

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240126008

光甘草定包合物对中波紫外线诱导小鼠皮肤 光损伤的保护作用

黄菁霞¹, 沈伟花¹, 陈嘉志¹, 黎永良², 王珊珊¹, 罗小敏¹, 杜志云^{1*}

(1. 广东工业大学生物医药学院, 广州 510006; 2. 广东工业大学轻工化工学院, 广州 510006)

摘 要: **目的** 以环糊精(cyclodextrin, CD)为载体制备光甘草定(glabridin, GL)包合物, 探讨光甘草定环糊精包合物(GL/CD)对中波紫外线(middlewave ultraviolet radiation, UVB)诱导的小鼠皮肤光损伤的保护作用。**方法** 制备 GL/CD, 进行包封率和透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)表征分析, 通过 UVB 照射小鼠皮肤光损伤模型, 在小鼠背部皮肤涂抹不同浓度的 GL 及 GL/CD, 通过测试经皮水分散失(trans-epidermal water loss, TEWL)、皮肤组织生化指标、免疫组化染色研究其对光损伤后皮肤屏障保护的效果。**结果** GL/CD 的包封率为 84.21%±1.36%, 平均粒径为(533.1±42.8) nm, Zeta 电位为(-30.24±1.54) mV, 表明包合物在水体系中分散为纳米颗粒且稳定性良好。TEM 结果显示 GL/CD 分散在水体系后主要呈现为球形胶束状态。小鼠皮肤黑色素染色结果显示 GL/CD 对黑色素生成的抑制效果优于 GL。TEWL 测试结果显示 GL/CD 显著降低小鼠经皮失水率, 且效果比 GL 好。苏木精-伊红染色结果显示 GL 经 CD 包合之后能显著增强其抗炎作用, 降低 UVB 照射引起的表皮增厚和炎症浸润。酶联免疫吸附实验结果显示 GL 经 CD 包合之后能显著提升抗氧化酶包括超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的生物合成, 降低活性氧及促炎细胞因子包括白细胞介素 1、白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子 α 在体内的表达水平。**结论** GL 经过 CD 的包合, 有效提升了其在 UVB 诱导的皮肤损伤方面的保护作用。

关键词: 环糊精包合; 光甘草定; 中波紫外线; 光损伤

Protection of glabridin inclusion on middlewave ultraviolet radiation induced skin photo damage in mice

HUANG Jing-Xia¹, SHEN Wei-Hua¹, CHEN Jia-Zhi¹, LI Yong-Liang²,
WANG Shan-Shan¹, LUO Xiao-Min¹, DU Zhi-Yun^{1*}

(1. School of Biomedical and Pharmaceutical Sciences, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China;
2. School of Chemical Engineering and Light Industry, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT: Objective To synthesize glabridin (GL) inclusion complexes utilizing cyclodextrin (CD) as a delivery system, and elucidate the protective effects of the glabridin-cyclodextrin inclusion complexes (GL/CD) against middlewave ultraviolet radiation (UVB)-induced photo damage in murine skin. **Methods** The GL/CD complexes were formulated and subsequently characterized using encapsulation efficiency assays and transmission

基金项目: 广东省重点领域研发计划项目(2022B1111080003)

Fund: Supported by the Guangdong Key Area Research and Development Program Project (2022B1111080003)

*通信作者: 杜志云, 博士, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为药食同源高值化利用。E-mail: zhiyundu@gdut.edu.cn

*Corresponding author: DU Zhi-Yun, Ph.D, Professor, School of Biomedical and Pharmaceutical Sciences, Guangdong University of Technology, No.100, Waihuan West Road, Guangzhou University City, Panyu District, Guangzhou 510006, China. E-mail: zhiyundu@gdut.edu.cn

electron microscopy (TEM). A UVB irradiation-induced photo damage model in murine skin was constructed. Varying concentrations of GL and GL/CD were applied topically to the dorsal skin of mice. Protective effects on the skin barrier post UVB-induced damage were evaluated through measurements of *trans*-epidermal water loss (TEWL), biochemical indices of skin tissue, and immunohistochemical staining. **Results** The encapsulation efficiency of GL/CD was recorded as $84.21\% \pm 1.36\%$, with an average particle size of (533.1 ± 42.8) nm and a Zeta potential of (-30.24 ± 1.54) mV, indicating that the complexes dispersed in aqueous systems as nanoparticles and exhibited favorable stability. TEM images revealed that GL/CD primarily displayed as spherically micellar formations in water systems. Analysis of melanin staining in the mouse skin indicated that GL/CD more effectively inhibited melanogenesis compared to GL alone. TEWL assessments illustrated that GL/CD significantly decreased the rate of transepidermal water loss in mice, outperforming GL alone. Hematoxylin & Eosin staining indicated that the anti-inflammatory action of GL was notably enhanced post CD-encapsulation, significantly reducing the epidermal thickening and inflammatory infiltration caused by UVB irradiation. Enzyme linked immunosorbent assay results showed that post CD-encapsulation, GL notably elevated the biosynthesis of antioxidative enzymes, including superoxide dismutase and catalase, reduced reactive oxygen species, and lowered the expression levels of pro-inflammatory cytokines such as interleukin-1, interleukin-6, and tumor necrosis factor- α . **Conclusion** The encapsulation of GL with CD improves its protective effects against UVB-induced skin damage.

KEY WORDS: cyclodextrin inclusion; glabridin; middlewave ultraviolet radiation; photo damage

0 引言

甘草为豆科蝶形花亚科多年生草本植物,其多个品种如乌拉尔甘草、光果甘草及胀果甘草已纳入中国药典^[1]。光甘草定(glabridin, GL)是来源于甘草根茎中的异黄酮,具有抗炎^[2-3]、抗氧化^[4-5]、抑制黑色素生成^[6-7]、缓解银屑病^[8-9]、神经保护^[10]、抗癌^[11-12]、降血糖^[13]等作用,在药物、食品和化妆品领域都具有重要价值^[14],但其极性较低、水溶性较差、稳定性欠缺,导致应用受限^[15]。

目前已报道多种增强光甘草定稳定性及溶解性的方法,如制备光甘草定水包纳米乳液^[16]、光甘草定壳聚糖纳米复合物^[17]等。WEI 等^[18]通过共蒸发法制备光甘草定与羟丙基- β -环糊精的包合物,并评估其对 1,1-二苯基-2-三硝基苯胍(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基及酪氨酸酶抑制活性,证实包合物可显著提升光甘草定稳定性并尽可能保留其体外活性。环糊精(cyclodextrin, CD)及其衍生物,均呈现一种独特的圆筒形状结构,其特征在于其外表面的亲水性质及其心腔部分的相对亲疏水性^[19],该独特构造使其能通过非共价相互作用与众多化合物发生作用,特别是疏水化合物,这些化合物可嵌入其内部空腔形成主-客体复合物^[20]。

皮肤光损伤是指经紫外线直接或间接照射,对皮肤造成急性、慢性的损伤^[21]。紫外线可分为短波紫外线(shortwave ultraviolet radiation, UVC)、中波紫外线(middlewave ultraviolet radiation, UVB)和长波紫外线(longwave ultraviolet radiation, UVA),其中 UVC 可以被臭氧层吸收, UVA 和 UVB

能到达地面^[22]。研究表明 UVB 主要作用于皮肤表皮和真皮浅层, UVA 作用于表皮和真皮全层^[23],然而 UVB 波长更短,能量更高,对皮肤伤害更高,导致多数皮肤癌和皮肤过早老化,因此, UVB 对皮肤的影响比 UVA 更显著^[24]。过度或长期的 UVB 辐射会导致皮肤黑色素沉积、炎症和氧化应激,引起皮肤屏障受损,从而促发多种皮肤疾病,如光老化、色素沉着异常和黑色素瘤等^[25-27],同时还会诱导活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成并改变细胞 DNA 的稳态,共同改变信号转导途径和炎症级联反应,诱导免疫抑制和细胞外基质重塑,导致皮肤屏障损伤^[21]。

尽管当前已有多种光甘草定的制剂研究,但其通过环糊精包合提升对 UVB 照射引起的皮肤屏障损伤的修复仍有待验证。本研究制备了光甘草定环糊精包合物,通过包封率和透射电镜对其进行表征分析,通过 UVB 照射小鼠皮肤模型探究其对光损伤的保护作用,并通过经皮水分散失(trans-epidermal water loss, TEWL)、皮肤组织生化指标、免疫组化染色进行深入研究。本研究旨在验证光甘草定环糊精包合物对 UVB 照射损伤的保护作用,同时也探索其在皮肤修复与屏障保护中的潜在应用,为未来皮肤保护研究和治疗策略提供数据基础。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级 C57BL/6J 小鼠 35 只,雌性 4~6 周龄,体重 (18.0 ± 2.0) g,购自广东省医学实验动物中心(许可证号:SCXK(粤)2018-0002)。

1.2 材料与试剂

光甘草定(纯度 $\geq 90\%$, 广州市康伦生物技术有限公司); β -环糊精(纯度 99%, 上海萨恩化学技术有限公司); 光甘草定标准品(纯度 $\geq 98\%$)、维生素 E、无水乙醇、乙酸乙酯(分析纯)(上海阿拉丁生化科技有限公司); 二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白浓度测定试剂盒(增强型)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)检测试剂盒、过氧化氢酶(catalase, CAT)检测试剂盒、活性氧(reactive oxygen species, ROS)检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司); 白细胞介素 1 (interleukin-1, IL-1)酶联免疫试剂盒、白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6)酶联免疫试剂盒、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)酶联免疫试剂盒(江苏酶标生物科技有限公司)。

1.3 仪器与设备

ML204/02 电子天平(精度 0.0001 g, 瑞士 METTLER TOLEDO 公司); C-MAG HS10 磁力搅拌器(德国 IKA 仪器设备有限公司); R-1001N 旋转蒸发器(郑州长城科工贸有限公司); Olympus IX71 倒置显微镜(日本奥林巴斯公司); LC-2030Plus 高效液相色谱(日本岛津公司); Zeta sizer-S 激光粒度扫描仪(英国伍斯特郡马尔文仪器); HT7700 透射电子显微镜(日本 HITACHI 公司); TM300 皮肤水份流失测试仪(德国 CK 公司); Spectramax i3 多功能酶标仪(美国 Molecular Devices 公司); CL-1000L/1000M 紫外光联仪(美国 UVP 公司); Luna C₁₈(2)色谱柱(150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)(美国 Phenomenon 公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 光甘草定含量检测方法

采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)进行测试, 色谱柱为 Luna C₁₈(2)(150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m), 流动相为乙腈-水(56:44, *V:V*), 流速为 1.0 mL/min, 进样量为 10 μ L, 检测波长为 282 nm, 柱温为 30 $^{\circ}$ C。

标准曲线绘制: 精确称取 10.0 mg 光甘草定(纯度 $\geq 98\%$)于 10 mL 棕色容量瓶中, 加入甲醇定容摇匀, 配成 1.0 mg/mL 光甘草定甲醇溶液, 分别精密吸取 0.1、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 母液于 10 mL 容量瓶中, 加入甲醇定容, 得到 10、50、100、150、200、250 μ g/mL 光甘草定对照品溶液, 经 0.22 μ m 滤膜过滤后, 在液相色谱仪分析获得峰面积 *Y* 与光甘草定标准液质量浓度(*X*, μ g/mL)之间的标准曲线方程为 $Y=26135X-14598$, $r^2=0.9999$, 在 10~250 μ g/mL 范围内线性关系良好。

1.4.2 光甘草定环糊精包合物制备

将光甘草定和环糊精以料液比为 1:10 (*m:V*)分别溶解在乙酸乙酯和无水乙醇中, 在 400 r/min 搅拌下以光甘草定与环糊精为 1:24 (*V:V*)的比例, 把光甘草定乙酸乙酯溶液

缓慢滴入环糊精乙醇溶液中, 室温下继续搅拌避光 1 h, 在 55 $^{\circ}$ C 下用旋转蒸发器减压蒸发除尽溶剂, 取出产物粉碎过 100 目筛得到光甘草定环糊精包合物。

1.4.3 包封率、粒径、Zeta 电位测定

称取 10 mg 包合物, 溶于 1 mL 去离子水中, 室温下超声溶解 10 min, 随后在 8000 r/min 下离心 15 min, 取上清液用去离子水稀释 10 倍, 过 0.22 μ m 滤膜后进液相色谱分析, 测定光甘草定含量。包封率的计算公式为式(1):

$$\text{包封率} = (\text{被包封的光甘草定含量} / \text{样品中总光甘草定含量}) \times 100\% \quad (1)$$

在室温下, 称取 20 mg 光甘草定包合物加入适量去离子水稀释后注入测试用容器中, 用 Zeta sizer-S 激光粒度扫描仪在 90 $^{\circ}$ 的散射角下对样品的粒径、Zeta 电位进行检测, 重复 3 次并取平均值。

1.4.4 光甘草定环糊精包合物透射电镜测试

取少量光甘草定环糊精包合物于去离子水中, 超声溶解均匀, 用滴管吸取少量溶液滴于 200 目铜网上, 置于室温下干燥完全, 在透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)下观察形态。

1.4.5 UVB 诱导的小鼠皮肤屏障损伤模型构建

经 7 d 适应性饲养后, 剃除小鼠背部毛发并施用 2% 硫化钠脱毛, 脱毛面积为 2 cm $\times$ 4 cm, 背部恢复 2 d 后, 使用含 UVB 灯的紫外光联仪对小鼠进行背部造模, 灯管距背部 15 cm, 按分组及操作方法隔日照射背部 1 次, 并每日给药。为便于给药, 将药物加入到乳膏中, 乳膏配方为: 角鲨烷 13%、Montanov 乳化剂 7%、甘油 8%、对羟基苯乙酮 0.1%、活性物 0.1%/0.5%, 其余为水。小鼠平均分为 7 组($n=5$), 分组及操作方法为: 空白(C)组(不操作)、模型(M)组(300 mJ/cm²/次 UVB+200 mg/d 空白乳膏)、光甘草定低浓度(GL-L)组(300 mJ/cm²/次 UVB+200 mg/d 含 0.1% GL 乳膏)、光甘草定高浓度(GL-H)组(300 mJ/cm²/次 UVB+200 mg/d 含 0.5% GL 乳膏)、包合物低浓度(GL/CD-L)组(300 mJ/cm²/次 UVB+200 mg/d 含 0.1% GL 的包合物乳膏)、包合物高浓度(GL/CD-H)组(300 mJ/cm²/次 UVB+200 mg/d 含 0.5% GL 的包合物乳膏)、阳性对照[维生素 E (vitamin E, VE)]组(300 mJ/cm²/次 UVB+200 mg/d 含 0.5% VE 的乳膏)。实验周期为 21 d。最后一次涂药后, 脱臼处死小鼠, 取其背部中央的皮肤。

1.4.6 皮肤经皮失水率测试

在实验的第 1、7、14、21 d 造模前, 使用 75%乙醇清洁小鼠背部皮肤, 对每只小鼠背部中央相同部位进行随机测量经皮失水率, 重复 3 次, 取平均值。

1.4.7 苏木精-伊红染色

取小鼠背部皮肤组织, 使用 4%多聚甲醛固定, 常规脱水并以石蜡材料进行包埋, 将蜡块切割得到 4 μ m 厚度的组织切片, 经过展平和水化后, 使用苏木素-伊红染色法(hematoxylin-eosin staining, H&E)进行染色, 在显微镜下观

察切片并随机选取视野进行拍照。

1.4.8 黑色素染色

为了便于观察造模后皮肤的黑色素情况,使用银氨溶液对皮肤进行染色。取出组织石蜡,控制切片厚度为 4 μm ,经过水化后,将切片浸泡在银氨溶液中 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 18 h,随后用去离子水洗涤干净,用硫代硫酸钠快速处理几秒,去离子水冲洗 5 min;在苦味酸和酸性品红配制的 VG 染液中作用 3 min,经过洗涤、脱水和透明后,用中性树胶封片,切片在倒置显微镜下随机拍摄。

1.4.9 皮肤组织 SOD、CAT、ROS、IL-1、IL-6、TNF- α 含量测定

取出放置在 -80 $^{\circ}\text{C}$ 的皮肤组织,随后在冰上进行冻融。依据每 100 mg 皮肤组织加入 1 g 经预冷的磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered saline, PBS)的比例,利用组织研磨仪对样本研磨充分,得浓度为 10%的皮肤组织匀浆液。使用高速离心机于 4 $^{\circ}\text{C}$, 10000 r/min 下离心 10 min,重复 2 次并收集上清液。样品在测试前采用 BCA 法进行蛋白质统一标定。分别测定 SOD、CAT 活性及 ROS、IL-1、IL-6、TNF- α 含量,按照试剂盒说明书进行测定。

1.5 数据处理

免疫组化染色图片使用 Image J.1.53.WIN 软件处理,方差分析及绘图使用 Graphpad prism 8.0 软件处理。

2 结果与分析

2.1 光甘草定环糊精包合物表征

所制备的光甘草定环糊精包合物的包封率为 84.21% $\pm$ 1.36%,平均粒径为(533.1 $\pm$ 42.8) nm,表明包合物在水体系中分散为纳米颗粒,Zeta 电位为(-30.24 $\pm$ 1.54) mV,表明包合物在水体系中具有较好的稳定性。将制备的光甘草定环糊精包合物分散在水体系中,随后通过 TEM 对颗粒状态进行表征,结果表明包合物分散在水体系后主要呈现为球形胶束状态(图 1),分布的粒径较为接近。

2.2 环糊精包合增强光甘草定对黑色素生成的抑制作用

光甘草定对黑色素生成具有调控作用,通过对小鼠背部皮肤黑色素进行染色可以研究光甘草定环糊精包合物

对小鼠背部黑色素生成的调控作用。小鼠背部皮肤黑色素染色的结果如图 2 所示,由图 2 可知,空白组存在的黑色素较少,模型组表皮下黑色素显著增多,且由表皮下至上呈扩散增多形态。GL 高低浓度组均有不同程度的改善,其中 GL-L 组改善不明显,高浓度组则呈现出一定的抗黑色素性能。经过环糊精包合后,GL/CD 高低浓度组均可显著减少表皮的黑色素含量。GL/CD-H 组对黑色素生成的抑制效果最优,优于同光甘草定浓度下的 GL-H 组,表明光甘草定经过环糊精的包合,可以较好地提升它在抑制黑色素生成方面的作用。

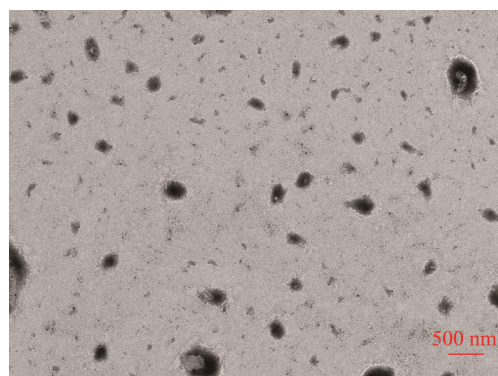


图 1 光甘草定环糊精包合物的透射电子显微镜图

Fig.1 Transmission electron microscopy of glabridin-cyclodextrin inclusion complex

2.3 环糊精包合增强光甘草定对 UVB 损伤小鼠经皮失水的保护作用

皮肤过度暴露在 UVB 下将导致皮肤损伤,经皮失水是皮肤损伤的主要特点之一,它与皮肤损伤程度呈正相关,通过经皮失水率的测试可以研究药物对 UVB 损伤皮肤的保护作用。从经皮失水率测试的结果(图 3)可知,空白组在整个实验进程中均保持一致水平,模型组则随着造模时间的延长出现逐步上升的趋势,21 d 时达到高峰。GL 高低浓度组均可降低皮肤的经皮失水率,呈浓度依赖性。在第 14 及 21 d 时,GL/CD 高低浓度组可显著降低小鼠经皮失水率,作用效果比 GL 组好。因此 GL/CD 可缓解 UVB 引起的皮肤干燥,减少经皮失水率,经过环糊精包合可以增强光甘草定的保护作用。

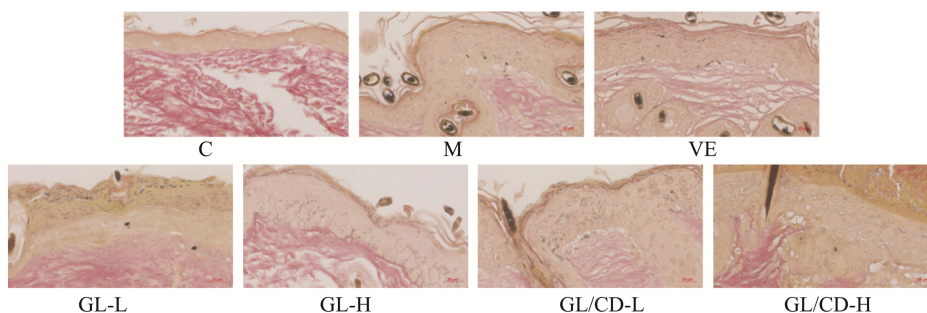
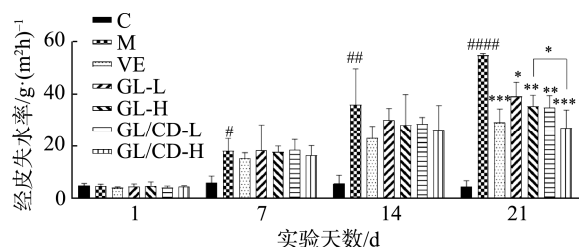


图 2 小鼠背部皮肤黑色素染色

Fig.2 Melanin staining of back skin on mice



注: 与空白对照组比较: # $P<0.05$; ## $P<0.01$; ### $P<0.0001$; 与模型组比较: * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; GL/CD-H 组与 GL-H 组比较, * $P<0.05$ 。

图3 小鼠背部皮肤经皮失水率($n=5$)

Fig.3 Trans-epidermal water loss of back skin on mice ($n=5$)

2.4 环糊精包合增强光甘草定对 UVB 引起皮肤损伤的修复作用

UVB 照射会引起小鼠皮肤损伤, 引发炎症, 从而导致表皮厚度增加和炎症细胞浸润的现象。将小鼠背部病理区域皮肤进行 H&E 染色, 置于光学倒置显微镜下放大 100 倍观察(图 4), 可明显观察到空白组、模型组、阳性组、各个样品组之间的皮肤状态有明显的差异。空白组的小鼠皮肤表皮层较薄, 未见损伤; 模型组小鼠对比空白组

出现明显的表皮增厚, 出现显著的炎症浸润; VE 处理的小鼠皮肤对比于模型组显著减轻了上述的状况; 光甘草定可减少 UVB 诱导的皮损, 主要表现在减少表皮厚度增加、抑制炎症细胞浸润, 呈浓度依赖性。对比相等浓度的光甘草定组, 采用环糊精包合之后能显著增加光甘草定的抗炎作用, 明显降低 UVB 辐照引起的表皮增厚和炎症浸润, 表现较包合前更优, 其中高浓度的抗炎效果与 VE 组相当(图 5)。

2.5 环糊精包合增强光甘草定对 UVB 引起皮肤炎症的抑制作用

皮肤损伤将容易导致炎症的发生, 皮肤中的 IL-1、IL-6 和 TNF- α 均属于皮炎的特征炎症因子。通过 ELISA 试剂盒分析了它们在光损伤模型下给药前后的变化情况(图 6), 可以发现 IL-1、IL-6 和 TNF- α 在造模后均有上调, 分别从(3.01 $\pm$ 0.34)、(0.94 $\pm$ 0.13)和(8.52 $\pm$ 1.00) pg/mL 增加到(5.18 $\pm$ 0.14)、(1.51 $\pm$ 0.08)和(12.75 $\pm$ 2.06) pg/mL, 在给予光甘草定或光甘草定包合物后, 它们的表达量均有所下降, 并显示出浓度依赖性。对比光甘草定组, 环糊精包合后的抗炎作用有一定的提升。

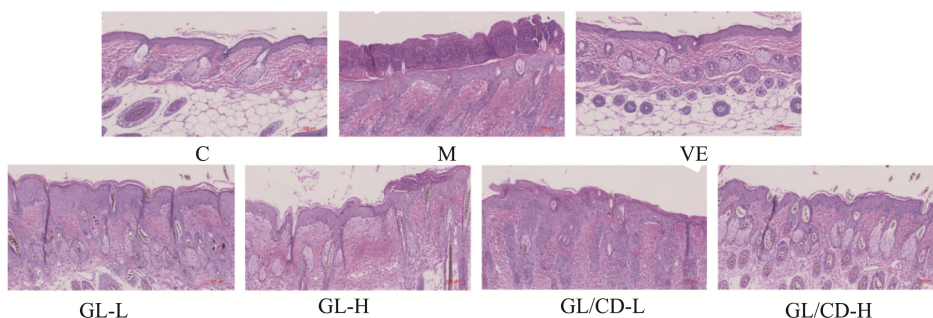
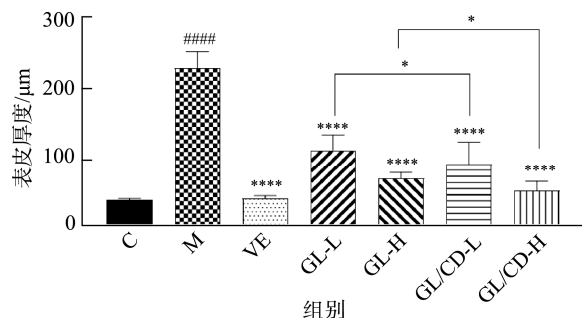


图4 小鼠背部皮肤 H&E 染色

Fig.4 H&E staining of back skin on mice



注: 与空白对照组比较: #### $P<0.0001$; 与模型组比较: **** $P<0.0001$; GL/CD-L 组与 GL-L 组比较, * $P<0.05$; GL/CD-H 组与 GL-H 组比较, * $P<0.05$ 。

图5 小鼠背部皮肤表皮厚度($n=5$)

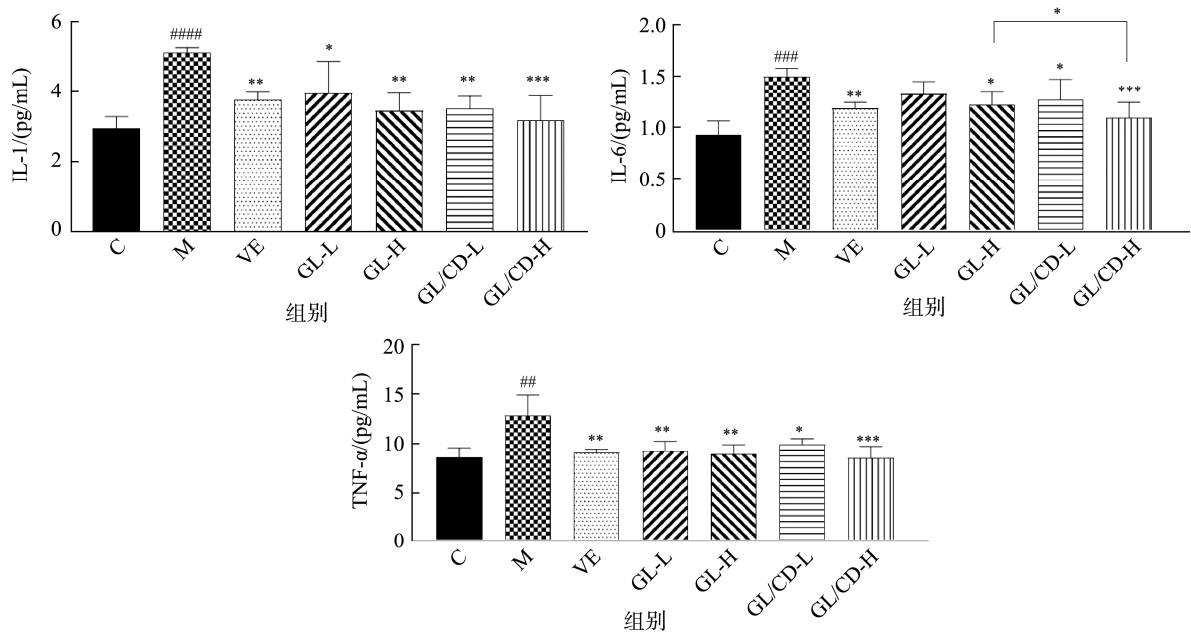
Fig.5 Epidermal thickness of back skin on mice ($n=5$)

2.6 环糊精包合增强光甘草定对 UVB 引起皮肤氧化损伤的保护作用

UVB 辐照导致炎症和氧化应激过程, SOD、CAT 和 ROS 的含量与机体的氧化程度密切相关。由图 7 可知, 相比于空白对照组, 受 UVB 照射影响, 模型组小鼠皮肤组织 SOD、CAT 含量均降低, 分别从(1.53 $\pm$ 0.07)、(3.55 $\pm$ 0.45) ng/mL 降低到(0.97 $\pm$ 0.16)、(2.43 $\pm$ 0.25) ng/mL, ROS 含量增多, 从(6.32 $\pm$ 0.91) U/mL 增加到(10.02 $\pm$ 0.64) U/mL, 表明 UVB 辐照造模导致小鼠皮肤损伤, 表达 SOD 和 CAT 的能力下降, 同时 UVB 诱发了 ROS 的产生; 给予不同浓度光甘草定后, SOD 和 CAT 均有不同程度的上升, 同时减少 ROS 的产生, 呈浓度依赖性, 表明光甘草定可以减少这种损

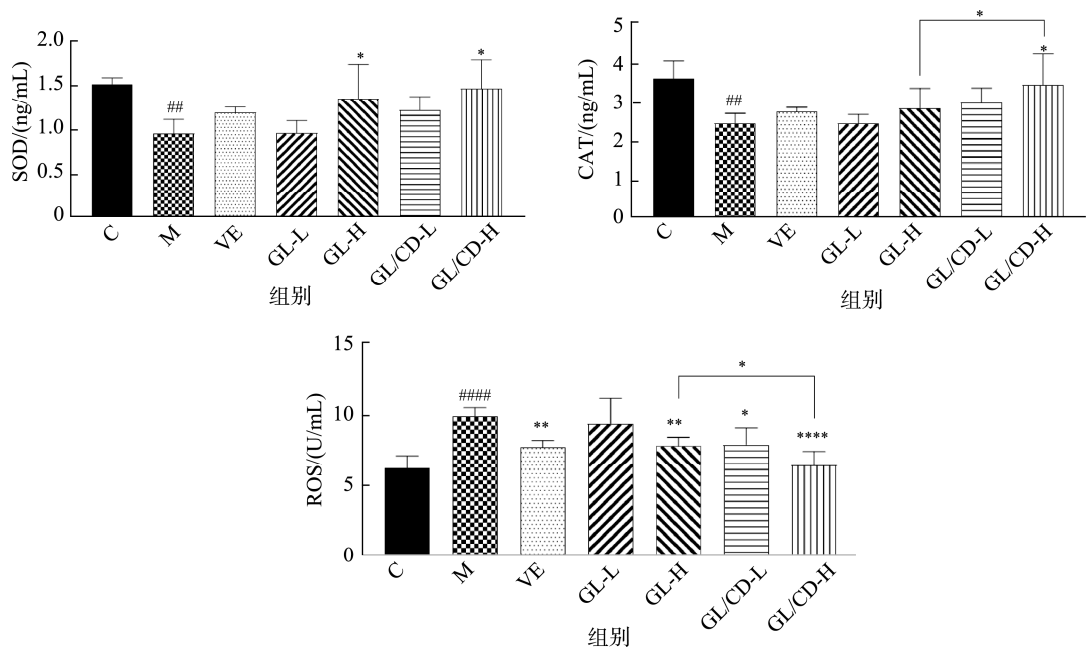
伤的发生。与 GL 组类似, GL/CD 组也同样具有相似的生理效应, 可以逆转 UVB 引起的皮肤氧化损伤, 进一步可

以观察到, 环糊精包合提升了光甘草定在皮肤抗氧化方面的作用。



注: 与空白对照组比较: ## $P<0.01$, ### $P<0.001$, #### $P<0.0001$; 与模型组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$; GL/CD-H 组与 GL-H 组比较, * $P<0.05$ 。

图 6 光甘草定及其包合物对 IL-1、IL-6、TNF- α 的影响($n=5$)
Fig.6 Effects of glabridin and its inclusion on IL-1, IL-6 and TNF- α ($n=5$)



注: 与空白对照组比较: ## $P<0.01$, #### $P<0.0001$; 与模型组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, **** $P<0.0001$; GL/CD-H 组与 GL-H 组比较, * $P<0.05$ 。

图 7 光甘草定及其包合物对 SOD、CAT 和 ROS 的影响($n=5$)
Fig.7 Effects of glabridin and its inclusion on SOD, CAT and ROS ($n=5$)

3 结 论

UVB 是当前造成皮肤晒伤、皮肤屏障损伤的元凶之一。UVB 照射引发的皮肤损伤包括氧化损伤、炎症反应、黑色素沉积、皮肤失水加快、细胞间基质分解、皮肤组织结构破坏等多个方面^[26,28-29], 其主要表现在表皮层黑色素颗粒增多、经皮失水率增加、表皮细胞增殖异常导致的表皮增厚、炎症细胞浸润、炎症因子表达上调、皮肤内氧化应激相关的蛋白如 CAT、SOD 的下调以及 ROS 的上升。光甘草定对紫外线引起的光损伤具有潜在的保护作用^[30], 然而其水溶性差导致其应用受限^[31]。

本研究制备获得包封率为 84.21%±1.36% 的光甘草定环糊精包合物, 平均粒径和 Zeta 电位测试结果表明包合物在水体系中分散为纳米颗粒且稳定性良好, TEM 测试结果表明包合物在水体系中主要呈现为球形胶束状态。在光甘草定具有潜在的抗 UVB 皮肤损伤的作用前提下将其应用在 UVB 小鼠皮肤损伤模型, 证实经过环糊精包合后光甘草定在抗黑色素生成、抗皮肤水分散失、抗炎和抗氧化作用方面具有明显的提升, 表明光甘草定能保护 UVB 导致的皮肤屏障损伤, 进一步可通过环糊精包合增加水溶性并提升其生理活性, 从动物水平上证实了环糊精包合保留并提升光甘草定抗 UVB 皮肤损伤的作用, 具有潜在的开发应用价值。

参考文献

- [1] 郑云枫, 魏娟花, 冷康, 等. 甘草属 *Glycyrrhiza* L. 植物资源化学及利用研究进展[J]. 中国现代中药, 2015, 17(10): 1096-1108.
- [2] ZHENG YF, WEI JH, LENG K, *et al.* Research advances in resource chemistry and utilization of Genus *Glycyrrhiza* L. [J]. Mod Chin Med, 2015, 17(10): 1096-1108.
- [3] 李璐. 光甘草定在真菌性角膜炎中的抗炎作用[D]. 青岛: 青岛大学, 2022.
- [4] LI L. Anti-inflammatory effects of glabridin on *Aspergillus fumigatus* keratitis [D]. Qingdao: Qingdao University, 2022.
- [5] PARLAR A, ARSLAN SO, ÇAM SA. Glabridin alleviates inflammation and nociception in rodents by activating BKCa channels and reducing NO levels [J]. Biol Pharm Bull, 2020, 43(5): 884-897.
- [6] SIMMLER C, PAULI GF, CHEN SN. Phytochemistry and biological properties of glabridin [J]. Fitoterapia, 2013, 90: 160-184.
- [7] 鲁妍, 聂琴, 赵海燕, 等. 光甘草定-烟酰胺纳米乳的制备与抗氧化效果[J]. 中南民族大学学报(自然科学版), 2023, 42(5): 620-626.
- [8] LU Y, NIE Q, ZHAO HY, *et al.* Preparation and antioxidant efficacy of glabridin-nicotinamide loaded nanoemulsion [J]. J South-Central Minzu Univ (Nat Sci Ed), 2023, 42(5): 620-626.
- [9] PAN CX, LIU XY, ZHENG YT, *et al.* The mechanisms of melanogenesis inhibition by glabridin: Molecular docking, PKA/MITF and MAPK/MITF pathways [J]. Food Sci Human Well, 2023, 12(1): 212-222.
- [10] CHEN JM, YU XJ, HUANG YF. Inhibitory mechanisms of glabridin on tyrosinase [J]. Spectrochim Acta A, 2016, 168: 111-117.
- [11] LI PH, LI YL, JIANG H, *et al.* Glabridin, an isoflavan from licorice root, ameliorates imiquimod-induced psoriasis-like inflammation of BALB/c mice [J]. Int Immunopharmacol, 2018, 59(5): 243-251.
- [12] 洪婷, 刘晓英, 车飙, 等. 光甘草定对小鼠银屑病模型治疗作用的初步研究[J]. 日用化学工业, 2018, 48(11): 643-646.
- [13] HONG T, LIU XY, CHE B, *et al.* Preliminary study on the therapeutic effect of glabridin on mouse psoriasis model [J]. China Surfact Deterg Cosmet, 2018, 48(11): 643-646.
- [14] CUI YM, AO MZ, LI W, *et al.* Effect of glabridin from *Glycyrrhiza glabra* on learning and memory in mice [J]. Plant Med, 2008, 74(4): 377-380.
- [15] 贺彬丽, 李善智, 李一权, 等. 光甘草定对肺腺癌 A549 细胞恶性生物学行为的影响及其分子机制[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2023, 30(8): 672-680.
- [16] HE BL, LI SZ, LI YQ, *et al.* Effects of glabridin on malignant biological behaviors of lung adenocarcinoma A549 cells and its molecular mechanism [J]. Chin J Cancer Biother, 2023, 30(8): 672-680.
- [17] 毕滢. 贝母素乙和光甘草定抑制膀胱癌细胞的作用及机制研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2023.
- [18] BI Y. Study on the effects and mechanism of peiminine and glabridin in inhibiting urothelial bladder carcinoma cells [D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2023.
- [19] WU FH, JIN ZG, JIN J. Hypoglycemic effects of glabridin, a polyphenolic flavonoid from licorice, in an animal model of diabetes mellitus [J]. Mol Med Rep, 2013, 7(4): 1278-1282.
- [20] ZHANG JH, WU XH, ZHONG BY, *et al.* Review on the diverse biological effects of glabridin [J]. Drug Des Dev Ther, 2023, 17: 15-37.
- [21] AO MZ, SHI Y, CUI YM, *et al.* Factors influencing glabridin stability [J]. Nat Prod Commun, 2010, 5(12): 1907-1912.
- [22] HSIEH CW, LI PH, LU IC, *et al.* Preparing glabridin-in-water nanoemulsions by high pressure homogenization with response surface methodology [J]. J Oleo Sci, 2012, 61(9): 483-489.
- [23] PARK YS, PARK HJ, LEE J. Stabilization of glabridin by chitosan nano-complex [J]. J Korean Soc Appl Biol Chem, 2012, 55: 457-462.
- [24] WEI YQ, ZHANG J, ZHOU Y, *et al.* Characterization of glabridin/hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex with robust solubility and enhanced bioactivity [J]. Carbohydr Polym, 2017, 159: 152-160.
- [25] 姚培培, 樊金玲, 李德锋, 等. 光甘草定/环糊精固体包合物的制备和性质[J]. 食品科学, 2022, 43(16): 9-18.
- [26] YAO PP, FAN JL, LI DF, *et al.* Preparation and characterization of glabridin/cyclodextrin solid inclusion complex [J]. Food Sci, 2022, 43(16): 9-18.
- [27] PINHO E, GROOTVELD M, SOARES G, *et al.* Cyclodextrins as encapsulation agents for plant bioactive compounds [J]. Carbohydr Polym, 2014, 101: 121-135.
- [28] BOSCH R, PHILIPS N, SUAREZ-PEREZ JA, *et al.* Mechanisms of photoaging and cutaneous photocarcinogenesis, and photoprotective strategies with phytochemicals [J]. Antioxidants (Basel), 2015, 4(2): 248-268.

- [22] 吴斯敏, 杨慧龄. 紫外线引起皮肤光老化机制及防治的研究进展[J]. 医学综述, 2018, 24(2): 341–346.
WU SM, YANG HL. Mechanisms and treatments of skin photoaging by ultraviolet radiation [J]. Med Recap, 2018, 24(2): 341–346.
- [23] 王小勇. UVB 辐射表皮角质形成细胞和 UVA 辐射真皮成纤维细胞在皮肤光老化中的作用机理研究[D]. 南京: 南京医科大学, 2006.
WANG XY. Study of Mechanism of UVB-irradiated epidermal keratinocytes and UVA-irradiated dermal fibroblasts in skin photoaging [D]. Nanjing: Nanjing Medical University, 2006.
- [24] UMAR SA, TASDUQ SA. Integrating DNA damage response and autophagy signalling axis in ultraviolet-B induced skin photo-damage: A positive association in protecting cells against genotoxic stress [J]. RSC Adv, 2020, 10(60): 36317–36336.
- [25] LAN CE. Effects and interactions of increased environmental temperature and UV radiation on photoageing and photocarcinogenesis of the skin [J]. Exp Dermatol, 2019, 28: 23–27.
- [26] SOLANO F. Photoprotection and skin pigmentation: Melanin-related molecules and some other new agents obtained from natural sources [J]. Molecules, 2020, 25(7): 1537.
- [27] FABO EC, NOONAN FP, FEARS T, *et al.* Ultraviolet B but not ultraviolet A radiation initiates melanoma [J]. Cancer Res, 2004, 64(18): 6372–6376.
- [28] 武思敏, 袁梅, 高梓琪, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯在皮肤光老化炎症反应中的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(7): 2513–2519.
WU SM, YUAN M, GAO ZQ, *et al.* Development of epigallocatechin gallate in the inflammatory response of skin photoaging [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(7): 2513–2519.
- [29] 王振, 刘安, 黄建安, 等. 中波紫外线致皮肤光老化机制及茶叶抗光老化作用研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(11): 4305–4311.
WANG Z, LIU AN, HUANG JAN, *et al.* Mechanisms of ultraviolet b induced skin photoaging and research progress of anti photoaging effect of tea [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(11): 4305–4311.
- [30] 王丽峰, 丁苗苗, 何新, 等. 光甘草定醇质体与立方液晶纳米粒皮肤滞留量比较及抗豚鼠皮肤光老化作用观察[J]. 药物评价研究, 2020, 43(10): 1944–1950.
WANG LF, DING MM, HE X, *et al.* Comparison of skin retention amount of ethosomes and cubic liquid crystalline nanoparticles of glabridin and observation of its anti-photoaging effect on guinea pig skin [J]. Drug Eval Res, 2020, 43(10): 1944–1950.
- [31] 李德锋, 樊金玲, 姚培培, 等. 光甘草定/羟丙基- β -环糊精包合物的释放特性、黏液渗透性及细胞摄取[J]. 食品科学, 2023, 44(24): 16–25.
LI DF, FAN JL, YAO PP, *et al.* Release characteristics, mucus permeability, and cellular uptake of glabridin/hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex [J]. Food Sci, 2023, 44(24): 16–25.

(责任编辑: 于梦娇 郑 丽)

作者简介



黄菁霞, 硕士研究生, 主要研究方向为天然产物开发。

E-mail: hjx1007xia@163.com



杜志云, 博士, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为药食同源高值化利用。

E-mail: zhiyundu@gdut.edu.cn