO@PE 能够显著促进大鼠皮肤伤口的愈合, 其促愈合效果均优于单独使用 AMWE 及临床常用药京万红。

HE 染色结果 (图 15) 显示, 随着治疗时间的延长, AMWE-BBO@PE 组创面表皮结构逐步重建并趋于完整。治疗第 7 天, 与模型组、AMWE 组相比, AMWE-BBO@PE 组创面恢复状态更优, 真皮层结构紊乱程度较轻, 且无明显炎症细胞浸润。治疗第 14 天, AMWE-BBO@PE 组表皮已基本恢复正常形态结构, 完整性与连续性显著优于其他组别。Masson 染色主要用于观察创面胶原纤维的沉积与排列情况, 其中胶原纤维呈蓝色。结果 (表 15) 也显示, 随着治疗周期延长, 各组真皮组织内胶原纤维密度均呈明显增加趋势; 其中, AMWE-BBO@PE 组在创口周边区域的染色强度最深, 提示其胶原纤维含量显著高于模型组、AMWE 组和京万红软膏组, 且纤维排列更规则、致密。

统计分析结果表明, 治疗第 14 天, 与模型组 (胶原容积分数 74.06%) 相比, AMWE 组 (81.44%)、AMWE-BBO@PE 组 (83.73%) 的胶原容积分数均显著升高 ( $P < 0.05$ , 表 15), 且 AMWE-BBO@PE 组胶原沉积效果最优。上述结果证实, AMWE-BBO@PE 能加速胶原纤维的沉积与重塑, 有效促进皮肤创

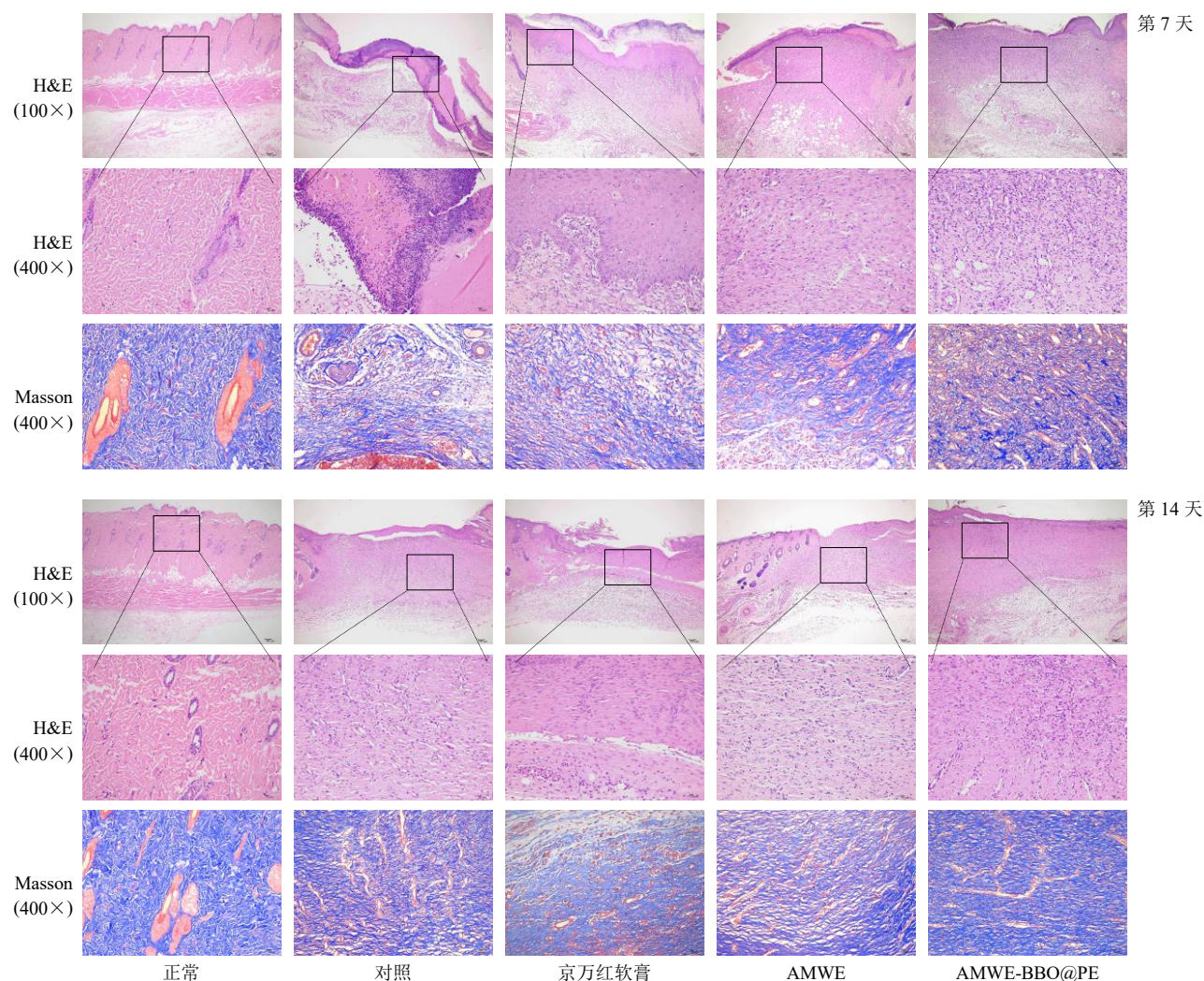


图 15 创伤后第 7、14 天各组小鼠创面皮肤 HE 染色、Masson 染色图

Fig. 15 HE and Masson staining of mouse skin wounds in each group on days 7 and 14 post-injury

表 15 治疗第 7、14 天各组胶原容积分数 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
Table 15 Collagen volume fraction in each group on 7, 14 d of treatment ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	胶原容积分数/%	
	7 d	14 d
正常	84.71 ± 3.88***	84.71 ± 3.88*
模型	54.46 ± 1.19	74.06 ± 3.35
京万红软膏	67.35 ± 2.18**	75.50 ± 1.04
AMWE	73.93 ± 2.13***	81.44 ± 2.17*
AMWE-BBO@PE	66.35 ± 2.49*	83.73 ± 2.33*

与模型组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ 。  
\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs model group.

伤修复。

### 2.7 统计学分析

所有数据均表示为  $\bar{x} \pm s$ ，数据采用 GraphPad Prism 9.5.1 软件进行统计学分析。使用单因素方差分析， $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

### 3 讨论

皮肤创面修复是一个涉及细胞增殖、组织重塑等多阶段的复杂动态过程，临床中创面愈合延迟、微生物感染仍是影响修复效果的关键难题<sup>[22]</sup>。尤其是当创面累及真皮层时，易出现感染扩散、瘢痕增生等并发症，严重影响患者皮肤功能与外观。黄芪作为传统中药材，具有益气活血、促进组织修复的功效，其提取物可加速胶原沉积、调控修复相关细胞功能<sup>[23]</sup>。BBO 则具有显著的抗菌、抗炎活性，在皮肤创面护理中具有独特优势<sup>[24]</sup>。但 BBO 脂溶性强、生物利用度低、易挥发，黄芪提取物水溶性成分透皮能力弱，单独应用时难以充分发挥协同治疗作用。

皮克林乳液作为一种新型药物递送载体，以固体颗粒为稳定剂替代传统表面活性剂，具有稳定性高、生物相容性好、可实现活性成分缓释等优势，

尤其适用于脂溶性精油与水溶性提取物的协同递送<sup>[25]</sup>。因此,本实验以SPI为稳定剂,构建负载黄芪提取物与BBO的皮克林乳液(AMWE-BBO@PE),用于研究其对皮肤创面的修复作用。实验重点考察了黄芪提取物质量浓度、油水比及超声功率3个关键参数对乳液性能的影响,最终确定最优工艺参数为油水比4%、AMWE质量浓度0.020 g/mL、超声功率30 W。油水比直接影响乳液的类型与稳定性,而过高的油相比例会导致SPI在油水界面的吸附不足,乳液易发生分层、絮凝,而实验结果提示4%的油水比可使SPI充分覆盖油滴表面,形成稳定的界面膜,有效阻止油滴聚集。黄芪提取物浓度过高时,其水溶性成分会与SPI竞争油水界面结合位点,破坏界面膜的完整性,导致乳液粒径增大、稳定性下降,而0.020 g/mL的质量浓度可在保证有效负载量的同时,不影响SPI的乳化效果,亦是发挥药效的最佳浓度。

理化性质与微观形态表征结果,进一步验证了优化后AMWE-BBO@PE的优良性能。所得乳液呈规整椭圆形,平均粒径为 $(422.2 \pm 2.2)$  nm, PDI为 $0.076 \pm 0.019$ ,表明乳液粒径均一性良好,这种均匀的粒径分布可减少油滴间的碰撞聚集,提升乳液的长期稳定性。 $\zeta$ 电位为 $(-33.95 \pm 0.54)$  mV,绝对值大于30 mV,说明乳液颗粒表面带有较强的负电荷,颗粒间的静电排斥作用可有效阻止絮凝与沉降,进一步保障了乳液的稳定性。TEM与光学显微镜观察结果显示,乳液颗粒形态规整、边界清晰,无明显聚集现象,证实SPI可在油滴表面形成连续、致密的吸附层,成功构建稳定的皮克林乳液体系。

透皮渗透性能是评价经皮递送系统有效性的关键指标。透皮实验结果显示,AMWE-BBO@PE 48 h累积透皮量达4.857 mg,透皮速率较BBO组提升约6.3倍,表明该乳液可显著提升BBO的经皮递送效率。这一优势的产生是多因素协同作用的结果。首先,SPI作为稳定剂形成的纳米级乳液颗粒,可通过角质层细胞间隙渗透进入皮肤深层,相较于游离BBO的被动扩散,纳米颗粒的渗透效率更高。其次,SPI分子表面的亲水基团可改善乳液的亲水性,增强乳液与皮肤表面的相容性,减少皮肤屏障对脂溶性BBO的阻碍作用。

此外,黄芪提取物中的活性成分可能发挥了一定的促渗作用,通过扰乱角质层脂质的有序排列,为BBO的渗透开辟通道,进而实现两种成分的协

同透皮递送。透皮效率的提升可使BBO与黄芪提取物在创面局部达到有效治疗浓度,充分发挥其抗菌、促修复的协同作用,为后续创面愈合效果奠定了基础。本研究结果显示,该乳液对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌具有明显抑菌效果,这主要得益于BBO中的挥发油成分(如左旋龙脑等),其可破坏细菌细胞膜的完整性,导致细菌内物质外泄,进而抑制细菌增殖。

创面愈合实验结果表明,AMWE-BBO@PE可加速胶原纤维沉积与重塑,显著促进小鼠皮肤创面愈合,这一作用可能是黄芪提取物与BBO发挥协同效应的结果。一方面,黄芪提取物中的活性成分黄芪甲苷IV等可促进成纤维细胞增殖、分化,加速胶原合成与沉积,调控创面修复相关细胞因子的表达,为组织重塑提供支撑<sup>[18]</sup>;另一方面,BBO可抑制创面局部炎症反应,减少炎症因子的释放,缓解创面红肿、渗出等症状,为细胞增殖与组织修复创造良好的微环境<sup>[24]</sup>。而SPI形成的乳液体系可在创面表面形成一层保护膜,减少外界环境对创面的刺激,同时实现2种活性成分的缓释,延长其作用时间,进而加速创面愈合进程。

综上所述,本研究通过超声乳化法成功制备了SPI稳定的AMWE-BBO@PE皮克林乳液,优化后的制剂具有粒径均一、稳定性良好、透皮效率高、抗菌活性显著等优点,可有效促进小鼠皮肤创面愈合,充分发挥黄芪提取物与BBO的协同治疗作用。该研究不仅为SPI在皮克林乳液制备中的应用提供了实验支持,也为开发新型中药经皮递送系统、提升中药创面修复效果提供了新的思路与方向,具有一定的理论意义与临床应用潜力。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Heydari M B, Ghanbari-Movahed Z, Heydari M, et al. The exosome and its application in skin wound healing: A systematic review on *in vitro* studies [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2025, 26(17): 2684-2696.
- [2] El-Ashram S, El-Samad L M, Basha A A, et al. Naturally-derived targeted therapy for wound healing: Beyond classical strategies [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 170: 105749.
- [3] Butenko S, Miwa H, Liu Y Z, et al. Engineering immunomodulatory biomaterials to drive skin wounds toward regenerative healing [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2023, 15(5): a041242.
- [4] 詹锦岳, 石灯汉. 浅议黄芪为“补者之长” [J]. 时珍国

- 医国药, 2004, 15(11): 791.
- [5] 朱红敏, 曹波. 基于网络药理学和分子对接技术研究“黄芪-地榆”药对促进创面修复的作用机制 [J]. 实用中西医结合临床, 2025, 25(22): 1-6.
- [6] Wang Z S, Feng C, Chen G D, *et al.* Astragaloside IV regulates macrophage polarization via the TLR4/NF- $\kappa$ B/STAT3 pathway to inhibit the malignant phenotype of renal clear cell carcinoma [J]. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2025, 398(11): 15573-15586.
- [7] Guo Y J, Zhao L, Li X F, *et al.* Effect of corilagin on anti-inflammation in HSV-1 encephalitis and HSV-1 infected microglia [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 635(1/2/3): 79-86.
- [8] Yang M, Lin H B, Gong S T, *et al.* Effect of *Astragalus* polysaccharides on expression of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and NFATc4 in a rat model of experimental colitis [J]. *Cytokine*, 2014, 70(2): 81-86.
- [9] Yuan C T, Pan X P, Gong Y, *et al.* Effects of *Astragalus* polysaccharides (APS) on the expression of immune response genes in head kidney, gill and spleen of the common carp, *Cyprinus carpio* L. [J]. *Int Immunopharmacol*, 2008, 8(1): 51-58.
- [10] Huang W M, Liang Y Q, Tang L J, *et al.* Antioxidant and anti-inflammatory effects of *Astragalus* polysaccharide on EA.hy926 cells [J]. *Exp Ther Med*, 2013, 6(1): 199-203.
- [11] 周吉燕, 樊懿, 孔建龙, 等. 黄芪中不同提取成分对在体大鼠心肌缺血-再灌注损伤的心功能影响 [J]. 中国中药杂志, 2000, 25(5): 300-302.
- [12] 张筠昊, 梁霄, 白皓天, 等. 关节腔注射剂青藤碱纳米晶自稳定 Pickering 乳液的制备及药效学研究 [J]. 中草药, 2022, 53(20): 6412-6422.
- [13] Calderilla-Fajardo S B, Cázares-Delgado J, Villalobos-García R, *et al.* Influence of sucrose esters on the *in vivo* percutaneous penetration of octyl methoxycinnamate formulated in nanocapsules, nanoemulsion, and emulsion [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2006, 32(1): 107-113.
- [14] Weng P W, Lu H T, Rethi L, *et al.* Alleviating rheumatoid arthritis with a photo-pharmacotherapeutic glycan-integrated nanogel complex for advanced percutaneous delivery [J]. *J Nanobiotechnol*, 2024, 22(1): 646.
- [15] Birchall J C, Marichal C, Campbell L, *et al.* Gene expression in an intact *ex-vivo* skin tissue model following percutaneous delivery of cationic liposome-plasmid DNA complexes [J]. *Int J Pharm*, 2000, 197(1/2): 233-238.
- [16] Yang L, Jiang Z P, Zhang X Y, *et al.* Preparation and application of modified *Aronia melanocarpa* pectin-whey protein stabilized clove essential oil Pickering emulsion sustained-release preservative pads [J]. *Food Chem X*, 2025, 29: 102883.
- [17] Wei L L, Li J S, Qin X L, *et al.* Enhancing the antioxidant properties and compatibility of protein/sodium alginate film by incorporating *Zanthoxylum bungeanum* essential oil Pickering emulsion [J]. *Food Chem*, 2024, 445: 138771.
- [18] 高琼. 黄芪甲苷调控 TGF- $\beta$ 1/Smad2/3 通路改善高糖损伤的皮肤修复细胞的功能 [D]. 兰州: 兰州大学, 2023.
- [19] 甘泉, 张曼曼, 苏蓓蓓, 等. 黄芪甲苷水凝胶促进大鼠全层皮肤损伤的作用 [J]. 中国临床解剖学杂志, 2025, 43(6): 682-692.
- [20] Huang L R, Ding X N, Li Y L, *et al.* The aggregation, structures and emulsifying properties of soybean protein isolate induced by ultrasound and acid [J]. *Food Chem*, 2019, 279: 114-119.
- [21] 宋子悦, 杨杨, 苏丹, 等. 皮克林乳液冻融稳定性研究进展 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(2): 420-426.
- [22] Gurtner G C, Werner S, Barrandon Y, *et al.* Wound repair and regeneration [J]. *Nature*, 2008, 453(7193): 314-321.
- [23] 于洋洋, 高原, 贺金玲, 等. 黄芪促进慢性难愈性创面愈合的研究进展 [J]. 中国药房, 2025, 36(19): 2473-2478.
- [24] 宝艳儒, 冯贻东, 曾伟珍, 等. 艾纳香挥发油化学成分及药理研究进展 [J]. 人参研究, 2020, 32(6): 59-64.
- [25] Marto J, Ascenso A, Simoes S, *et al.* Pickering emulsions: Challenges and opportunities in topical delivery [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2016, 13(8): 1093-1107.

[责任编辑 郑礼胜]