

• 基础研究 •

羟基积雪草苷和依克多因脂质体的制备及其功效研究

韦伟¹, 宋文鹏¹, 吕宁¹, 环飞^{2*}, 张晓玲^{1*}

¹南京医科大学公共卫生学院卫生检验与检疫学系, ²江苏省医药农药兽药安全性评价与研究中心, 江苏 南京 211166

[摘要] 目的: 选择羟基积雪草苷和依克多因为原料, 制备一种具有舒缓功效的脂质体乳剂, 并评价其透皮效果。方法: 细胞实验探究能产生抗炎活性和屏障修复活性的羟基积雪草苷和依克多因的最佳配比; 薄膜分散法制备羟基积雪草苷-依克多因脂质体; 马尔文粒径仪测定其粒径、分散系数及电位; 透射电镜下观察其形态; 高效液相色谱法测定溶液中羟基积雪草苷及依克多因含量; 透析法测定包封率和载药量; Franz扩散池测定脂质体的透皮情况。结果: 细胞实验确定了羟基积雪草苷和依克多因按照质量比1:9配比, 其抗炎活性和屏障修复活性最佳。药物在此配比下, 再按照磷脂比5:1、药脂比1:10条件下制备得到脂质体, 该脂质体羟基积雪草苷包封率为51.33%、羟基积雪草苷载药量0.35%、依克多因包封率26.39%、依克多因载药量1.20%; 粒径为166.53 nm, 电位为-29.63 mV, PDI为0.20, 24 h内累积透过量低于水溶液, 无明显突释效应, 具有缓释效果。结论: 本实验制备的脂质体质量佳, 内部颗粒分布均一较为稳定, 同时可以达到在皮肤表面的缓释效果, 延长功效物质的作用时间。

[关键词] 羟基积雪草苷; 依克多因; 脂质体; 舒缓功效

[中图分类号] S853.73; R283.6

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2025)02-165-09

doi: 10.7655/NYDXBNSN240790

Preparation and efficacy study of liposomes of madecassoside and ectoin

WEI Wei¹, SONG Wenpeng¹, LÜ Ning¹, HUAN Fei^{2*}, ZHANG Xiaoling^{1*}

¹Department of Hygienic Analysis and Detection, ²Safety Assessment and Research Center for Drug, Pesticide and Veterinary Drug of Jiangsu Province, School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China

[Abstract] **Objective:** To prepare a soothing liposome emulsion using madecassoside (MC) and ectoin (EC) as the primary ingredients and to evaluate its transdermal absorption. **Methods:** The optimal ratio of MC and EC that produced anti-inflammatory and barrier repair activities was determined through cellular assays; MC-EC liposomes were prepared using the thin film hydration. The particle size, dispersibility coefficient, and Zeta potential were measured using a Malvern particle size analyzer. The morphology was observed under transmission electron microscope. The contents of MC and EC in the solution were determined by high-performance liquid chromatography. The encapsulation rate and drug loading capacity were determined by the dialysis method. The transdermal characteristics of the liposome emulsion were evaluated *via* the Franz diffusion cell method. **Results:** The cell experiments determined that the best anti-inflammatory and barrier-repairing activities were achieved with a MC to EC mass ratio of 1:9. Under these parameters, the liposome preparation conditions were optimized with a phosphorus-bile ratio of 5:1 and a drug-to-lipid ratio of 1:10. The encapsulation rate of MC in the liposomes was 51.33%, and the drug loading capacity of MC was 0.35%, the encapsulation rate of EC was 26.39%, and the drug loading capacity of EC was 1.20%. The liposomes had a particle size of 166.53 nm, the Zeta potential of -29.63 mV, and the PDI of 0.20. Over a 24 h period, the solution demonstrated a lower cumulative permeability compared with the aqueous control, without exhibiting an abrupt release; instead, a sustained release effect was observed. **Conclusion:** The MC and EC liposome emulsion prepared in this experiment has a high drug load and stable internal particle distribution, and may achieve slow-release effect on the skin surface and prolong the action time of the effective substance.

[基金项目] “科技攀登工程”科研创新项目(JX103SYL202200321); 农药登记毒理学试验方法(省大仪平台分析测试研究课题)(D20190022)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: huanfei@njmu.edu.cn (ORCID: 0009-0003-5904-6513); zhangxl3@njmu.edu.cn (ORCID: 0000-0001-6015-7817)

[Key words] madecassoside; ectoin; liposome; soothing effect

[J Nanjing Med Univ, 2025, 45(02): 165-172, 184]

根据国际瘙痒研究论坛(International Forum for the Study of Itch, IFSI)^[1]及《中国敏感性皮肤诊治专家共识》(2017版)^[2],将敏感性皮肤定义为在受到外界刺激后,皮肤产生阵发性或周期性红肿、热痛、瘙痒及紧绷感。根据流行病学调查可知,敏感性皮肤在全球广泛分布,女性群体中发生率普遍高于男性^[3]。敏感性皮肤的发生机制尚未完全明了,大部分认为是皮肤屏障受损导致皮肤血管神经反应性增加所致^[4-5]。在《化妆品分类规则和分类目录》中有一类化妆品可以有助于改善皮肤刺激等状态,被认为具有舒缓功效如羟基积雪草苷(mdecassoside, MC)和依克多因(ectoin, EC)。

MC是一种提取自伞形科多年生草本植物积雪草中的活性物质,是积雪草中含量最高的三萜类物质^[6]。积雪草由于其生理活性和药理性被广泛用于生物医药和日化原料中^[7-8],其各种提取物被认为具有抗氧化、美白、抗炎等多种功效,安全且高效^[9]。然而,MC水溶性差,生物利用率低,导致其很难透过皮肤的表皮层进入真皮层发挥作用。EC学名四氢嘧啶羧酸,可在极端环境下存活的嗜盐菌分泌;其不仅是生物保护剂,同时可以帮助蛋白、核酸、生物膜乃至整个细胞对抗高温、干燥、冷冻和辐射等多种逆境^[10-11]。此外,EC还具有抑制酪氨酸酶活性的作用,减少黑色素产生^[12];减少DNA甲基化所致的皮肤衰老等作用^[13-14]。研究表明,MC与EC在一定的质量配比下,可以在抗炎活性方面产生协同增效的作用^[15]。

脂质体是一种将活性物质包封于磷脂双分子层中形成的小球形囊泡,因具有良好的生物相容性、毒性低、无免疫抑制等优点^[16],被广泛应用于日常生活中的各项领域中^[17]。脂质体在化妆品中可以作为包覆载体来提高活性成分的稳定性,增强闭合性和水合作用^[18],还可以延长活性物质作用皮肤的时间实现缓释,到达皮肤的深层^[19]。因为人体皮肤具有屏障作用,活性物难以渗透到皮肤深层。所以为了提高活性物利用效率,脂质体在化妆品中有着广泛的应用。随着技术的发展,有研究通过改变脂质体双层膜的结构制备了各种新型脂质体,例如加入乙醇作为促渗剂,降低角质层脂质熔点,提高

药物渗透量,或加入表面活性剂作为边缘活化剂,提高囊泡可变形性等^[20]。这些技术有助于脂质体更好地穿过皮肤屏障,渗透入更深层的皮肤,达到促渗效果。

本研究首次选择MC、EC为主要活性成分,深入探讨这两种物质的抗炎活性及屏障修复活性;再对这两种物质进行包载,制备MC-EC脂质体;对其理化性质、透皮吸收性能等进行评价,为后续这两种物质制剂的开发使用提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

实验中用到的小鼠单核巨噬细胞(RAW 264.7)和人永生化上皮细胞(HaCaT)均购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。细胞培养条件为37℃、5%CO₂,培养基为含10%胎牛血清的DMEM。MC(上海阿拉丁试剂有限公司);EC、卵磷脂、胆固醇(上海麦克林生化科技股份有限公司);脂多糖(Sigma-Aldrich公司,美国);MTT(广州硕普生物科技有限公司);小鼠肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、人水通道蛋白3(aquaporin, AQP-3)、人丝聚蛋白(filaggrin, FLG)酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(江苏酶免生物科技有限公司)、一氧化氮(nitric oxide, NO)试剂盒(南京碧云天生物技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞毒性实验

将RAW 264.7细胞按照5×10⁵个/孔的密度接种于96孔板中,37℃、5%CO₂的细胞培养箱内培养24h;按照MC、EC质量浓度分别为0、2.5、5、10、50、100、300、500 μg/mL给药,相同条件下继续培养24h;24h后,小心吸去含有药物的上清培养基,每孔加入100 μL含有5 mg/mL MTT溶液,培养4h后,弃去含有MTT的培养基,每孔加入100 μL DMSO,摇床震荡5 min,在490 nm处测得各孔吸光度值,以评估细胞活性。

1.2.2 抗炎活性检测

将RAW 264.7细胞按照5×10⁵个/孔的密度接种于24孔板中,37℃、5%CO₂的细胞培养箱内培养

24 h; 24 h后,每孔加入含 20 μg/mL 脂多糖的无血清 DMEM 培养基,构建炎症模型;按照 MC、EC、MC:EC 质量比 1:9、1:14、1:19 分成 5 个组,每组设立低、中、高(20、100、200 μg/mL)3 个浓度梯度给药,其中的 20、100、200 为 MC 与 EC 两种物质浓度之和。同时设置空白组和阳性组,继续培养 24 h 后,按照试剂盒说明书步骤,测定各孔培养基上层清液中 NO、TNF-α 浓度。

1.2.3 屏障修复活性检测

将 HaCaT 细胞按照 5×10^5 的密度接种于 24 孔板中,37 ℃、5%CO₂ 的细胞培养箱内培养 24 h; 24 h 后每孔按照 MC、EC、MC:EC(1:9)、MC:EC(1:14)、MC:EC(1:19) 分成 5 个组,每组设立低、中、高(20、100、200 μg/mL)3 个浓度梯度进行给药,其中的 20、100、200 为 MC 与 EC 两种物质浓度之和。同时设置空白组,继续培养 24 h 后,按照试剂盒说明书步骤,测定各孔培养基上层清液中 FLG 蛋白、AQP-3 蛋白的浓度。

1.2.4 高效液相色谱法测定脂质体溶液中 MC 与 EC 的含量及方法学考察

MC 检测条件:35 ℃; 色谱柱 C₁₈(250 mm×4.6 mm×5 μm); 流速 1 mL/min; 进样量 10 μL; 检测波长 205 nm; 流动相 A 相为乙腈; B 相为 2 mmol/L β-环糊精溶液; 等度洗脱条件为 0~30 min, A 与 B 两者体积比 24:76。

EC 检测条件:30 ℃; 色谱柱 C₁₈(250 mm×4.6 mm×5 μm); 流速 0.8 mL/min; 进样量 10 μL; 检测波长 210 nm; 流动相 A 相为 pH=3 的磷酸盐缓冲液(40 mmol/L 磷酸二氢钠-10 mmol/L 1-庚烷磺酸钠); B 相为甲醇; 梯度洗脱条件为 0~5 min, A 与 B 两者体积比 95:5; 6~10 min, A 与 B 两者体积比 55:45; 10~15 min, A 与 B 两者体积比 70:30。

配制 5、10、50、100、200、500 μg/mL 的 MC、EC 标准溶液,在上述色谱条件下,测得峰面积和 MC、EC 浓度的关系,以 MC、EC 浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),获得 X 对 Y 的回归方程及相关系数 r; 进行专属性、精密度及准确度的方法学验证^[21]。

1.2.5 薄膜分散法制备脂质体

精密称取定量的磷脂和胆固醇,溶于 10 mL 三氯甲烷中,使用旋转蒸发器在真空条件下去除有机溶剂,旋蒸 60 min,在圆底烧瓶内部形成均匀的脂质薄膜。加入 5 mL 含有 MC 和 EC 的 PBS 溶液,水合 40 min,超声 60 s,过 0.45 μm 滤膜,可得 MC-EC 脂质体。使用马尔文粒径仪测定其粒径、电位;TEM 电镜下观察并拍摄制备的脂质体颗粒。

以 MC 与 EC 的包封率、载药量为评价指标,考查不同磷胆比、药脂比对脂质体质量的影响,磷胆比为 A 因素,药脂比为 B 因素,按表 1 内计划进行制备。

表 1 制备实验考查因素

Table 1 Preparation of experimental investigation factors

Level	A	B
1	3:1	1:10
2	5:1	1:20
3	7:1	1:30

1.2.6 透析法测定脂质体包封率及载药量

本研究使用透析法分离脂质体和游离药物,精密量取 pH=7.4 的 PBS 缓冲液 150 mL 作为透析介质,选择分子量 8 KD~14 KD 的透析袋,吸取 2 mL 的 MC-EC 脂质体于透析袋中,室温、磁力搅拌(400 r/min)下透析。在前期预实验中发现,游离 MC 在 3 h 可被透析完全,游离 EC 在 2 h 可透析完全,本实验选择在 3 h 后吸取透析袋内液体 1 mL,加入等体积甲醇混匀后在 1.2.4 的色谱条件下分别测定其中 MC 和 EC 的含量计为 m₁,同时测定未透析前脂质体中 MC 和 EC 的含量计为 m。加入的磷脂和固醇的重量计为 M,分别计算包封率、及载药量。包封率=m₁/m×100%; 载药量=m₁/(m+M)×100%。

1.2.7 脂质体的体外透皮实验

使用 Franz 立式扩散池,接收池体积 8 mL,扩散面积为 3.14 cm²,扩散池体积 1 mL。扩散条件为水浴温度 32 ℃,转速 300 r/min,恒温搅拌。将猪皮清洗干净后裁成合适大小,夹在扩散池和接收池中间,使角质层朝向扩散池方向。接收池中添加 8 mL 生理盐水为接收液,扩散池中分别加入 MC-EC 水溶液、MC-EC 脂质体溶液各 1 mL。在第 1、2、4、6、8、10、12、24 h 分别从接收池中取 8 mL 接收液,后立即添加等温等体积的生理盐水进入接收池^[22],使用高效液相色谱法,测定其中 EC 含量,统计 24 h 累积透过量 Q_n,计算公式为:

$$Q_n = \frac{(C_1 + C_2 + \dots + C_n) \times V}{A}$$

其中: C_n 为各时间点取样后的 EC 质量浓度(μg/mL); A 为扩散面积(cm²); V 为各时间点固定取样体积(mL)。

1.3 统计学方法

使用 SPSS22 进行统计学分析,所有数据均为 3 次平行实验算数的平均值±标准差($\bar{x} \pm s$),采用单因素方差分析比较各组间差异,LSD-t 检验用于组

间两两比较。使用SPSSAU软件进行数据加权分析;其余所得实验数据使用Origin2022软件处理。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞毒性实验

不同浓度MC和EC对RAW 264.7细胞活性实验结果如图1,各组间差异无统计学意义,可认为MC和EC在0~500 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内无细胞毒作用,为后续细胞实验选择浓度梯度提供了依据。

2.2 抗炎活性实验

如图2所示,使用脂多糖刺激RAW 264.7细胞构建炎症模型后,各组细胞培养液上层中均有NO、TNF- α 分泌。同时,随着给药浓度的增加,炎症因子的分泌量也随之减少,证明无论是单独用药,还是联合用药MC和EC都具有一定的抗炎活性。但同样的给药浓度下,MC:EC(1:9)组NO、TNF- α 浓度显著低于其他组别(P 均 < 0.05)。表明MC和EC两种物质质量比为1:9时,其抗炎活最佳,不仅高于两

种物质单独作用,也高于MC:EC(1:14)组和MC:EC(1:19)组。

2.3 屏障修复活性实验结果

在屏障修复活性实验部分,本研究选择FLG、AQP-3的分泌量为评价指标。如图3所示,增加给药浓度后,两项指标均有增加。其中FLG分泌量在低剂量20 $\mu\text{g/mL}$ 下各组间差异无统计学意义。当增加浓度到100、200 $\mu\text{g/mL}$ 剂量时,给药组中MC:EC(1:9)组FLG分泌量显著性高于空白组、MC、EC组和其他质量比组(P 均 < 0.05)。在低剂量时,MC:EC(1:9)组AQP-3分泌量显著高于空白组、MC和EC组(P 均 < 0.001),3个配比组间差异无统计学意义。而在中、高剂量组中MC:EC(1:9)组分泌量不仅显著高于空白组、MC和EC组,也高于其他质量比组(P 均 < 0.05)。表明MC和EC两种物质组合配比后屏障修复活性高于两种物质单独作用,其质量比为1:9时屏障修复活性最佳。

2.4 高效液相色谱法测定溶液中MC、EC含量的方法学确认

在1.2.4的色谱条件下,分别测定MC、EC标准溶液,获得以MC、EC浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),获得X对Y回归方程,MC为 $y=2.27656x+0.79958(r=0.9999)$;EC为 $y=34.722x+114.9(r=0.9999)$,证明MC、EC在5~500 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好。图4色谱图显示,MC标准溶液在13 min左右而EC标准溶液在3 min左右出现色谱峰,空白脂质体在此时间内无干扰,专属性好;精密度及准确度考察结果见表2、3,可知该方法测定溶液中MC、EC含量精密度好,准确度高。

2.5 脂质体制备试验

参考细胞实验结果,MC与EC在质量比为1:9

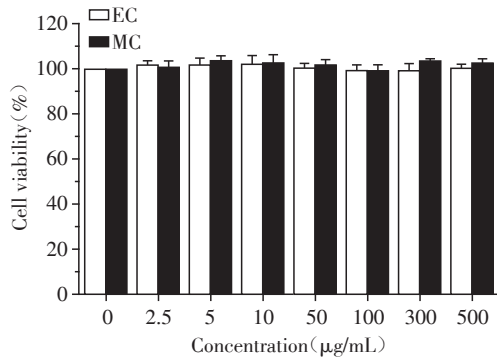
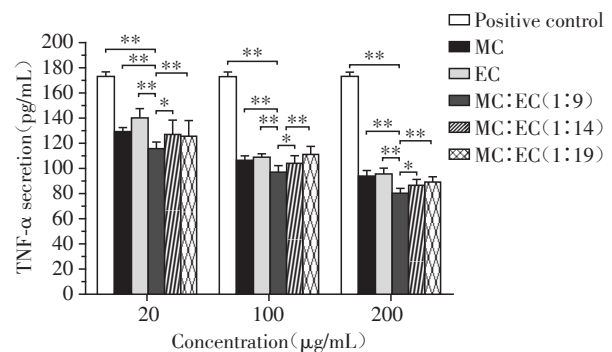
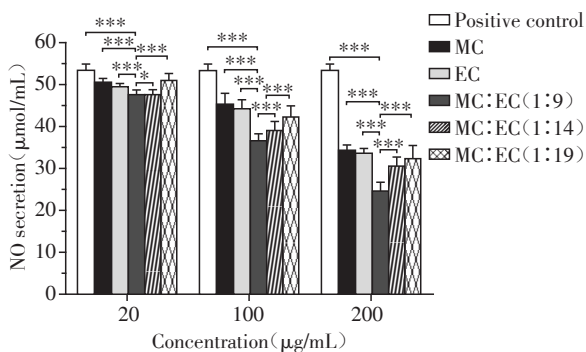


图1 MC和EC对RAW 264.7细胞活性影响($n=9$)

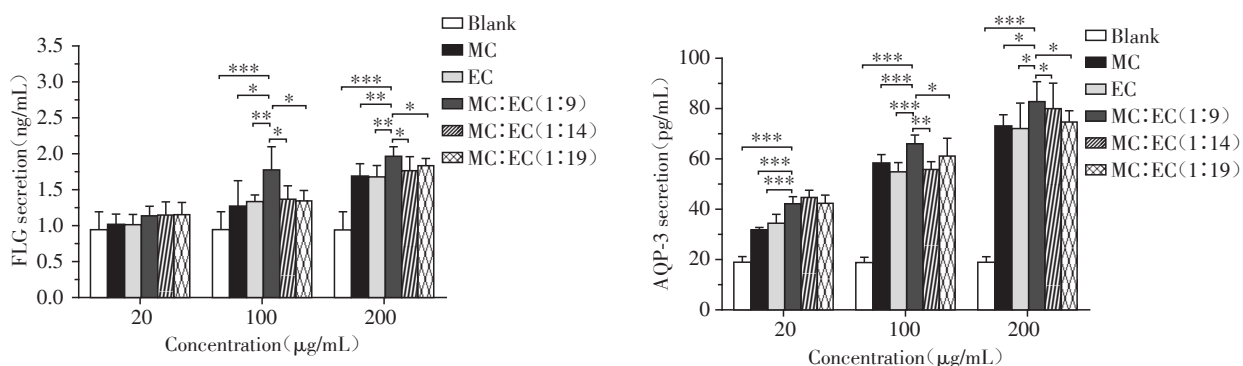
Figure 1 Effect of MC and EC on the toxicity of RAW 264.7 cells ($n=9$)



The secretion levels of NO(A) and TNF- α (B) in RAW 264.7 cells under LPS stimulation. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, and *** $P < 0.001$ ($n=9$).

图2 MC、EC、MC:EC质量比1:9、1:14、1:19对LPS刺激下RAW 264.7细胞产生的炎症因子分泌水平的影响

Figure 2 Effects of MC, EC, as well as combined MC and EC(mass ratio 1:9, 1:14 and 1:19) on the secretion levels of inflammatory factors induced by LPS stimulation in RNW 264.7 cells



The secretion levels of FLG(A) and AQP-3(B) in HaCaT cells. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, and *** $P < 0.001$ ($n=9$).

图3 MC、EC、MC:EC质量比1:9、1:14、1:19对HaCaT细胞分泌FLG、AQP-3的影响

Figure 3 Effects of MC, EC, as well as combined MC and EC(mass ratio 1:9, 1:14 and 1:19) on the secretion levels of FLG and AQP-3 in HaCaT cells

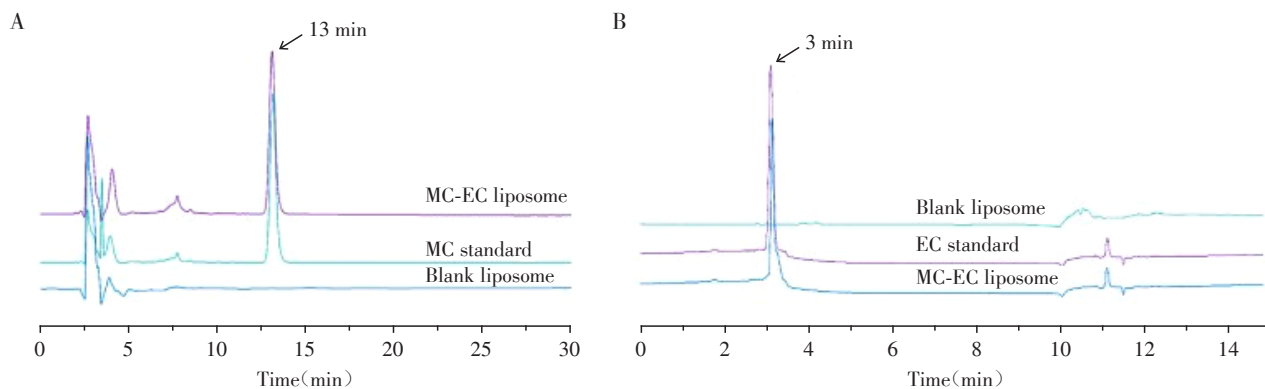


图4 高效液相色谱法测定溶液中MC(A)、EC(B)含量

Figure 4 Determination of MC(A) and EC(B) content in solution by HPLC

时,抗炎活性和屏障修复活性最佳,故选择此质量配比进行脂质体制备。以MC包封率(Y_1)、MC载药量(Y_2)、EC包封率(Y_3)、EC载药量(Y_4)为评价指标,使用SPSS AU软件进行综合评分分析。获得 Y_1 、 Y_2 、 Y_3 、 Y_4 的权重分别为11.25%、47.07%、1.34%、40.34%,计算每组综合评分。实验结果见表4,由此可以看出,考察因素对 Y_1 、 Y_2 、 Y_3 、 Y_4 的影响程度为A(磷胆比) $<$ B(药脂比);最优组合为A2B1,即磷胆比5:1,药脂比1:10。在此条件下制备的脂质体MC包封率为51.33%、MC载药量0.35%、EC包封率26.39%、EC载药量1.20%(表4)。由图5可知该组的粒径为166.53 nm,电位为-29.63 mV, PDI为0.20。除了最优组外,其余各组粒径为150~200 nm, PDI系数均在0.3以下,说明制备出的脂质体内部均一,粒径分散均匀。电位绝对值均 $>$ 20 mV,说明粒子间的电荷排斥力大,不易发生凝聚和沉淀。图6 TEM显示制备出的脂质体近似球形。以上表明此工艺可以获得较为稳定的MC-EC脂质体。

2.6 脂质体体外透皮实验结果

如图7所示,MC+EC水溶液和脂质体溶液的累积透过量均随着时间的延长而增加,在前1 h内,MC+EC水溶液和脂质体溶液中的有效成分均无透过;在2 h时,水溶液中有有效成分开始有渗出,而脂质体溶液仍未透过;4 h至24 h,两者皆有渗出,但脂质体溶液的累积透过量低于水溶液,且无明显突释效应,说明本研究制备的脂质体溶液和水溶液相比具有缓释效果。

3 讨论

本研究采用薄膜分散法以卵磷脂和胆固醇为膜材料,制备了MC与EC复合活性成分脂质体。通过正交实验得到制备脂质体的最佳条件为磷胆比5:1,药脂比1:10,在此条件下制备出稳定的MC-EC脂质体:MC包封率为51.33%、MC载药量0.35%、EC包封率26.39%、EC载药量1.20%;粒径为166.53 nm,电位为-29.63 mV, PDI为0.20。

表2 MC、EC的精密度的结果

Table 2 Precision results of MC and EC

Group	Actual measured($\mu\text{g/mL}$)	Mean($\mu\text{g/mL}$)	RSD(%)
MC	358.64	357.54	0.29
	357.21		
	357.76		
	357.32		
	355.82		
	358.48		
EC	63.79	63.34	0.52
	62.93		
	63.29		
	63.35		
	63.35		
	63.81		

RSD: relative standard deviation.

脂质体溶液因具有和皮肤细胞相似的双分子层,故可以增加被包裹活性物质在皮肤角质层中的积蓄量,达到缓释的效果^[23]。本研究中体外透皮实验表明,脂质体溶液累积透过量明显低于水溶液,证明该脂质体溶液具有缓释效果,可以增加MC和EC在皮肤中发挥活性作用的时间。通过细胞实验发现,MC和EC在500 $\mu\text{g/mL}$ 以内无明显细胞毒性,同时有效地抑制了经LPS诱导的RAW 264.7细胞

表3 MC、EC的加标回收率和准确度结果

Table 3 Results of recovery rate and accuracy of MC and EC

Group	Add standard material($\mu\text{g/mL}$)	Rate of recycling(%)	Mean (%)	RSD (%)
MC	40	100.07	100.92	2.71
	40	98.70		
	40	103.98		
	50	102.19		
	50	109.57		
	50	112.09		
	60	100.99		
	60	101.45		
	60	101.33		
	60	101.33		
EC	48	103.67	101.69	5.20
	48	95.70		
	48	105.71		
	60	101.27		
	60	91.40		
	60	99.53		
	72	90.59		
	72	89.50		
	72	92.02		
	72	92.02		

炎症因子的产生,屏障修复效果良好,说明本研究制备的脂质体溶液舒缓效果佳。临床研究表明敏

表4 MC-EC脂质体制备实验及结果

Table 4 MC - EC liposomes preparation experiment and results

Item	Factor						Comprehensive score
	A	B	Y ₁ (%)	Y ₂ (%)	Y ₃ (%)	Y ₄ (%)	
Group							
1	A1	B1	39.80	0.50	27.00	0.62	5.32
2	A1	B2	29.11	0.21	21.08	0.49	3.85
3	A1	B3	33.17	0.19	23.22	0.29	4.25
4	A2	B1	51.33	0.35	26.39	1.20	6.78
5	A2	B2	23.78	0.22	24.98	1.40	3.52
6	A2	B3	40.28	0.30	22.67	0.38	5.13
7	A3	B1	22.42	0.88	24.18	0.74	3.56
8	A3	B2	37.19	0.32	26.08	0.74	4.98
9	A3	B3	27.27	0.11	29.89	0.24	3.62
Mean 1	13.427	15.665	-	-	-	-	-
Mean 2	15.424	12.354	-	-	-	-	-
Mean 3	12.164	12.997	-	-	-	-	-
Range	3.259	3.311	-	-	-	-	-
Primary and secondary factors	-	-	-	A<B	-	-	-
Excellent level	-	A2	-	-	-	B1	-
Excellent combination	-	-	-	A2B1	-	-	-

A1: phosphorus-bile ratio of 3:1; A2: phosphorus-bile ratio of 5:1; A3: phosphorus-bile ratio of 7:1; B1: drug-to-lipid ratio of 1:10; B2: drug-to-lipid ratio of 1:20; B3: drug-to-lipid ratio of 1:30. Y₁: the encapsulation rate of MC; Y₂: the drug loading capacity of EC; Y₃: the encapsulation rate of EC; Y₄: the drug loading capacity of MC.

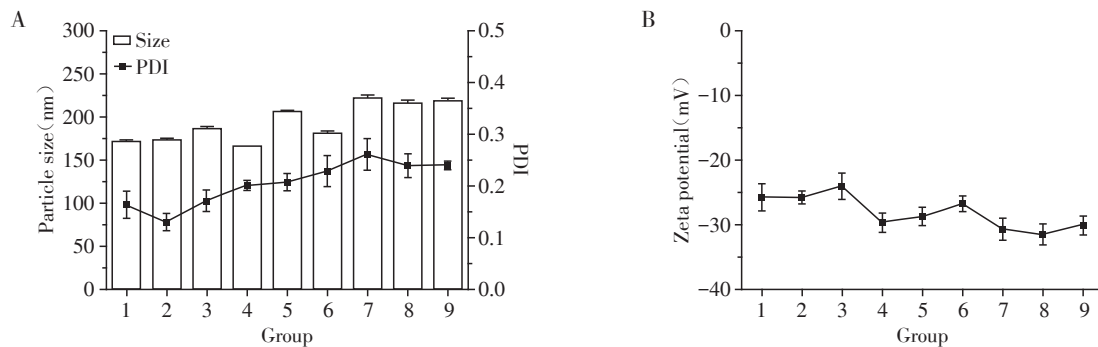


图5 MC-EC脂质体粒径(A)及电位(B)

Figure 5 Particle size(A) and Zeta potential(B) of MC-EC liposomes



The electron microscopy image shows approximately circular MC-EC liposomes and membrane fragments. Scale bar=100 nm.

图6 MC-EC脂质体透射电镜图

Figure 6 Transmission electron microscopy images of MC-EC liposomes

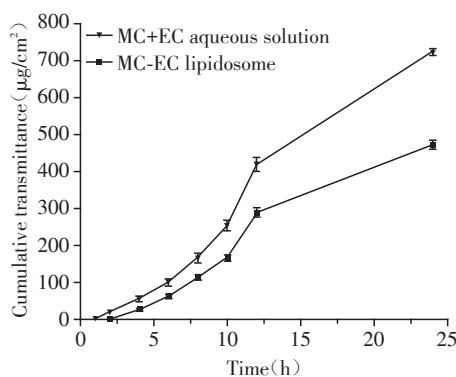


图7 MC-EC水溶液和MC-EC脂质体的累积透过量

Figure 7 Cumulative penetration of MC-EC aqueous solution and MC-EC liposomes

感皮肤的人群在使用护肤品后皮肤屏障修复功能有显著提升,敏感状态也有所下降^[24],所以使用具有舒缓功效的护肤品对于皮肤敏感人群必不可少。

研究认为MC可以通过调整Nrf2/HO-1信号通路中的蛋白表达,达到促进慢性创面修复愈合、血管生成以及抗衰老等效果^[25-26];EC也可以通过调整Nrf2/HO-1信号通路中的蛋白表达,实现美白功效^[12]。所以后续研究将探究该通路上的蛋白信号以解释两种物质联用带来的增效作用。本研究制备的MC

与EC复合活性成分脂质体工艺简单、质量稳定、抗炎活性与屏障修复效果良好,为MC与EC的联合使用提供了参考。后续将进一步探讨该脂质体在舒缓类化妆品制备中的应用及相关机制研究。

利益冲突声明:

本文所有作者与本期刊均隶属于南京医科大学,但审稿过程遵循双盲原则,评审和编辑决策完全独立,确保了评审的客观性和公正性。

Conflict of Interests:

All authors of this article and the journal itself are affiliated with Nanjing Medical University. However, the peer review process follows a double-blind principle, with the review and editorial decisions being completely independent, ensuring the objectivity and fairness of the review.

作者贡献声明:

韦伟负责文献回顾和前期研究,制定研究设计,并领导团队完成了实验设置和数据收集计划的实施。宋文鹏设计数据收集工具,并亲自参与数据收集工作,同时还负责数据分析计划的制定与实施。韦伟、宋文鹏、吕宁共同起草了论文初稿,经多次讨论和修订后,由韦伟负责整合各方意见,完成最终稿的撰写。张晓玲及环飞作为资深研究者,对韦伟在研究设计和数据分析方面提供了重要的学术指导与支持。

Author's Contributions:

WEI Wei was responsible for the literature review and preliminary research, developed the research design, and led the team in implementing the experimental setup and data collection plan. SONG Wenpeng designed the data collection tools and personally participated in data collection, while also being responsible for formulating and implementing the data analysis plan, including the use of statistical software and interpretation of results. WEI Wei, SONG Wenpeng, and LÜ Ning jointly drafted the initial manuscript, which, after multiple discussions and revisions, was finalized by WEI Wei, who integrated feedback from all parties to complete the final version. ZHANG Xiaoling and HUAN Fei, as senior researchers, provided important academic guidance and support to WEI Wei in research design and

data analysis.

[参考文献]

- [1] MISERY L, STÄNDER S, SZEPIETOWSKI J C, et al. Definition of sensitive skin: an expert position paper from the special interest group on sensitive skin of the international forum for the study of itch [J]. *Acta Derm Venereol*, 2017, 97(1): 4-6
- [2] 何黎, 郑捷, 马慧群, 等. 中国敏感性皮肤诊治专家共识[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2017, 31(1): 1-4
HE L, ZHENG J, MA H Q, et al. Consensus of Chinese experts in the diagnosis and treatment of sensitive skin [J]. *Chinese Journal of Dermatology and Venereology*, 2017, 31(1): 1-4
- [3] LEGEAS C, MISERY L, FLUHR J W, et al. Proposal for cut-off scores for sensitive skin on sensitive scale-10 in a group of adult women [J]. *Acta Derm Venereol*, 2021, 101(1): adv00373
- [4] MISERY L, WEISSHAAR E, BRENAUT E, et al. Pathophysiology and management of sensitive skin: position paper from the special interest group on sensitive skin of the international forum for the study of itch (IFSD) [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2020, 34(2): 222-229
- [5] BRENAUT E, BARNETCHE T, LE GALL-IANOTTO C, et al. Triggering factors in sensitive skin from the worldwide patients' point of view: a systematic literature review and meta-analysis [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2020, 34(2): 230-238
- [6] BANDOPADHYAY S, MANDAL S, GHORAI M, et al. Therapeutic properties and pharmacological activities of asiaticoside and madecassoside: a review [J]. *J Cell Mol Med*, 2023, 27(5): 593-608
- [7] RAZALI N N M, NG C T, FONG L Y. Cardiovascular protective effects of *Centella asiatica* and its triterpenes: a review [J]. *Planta Med*, 2019, 85(16): 1203-1215
- [8] SUN B J, WU L L, WU Y, et al. Therapeutic potential of *Centella asiatica* and its triterpenes: a review [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 568032
- [9] JOHNSON W JR, BERGFELD W F, BELSITO D V, et al. Safety assessment of *Centella asiatica*-derived ingredients as used in cosmetics [J]. *Int J Toxicol*, 2023, 42(1_suppl): 5S-22S
- [10] ZHANG X, SHU Z W, LI Y Z, et al. Advances in the microbial production of the compatible solute ectoine: a review [J]. *Chin J Biotechnol*, 2022, 38(3): 868-881
- [11] 张山, 胡萌, 何永志, 等. 四氢嘧啶微生物合成与应用研究进展 [J]. *微生物学报*, 2021, 61(8): 2250-2263
ZHANG S, HU M, HE Y Z, et al. Research progress on microbial synthesis and application of tetrahydropyrimidine [J]. *Journal of Microbiology*, 2021, 61(8): 2250-2263
- [12] HSEU Y C, CHEN X Z, VUDHYA GOWRISANKAR Y, et al. The skin-whitening effects of ectoine via the suppression of α -MSH-stimulated melanogenesis and the activation of antioxidant Nrf2 pathways in UVA-irradiated keratinocytes [J]. *Antioxidants*, 2020, 9(1): 63
- [13] XU D L, WU Y. Ectoin attenuates cortisone-induced skin issues by suppression GR signaling and the UVB-induced overexpression of 11 β -HSD1 [J/OL]. *J Cosmet Dermatol*, 2024 [2024-09-07]. DOI: 10.1111/jocd.16516
- [14] QARIA M A, XU C Y, HU R, et al. Ectoine globally hypomethylates DNA in skin cells and suppresses cancer proliferation [J]. *Mar Drugs*, 2023, 21(12): 621
- [15] 周湖武, 霍永丽, 方丽, 等. 依克多因与羟基积雪草甙协同抗炎作用的研究 [J]. *日用化学工业*, 2021, 51(6): 535-538
ZHOU H W, HUO Y L, FANG L, et al. Study on the synergistic anti-inflammatory effect of Yikeduoyin and hydroxycentella asiatica glycoside [J]. *Daily Chemical Industry*, 2021, 51(06): 535-538
- [16] ALMEIDA B, NAG O K, ROGERS K E, et al. Recent progress in bioconjugation strategies for liposome-mediated drug delivery [J]. *Molecules*, 2020, 25(23): 5672
- [17] 石晶, 冯云, 亓玺, 等. 常用化妆品成型技术(V)——仿生物膜: 脂质体 [J]. *日用化学工业(中英文)*, 2022, 52(11): 1162-1168
SHI J, FENG Y, QI X, et al. Common cosmetic forming techniques (V) - biomimetic biofilm: liposomes [J]. *Daily Chemical Industry (Chinese and English)*, 2022, 52(11): 1162-1168
- [18] HUANG Z H, MENG H, XU L, et al. Liposomes in the cosmetics: present and outlook [J]. *J Liposome Res*, 2024: 1-13
- [19] 赵小静, 洪延涵, 刘卫. 纳米载体技术——从经皮给药到功效性化妆品 [J]. *日用化学品科学*, 2021, 44(7): 12-16
ZHAO X J, HONG Y H, LIU W. Nano carrier technology - from transdermal drug delivery to functional cosmetics [J]. *Daily Chemical Science*, 2021, 44(7): 12-16
- [20] 张雅琪, 梁蓉, 杨成. 化妆品乳液及乳化新技术(V)——脂质体包载技术在经皮输送中的应用 [J]. *日用化学工业*, 2021, 51(10): 939-948
ZHANG Y Q, LIANG R, YANG C. Cosmetic lotion and new emulsification technology (V) - application of liposome encapsulation technology in transdermal delivery [J]. *Daily Chemical Industry*, 2021, 51(10): 939-948
- [21] 李艺璇, 罗敏, 邓媛媛, 等. 超声辅助萃取-高效液相色谱法同时检测化妆品中10种防腐剂 [J]. *南京医科大学学报* (下转第184页)

- 93(3):1443-1448
- [36] CHO S H, RAYBUCK A L, STENGEL K, et al. Germinal centre hypoxia and regulation of antibody qualities by a hypoxia response system[J]. *Nature*, 2016, 537(7619): 234-238
- [37] COPAESCU A, SMIBERT O, GIBSON A, et al. The role of IL-6 and other mediators in the cytokine storm associated with SARS-CoV-2 infection[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2020, 146(3): 518-534
- [38] BHATTACHARYA S, AGARWAL S, SHRIMALI N M, et al. Interplay between hypoxia and inflammation contributes to the progression and severity of respiratory viral diseases[J]. *Mol Aspects Med*, 2021, 81: 101000
- [39] SHERIFF A, KAYSER S, BRUNNER P, et al. C-reactive protein triggers cell death in ischemic cells [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 630430
- [40] METLAY J P, WATERER G W, LONG A C, et al. Diagnosis and treatment of adults with community-acquired pneumonia. An official clinical practice guideline of the American thoracic society and infectious diseases society of America [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2019, 200(7): e45-e67
- [41] MARTIN-LOECHES I, TORRES A, NAGAVCI B, et al. ERS/ESICM/ESCMID/ALAT guidelines for the management of severe community-acquired pneumonia [J]. *Eur Respir J*, 2023, 61(4): 2200735
- [42] ROSIC T, PETRINA N, BAYSARI M, et al. Patient and clinician use characteristics and perceptions of pulse oximeter use: a scoping review [J]. *Int J Med Inform*, 2022, 162: 104735

[收稿日期] 2024-10-25

(本文编辑:蒋莉)

(上接第172页)

- 大学学报(自然科学版), 2018, 38(1): 49-53
- LI Y X, LUO M, DENG Y Y, et al. Simultaneous detection of 10 preservatives in cosmetics using ultrasound assisted extraction and high-performance liquid chromatography [J]. *Journal of Nanjing Medical University (Natural Science)*, 2018, 38(1): 49-53
- [22] LI M Y, LI M, LI X Y, et al. Preparation, characterization and ex vivo skin permeability evaluation of type I collagen-loaded liposomes [J]. *Int J Nanomedicine*, 2023, 18: 1853-1871
- [23] HASAN M, KHATUN A, FUKUTA T, et al. Noninvasive transdermal delivery of liposomes by weak electric current [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2020, 154/155: 227-235
- [24] LYU J, DIAO Q C, WANG S, et al. Study on screening and evaluation methods of cosmetics for people with facial sensitive skin [J]. *Medicine*, 2022, 101(31): e29975
- [25] PARK K S. Pharmacological effects of *Centella asiatica* on skin diseases: evidence and possible mechanisms [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 5462633
- [26] 王丹, 俞舜, 王玉英, 等. 羟基积雪草苷通过激活 Nrf2-HO-1 通路发挥抗衰老及皮肤修复作用 [J]. *日用化学工业(中英文)*, 2024, 54(6): 683-690
- WANG D, YU S, WANG Y Y, et al. Hydroxycentella asiatica glycoside exerts anti-aging and skin repair effects by activating the Nrf2-HO-1 pathway [J]. *Daily Chemical Industry (Chinese and English)*, 2024, 54(6): 683-690

[收稿日期] 2024-07-29

(本文编辑:戴王娟)