

## 透皮肤修饰蛇床子素脂质体凝胶的制备、表征及药效学评价

柳超<sup>1</sup>, 董亚楠<sup>1</sup>, 李佳蒂<sup>1</sup>, 薛文秀<sup>1</sup>, 滑亚楠<sup>2,3</sup>, 王风云<sup>1\*</sup>

1. 河南应用技术职业学院, 河南 郑州 450042

2. 河南省中医药研究院, 河南 郑州 450004

3. 河南省中西医结合医院, 河南 郑州 450003

**摘要:** 目的 制备透皮肤修饰蛇床子素脂质体 (transdermal peptide-modified osthole liposomes, TD-Ost-Lips), 探究其经皮渗透性能和对特应性皮炎 (atopic dermatitis, AD) 的治疗作用。方法 薄膜分散法制备 TD-Ost-Lips。选择磷脂与蛇床子素用量比、磷脂与胆固醇用量比、磷脂与二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 2000-透皮肤 (DSPE-mPEG<sub>2000</sub>-TD) 用量比作为 TD-Ost-Lips 主要影响因素, 以包封率、载药量和粒径的总评归一值 (overall desirability, OD) 作为响应值, 采用 Box-Behnken 设计-效应面法 (Box-Behnken design-response surface method, BBD-RSM) 优化 TD-Ost-Lips 处方。透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM) 观察 TD-Ost-Lips 形貌。卡波姆 940 作为基质制备 TD-Ost-Lips 凝胶, 透析法考察体外释药行为, 探究释药机制, 并考察流变学行为。Franz 扩散池法考察 TD-Ost-Lips 凝胶经皮渗透性能。建立 AD 模型, 观察各小鼠背部皮肤的皮损变化, 并对炎症因子、皮损组织病理等进行检测。结果 TD-Ost-Lips 最佳处方: 磷脂与蛇床子素用量比为 8.81 : 1, 磷脂与胆固醇用量比为 6.27 : 1, 磷脂与 DSPE-mPEG<sub>2000</sub>-TD 用量比为 4.72 : 1。TD-Ost-Lips 的平均包封率为 (86.77 ± 0.71) %, 平均载药量为 (6.65 ± 0.10) %, 平均粒径为 (220.25 ± 5.69) nm, ζ 电位为 (-17.31 ± 0.85) mV, TD-Ost-Lips 形貌呈囊泡状。TD-Ost-Lips 凝胶 24 h 累积释放率为 77.06%, 释药行为符合 Weibull 模型。TD-Ost-Lips 凝胶具有固体弹性性质, 倒置后不流淌。TD-Ost-Lips 凝胶将蛇床子素透皮速率、累积渗透量和皮肤滞留量分别提高至 5.00、5.04、2.84 倍。TD-Ost-Lips 凝胶使皮损面积和严重程度 (psoriasis area and severity index, PASI) 明显下降, 有效抑制了皮肤组织中炎症因子升高, 并增强了蛇床子素对 AD 的治疗作用。结论 TD-Ost-Lips 极大促进了蛇床子素的经皮渗透, 显著增强了蛇床子素对 AD 的治疗作用, 为进一步开发应用奠定基础。

**关键词:** 蛇床子素; 透皮肤; 脂质体; 凝胶; Box-Behnken 设计-效应面法; 透皮速率; 皮肤滞留量; 特应性皮炎

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)11-4183-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.11.010

## Preparation, characterization and pharmacodynamic evaluation of transdermal peptide-modified osthole liposomes

LIU Chao<sup>1</sup>, DONG Yanan<sup>1</sup>, LI Jiadi<sup>1</sup>, XUE Wenxiu<sup>1</sup>, HUA Yanan<sup>2,3</sup>, WANG Fengyun<sup>1</sup>

1. Zhengzhou University of Industrial Technology, Zhengzhou 450042, China

2. Henan Academy of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450004, China

3. Henan Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital, Zhengzhou 450003, China

**Abstract: Objective** To prepare transdermal peptide-modified osthole liposomes (TD-Ost-Lips), and to explore the transdermal permeation performance and its therapeutic effects on atopic dermatitis (AD). **Methods** TD-Ost-Lips were prepared by film dispersion method. Phospholipid to osthole amount ratio, phospholipid to cholesterol amount ratio and phospholipid to DSPE-mPEG<sub>2000</sub>-TD amount ratio were selected as main influencing factors, overall desirability (OD) of entrapment efficiency, drug loading and particle size acted as response values, and the Box-Behnken design-response surface method (BBD-RSM) was used to optimize

收稿日期: 2025-11-22

基金项目: 2026 年度郑州市社科调研课题项目 (ZSLX20261381); 2025 年度河南省医学教育研究项目 (WJLX2025238); 2025 年度河南省医学教育研究项目 (WJLX2025239); 2025 年度河南应用技术职业学院校级科研项目 (2025-SK-A66); 河南应用技术职业学院首席技师资助项目 (2023-SXJS-HL02)

作者简介: 柳超 (1985—), 男, 硕士, 讲师, 研究方向为临床药学及老年皮肤疾病护理。Tel: (0371)67592759 E-mail: liuchao860329@163.com

\*通信作者: 王风云 (1973—), 女, 硕士, 教授, 从事临床药学及药理学开发研究。Tel: (0371)67673862 E-mail: wangfengyun1973@126.com

preparations of TD-Ost-Lips. Shape of TD-Ost-Lips was observed by transmission electron microscopy (TEM). TD-Ost-Lips gel was prepared using carbomer 940 as matrix, drug release behavior *in vitro* was studied by dialysis method and the mechanism of drug delivery was also studied. The rheology of TD-Ost-Lips gel was explored. The Franz diffusion cell method was used to study the transdermal permeation performance of TD-Ost-Lips gels. Atopic dermatitis (AD) model was established, the changes of skin lesions on the back of the mice were observed, and the inflammatory factors and pathological changes of skin lesions were detected. **Results** The optimal formulations of TD-Ost-Lips: phospholipid to osthole amount ratio was 8.81:1, phospholipid to cholesterol amount ratio was 6.27:1 and phospholipid to DSPE-mPEG2000-TD amount ratio was 6.27:1. The encapsulation efficiency, drug loading, particle size and  $\zeta$  potential of TD-Ost-Lips were  $(86.77 \pm 0.71)\%$ ,  $(6.65 \pm 0.10)\%$ ,  $(220.25 \pm 5.69)$  nm, and  $(-17.31 \pm 0.85)$  mV, respectively. The shape of TD-Ost-Lips were vesicular. The cumulative release rate of TD-Ost-Lips gel in 24 h was 77.06%, and the drug behavior accorded with Weibull model. The rheological properties of TD-Ost-Lips gels showed solid elastic properties, and did not flow when inverted. TD-Ost-Lips gel increased the permeation rate, cumulative penetration and skin retention of osthole to 5.00, 5.04 and 2.84 times, respectively. TD-Ost-Lips gel significantly reduced the psoriasis area and severity index (PASI), effectively suppressed the elevation of inflammatory factors in skin tissue, and enhanced the treatment effect of osthole on AD. **Conclusion** TD-Ost-Lips gel greatly promoted the transdermal permeation of osthole, significantly enhanced its therapeutic effects on atopic dermatitis, and laid a foundation for further development and application.

**Key words:** osthole; transdermal peptide; liposomes; gel; Box-Behnken design-response surface method; permeation rate; skin retention; atopic dermatitis

特应性皮炎 (atopic dermatitis, AD) 是一种系统性炎症性皮肤病, 常伴随皮肤红肿、干燥、瘙痒等症状, 目前, 主要通过免疫抑制剂、糖皮质激素及抗组胺类药物进行治疗<sup>[1-2]</sup>, 但不良反应较大。中医药具有悠久的皮炎治疗历史, 蛇床子素是一种香豆素类化合物, 主要从蛇床子、当归、白芷等药用植物中提取得到, 具有抗炎、止痒、抗过敏、修复皮肤屏障等作用<sup>[3]</sup>, 且毒性极小<sup>[4]</sup>, 可应用于 AD 的治疗。药物透皮渗透能力主要与油水分配系数和溶解度有关, 蛇床子素油水分配系数达 3.46<sup>[5]</sup>, 表明脂溶性良好, 但水中溶解度仅 6.01  $\mu\text{g}/\text{mL}$ <sup>[5]</sup>, 极大影响了蛇床子素溶出及经皮渗透能力。因此, 促进蛇床子素透皮吸收应先解决蛇床子素溶解度问题。张锦炳等<sup>[6]</sup>通过化学促渗剂 (如氮酮等) 有效增加了蛇床子素透皮吸收速率及透皮量, 但化学促渗剂易引起皮肤刺激、过敏等不良反应, 影响了患者顺应性及使用安全性。尤婧<sup>[7]</sup>构建了蛇床子素微乳凝胶, 但处方中表面活性剂可能引起皮肤刺激性。所以, 构建一种不含化学促渗剂及表面活性剂, 且具有较高渗透能力的蛇床子素透皮制剂显得非常重要<sup>[8]</sup>, 以更好地应用于临床。

脂质体是以磷脂、胆固醇为载体而制得的一种纳米囊泡, 无刺激性, 可携带药物经皮渗透, 延长在皮肤的滞留时间, 是透皮制剂非常重要的一种递药技术<sup>[8]</sup>。然而, 皮肤角质层的屏障作用极大地影响了脂质体渗透速率及累积渗透量, 最终达不到理想的治疗效果, 因此药物透过皮肤角质层屏障依然是

一项重要的挑战。醇质体是一种在脂质体中引入醇类试剂的一种制剂<sup>[7,9]</sup>, 可进一步促进脂质体经皮渗透, 但醇类试剂会溶解磷脂、胆固醇等脂质载体, 进而可能影响制剂的稳定性及有效性, 而且醇类试剂可能产生刺激性及脱水现象。透皮肽 (ACSSSPSKHCG<sup>[10]</sup>) 无过敏性及刺激性, 生物相容性高, 近年来, 采用透皮肽促进药物透皮的方式, 逐渐引起医药研究者的关注。透皮肽是一种由 11 个氨基酸组成的透皮增强肽, 通过改变角质细胞之间的连接, 使皮肤屏障暂时性打开, 从而便于药物渗透进入皮肤组织<sup>[10-11]</sup>。将透皮肽修饰至脂质体表面, 可协助脂质体克服角质层屏障, 进而增加经皮渗透能力<sup>[12-13]</sup>。二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 2000-透皮肽 (distearoyl phosphatidyl ethanolamine-polyethylene glycol 2000-transdermal peptide, DSPE-mPEG<sub>2000</sub>-TD) 具有磷脂的母核结构, 生物相容性好, 且结构上的聚乙二醇基团可增加亲水性, 利于降低渗透阻力。

本研究选用 DSPE-mPEG<sub>2000</sub>-TD 作为脂质体透皮肽的修饰材料, 磷脂和胆固醇作为载体, 在单因素考察的基础上采用 Box-Behnken 设计-效应面法 (Box-Behnken design-response surface method, BBD-RSM) 优化透皮肽修饰蛇床子素脂质体 (transdermal peptide-modified osthole liposomes, TD-Ost-Lips) 处方。为了增加 TD-Ost-Lips 皮肤黏附性及皮肤滞留时间, 更适合皮肤局部外用, 故进一步采用凝胶基质将 TD-Ost-Lips 混悬液制备成 TD-Ost-Lips 凝胶。

同时制备无透皮肽修饰的蛇床子素脂质体 (osthole liposomes, Ost-Lips), 比较 Ost-Lips 和 TD-Ost-Lips 凝胶的经皮渗透性能, 为蛇床子素透皮制剂的研发提供新思路, 也期望为临床提供一种新型 AD 治疗药物。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

MSE125P-CE 型电子天平, 德国 Sartorius 公司; Mastersizer 3000 型粒度仪, 英国马尔文仪器有限公司; MS-H200-Pro 型磁力搅拌器, 美国 Scilogex 公司; PS-60AL 型超声仪, 深圳市壹龙贸易有限公司; Agilent 1200 型高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司; HH-6 型恒温水浴锅, 常州智博瑞仪器制造有限公司; DH-1600 型高速离心机, 上海德洋意邦仪器有限公司; XH-D 型旋涡混合器, 江苏天翎仪器有限公司; NDJ-79B 型旋转黏度计, 上海昌吉地质仪器有限公司; 120C 型透射电子显微镜型, 赛默飞世尔 (上海) 仪器有限公司; TS8606 型冻干机, 德国 Fevik 公司; UDT-818A-8 型溶出仪, 广东南方创科仪器设备有限公司; MCR302e 型动态剪切流变仪, 奥地利 Anton Paar 公司; TT-6D 型 Franz 扩散池, 上海玉研科学仪器有限公司; H18420 型皮肤电阻测试仪, 北京恒奥德仪器仪表有限公司; IKAT10 型匀浆机, 德国 IKA 公司; BH-2 型光学显微镜, 日本 Olympus 公司。

### 1.2 材料

蛇床子素对照品, 批号 110822-202111, 质量分数 98.2%, 中国食品药品检定研究院; 胆固醇 (批号 S11040)、大豆卵磷脂 (批号 S30870)、葡聚糖凝胶 G-50 (批号 R24S11D65891), 上海源叶生物科技有限公司; 蛇床子素原料药, 批号 20221201, 质量分数 98.0%, 山西玉宁生物科技有限公司; 聚山梨酯-80, 批号 20231011, 国药集团化学试剂有限公司; DSPE-mPEG<sub>2000</sub>-TD (批号 20221205)、DSPE-mPEG<sub>2000</sub> (批号 20230119), 西安瑞禧生物科技有限公司; 卡波姆 940, 批号 I2426167, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 透皮肽, 批号 20241017, 成都菁临生物科技有限公司; 脱毛膏, 批号 2024011610H, 利洁时家化 (中国) 有限公司; 异氟烷, 批号 H19980141, 河北一品制药股份有限公司; 苜蓿 98 (Brij 98), 批号 20220915, 上海鼓臣生物技术有限公司; 2,4-二硝基氟苯 (dinitrofluorobenzene, DNFB), 批号 C12462561,

上海麦克林生化科技股份有限公司; 白细胞介素-4 (interleukin-4, IL-4)、IL-6 和肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) ELISA 试剂盒 (批号分别为批号 JN2689、JN4398、JN4759), 上海纪宁生物科技有限公司; 多聚甲醛固定液, 批号 20211106, 武汉卡诺斯科技有限公司。

### 1.3 动物

健康 ICR 小鼠购自河南省动物实验中心, 生产许可证号 SCXK (豫) 2020-0001, 雌雄各半, 选择体质量 18~22 g 小鼠进行实验。动物实验遵循河南应用技术职业学院有关实验动物管理和使用的规定, 动物伦理批准号为 DWLL-2023-012, 均符合 3R 原则。

## 2 方法与结果

### 2.1 TD-Ost-Lips 混悬液及凝胶剂的制备

**2.1.1 TD-Ost-Lips 混悬液的制备** 取 25 mg 蛇床子素置于圆底烧瓶中, 加入处方量胆固醇、DSPE-PEG-TD 和磷脂, 并加入 30 mL 混合溶剂 (三氯甲烷-甲醇 2:1), 置于 45 °C 水浴中, 800 r/min 转速下磁力搅拌使药物和各个辅料完全溶解。于 45 °C 水浴中缓慢减压旋蒸除去有机溶剂, 形成均匀脂质薄膜, 密封保存在 45 °C 水浴中。取含一定质量浓度聚山梨酯-80、一定体积的 pH 6.8 磷酸盐缓冲液 (PBS) 作为水相, 45 °C 水浴中恒温 20 min, 加至含脂质薄膜的圆底烧瓶中, 800 r/min 转速下磁力搅拌 45 min, 超声 (频率 40 kHz、功率 250 W) 10 min, 过 0.45  $\mu$ m 水系滤膜除去不溶颗粒, 续滤液即为 TD-Ost-Lips 混悬液。不含蛇床子素的阴性样品同法制备。

**2.1.2 TD-Ost-Lips 凝胶剂的制备** 参考课题组报道的空白凝胶基质处方工艺<sup>[7]</sup>。取 1.0 g 卡波姆 940 粉末分散至温度为 40 °C、体积为 50 mL 蒸馏水中, 磁力搅拌 2 h, 静置过夜充分溶胀, 即得空白凝胶基质。取 TD-Ost-Lips 混悬液 50 mL 加至凝胶基质, 三乙醇胺调节 pH 值至 6.6 $\pm$ 0.1, 静置后即得 TD-Ost-Lips 凝胶。取阴性样品 (不含蛇床子素), 同法制备阴性样品凝胶。

### 2.2 HPLC 法测定蛇床子素含量

**2.2.1 色谱条件** 色谱柱为 Waters C<sub>18</sub> (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m) 柱; 流动相为乙腈-水 (65:35); 体积流量为 1.0 mL/min; 检测波长为 322 nm; 柱温为 40 °C; 进样量为 10  $\mu$ L。

**2.2.2 对照品储备液的制备** 精密称定蛇床子素对

照品 24.80 mg 至 50 mL 量瓶中，加乙腈超声溶解后稀释定容，得蛇床子素对照品储备液（496.00 μg/mL），密封，置于 8 °C 冰箱中。

**2.2.3 TD-Ost-Lips 凝胶供试品溶液的制备** 精密取 TD-Ost-Lips 凝胶约 2 g，置于 50 mL 量瓶中，加入 50%乙醇 40 mL，超声 10 min 至完全溶解，放冷后加 50%乙醇稀释定容。精密取续滤液 2 mL 至 10 mL 量瓶中，加乙腈-水（65：35）稀释定容，即得 TD-Ost-Lips 凝胶供试品溶液。

**2.2.4 线性关系考察** 取“2.2.2”项下对照品储备液，室温放置 15 min 后取适量，采用乙腈-水（65：35）稀释配制成 9.920 0、4.960 0、2.480 0、0.992 0、0.496 0、0.049 6 μg/mL 系列对照品溶液，测定各个质量浓度（*X*）的峰面积（*Y*），得方程  $Y=16.9574 X+0.1359$ ， $r=0.9999$ ，结果表明，蛇床子素在 0.049 6~9.920 0 μg/mL 呈良好的线性关系。

**2.2.5 专属性考察** 取阴性样品凝胶，按照“2.2.3”项下方法制备阴性样品溶液。另取蛇床子素对照品溶液（2.480 0 μg/mL）和 TD-Ost-Lips 凝胶供试品溶液分别进样测定。结果见图 1，蛇床子素色谱峰专属性高。

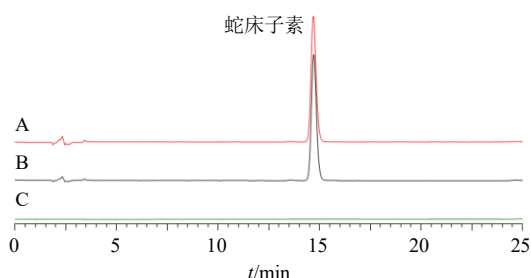


图 1 蛇床子素对照品 (A)、TD-Ost-Lips 凝胶样品 (B) 和阴性样品 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of osthole reference substance (A), TD-Ost-Lips gel sample (B) and negative sample (C)

**2.2.6 精密度考察** 取质量浓度 9.920 0、0.992 0、0.049 6 μg/mL 蛇床子素对照品溶液，按照“2.2.1”项下色谱条件分别进样测定 6 次，计算得蛇床子素峰面积的 RSD 分别为 0.40%、0.62%、0.49%，结果表明该仪器精密度良好。

**2.2.7 稳定性考察** 取 TD-Ost-Lips 凝胶供试品溶液，置于室温下，分别于制备后 0、3、6、9、12、24 h，按照“2.2.1”项下色谱条件进样分析，测得蛇床子素峰面积的 RSD 为 0.72%，结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.2.8 重复性考察** 取 TD-Ost-Lips 凝胶，按照

“2.2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，按照“2.2.1”项下色谱条件测得蛇床子素质量分数的 RSD 为 1.36%，结果表明该实验重复性良好。

**2.2.9 加样回收率考察** 取 TD-Ost-Lips 凝胶约 1 g 至 50 mL 量瓶中，共 9 份，每组均 3 份，分为低、中、高 3 组。按蛇床子素标示量 50%、100%、150% 水平加入蛇床子素对照品，按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定蛇床子素总含量，计算得蛇床子素的平均加样回收率为 100.94%，RSD 为 1.57%，结果表明该实验准确度较高。

**2.3 TD-Ost-Lips 包封率、载药量、粒径和 ζ 电位测定**

取葡聚糖凝胶 G-50，分散至纯化水中，溶胀后填柱（2 mL 注射器），即得微柱。取 TD-Ost-Lips 混悬液 200 μL，滴加至微柱中，3 000 r/min 离心（离心半径 10.0 cm）1 min，用 200 μL 纯化水洗脱 4 次，合并洗脱液，加入乙腈 6 mL，超声 5 min 后加乙腈-水（65：35）稀释定容至 10 mL，测定被包封药量（ $M_{包封}$ ）。以蛇床子素总量（ $M_{总}$ ）为参考，则包封率 =  $M_{包封}/M_{总}$ ；根据蛇床子素、胆固醇、卵磷脂和 DSPE-PEG<sub>2000</sub>-TD 总量（ $W_{总}$ ），载药量 =  $M_{包封}/W_{总}$ 。

取 TD-Ost-Lips 混悬液 0.2 mL，置于 4 mL 纯化水，混匀后于粒度仪上测定粒径和分散指数（polydispersity index, PDI）。取稀释后的 TD-Ost-Lips 混悬液加至电槽中，测定 ζ 电位。

**2.4 单因素考察 TD-Ost-Lips 处方**

**2.4.1 磷脂与胆固醇用量比的考察** 在蛇床子素质量浓度为 1.0 mg/mL，磷脂和蛇床子素用量比为 9：1，磷脂与 DSPE-PEG<sub>2000</sub>-TD 用量比为 5：1，聚山梨酯-80 质量分数为 1.0% 条件下，分别考察磷脂与胆固醇用量比对 TD-Ost-Lips 包封率、载药量和粒径的影响，结果见表 1。随着磷脂与胆固醇用量比

表 1 磷脂与胆固醇用量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 1 Effects of phospholipids to cholesterol amount ratio ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

| 磷脂与胆固醇<br>用量比 | 包封率/%        | 载药量/%       | 粒径/nm         |
|---------------|--------------|-------------|---------------|
| 4 : 1         | 56.62 ± 1.36 | 4.31 ± 0.09 | 209.07 ± 8.41 |
| 5 : 1         | 69.44 ± 0.74 | 5.18 ± 0.06 | 216.05 ± 6.87 |
| 6 : 1         | 81.64 ± 1.33 | 6.06 ± 0.11 | 221.45 ± 4.74 |
| 7 : 1         | 73.20 ± 1.87 | 5.63 ± 0.08 | 244.93 ± 4.76 |
| 8 : 1         | 72.75 ± 1.39 | 5.50 ± 0.11 | 271.11 ± 3.95 |

增加,TD-Ost-Lips 包封率和载药量呈先增加后下降趋势,可能是磷脂与胆固醇用量比较低时胆固醇与蛇床子素竞争载药空间,影响了包封率<sup>[7]</sup>,进而导致载药量下降;脂质体处方中引入适量胆固醇利于提高稳定性,当磷脂与胆固醇用量比过大时导致TD-Ost-Lips 结构稳定性差,药物易泄露<sup>[7]</sup>,也使载药量下降。TD-Ost-Lips 粒径随着磷脂与胆固醇用量比增大而增大。可见,磷脂与胆固醇用量比对TD-Ost-Lips 影响较大,当两者用量比为6:1时,TD-Ost-Lips 包封率大于80%,载药量相对较大,故以磷脂与胆固醇用量比6:1为中心对5:1~7:1继续优化。

**2.4.2 磷脂与蛇床子素用量比的考察** 在蛇床子素质量浓度为1.0 mg/mL,磷脂与胆固醇用量比为6:1,磷脂与DSPE-PEG<sub>2000</sub>-TD用量比为5:1,聚山梨酯-80质量分数为1.0%条件下,分别考察磷脂与蛇床子素用量比对TD-Ost-Lips 包封率、载药量和粒径的影响,结果见表2。随着磷脂与蛇床子素用量比增加TD-Ost-Lips 包封率逐渐增大,但比例大于10:1时包封率增加趋势渐缓,由于处方中磷脂用量加大进而导致载药量逐渐下降。TD-Ost-Lips 粒径随着磷脂与蛇床子素用量比呈先变小后增加趋势,可能是磷脂用量较少时部分蛇床子素未能进入TD-Ost-Lips 内部,从而附着在TD-Ost-Lips 表面,导致粒径较大<sup>[11]</sup>;但磷脂用量过大时导致TD-Ost-Lips 发生黏连、融合几率增加<sup>[9]</sup>,进而使粒径增长。可见磷脂与蛇床子素用量比对TD-Ost-Lips 影响较大,两者用量比为9:1时包封率大于80%,载药量大于6%,且粒径相对较小,故后续以磷脂与蛇床子素用量比9:1为中心对8:1~10:1继续优化。

**2.4.3 磷脂与DSPE-PEG<sub>2000</sub>-TD用量比的考察** 在蛇床子素质量浓度为1.0 mg/mL,磷脂与胆固醇用量比为6:1,磷脂与蛇床子素用量比9:1,聚山梨

酯-80 质量分数为1.0%条件下,分别考察磷脂与DSPE-PEG<sub>2000</sub>-TD 用量比对TD-Ost-Lips 包封率、载药量和粒径的影响,结果见表3。随着磷脂与DSPE-PEG<sub>2000</sub>-TD 用量比增加TD-Ost-Lips 包封率和载药量呈先增加后下降趋势,可能是DSPE-PEG<sub>2000</sub>-TD 结构与磷脂类似,也可提供载药空间,故适当增加DSPE-PEG<sub>2000</sub>-TD用量有利于提高包封率<sup>[10]</sup>,同时也利于提高载药量;但DSPE-PEG<sub>2000</sub>-TD 用量过大时,可能导致胆固醇不能有效提高TD-Ost-Lips 结构稳定性,进而影响TD-Ost-Lips 载药。粒径随着磷脂与DSPE-PEG<sub>2000</sub>-TD用量比增加呈逐渐呈下降趋势。可见磷脂与DSPE-PEG<sub>2000</sub>-TD 用量比对TD-Ost-Lips 影响较大,两者用量比为5:1时包封率大于80%,同时载药量相对较高,故后续以磷脂与DSPE-PEG<sub>2000</sub>-TD 用量比5:1为中心对4:1~6:1继续优化。

表3 磷脂与DSPE-PEG<sub>2000</sub>-TD 用量比的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
Table 3 Effects of phospholipids to DSPE-PEG<sub>2000</sub>-TD amount ratio ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

| 磷脂与DSPE-PEG <sub>2000</sub> -TD用量比 | 包封率/%      | 载药量/%     | 粒径/nm       |
|------------------------------------|------------|-----------|-------------|
| 3:1                                | 69.75±0.67 | 4.66±0.07 | 242.66±5.07 |
| 4:1                                | 74.28±0.35 | 5.22±0.08 | 230.31±6.23 |
| 5:1                                | 83.13±0.98 | 6.22±0.12 | 220.90±5.10 |
| 6:1                                | 78.78±0.45 | 6.08±0.11 | 213.47±8.21 |
| 7:1                                | 75.54±1.17 | 5.78±0.07 | 210.36±3.95 |

**2.4.4 蛇床子素质量浓度的考察** 用蛇床子素质量浓度来确定pH 6.8 PBS 体积。在磷脂与胆固醇用量比为6:1,磷脂与蛇床子素用量比9:1,磷脂与DSPE-PEG<sub>2000</sub>-TD 用量比为5:1,聚山梨酯-80 质量分数为1.0%条件下分别考察蛇床子素质量浓度对TD-Ost-Lips 包封率、载药量和粒径的影响,结果见表4。随着蛇床子素质量浓度增加TD-Ost-Lips 包封率和载药量呈先增加后下降趋势,可能是蛇床

表2 磷脂与蛇床子素用量比的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 2 Effects of phospholipids to osthole amount ratio ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

| 磷脂与蛇床子素用量比 | 包封率/%      | 载药量/%     | 粒径/nm       |
|------------|------------|-----------|-------------|
| 7:1        | 68.78±1.31 | 6.52±0.09 | 251.34±5.39 |
| 8:1        | 74.37±1.41 | 6.05±0.08 | 227.62±3.83 |
| 9:1        | 81.86±1.63 | 6.02±0.13 | 217.39±5.61 |
| 10:1       | 84.21±0.39 | 5.55±0.11 | 237.26±3.67 |
| 11:1       | 84.23±0.79 | 5.17±0.08 | 249.29±6.44 |

表4 蛇床子素质量浓度的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 4 Effects of osthole concentration ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

| 蛇床子素/(mg·mL <sup>-1</sup> ) | 包封率/%      | 载药量/%     | 粒径/nm       |
|-----------------------------|------------|-----------|-------------|
| 0.6                         | 73.99±1.19 | 5.55±0.08 | 216.56±6.71 |
| 0.8                         | 77.75±0.80 | 5.86±0.08 | 216.73±7.11 |
| 1.0                         | 83.93±1.20 | 6.18±0.18 | 221.31±6.40 |
| 1.2                         | 83.58±0.57 | 6.03±0.14 | 233.42±9.29 |
| 1.4                         | 79.80±0.79 | 5.84±0.06 | 246.85±7.82 |

子素质量浓度较小时水相体积较大, 导致药物进入水相的量增加<sup>[7]</sup>, 进而使 TD-Ost-Lips 包封率和载药量较低; 蛇床子素质量浓度较大时, 水相体积较小, 严重影响了磷脂的水化效果<sup>[11-12]</sup>, 不利于 TD-Ost-Lips 载药。TD-Ost-Lips 粒径随着蛇床子素质量浓度增加而增大, 由于蛇床子素质量浓度为 1.0 mg/mL 时 TD-Ost-Lips 包封率和载药量相对较大, 故确定蛇床子素质量浓度为 1.0 mg/mL。

**2.4.5 聚山梨酯-80 质量分数的考察** 在磷脂与胆固醇用量比为 6:1, 磷脂与蛇床子素用量比 9:1, 磷脂与 DSPE-PEG<sub>2000</sub>-TD 用量比为 5:1, 蛇床子素质量浓度为 1.0 mg/mL 条件下分别考察聚山梨酯-80 质量分数对 TD-Ost-Lips 包封率、载药量和粒径的影响, 结果见表 5。随着聚山梨酯-80 质量分数增加 TD-Ost-Lips 包封率和载药量呈先增加后下降趋势, 可能是适当的聚山梨酯-80 利于 TD-Ost-Lips 载药, 但聚山梨酯-80 质量分数过大时可能导致蛇床子素溶解进入水相, 从而造成 TD-Ost-Lips 包封率和载药量下降。TD-Ost-Lips 粒径随着聚山梨酯-80 质量分数增加而下降, 由于聚山梨酯-80 质量分数为 1.0% 时 TD-Ost-Lips 包封率和载药量相对较大, 故确定聚山梨酯-80 质量分数为 1.0%。

表 5 聚山梨酯-80 质量分数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 5 Effects of mass fraction of Tween-80 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

| 聚山梨酯-80/% | 包封率/%        | 载药量/%       | 粒径/nm         |
|-----------|--------------|-------------|---------------|
| 0.8       | 72.73 ± 0.81 | 5.78 ± 0.07 | 237.36 ± 4.04 |
| 0.9       | 76.54 ± 0.72 | 5.91 ± 0.12 | 219.01 ± 4.32 |
| 1.0       | 82.79 ± 1.13 | 6.18 ± 0.04 | 216.22 ± 7.61 |
| 1.1       | 80.34 ± 1.05 | 5.97 ± 0.08 | 210.32 ± 4.33 |
| 1.2       | 77.39 ± 0.56 | 5.75 ± 0.08 | 208.93 ± 4.61 |

**2.5 BBD-RSM 优化 TD-Ost-Lips 处方**

**2.5.1 实验方案设计与结果** 磷脂与蛇床子素用量比 ( $X_1$ )、磷脂与胆固醇用量比 ( $X_2$ )、磷脂与 DSPE-PEG<sub>2000</sub>-TD 用量比 ( $X_3$ ) 作为主要影响因素, 水平设置见表 6。包封率 ( $Y_1$ )、载药量 ( $Y_2$ ) 和粒径 ( $Y_3$ ) 作为优化指标, 并以优化指标的总评归一值 (overall desirability, OD) 作为响应值。OD 值的计算过程为采用  $d_{\max} = (M_i - M_{\min}) / (M_{\max} - M_{\min})$  计算 TD-Ost-Lips 包封率  $d_{\text{包封率}}$  和载药量  $d_{\text{载药量}}$ ; 采用  $d_{\min} = (M_{\max} - M_i) / (M_{\max} - M_{\min})$  计算 TD-Ost-Lips 粒径  $d_{\text{粒径}}$ , 其中,  $M_i$ 、 $M_{\max}$  和  $M_{\min}$  分别为实测值、最大值和最小值;  $OD = (d_{\text{包封率}} d_{\text{载药量}} d_{\text{粒径}})^{1/3}$ 。制备 17 组不同处方的 TD-Ost-Lips (含中心点试验 5 组), 包封率、载药量、粒径及 OD 值结果见表 6。

表 6 BBD-RSM 优化 TD-Ost-Lips 处方试验设计与结果

Table 6 Experimental design and results of BBD-RSM optimization of TD-Ost-Lips prescription

| 序号 | $X_1$    | $X_2$   | $X_3$   | 包封率/<br>% | 载药量/<br>% | 粒径/<br>nm | OD值   | 序号 | $X_1$          | $X_2$ | $X_3$ | 包封率/<br>% | 载药量/<br>% | 粒径/<br>nm | OD值 |
|----|----------|---------|---------|-----------|-----------|-----------|-------|----|----------------|-------|-------|-----------|-----------|-----------|-----|
| 1  | 10:1(+1) | 7:1(+1) | 5:1(0)  | 85.17     | 5.89      | 254.66    | 0.332 | 10 | 9:1 6:1 1 5:1  | 84.72 | 6.36  | 216.77    | 0.843     |           |     |
| 2  | 9:1(0)   | 5:1(-1) | 6:1(+1) | 72.19     | 5.41      | 241.74    | 0.138 | 11 | 9:1 7:1 6:1    | 74.75 | 5.78  | 250.09    | 0.257     |           |     |
| 3  | 8:1(-1)  | 6:1(0)  | 6:1     | 70.53     | 6.03      | 219.86    | 0.000 | 12 | 10:1 6:1 1 6:1 | 78.03 | 5.32  | 259.24    | 0.000     |           |     |
| 4  | 10:1     | 6:1     | 4:1(-1) | 84.76     | 5.55      | 247.05    | 0.336 | 13 | 9:1 6:1 1 5:1  | 86.34 | 6.40  | 217.75    | 0.878     |           |     |
| 5  | 9:1      | 6:1     | 5:1     | 86.16     | 6.47      | 218.72    | 0.886 | 14 | 10:1 5:1 1 5:1 | 82.79 | 5.51  | 234.86    | 0.379     |           |     |
| 6  | 9:1      | 5:1     | 4:1     | 79.13     | 5.82      | 220.79    | 0.540 | 15 | 8:1 7:1 1 5:1  | 78.44 | 6.67  | 224.98    | 0.704     |           |     |
| 7  | 9:1      | 6:1     | 5:1     | 85.88     | 6.33      | 215.02    | 0.868 | 16 | 8:1 5:1 1 5:1  | 73.81 | 5.98  | 227.61    | 0.403     |           |     |
| 8  | 8:1      | 6:1     | 4:1     | 75.91     | 5.89      | 210.18    | 0.524 | 17 | 9:1 7:1 1 4:1  | 79.66 | 5.84  | 214.04    | 0.590     |           |     |
| 9  | 9:1      | 6:1     | 5:1     | 84.98     | 6.39      | 220.09    | 0.833 |    |                |       |       |           |           |           |     |

**2.5.2 模型拟合与方差分析** 根据测得的 TD-Ost-Lips 的 OD 值, 使用 Design Expert V13.0 软件建立数学模型, 方差分析结果见表 7。OD 多元二次项方程为  $OD = 0.860 - 0.073 X_1 + 0.052 X_2 - 0.200 X_3 - 0.087 X_1 X_2 + 0.047 X_1 X_3 + 0.018 X_2 X_3 - 0.290 X_1^2 - 0.120 X_2^2 - 0.360 X_3^2$ , 数学模型系数  $R^2$  和修正系数  $R_{\text{adj}}^2$  分别为 0.992 9 和 0.983 8, 说明实际测定值和模型拟合值相关性良好。方程  $P$  值  $< 0.000 1$ , 说明

该模型具有极显著性意义, 失拟项  $P = 0.069 1$  ( $P > 0.05$ ), 说明由误差引起的拟合偏差可忽略。OD 数学模型中  $X_1 X_3$  项具有显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 而  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_1 X_2$ 、 $X_1^2$ 、 $X_2^2$ 、 $X_3^2$  项均具有极显著差异 ( $P < 0.01$ )。

**2.5.3 响应面分析及 TD-Ost-Lips 最佳处方** 分别绘制  $X_1$ 、 $X_2$  和  $X_3$  对 OD 值的响应面图, 结果见图 2。随着  $X_1$ 、 $X_2$  和  $X_3$  任意两因素的增加, OD 值均呈先

表 7 OD 方差分析

Table 7 Variance analysis of OD

| 项目       | 平方和                   | 自由度 | 均方                    | F值     | P值       |
|----------|-----------------------|-----|-----------------------|--------|----------|
| 模型       | 1.47                  | 9   | 0.16                  | 109.26 | <0.000 1 |
| $X_1$    | 0.04                  | 1   | 0.04                  | 28.60  | 0.001 1  |
| $X_2$    | 0.02                  | 1   | 0.02                  | 15.00  | 0.006 2  |
| $X_3$    | 0.32                  | 1   | 0.32                  | 213.38 | <0.000 1 |
| $X_1X_2$ | 0.03                  | 1   | 0.03                  | 20.32  | 0.002 8  |
| $X_1X_3$ | $8.76 \times 10^{-3}$ | 1   | $8.76 \times 10^{-3}$ | 5.88   | 0.045 7  |
| $X_2X_3$ | $1.24 \times 10^{-3}$ | 1   | $1.24 \times 10^{-3}$ | 0.83   | 0.392 8  |
| $X_1^2$  | 0.35                  | 1   | 0.35                  | 231.91 | <0.000 1 |
| $X_2^2$  | 0.06                  | 1   | 0.06                  | 41.04  | 0.000 4  |
| $X_3^2$  | 0.55                  | 1   | 0.55                  | 365.52 | <0.000 1 |
| 残差       | 0.01                  | 7   | $1.49 \times 10^{-3}$ |        |          |
| 失拟项      | $8.37 \times 10^{-3}$ | 3   | $2.79 \times 10^{-3}$ | 5.37   | 0.0691   |
| 绝对误差     | $2.08 \times 10^{-3}$ | 4   | $5.20 \times 10^{-4}$ |        |          |
| 总和       | 1.48                  | 16  |                       |        |          |

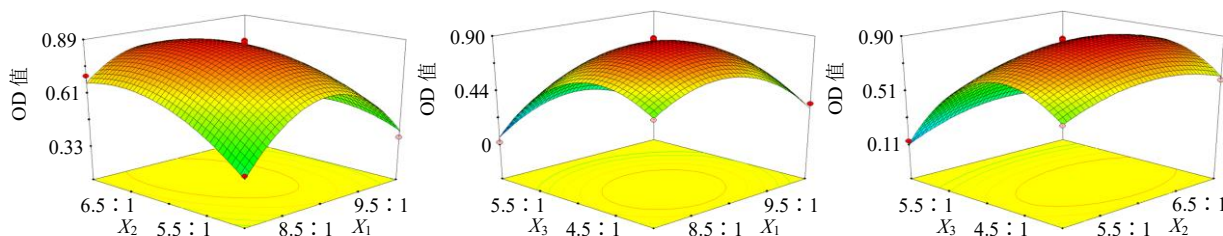


图 2 两因素交互作用的响应面图

Fig. 2 Response surface diagram of interaction between two factors

表 8 处方验证结果 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 8 Prescription verification result ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

| 批次  | 包封率/%            | 载药量/%           | 粒径/nm             |
|-----|------------------|-----------------|-------------------|
| 第1批 | $86.53 \pm 0.66$ | $6.61 \pm 0.11$ | $222.09 \pm 3.70$ |
| 第2批 | $86.67 \pm 0.83$ | $6.65 \pm 0.13$ | $220.41 \pm 8.53$ |
| 第3批 | $86.79 \pm 0.93$ | $6.67 \pm 0.09$ | $218.26 \pm 5.65$ |

TD-Ost-Lips 最佳处方和“2.1.1”项下制备工艺, 采用等量的 DSPE-mPEG<sub>2000</sub> 代替 DSPE-mPEG<sub>2000</sub>-TD 来制备 Ost-Lips 混悬液。

**2.6.2 Ost-Lips 和 TD-Ost-Lips 包封率、载药量及  $\zeta$  电位的比较** 测得 Ost-Lips 平均包封率和载药量分别为 ( $85.10 \pm 1.03$ )% 和 ( $6.42 \pm 0.13$ )%, 与 TD-Ost-Lips 相比无明显差别。Ost-Lips 平均粒径为 ( $184.71 \pm 5.59$ ) nm, 小于 TD-Ost-Lips (图 3-A)。Ost-Lips 和 TD-Ost-Lips 的 PDI 值分别为 ( $0.109 \pm 0.007$ ) 和 ( $0.117 \pm 0.008$ ),  $\zeta$  电位分别为 ( $-24.15 \pm 1.06$ ) mV 和 ( $-17.31 \pm 0.85$ ) mV, 见图 3-B, 表明 Ost-Lips 的  $\zeta$  电位绝对值大于 TD-Ost-Lips, 可能为 TD-Ost-Lips 表面修饰的透皮肽掩蔽了电荷所致<sup>[11]</sup>。

增加后下降趋势。选择 OD 值最大值作为优化目标, 得 TD-Ost-Lips 最佳处方: $X_1$  为 8.81 : 1,  $X_2$  为 6.27 : 1,  $X_3$  为 4.72 : 1, 预测 OD 值为 0.904。

**2.5.4 TD-Ost-Lips 工艺验证** 按照“2.5.3”最佳处方制备 3 批 TD-Ost-Lips, 分别测定包封率、载药量和粒径, 结果见表 8, 各批次测得数据波动幅度均小于 1%, 说明重复性良好。计算得 3 批 TD-Ost-Lips 平均包封率、载药量和粒径分别为 ( $86.77 \pm 0.71$ )%、( $6.65 \pm 0.10$ )% 和 ( $220.25 \pm 5.69$ ) nm。按照“2.5.1”项下方法计算的实际 OD 值为 0.911, 以预测 OD 值 (0.904) 为参考, 计算得实际 OD 值与预测 OD 值相对偏差仅 0.77%, 说明实际测得结果与数学模型预测结果相关性良好, 构建的数学模型具有较高的指导价值。

**2.6 Ost-Lips 混悬液的制备及比较**

**2.6.1 Ost-Lips 混悬液的制备** 参考“2.5.3”项下

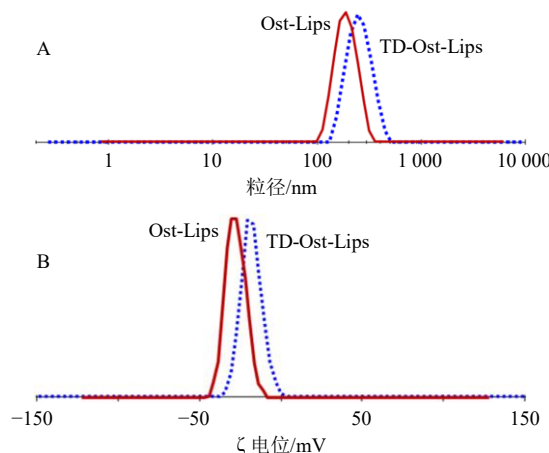


图 3 Ost-Lips 和 TD-Ost-Lips 粒径分布 (A) 和  $\zeta$  电位 (B)

Fig. 3 Particle size distribution (A) and  $\zeta$  potential (B) of Ost-Lips and TD-Ost-Lips

**2.6.3 Ost-Lips 和 TD-Ost-Lips 的形貌** 取测定粒径用的 Ost-Lips 和 TD-Ost-Lips 混悬液分别滴至铜网, 铺展后加 1% 磷钨酸钠负染, 晾干, 置于透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM) 下观

察形貌,结果见图4。Ost-Lips 和 TD-Ost-Lips 分散性良好,外貌呈囊泡状。

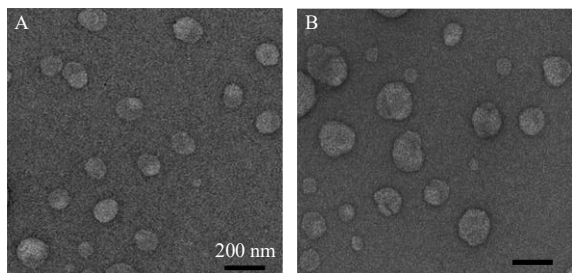


图4 Ost-Lips (A) 和 TD-Ost-Lips (B) 的 TEM 图 (×15 000)

Fig. 4 TEM of Ost-Lips (A) and TD-Ost-Lips (B) (×15 000)

**2.6.4 溶解度测定** 取 Ost-Lips 和 TD-Ost-Lips 混悬液置于-50 °C 冰箱中预冻 3 d, 然后于冷冻干燥机中抽真空冻干, 即得 Ost-Lips 粉末和 TD-Ost-Lips 粉末, 另取蛇床子素原料药粉末分别加至 pH 6.8 PBS 中, 使样品处于过量状态, 超声 10 min。分别置于 25 °C 水浴中, 持续磁力搅拌 2 d。取混悬液, 0.45 μm 微孔滤膜除去不溶性颗粒, 测定上清液中蛇床子素质量浓度。结果显示, 蛇床子素、Ost-Lips 和 TD-Ost-Lips 的溶解度分别为 (5.74 ± 0.05)、(119.08 ± 1.13)、(120.26 ± 1.40) μg/mL。可见, 蛇床子素在 Ost-Lips 和 TD-Ost-Lips 中的溶解度得到明显提高, 主要与蛇床子素粒度急剧下降至纳米级别有关。

**2.7 凝胶的制备**

蛇床子素、Ost-Lips 和 TD-Ost-Lips 混悬液按“2.1.2”项下操作分别制备成凝胶。外观见图 5, 各个凝胶中蛇床子素的质量分数均为 (0.40 ± 0.01) mg/g, 倒置后未出现流淌现象, 且易于涂展、黏度适中。由于蛇床子素溶解度极差, 导致蛇床子素凝胶的均一性较 Ost-Lips 和 TD-Ost-Lips 凝胶差。



图5 蛇床子素混悬液 (A) 及其凝胶 (B)、Ost-Lips 混悬液 (C) 及其凝胶 (D)、TD-Ost-Lips 混悬液 (E) 及其凝胶 (F) 外观

Fig. 5 Appearance of osthole suspension (A) and its gel (B), Ost-Lips suspension (C) and its gel (D), TD-Ost-Lips suspension (E) and its gel (F)

**2.8 各个凝胶体外释药行为及流变学研究**

**2.8.1 体外释药行为比较** 取蛇床子素凝胶、Ost-Lips 凝胶和 TD-Ost-Lips 凝胶适量 (蛇床子素含量均为 4.0 mg), 加入 pH 6.8 PBS (含 0.5% 聚山梨酯-80) 5 mL 得混悬液, 密封于透析袋中 (截留相对分子质量 10 000)。采用 pH 6.8 PBS (含 0.5% 聚山梨酯-80) 500 mL 作为介质, 开启溶出仪, 使介质恒温至 37 °C, 转速为 75 r/min, 于 0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0、18.0、24.0 h 分别取透析介质 5 mL 至空白离心管中, 并立即于溶出杯中补充 5 mL pH 6.8 PBS (含 0.5% 聚山梨酯-80), 测定蛇床子素质量浓度, 结果见图 6。蛇床子素凝胶 24 h 累积释放度仅为 34.16%, 可能是由于蛇床子素原料药疏水性强、粒度大等自身缺陷引起<sup>[7]</sup>, 因而不利于发挥药效。Ost-Lips 凝胶和 TD-Ost-Lips 凝胶 24 h 累积释放度分别提高至 75.13% 和 77.06%, 整个释药行为无明显差别。释药机制的模拟结果见表 9, Ost-Lips 凝胶和 TD-Ost-Lips 凝胶释药行为与 Weibull 模型拟合度最高。

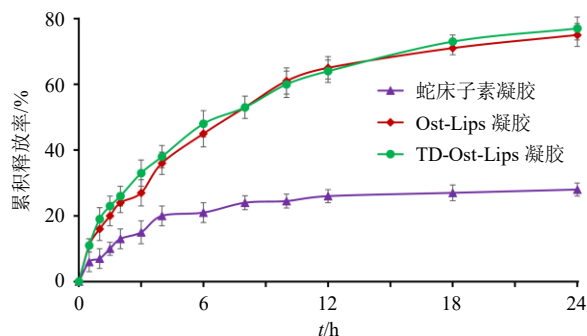


图6 体外释药结果 (x̄ ± s, n = 3)  
Fig. 6 Results of drug release (x̄ ± s, n = 3)

**2.8.2 各个凝胶流变学研究** 取蛇床子素凝胶、Ost-Lips 凝胶和 TD-Ost-Lips 凝胶适量作单次应变扫描, 应变范围为 1.16%~211.56%, 测试温度为 37 °C, 频率为 5 Hz, 模式为振荡模式, 角频率 10 rad/s, 平板直径为 35 mm。结果见图 7, 蛇床子素凝胶、Ost-Lips 凝胶和 TD-Ost-Lips 凝胶的储能模量 G' 均大于各自的损耗模量 G'', 表明各个凝胶在 0.1%~200% 的应变范围内可保持固体弹性性质。

**2.9 稳定性研究**

Ost-Lips 凝胶和 TD-Ost-Lips 凝胶密封置于 4 °C 冰箱中, 分别于第 0、1、2、3、6 个月取样, 并测试包封率、粒径及黏度。Ost-Lips 凝胶和 TD-Ost-Lips 凝胶在第 6 个月时外观仍保持均一, 倒置无流

表9 药物释放模型和相关系数  
Table 9 Fitting release model and coefficient

| 模型        | 拟合方程  |   |
|-----------|---|---|
|           | TD-Ost-Lips凝胶   | Ost-Lips凝胶  |
| 一级模型      | $\ln(1-M_t/M_\infty)=-0.0584t-0.1955, R^2=0.9399$           | $\ln(1-M_t/M_\infty)=-0.0548t-0.1866, R^2=0.9155$           |
| Higuchi模型 | $M_t/M_\infty=0.1629t^{1/2}+0.0387, R^2=0.9762$             | $M_t/M_\infty=0.1613t^{1/2}+0.0259, R^2=0.9686$             |
| Weibull模型 | $\ln\ln[1/(1-M_t/M_\infty)]=0.6686\ln t-1.6239, R^2=0.9942$ | $\ln\ln[1/(1-M_t/M_\infty)]=0.7826\ln t-2.0007, R^2=0.9964$ |

$M_t$ 为  $t$  时间累积释放量,  $M_\infty$ 为  $\infty$ 时累积释放量,  $M_t/M_\infty$ 为  $t$  时间累积释放百分率。

$M_t$  is accumulative drug-release at time  $t$ ,  $M_\infty$  is accumulative drug-release at time  $\infty$ ,  $M_t/M_\infty$  is accumulative release rate at time  $t$ .

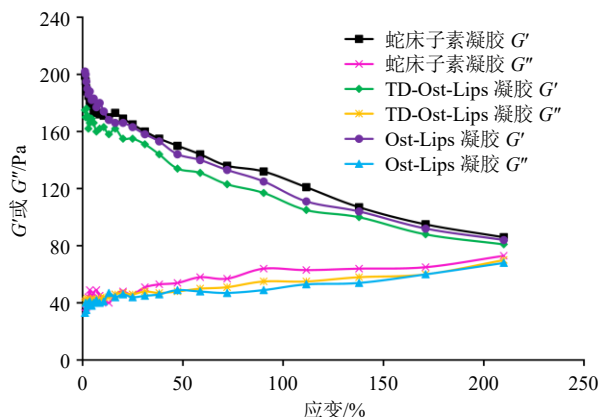


图7 凝胶模量-应变关系曲线 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 7 Gel modulus-strain curve ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

淌现象,且易于涂展。各个指标测试结果见表10, Ost-Lips凝胶和TD-Ost-Lips凝胶第6个月包封率仍大于80%;粒径虽呈增长趋势,但仍小于250nm;凝胶黏度呈下降趋势,但第6个月仍大于15Pa·s,因此,Ost-Lips凝胶和TD-Ost-Lips凝胶密封储存于4℃冰箱时稳定性良好。

### 2.10 体外透皮研究

**2.10.1 实验方案** 取ICR小鼠,用剪刀小心剪去背部鼠毛,暴露面积为2cm×4cm,并涂抹脱毛膏,5min后用纱布轻轻擦拭干净。根据小鼠体重,ip异氟烷(0.1mL/10g),麻醉后颈部脱臼处死,立即剥离皮肤,除去皮下脂肪、黏连物等组织(避免角

表10 稳定性结果 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 10 Results of stability ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

| 取样时间/月 | Ost-Lips凝胶 |             |            | TD-Ost-Lips凝胶 |             |            |
|--------|------------|-------------|------------|---------------|-------------|------------|
|        | 包封率/%      | 粒径/nm       | 黏度/(Pa·s)  | 包封率/%         | 粒径/nm       | 黏度/(Pa·s)  |
| 0      | 83.69±0.85 | 221.74±4.56 | 18.13±1.58 | 85.02±1.26    | 230.94±7.15 | 18.54±0.86 |
| 1      | 83.13±1.11 | 225.69±7.11 | 18.09±1.44 | 84.46±0.93    | 236.15±4.33 | 18.43±1.03 |
| 2      | 83.09±0.76 | 225.81±5.26 | 17.84±0.93 | 84.58±0.59    | 239.62±5.62 | 17.64±0.97 |
| 3      | 82.57±0.89 | 230.55±3.98 | 17.16±1.07 | 84.17±1.17    | 241.30±6.12 | 17.23±0.78 |
| 6      | 81.86±1.04 | 237.90±4.49 | 17.11±1.25 | 82.35±1.02    | 243.91±5.89 | 16.48±1.12 |

质层损伤),生理盐水洗涤3次,即得皮肤(须保证完整性),于24h内使用完毕。

取皮肤,角质层朝上固定于Franz扩散池。取蛇床子素凝胶、Ost-Lips凝胶、Ost-Lips+透皮肽凝胶(透皮肽含量同TD-Ost-Lips)和TD-Ost-Lips凝胶适量分别均匀涂抹于角质层(蛇床子素含量均为1mg),采用pH6.8PBS(含3.0%的芐泽98)作为接收液,温度为(37.0±0.5)℃,接收池搅拌子转速为200r/min,于0、2、4、6、8、10、12和24h取样0.5mL,同时补进0.5mLpH6.8PBS(含3.0%的芐泽98)。样品经0.45μm微孔滤膜滤过,测定蛇床子素含量,计算单位面积累积渗透量( $Q_n$ )和透皮速率( $J_{ss}$ )。

$$Q_n=(C_nV_1+\sum_{i=0}^{n-1}C_iV_2)/S$$

$$J_{ss}=Q_n/\Delta t$$

$C_n$ 代表  $n$  点蛇床子素质量浓度,  $V_1$ 代表接收池体积12mL,  $V_2$ 代表取样体积0.5mL,  $C_i$ 为  $i$  点蛇床子素质量浓度,  $S$ 为渗透面积1cm<sup>2</sup>,  $\Delta t$ 为时间间隔

**2.10.2 皮肤完整性检查** 将皮肤用O型橡胶圈固定于聚四氟乙烯管的末端,使角质层与管接触,并剪去边缘多余皮肤。将聚四氟乙烯管放入154mmol/L硫酸镁溶液,测定皮肤电阻值,选取电阻值大于15kΩ的皮肤进行体外透皮试验<sup>[4]</sup>。

**2.10.3 体外透皮结果** 为比较TD-Ost-Lips凝胶透皮性能,选择蛇床子素+3%氮酮凝胶作为对比对象,其制备过程为取蛇床子素和氮酮适量,按照

“2.1.2”项下方法操作制备蛇床子素+3%氮酮凝胶。各组样品凝胶  $Q_n$ - $t$  曲线见图 8, 渗透参数见表 11。蛇床子素凝胶、Ost-Lips 凝胶、Ost-Lips+透皮肽凝胶

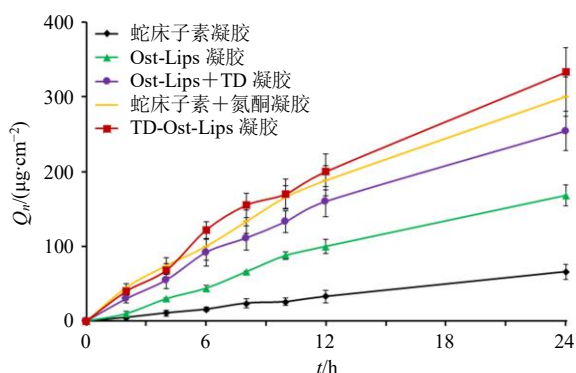


图 8  $Q_n$ - $t$  曲线 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )  
Fig. 8  $Q_n$ - $t$  curves ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

表 11 拟合方程及渗透参数 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 11 Fitted equation and permeation parameters ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

| 样品             | 拟合方程                       | $R^2$  | $J_{ss}/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1})$ | $Q_n/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2})$     | $Q_m/(\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2})$     |
|----------------|----------------------------|--------|---|--|--|
| 蛇床子素凝胶         | $Q_n = 2.7528t - 0.0860$   | 0.9978 | 2.7528  | $66.12 \pm 10.25$                          | $133.58 \pm 15.26$                         |
| Ost-Lips凝胶     | $Q_n = 7.2554t + 3.3932$   | 0.9795 | 7.2554  | $168.04 \pm 19.93^{**}$                    | $224.17 \pm 42.77^{**}$                    |
| Ost-Lips+透皮肽凝胶 | $Q_n = 10.5620t + 17.2391$ | 0.9726 | 10.5620   | $254.71 \pm 30.08^{***\#}$                 | $306.09 \pm 49.32^{***\#}$                 |
| 蛇床子素+氮酮凝胶      | $Q_n = 12.3053t + 24.2365$ | 0.9730 | 12.3053   | $301.50 \pm 40.71^{***\Delta\Delta}$       | $378.87 \pm 61.19^{***\Delta\Delta}$       |
| TD-Ost-Lips凝胶  | $Q_n = 13.7551t + 22.5233$ | 0.9723 | 13.7551   | $332.96 \pm 43.90^{***\Delta\Delta\Delta}$ | $405.25 \pm 58.93^{***\Delta\Delta\Delta}$ |

与蛇床子素凝胶比较:  $^{**}P < 0.01$ ; 与 Ost-Lips 凝胶比较:  $^{\#}P < 0.01$ ; 与 Ost-Lips+透皮肽凝胶比较:  $^{\Delta\Delta}P < 0.01$ ; 与蛇床子素+氮酮凝胶比较:  $^{\Delta\Delta\Delta}P < 0.05$ 。

$^{**}P < 0.01$  vs osthole gel;  $^{**}P < 0.01$  vs Ost-Lips gel;  $^{\Delta\Delta}P < 0.01$  vs Ost-Lips + transdermal peptide gel;  $^{\Delta\Delta\Delta}P < 0.05$  vs osthole + laurocapram gel.

**2.10.4 皮肤滞留量测定** 将皮肤用生理盐水洗涤至表面无凝胶残留, 剪碎, 加入 5 mL 生理盐水进行匀浆, 加入无水乙醇 5 mL, 密封, 涡旋 5 min, 超声 (频率 40 kHz、功率 200 W) 10 min。8 500 r/min 离心 (离心半径 10.0 cm) 10 min, 将上清液转移至空白离心管。残渣中再加入无水乙醇 5 mL, 同法再次提取, 合并提取液至 25 mL 量瓶中, 加入乙醇稀释定容, 测定蛇床子素质量浓度 ( $C_m$ ), 计算皮肤滞留量 ( $Q_m$ ), 结果见表 11。与蛇床子素凝胶相比, Ost-Lips 凝胶、Ost-Lips+透皮肽凝胶、蛇床子素+氮酮凝胶和 TD-Ost-Lips 凝胶的  $Q_m$  均具有极显著性提高 ( $P < 0.01$ ), 分别提高至 1.68、2.29、2.84、3.03 倍。证明 Ost-Lips 凝胶、Ost-Lips+透皮肽凝胶、TD-Ost-Lips 凝胶和蛇床子素+氮酮凝胶均极显著增加了蛇床子素  $Q_m$ 。其中, TD-Ost-Lips 凝胶  $Q_m$  显著性高于蛇床子素+氮酮凝胶 ( $P < 0.05$ ), 更利于蛇床子素发挥抗 AD 药效。

$$Q_m = C_m V / A$$

$V$  为体积 (25 mL),  $A$  代表渗透面积 ( $1 \text{ cm}^2$ )

胶、蛇床子素+氮酮凝胶和 TD-Ost-Lips 凝胶中蛇床子素经皮渗透过程均符合零级释药行为。与蛇床子素凝胶相比, Ost-Lips 凝胶、Ost-Lips+透皮肽凝胶、蛇床子素+氮酮凝胶和 TD-Ost-Lips 凝胶  $J_{ss}$  分别提高至 2.64、3.84、4.47、5.00 倍;  $Q_n$  提高幅度均具有极显著性差异 ( $P < 0.01$ ), 分别提高至 2.54、3.85、4.56、5.04 倍。结果表明, Ost-Lips 凝胶、Ost-Lips+透皮肽凝胶、TD-Ost-Lips 凝胶和蛇床子素+氮酮凝胶均提高了蛇床子素的经皮渗透能力, 且 TD-Ost-Lips 凝胶效果相对最佳。TD-Ost-Lips 凝胶  $Q_n$  显著性高于蛇床子素+氮酮凝胶 ( $P < 0.05$ ), 促蛇床子素经皮渗透效果更佳, 可能是 TD-Ost-Lips 凝胶中透皮肽和脂质体 2 种促渗透因素发挥了协同作用所致。

## 2.11 药效学评价

**2.11.1 AD 模型的建立** 取 ICR 小鼠, 用剪刀小心剪去背部鼠毛, 暴露面积为  $2 \text{ cm} \times 3 \text{ cm}$ , 涂抹脱毛膏, 5 min 后用纱布擦拭干净, 用生理盐水冲洗 2 遍, 晾干。于皮肤处涂抹 200  $\mu\text{L}$  0.5% 的 DNFB 试剂 (丙酮-橄榄油 3:1), 干燥后放回鼠笼。第 3 天于皮肤处涂抹 200  $\mu\text{L}$  0.2% 的 DNFB 试剂, 每 2 天刺激 1 次, 共刺激 7 次。皮肤出现鳞屑、红斑、瘙痒、表皮脱落等现象, 表明 AD 造模成功<sup>[15-16]</sup>。

**2.11.2 实验方案** 将小鼠分为正常组、模型组、阳性对照组 (地塞米松, 5 mg/kg<sup>[15]</sup>)、蛇床子素凝胶 (40 mg/kg<sup>[17]</sup>)、Ost-Lips 凝胶 (40 mg/kg)、Ost-Lips+透皮肽凝胶 (40 mg/kg)、TD-Ost-Lips 凝胶低剂量组 (20 mg/kg) 和 TD-Ost-Lips 凝胶高剂量组 (40 mg/kg), 每组 8 只。造模后重新计时, 每 2 天刺激 1 次 (即第 0、2、4、6、8、10、12、14 天), 每次刺激 3 h 后给药。正常组和模型组涂抹丙酮-橄榄油 (3:1) 200  $\mu\text{L}$ , 其余各组按设定剂量及预定时间涂抹给药。最后 1 次给药 24 h 后, 记录各组小

鼠皮损情况。

**2.11.3 皮损评分标准及结果** 根据各组小鼠皮损部位红斑、水肿和脱屑情况,按照皮损面积和严重程度(psoriasis area and severity index, PASI)评分标准进行评分:无明显症状评分为0;轻度评分为1;中度评分为2;重度评分为3。评分总和作为PASI评分,得分越高表示皮损越严重。由于第0、2、4、6、8天皮损情况无明显差异,故分别对第10、12、14天进行评分,结果见表12。与正常组相比,模型

组PASI评分均具有极显著性差异( $P < 0.01$ ),表明造模成功。与模型组相比,各给药组PASI评分具有显著性或极显著性差异( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ),表明AD症状得到明显缓解。与蛇床子素凝胶组相比,Ost-Lips凝胶和Ost-Lips+透皮肽凝胶在第14天的PASI评分具有显著性差异( $P < 0.05$ ),而TD-Ost-Lips凝胶高剂量组在第14天的PASI评分具有极显著性差异( $P < 0.01$ ),证明TD-Ost-Lips凝胶治疗效果更优。

表12 各组小鼠的皮损PASI评分结果及IL-6、IL-4、TNF- $\alpha$ 含量比较( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 12 PASI scores results of skin lesions and comparison of IL-6, IL-4, TNF- $\alpha$  contents in each group of mice ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

| 组别             | 剂量/<br>(mg·kg <sup>-1</sup> ) | PASI评分                       |                              |                              | IL-6/<br>(pg·mL <sup>-1</sup> ) | IL-4/<br>(pg·mL <sup>-1</sup> ) | TNF- $\alpha$ /<br>(pg·mL <sup>-1</sup> ) |
|----------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---|
|                |                               | 10 d                         | 12 d                         | 14 d                         |                                 |                                 |   |
| 正常             | -                             | 0                            | 0                            | 0                            | 162.55 ± 33.45                  | 120.90 ± 20.05                  | 312.12 ± 44.03                            |
| 模型             | -                             | 11.50 ± 0.43**               | 8.92 ± 0.94**                | 6.97 ± 0.68**                | 365.88 ± 53.16**                | 243.76 ± 32.13**                | 477.85 ± 56.07**                          |
| 阳性对照           | 5                             | 8.40 ± 0.35##                | 5.55 ± 0.79##                | 3.28 ± 0.52##                | 211.93 ± 26.47##                | 153.34 ± 10.98##                | 354.60 ± 40.01##                          |
| 蛇床子素凝胶         | 40                            | 10.72 ± 0.60#                | 7.85 ± 0.42#                 | 6.13 ± 0.54#                 | 253.98 ± 31.03##                | 179.42 ± 20.07##                | 386.23 ± 32.45##                          |
| Ost-Lips凝胶     | 40                            | 9.97 ± 0.49##                | 6.65 ± 0.51##                | 5.45 ± 0.48## $\Delta$       | 243.11 ± 19.74##                | 170.15 ± 15.52##                | 369.96 ± 30.86##                          |
| Ost-Lips+透皮肽凝胶 | 40                            | 9.42 ± 0.61## $\Delta$       | 6.00 ± 0.49## $\Delta$       | 4.65 ± 0.85## $\Delta$       | 226.79 ± 25.40##                | 156.91 ± 13.44##                | 363.77 ± 27.79##                          |
| TD-Ost-Lips凝胶  | 20                            | 9.72 ± 0.67##                | 7.33 ± 0.74##                | 5.08 ± 0.88##                | 247.75 ± 29.13##                | 174.56 ± 16.61##                | 374.51 ± 42.63##                          |
|                | 40                            | 8.62 ± 0.31## $\Delta\Delta$ | 5.33 ± 0.41## $\Delta\Delta$ | 3.48 ± 0.33## $\Delta\Delta$ | 202.69 ± 15.34## $\Delta\Delta$ | 149.27 ± 14.36## $\Delta$       | 341.22 ± 29.72## $\Delta$                 |

与正常组比较: \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$ ; 与蛇床子素凝胶组比较:  $\Delta P < 0.05$   $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

\*\* $P < 0.01$  vs normal group; # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$  vs model group;  $\Delta P < 0.05$   $\Delta\Delta P < 0.01$  vs osthole gel group.

**2.11.4 炎症因子含量测定** 实验结束后取各组小鼠皮肤组织,剪碎后进行匀浆,按照ELISA试剂盒的方法操作检测IL-6、IL-4和TNF- $\alpha$ 含量,结果见表12。与正常组相比,模型组IL-6、IL-4和TNF- $\alpha$ 均具有极显著性升高( $P < 0.01$ ),表明造模成功。与模型组相比,各给药组IL-6、IL-4和TNF- $\alpha$ 均具有极显著性下降( $P < 0.01$ ),表明各给药组抑制了IL-6、IL-4和TNF- $\alpha$ 炎症因子的升高。与蛇床子素凝胶组相比,TD-Ost-Lips凝胶高剂量组IL-6极显著性下降( $P < 0.01$ ),IL-4和TNF- $\alpha$ 具有显著性下降( $P < 0.05$ ),表明TD-Ost-Lips对皮肤组织中IL-6、IL-4、TNF- $\alpha$ 升高的抑制效果优于蛇床子素凝胶。

**2.11.5 小鼠局部皮肤组织评价** 实验结束后取各组小鼠皮肤组织,采用4%多聚甲醛固定,石蜡包埋,纵向切片,采用苏木精-伊红(HE)染色后镜检,结果见图9。正常组小鼠皮肤细胞排列有序,棘层正常,未见炎性细胞浸润。模型组细胞排列杂乱无序,棘层肥厚,大量炎性细胞浸润。阳性对照组炎性细胞浸润大幅减少,棘层恢复正常。蛇床子素凝胶组棘层有一定的肥厚现象,可见大量炎性细胞浸

润,表明蛇床子素具有治疗AD疾病的潜力。Ost-Lips凝胶组和Ost-Lips+透皮肽凝胶组炎性细胞浸润情况少于蛇床子素组,但棘层仍见一定的肥厚现象。随着TD-Ost-Lips凝胶剂量的增加,棘层肥厚现象、炎性细胞浸润改善等情况愈加明显,表现出剂量相关性,其中TD-Ost-Lips凝胶组病理情况趋向于阳性对照组及正常组。

### 3 讨论

前期对TD-Ost-Lips混悬液制备工艺如水化时间、超声功率、超声时间等进行了考察,发现水化时间在45~60 min时封装率相对较大,为节省制备时间故最终确定水化时间为45 min;超声频率为40 kHz时,超声时间超过10 min或超声功率超过250 W时均可能破坏TD-Ost-Lips结构<sup>[7]</sup>,进而使封装率下降,故确定超声时间和超声功率分别为10 min和250 W。

超滤离心法测定封装率时可能破坏TD-Ost-Lips结构,进而导致测定结果存在较大误差<sup>[7]</sup>。本研究采用葡聚糖凝胶柱对TD-Ost-Lips混悬液中的游离药物和TD-Ost-Lips进行分离,这是由于TD-

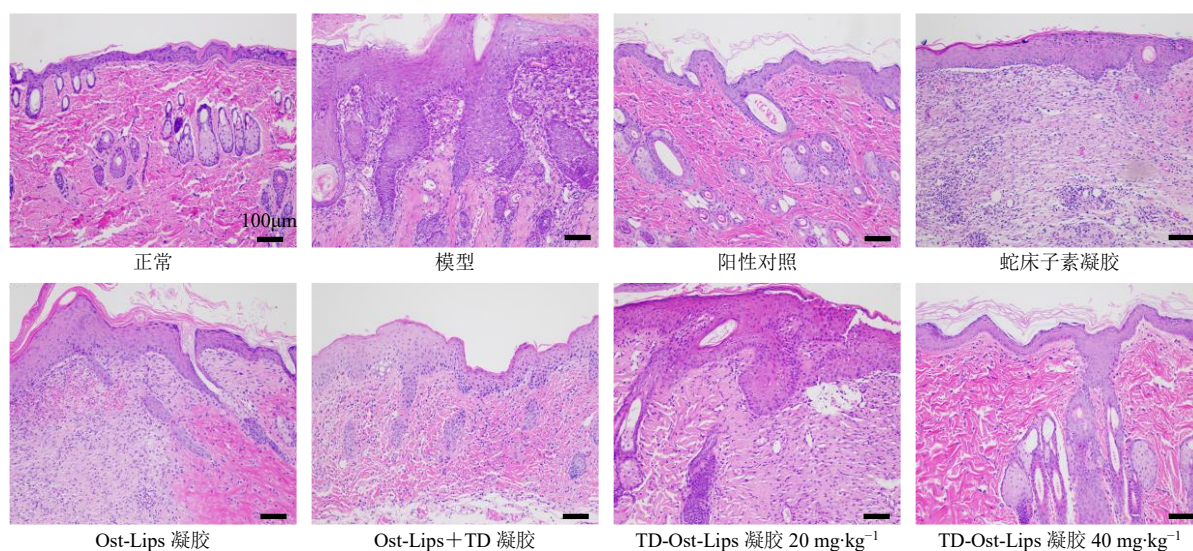


图9 HE染色结果(×100)

Fig. 9 HE staining results (×100)

Ost-Lips 相对分子质量远大于游离药物, 难以进入凝胶内部, 所以葡聚糖凝胶未对 TD-Ost-Lips 产生有效的吸附作用, 故先被洗脱出来; 而游离药物分子较小, 极易进入凝胶内部从而增加了洗脱时间。由于两者的洗脱时间存在较大差别, 最终使 TD-Ost-Lips 和游离药物实现有效分离。

Ost-Lips 和 TD-Ost-Lips 包封率无明显差别, 说明在 TD-Ost-Lips 表面修饰透皮肽并未明显影响其包封率。TD-Ost-Lips 粒径大于 Ost-Lips, 可能与透皮肽包覆在 TD-Ost-Lips 表面有关, 透皮肽较强的亲水性使 TD-Ost-Lips 水合粒径增大<sup>[18]</sup>。为使 TD-Ost-Lips 更好地发挥促渗透作用, 故以卡波姆为基质将 TD-Ost-Lips 混悬液制备成 TD-Ost-Lips 凝胶。卡波姆是一种含羧基的高分子聚合物, 使用碱性三乙醇胺调节 pH 值接近中性时羧基会因此而发生解离产生负电性, 在负电荷的排斥作用下使分子链伸展, 形成巨大的空间网状结构, 进而使卡波姆产生较大的黏性, 利于黏附在皮肤表面并发挥局部药效。以凝胶倒置无流淌现象、无皮肤刺激性、外观均一为指标, 分别考察了不同 pH 值的影响, 最终确定 pH 值为 6.5, 与相关研究结果吻合<sup>[7]</sup>。

蛇床子素凝胶累积释放度较低, 而 Ost-Lips 凝胶和 TD-Ost-Lips 凝胶均极大提高了累积释放度, 为提高药效奠定基础。Ost-Lips 和 TD-Ost-Lips 凝胶释药过程表现出缓释效果, 这与脂质体本身的阻滞作用有关<sup>[19]</sup>, 利于形成药物储库, 发挥长效作用。在离体皮肤透皮试验中, 接收液需要至少满足 2 个条件, 一是接收液不能改变离体皮肤结构, 二是接

收液须满足漏槽条件。为使接收液达到漏槽条件, 多数研究者在接收液中加入乙醇、聚山梨酯-80 等试剂<sup>[6]</sup>, 但这些试剂极易改变皮肤生理结构, 增加通透性, 导致透皮速率和累积透皮量增加<sup>[20-21]</sup>, 与实际情况偏差较大。测得蛇床子素在 pH 6.8 PBS(含 3.0%的苯泽 98) 中的溶解度为  $(272.09 \pm 5.34)$   $\mu\text{g/mL}$ , 满足漏槽条件, 且苯泽 98 不会影响皮肤的生理结构<sup>[21]</sup>, 故选之作为接收液, 确保了测定结果的准确性。与蛇床子素凝胶相比, Ost-Lips 凝胶、Ost-Lips+透皮肽凝胶和 TD-Ost-Lips 凝胶的透皮速率、累积渗透量及皮肤滞留量均得到明显增加, 这是由于脂质体中增加了蛇床子素的溶解度及释放度, 解决了经皮渗透瓶颈; 脂质体粒径较小, 容易携带药物穿透皮肤脂质间隙, 有利于增加经皮渗透量<sup>[22]</sup>; 脂质体处方中聚山梨酯-80、磷脂等辅料本身具有促进药物经皮渗透作用<sup>[20]</sup>。

Ost-Lips+透皮肽凝胶促渗透效果优于 Ost-Lips 凝胶, 这与透皮肽降低角质层有序结构、减弱角质层屏障等作用有关<sup>[12-13]</sup>, 因而提高了透皮速率、累积渗透量及皮肤滞留量。与 Ost-Lips+透皮肽凝胶相比, TD-Ost-Lips 凝胶促渗透效果进一步提高, 这可能是由于透皮肽可有效覆盖在 TD-Ost-Lips 表面, 更利于发挥协同促渗作用<sup>[7]</sup>。TD-Ost-Lips 凝胶的 PASI 评分及对皮肤组织中炎症因子的抑制效果等均优于相同给药剂量的蛇床子素凝胶、Ost-Lips 凝胶和 Ost-Lips+透皮肽凝胶, 而且 TD-Ost-Lips 凝胶组病理情况趋向于阳性对照组和正常组, 证明 TD-Ost-Lips 凝胶更具有研究价值。

综上,本研究完成了 TD-Ost-Lips 混悬液及其凝胶制剂的制备、皮肤渗透性及对 AD 治疗作用等研究工作,为评价 TD-Ost-Lips 凝胶制剂的成药性提供了参考,也为高效透皮制剂的研发提供了新策略<sup>[23-24]</sup>。TD-Ost-Lips 凝胶在其他皮肤病(如抗炎、止痒、抗过敏等)治疗中的应用潜力还需进一步研究<sup>[25]</sup>。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 崔宏,蔡秋晗,李梅芳,等. 克立硼罗软膏治疗特应性皮炎的系统评价 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(5): 1100-1110.
- [2] 汪静,王严建. 度普利尤单抗联合左西替利嗪治疗中重度特应性皮炎的疗效观察 [J]. 现代药物与临床, 2025, 40(2): 447-452.
- [3] 都梦帆,向汝,范好,等. 蛇床子素的药理作用及抗炎活性机制研究进展 [J]. 云南中医学院学报, 2020, 43(6): 92-98.
- [4] Shokoohinia Y, Bazargan S, Miraghaee S, et al. Safety assessment of osthole isolated from *Prangos ferulacea*: Acute and subchronic toxicities and modulation of cytochrome P450 [J]. *Jundishapur J Nat Pharm Prod*, 2017, 12(3): e63764.
- [5] 苑振亭. 抗银屑病蛇床子素贴剂的设计与评价 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2003.
- [6] 张锦炳,廖丰蕴,张艳. 蛇床子素凝胶剂的处方优选研究 [J]. 中国医药指南, 2016, 14(16): 24-25.
- [7] 尤婧. 蛇床子素微乳液及微乳凝胶的研发与体外吸收机制的研究 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2020.
- [8] 柳超,董亚楠,李伟宏,等. 冰片修饰根皮素醇质体凝胶的制备、表征及其离体皮肤渗透特性研究 [J]. 中草药, 2024, 55(21): 7288-7299.
- [9] 冯顺丽,王会,李振东,等. 托法替尼醇质体温敏凝胶的制备及其对溃疡性结肠炎模型小鼠的治疗作用 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(7): 1880-1892.
- [10] 邹丽丽. 基于透皮肽 TD 增强药物透皮治疗黑色素瘤的实验与理论研究 [D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2018.
- [11] Wu M, Hu Y, Xu M R, et al. Transdermal delivery of brucine-encapsulated liposomes significantly enhances anti-tumor outcomes in treating triple-negative breast cancer [J]. *Biomater Adv*, 2023, 153: 213566.
- [12] Yu F, Zhang Y Y, Yang C, et al. Enhanced transdermal efficiency of curcumin-loaded peptide-modified liposomes for highly effective antipsoriatic therapy [J]. *J Mater Chem B*, 2021, 9(24): 4846-4856.
- [13] Cai Y, Chu Y T, Gong Y B, et al. Enhanced transdermal peptide-modified flexible liposomes for efficient percutaneous delivery of chrysomycin a to treat subcutaneous melanoma and intradermal MRSA infection [J]. *Adv Healthc Mater*, 2023, 12(26): e2300881.
- [14] 李丽,郭玉东,栗景蕊,等. 大鼠经皮电阻试验方法研究 [J]. 实验动物科学, 2015, 32(6): 26-28.
- [15] 顾雪梅,汪洁,吕志阳,等. 盐酸小檗碱微乳凝胶贴的制备及药动学与药效学研究 [J]. 中国药学杂志, 2025, 60(5): 497-506.
- [16] 孟雨婷,薛玉叶,刘燕,等. 甘草新型自组装纳米粒的形成及抗炎作用评价 [J]. 中草药, 2024, 55(9): 2912-2922.
- [17] 胡雪勤. 蛇床子素调节 Akt/ZO-3 信号通路修复皮肤屏障机制研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2020.
- [18] 吴敏. 生物肽修饰的马钱子碱纳米载体透皮治疗三阴性乳腺癌的作用探究 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2024.
- [19] 张体鹏,决利利. 白屈菜红碱2种脂质体的制备和口服生物利用度比较 [J]. 中草药, 2023, 54(17): 5568-5579.
- [20] 霍雨佳,谷娟,呼胜楠,等. 冰片修饰的胡椒碱醇质体的制备、表征及透皮吸收研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2024, 44(6): 663-670.
- [21] 兰颐,王琼,安静,等. 不同接受液对药物体外透皮试验的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(13): 7-10.
- [22] 张俏菊,郑俊侨,禹佳惠,等. 紫草素脂质纳米粒的制备、表征和透皮性能研究 [J]. 中草药, 2024, 55(23): 7969-7978.
- [23] 苏哲,张铮,张筱雨,等. 5种纳米原料的透皮吸收及安全评估研究进展 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(11): 2371-2378.
- [24] 甘怀欣,李利. 皮肤给药的经皮吸收与测量技术研究进展 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(11): 2457-2466.
- [25] 朱海婷,张俊丽,王晓宇,等. 延胡索乙素纳米混悬温敏凝胶的制备、质量评价及药效学研究 [J]. 中草药, 2025, 56(12): 4227-4237.

[责任编辑 郑礼胜]