维生素A棕榈酸酯固体脂质纳米粒经皮递药系统的构建及其抗皮肤光损伤的研究

宋润琳[1,2], 方跃霖[2], 杨　林[1,2], 张馨欣[1,2,3*]

(1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012;　2. 烟台新药创制山东省实验室, 中科环渤海 (烟台) 药物高等研究院, 山东 烟台 264117;　3. 中国科学院上海药物研究所, 上海 201203)

摘要: 经皮递药系统作为重要的药物递送形式在慢性疼痛、皮肤病等多种疾病治疗中展现出独特优势和潜力, 但在皮肤光损伤防治中仍存在透皮效率低、滞留差等问题, 亟需构建高效安全的递药技术。本研究设计并制备了一种包载维生素A棕榈酸酯的固体脂质纳米粒 (vitamin A palmitate-loaded solid lipid nanoparticle, VAP-SLN), 提高维生素A棕榈酸酯 (vitamin A palmitate, VAP) 的包封率及稳定性, 通过经皮递药用于增强VAP对皮肤光损伤的治疗效果。采用高速剪切−高压均质法制备VAP-SLN, 经处方筛选后确定VAP-SLN主要由固体脂质山嵛酸甘油酯、液体脂质中链甘油三酸酯, 以及磷脂、Tween 80、烷基糖苷、VAP构成。制备得到的VAP-SLN粒径为200 nm左右, 呈球型结构, 包封率为91.1%。其相变温度为59.8 ℃, 该特性赋予其优异的热稳定性, 显著改善了包载的VAP稳定性。VAP-SLN具备缓释特性与皮内滞留优势, 可显著延长药物的局部作用, 增强经皮递药效能。细胞水平上, VAP-SLN在人角质形成细胞中呈现出良好的细胞摄取及滞留能力, 增强VAP缓解细胞氧化应激及炎症反应的效果; 在小鼠皮肤光损伤模型上, VAP-SLN能有效改善光损伤皮肤中胶原纤维减少和胶原体积下降, 使表皮厚度和形态恢复到健康水平, 有效预防和治疗紫外线诱导的皮肤损伤。动物实验经烟台药物研究所实验动物管理与使用委员会批准 (批准号: 20250701-01)。综上所述, VAP-SLN通过抗氧化、抗炎等作用机制显著缓解皮肤光损伤, 为VAP经皮递送及预防皮肤光损伤提供新策略。

关键词: 维生素A棕榈酸酯; 固体脂质纳米粒; 抗皮肤光损伤; 透皮递送; 抗氧化

中图分类号: R943　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 0513-4870(2026)08-3174-12

Construction of vitamin A palmitate-loaded solid lipid nanoparticles for transdermal drug delivery and study on its anti-skin photodamage

SONG Run-lin[1,2], FANG Yue-lin[2], YANG Lin[1,2], ZHANG Xin-xin[1,2,3*]

(*1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China;　2. Shandong Laboratory of Yantai Drug Discovery, Bohai Rim Advanced Research Institute for Drug Discovery, Yantai 264117, China;　3. Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China*)

Abstract: As an important form of drug delivery, the transdermal drug delivery system has demonstrated unique advantages and potential in the treatment of various diseases such as chronic pain and skin diseases. However, in the prevention and treatment of skin photo-damage, it still faces issues like low transdermal efficiency and poor drug retention. Therefore, there is an urgent need to develop a highly efficient and safe drug delivery technology. In this study, solid lipid nanoparticles loaded with vitamin A palmitate (VAP-SLN) were designed and prepared to improve the encapsulation efficiency and stability of vitamin A palmitate (VAP), aiming to enhance the

收稿日期: 2025-11-07;　修回日期: 2025-12-22.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82222066); 药品监管科学全国重点实验室课题 (2025SKLDRS0327).

*通讯作者 Tel: 13524794749, E-mail: xinxinzhang@simm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-1311

therapeutic effect of VAP on skin photodamage *via* transdermal drug delivery. The high-speed shearing and high-pressure homogenization method were used to prepare VAP-SLN. After prescription screening, it was determined that VAP-SLN was mainly composed of solid lipid glyceryl behenate and liquid lipid medium-chain triglycerides, phospholipids, Tween 80, alkyl polyglycosides and VAP. The prepared VAP-SLN had a particle size of approximately 200 nm, a spherical structure, and an encapsulation efficiency of 91.1%. Its phase transition temperature was 59.8 ℃. This characteristic endowed it with excellent thermal stability and significantly improved the stability of the encapsulated VAP. VAP-SLN exhibited the advantage of sustained-release characteristics and intradermal retention, which could significantly prolong the local drug action and enhance the transdermal drug delivery efficiency. At the cellular level, VAP-SLN exhibited good cellular uptake and retention ability in HaCaT cells, thereby enhancing the effect of VAP in alleviating cellular oxidative stress and inflammatory responses. In the mouse skin photodamage model, VAP-SLN could effectively improve the reduction of collagen fibers and the decrease in collagen volume in photodamaged skin, restore the epidermal thickness and morphology to a healthy level, and effectively prevent and treat ultraviolet-induced skin damage. The animal experiments were approved by the Institutional Animal Care and Use Committee of Yantai Institute of Materia Medica (Approval No.: 20250701-01). In conclusion, VAP-SLN significantly alleviates skin photodamage through antioxidant and anti-inflammatory mechanisms, providing a new strategy for the transdermal delivery of VAP and the prevention of skin photodamage.

Key words: vitamin A palmitate; solid lipid nanoparticle; anti-skin photodamage; transdermal delivery; antioxidant

皮肤光损伤已成为全球关注的慢性皮肤病, 其患病率显著高于许多常见皮肤病[1]。光损伤以皮肤红斑、水肿、灼痛为主要特征, 本质源于紫外线 (ultraviolet radiation, UV) 长期照射导致的表皮角质细胞与真皮成纤维细胞数量减少及功能衰退[2-6]。光损伤的发病机制复杂, 与UV辐射、氧化应激、炎症反应、DNA损伤、细胞衰老等多因素相互作用有关[7-9]。当前光损伤的常用干预手段主要以无创性的治疗为主, 如外用制剂、光动力疗法等, 但仍受限于药物渗透差、易降解及光毒性反应等问题[10]。现有的经皮递药系统在克服皮肤屏障、确保药物在递送过程中及作用部位的稳定性, 以及维持药物生物活性方面仍面临显著挑战, 这极大地限制了其对抗光损伤的效果。因此, 开发兼具安全性、有效性及良好透皮递送能力的抗光损伤策略具有迫切的临床需求。

维生素A及其衍生物凭借促进角质细胞更新、刺激胶原与弹性蛋白新生、抑制基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 过度表达的多重机制, 已成为目前应用最广泛的化学类抗光损伤活性物[11,12]。其中, 酯化衍生物维生素A棕榈酸酯 (vitamin A palmitate, VAP) 是目前抗皮肤光损伤应用最广的维生素A类活性物。然而VAP易被光、热、氧降解, 且亲脂性高, 导致其稳定性差、透皮效率低、生物利用度低[13]。这些问题严重制约了VAP在皮肤光损伤防治中的临床疗效与应用范围, 迫切需要借助新型递送技术加以克服。

近年来, 纳米技术凭借精准递送、高效保护与缓释优势[14], 为经皮递药系统提供了较好的载体。目前聚合物纳米粒、环糊精包合物、乳液及传统脂质体等递送平台, 虽能有效包载结构稳定、环境耐受性好的活性物, 实现较高包封率和良好储存性能, 但对光敏性、易水解或氧化不稳定的活性物, 仍面临包封率 (encapsulation efficiency, EE) 偏低、稳定性不足等挑战。固体脂质纳米粒 (solid lipid nanoparticle, SLN) 采用高熔点固态脂质作为载体基质, 其致密晶格结构可以改善难溶性药物的分散性与溶解度[15-17]。同时, 还能在固化过程中将药物分子封装于脂质内核, 减少表面暴露与泄漏风险, 从而实现高EE与长期储存稳定性[18,19]。相较于其他局部递送系统而言, SLN兼具聚合物纳米粒的高稳定性与脂质体/乳剂的低毒、易放大优势[20,21], 因而是一种极具发展潜力的新型经皮给药载体。值得注意的是, 有研究发现SLN本身具有类似物理紫外线阻挡剂的特性, 这为其应用于皮肤光损伤防治提供了独特优势[22]。

本研究制备了包载VAP的固体脂质纳米粒 (vitamin A palmitate-loaded solid lipid nanoparticle, VAP-SLN), SLN利用高相变温度 (phase transition temperature, T_m) 脂质在固化过程中将VAP深嵌于脂质内核, 实现对VAP的高效包封。同时SLN在皮肤表面铺展成连续封闭薄膜, 隔绝氧气、水分及光照, 显著提升VAP的稳定性。通过系统性的体内外实验, 验证了VAP-SLN抗氧化、抗炎的作用, 为开发高效、安全、作用持久的抗皮肤光损伤纳米递送新策略提供重要的实验依据。

材料与方法

药品与试剂 单硬脂酸甘油酯 (20230501, 江西阿尔法高科药业有限公司); 双硬脂酸甘油酯 (198851, 广州市天润药业有限公司); 山嵛酸甘油酯 (205383, 法国 Gattefosse 公司); 中链甘油三酸酯 (241003-3-01, 辽宁新兴药业股份有限公司); MONTANOV 82 (923-908-7, 法国 Seppic 公司); Tween 80 (TO20240301, 山东瑞生药用辅料有限公司); 维生素 A 棕榈酸酯 (UT24051346, 荷兰 Dutch State Mines 公司); 维生素 A 棕榈酸酯 (标准品) (C2208095, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 香豆素-6 (C16024115, 上海麦克林生化科技股份有限公司); 细胞增殖−毒性检测试剂盒、二氢乙锭购自大连美仑生物技术有限公司; 活性氧检测试剂盒、细胞衰老 β-半乳糖苷酶染色试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司); 白细胞介素-6 (IL-6) ELISA 试剂盒、肿瘤坏死因子-α (TNF-α) ELISA 试剂盒 (上海酶联生物科技有限公司)。

仪器 DLS 粒度分析仪 (Zetasizer Pro, 英国 Malvern Instruments Ltd 公司); 高速剪切机 (T25 Digital, 德国 IKA 公司); 高压均质机 (AH-NANO, 苏州安拓思纳米技术有限公司); HPLC (1260 Infinity II)、酶标仪 (SH1M) 购自美国 Agilent 公司; 离心机 (5425R, 德国 Eppendorf 公司); 透射电镜 (JEM-120i, 日本电子株式会社); 流式细胞仪 (Aurora, 美国 Cytek 公司); 激光共聚焦显微镜 (FV3000, 日本 Olymplus 公司); 冷冻切片机 (CM1950, 德国 Leica 公司)。

细胞 人角质形成细胞 (HaCaT), 购自中国科学院细胞库 (中国上海)。HaCaT 细胞置于含 10% FBS、1% 双抗的 DMEM 培养基中, 于 37 ℃、5% CO_2 恒温培养箱进行贴壁培养。按 1∶2 比例传代培养, 待细胞生长状态良好且处于对数生长期时进行实验。

动物 SPF 级 BALB/c-nu 小鼠 (江苏集萃药康生物科技股份有限公司) 8 周, 体重 20 g 左右。由烟台药物研究所动物实验中心提供并饲养, 所有的动物试验均符合烟台药物研究所实验动物管理与使用委员会的规定 (批准号: 20250701-01)。

VAP-SLN 的制备 采用高速剪切−高压均质法制备 VAP-SLN。具体过程如下, 固体脂质、中链甘油三酸酯 (medium-chain triglycerides, MCT) 和 MONTANOV 82 (M82) 在 80 ℃的水浴中加热融化作为油相; 待油相完全熔融后, 避光且在氮气保护下加入 VAP、抗氧剂 (α-生育酚), 磁力搅拌至其充分溶解。大豆磷脂、Tween 80、超纯水在 80 ℃的水浴中加热分散作为水相。将油相在 10 000 r·min^{-1} 高速剪切下加入水相制得初乳, 随后在 600 bar 下循环均质 2 次, 冷却至室温, 即得。为了证明 SLN 相较于纳米乳液递送系统的优势, 采用上述的制备方法将处方中的固体脂质替换为 MCT, 其他组成不变作为对照组 (VAP-EMU)。

处方筛选 以 EE 及制剂 T_m 为评价指标, 根据表 1 对 3 种脂质—山嵛酸甘油酯 (glyceryl behenate, GB)、单硬脂酸甘油酯 (glyceryl monostearate, GMS)、双硬脂酸甘油酯 (glycerin distearate, GDS) 进行比较, 确定最适脂质种类。在确定固体脂质种类前提下, 以 EE 及 40 ℃下放置稳定性为评价指标, 对固体脂质用量进行筛选; 以粒径、多分散指数 (polymer dispersity index, PDI)、EE 为指标, 对 MCT 及 M82 的用量进行筛选。

Table 1 Prescription composition and screening indicators of VAP-SLN. GB: Glyceryl behenate; GMS: Glyceryl monostearate; GDS: Glycerin distearate; MCT: Medium-chain triglycerides; M82: MONTANOV 82; VAP: Vitamin A palmitate

Prescription composition		
Oil phase	Solid lipid	(1%, 2%, 3%, 4%) GB, GMS, GDS
	Liquid lipid	(0%, 1%, 2%, 3%, 4%) MCT
	Emulsifier	(1%, 2%, 3%, 4%) M82
	Active substance	2% VAP
	Antioxidant	0.5% α-tocopherol
Water phase	Emulsifier	1% Tween 80
	Emulsifier	0.5% Soyabean phospholipid
	Water	Q.s. to 100%

载药量及包封率的测定 通过 HPLC 建立 VAP 含量测定方法, 并测定 VAP-SLN 的 EE 及载药量 (drug loading, DL), 测定条件及方法如下。

色谱条件色谱柱: ZORBAX Eclipse XDB-C18 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相 A: 乙腈; 流动相 B: 异丙醇 (A∶B = 65∶35); 流速: 1.5 mL·min^{-1}; 柱温: 30 ℃; 检测波长: 328 nm; 进样量: 5 μL。

DL 和 EE 测定方法采用超滤法, 取定量稀释溶液, 置于截留分子质量为 100 kDa 的超滤离心管内管, 并将内外管进行组装, 2 000 ×g、4 ℃离心 20 min, 取内管中 VAP-SLN、VAP-EMU 溶液加入异丙醇定容至 5 mL, 采用 HPLC 分析, 测得包载在纳米颗粒中 VAP 的含量 (W_1); 同时取 VAP-SLN 溶液, 加入异丙醇定容至 10 mL, 超声进行破乳, 通过 HPLC 分析, 即得 VAP 总含量 (W_2)。将载体的总质量记为 ($W_{总}$), 分别根据公式 (1) 和 (2) 计算 VAP-SLN 的 DL 和 EE:

$$\text{DL}\ (\%) = W_1/W_{总} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{EE}\ (\%) = W_1/W_2 \times 100\% \quad (2)$$

其中, W_1 代表 SLN 包封的药物含量, W_2 代表 VAP 的总含量, $W_{总}$ 代表载体总质量。

VAP-SLN 理化性质表征及稳定性考察 取 VAP-SLN 与 VAP-EMU 适量, 以纯化水稀释至适宜浓度, 采

用动态光散射粒度分析仪测定其平均粒径、PDI及zeta电位。另取5 μL悬液滴加于铜网, 2%醋酸双氧铀负染30 s, 室温晾干后, 于透射电子显微镜下观察纳米颗粒形貌。将上述两种制剂分装密封, 置25 ± 2、40 ± 2 ℃、相对湿度 (75 ± 5)%条件下进行稳定性试验, 分别于0、5、15、30 d取样。每份样品加异丙醇破乳后, 转移至10 mL量瓶并定容, 按含量测定法经HPLC测定VAP含量, 计算相对百分含量, 分析其稳定性。

SLN制剂安全性评价 通过CCK8对制剂的体外安全性进行评估, 将HaCaT细胞以每孔1×10^4个细胞的密度接种在96孔板中, 37 ℃培养24 h, 设置不同浓度的制剂进行给药孵育24 h后, 每个孔中加入10 μL的CCK8溶液, 继续孵育2 h, 用酶标仪测定450 nm处各孔的吸光度值, 根据公式 (3) 计算不同实验组细胞存活率。

$$细胞存活率 = (A_s - A_b)/(A_c - A_b) \times 100\% \quad (3)$$

其中, A_s、A_b、A_c分别为实验组、空白组和对照组的吸光度值。

VAP-SLN体外释药特性 采用超滤法测定VAP-SLN的体外释药, 释放介质为0.5% SDS-PBS (pH为7.4和5.0), 在20 mL释放介质中各加入4 mL的VAP-EMU、VAP-SLN的稀释液, 此用量满足漏槽条件。在避光恒温 (37 ± 0.5 ℃) 振荡环境下进行释药实验, 分别于30 min和1、2、4、6、8、12、24 h取样1 mL, 并同时补充等量新鲜释放介质。将1 mL样品液置于截留分子质量为100 kDa的超滤离心管内管, 并将内外管进行组装, 2 000 ×g、4 ℃离心20 min, 取下层溶液0.45 μm微孔滤膜过滤后, 按上述色谱条件测定并计算药物浓度, 根据公式 (4) 计算累积释放量。

$$Q_n = \frac{V_e\sum_{i=1}^{n-1}C_i + V_sC_n}{m_0} \times 100\% \quad (4)$$

其中, Q_n为第n个取样时间点的累计释放百分率 (%), V_e为每次取样所取出的释放介质体积 (mL), V_s为释放池中的总释放介质体积 (mL), C_i为第i次取样时测得的药物浓度 (μg·mL^{-1}), m_0为制剂中初始药物总量 (μg)。

VAP-SLN在HaCaT细胞中摄取 根据VAP-SLN的制备方法, 将香豆素-6 (coumarin-6, c6) 加入油相制备c6标记的VAP-SLN和VAP-EMU, 制剂中c6浓度为200 μg·mL^{-1}。在HaCaT细胞中加入含VAP-SLN的完全培养基 (以c6计浓度为2 μg·mL^{-1}) 孵育4 h考察细胞摄取; PBS洗去未摄取制剂, 换新鲜培养基再培养4 h, 考察滞留量。对照组以VAP-EMU同法处理。通过激光共聚焦显微镜观察摄取及滞留情况, 流式细胞术对荧光强度进行定量分析。

VAP-SLN皮肤渗透与滞留研究 在体内进行SLN的皮肤渗透与滞留研究, 小鼠背部分别给予1 mL c6标记的Free-VAP、VAP-SLN及VAP-EMU, 6 h后脱颈处死, 剪取给药区皮肤, 4%多聚甲醛固定24 h。OCT包埋后进行冷冻切片 (厚度10 μm), PBS进行漂洗; 滴加DAPI (1 μg·mL^{-1}) 室温避光染核10 min, PBS冲洗, 甘油-PBS (9∶1, v/v) 封片, 共聚焦激光扫描显微镜采集图像, 评价制剂在皮肤各层的分布特征。

小鼠背部分别给予1 mL Free-VAP、VAP-SLN及VAP-EMU, 6 h后脱颈处死, 剪取给药区皮肤, 蒸馏水冲洗表面残药, 滤纸吸干、称重, 剪碎后置于5 mL离心管, 加3 mL异丙醇-PBS (1∶1) 超声提取15 min, 涡旋3 min, 3 000 r·min^{-1}离心10 min, 上清经0.45 μm微孔滤膜过滤, HPLC测定VAP含量, 计算单位质量皮肤药物滞留量。

光损伤细胞模型的建立 将HaCaT细胞以每孔1×10^4个细胞的密度接种在96孔板中, 37 ℃培养24 h, 分别在不同的光照强度进行光照, 每天1次, 持续3天, 光照3天后, 每个孔中加入10 μL的CCK8溶液, 继续孵育2 h, 用酶标仪测定450 nm处各孔的吸光度值, 根据公式 (3) 计算不同实验组细胞存活率。

VAP-SLN体外治疗效果 VAP-SLN对光损伤细胞增殖的影响将细胞分为对照组、模型组、Free-VAP组、VAP-SLN组和VAP-EMU组 (以VAP计浓度为5 μg·mL^{-1})。按照筛选出的光照强度建立光损伤细胞模型, 每次光照前4 h对各组细胞进行不同的给药处理。在给药和光照3天后分别于每个孔中加入10 μL CCK8溶液, 继续孵育2 h, 酶标仪测定450 nm处各孔的吸光度值, 根据公式 (3) 计算不同实验组细胞存活率。

活性氧水平 采用DCFH-DA探针检测细胞内活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平[23], 分别用不同制剂与相应辐射剂量处理细胞, 培养3天后, 每孔加入10 μmol·L^{-1} DCFH-DA的无血清培养基, 37 ℃避光孵育20 min。置于共聚焦显微镜下观察并拍摄图像, 流式细胞术对荧光强度进行定量分析。

炎症因子水平 用不同的制剂与相应辐射剂量处理细胞, 培养3天后, 收集上清培养液, 3 500 r·min^{-1}离心10 min, 取上清液用ELISA试剂盒测定TNF-α、IL-6因子含量。

***β*-半乳糖苷酶的活性** 用不同的制剂与相应辐射剂量处理细胞, 培养3天后, 按照β-半乳糖苷酶 (senescence-associated β-galactosidase, SA-β-gal) 染色试剂盒说明书对各组细胞进行染色, 倒置显微镜下观察, 老化细胞胞质呈蓝色, 阴性细胞未着色[24], 通过ImageJ分析不同组别之间的荧光强度, 最终取染色阳

性细胞百分比的平均值为各组细胞的SA-β-gal染色阳性率。

皮肤光损伤动物模型建立与给药方案 小鼠皮肤光损伤模型作为典型的UV诱导皮肤损伤模型建立如下: 根据最小红斑剂量 (minimal erythema dose, MED) 计算用于模型建立的照射剂量。采用UVB光源对小鼠进行照射, 分别设定照射时间为5、10、15、20 min, 照射后24 h观察背部皮肤是否出现肉眼可见的红斑反应。以出现最轻微可见红斑所需的最短照射时间作为MED。根据公式 (5) 计算辐照剂量如下:

照射剂量 ($mJ·cm^{-2}$) = 照射功率 ($mW·cm^{-2}$) × 照射时间 (s) (5)

根据上述公式计算各时间点对应的辐照能量, 以确定本实验条件下裸鼠的MED值, 作为后续造模剂量的基准。

造模及给药方案为: 根据上述结果, 采用UVA (15 W) 与UVB (15 W) 双波段的紫外光源, 光源距小鼠背部皮肤垂直距离为30 cm, 确保各组动物接受均匀照射。每周照射5次, 连续照射6周, 累计照射30次。造模期间辐照剂量逐周递增: 第1周1 MED、第2周2 MED、第3周3 MED、第4～6周维持4 MED。每次照射前1 h给药, 小鼠背部分别外用给予1 mL Free-VAP、VAP-SLN及VAP-EMU (以VAP计浓度为100 $\mu g·mL^{-1}$), 模型对照组与空白对照组分别不作处理 (n = 5)。皮肤表面红斑通常用于评估UV诱导的光损伤的严重程度, 对不同处理后不同时间段小鼠皮肤的宏观特征进行评价。

VAP-SLN体内治疗效果

光损伤小鼠皮肤组织形态学分析 给药造模结束后, 去除小鼠背部皮肤, 用4%多聚甲醛溶液固定, 石蜡包埋切片, 切片用苏木精和伊红 (hematoxylin and eosin staining, H&E)、马松 (Masson) 染色, 于全自动定量病理成像系统进行全景扫描采集图像, 观察BALB/c-nu小鼠背部皮肤组织形态学, 应用ImageJ定量分析。

免疫荧光检测皮肤组织ROS表达水平 制备皮肤冷冻切片, 皮肤切片与ROS染液二氢乙锭 (dihydroethidium, DHE) (5 $\mu mol·L^{-1}$) 避光37 ℃孵育30 min; 玻片置于PBS中洗涤后滴加DAPI染液, 避光室温孵育10 min, 封片进行全景扫描采集图像, 应用ImageJ分析荧光面积百分比。

ELISA检测皮肤组织中IL-6和TNF-α水平 取一部分新鲜皮肤组织于匀浆机中充分匀浆, 3 000 $r·min^{-1}$, 离心10 min后吸取上清用于检测, 具体检测步骤参照ELISA测定试剂盒说明书进行。

MMP-3表达水平 对石蜡切片进行脱水和抗原修复, 用3%的过氧化氢阻断内源性过氧化物酶活性。对组织切片进行一系列步骤, 包括封闭、与一抗孵育过夜 (抗-MMP-3) 后与二抗孵育, 以及滴加DAB显色溶液以显色。然后使用苏木精进行核染色, 进行全景扫描采集图像, 应用ImageJ定量分析。

统计学方法 使用GraphPad Prism 8.0对数据进行统计分析, 实验数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用t-test对两组间结果进行比较, one way ANOVA对多组间结果进行分析, $P < 0.05$表示差异具有统计学意义。

结果

1 VAP-SLN的制备及处方筛选结果

固体脂质种类及用量可显著影响制剂的T_m与稳定性。首先以VAP-SLN的EE及T_m为评价指标, 对固体脂质的种类进行筛选。结果如图1A、B所示, 以GB作为固体脂质时, 制剂的EE最高 (85.8%), 显著高于GMS (70.7%) 和GDS (64.3%) 作为固体脂质的制剂; 同时以GB作为固体脂质的制剂T_m为59.7 ℃, 高于以GMS (48.5 ℃) 和GDS (46.8 ℃) 作为固体脂质的制剂。GB赋予体系更高的T_m和室温下稳定的固态核心结构, 更有利于维持VAP稳定性, 故选定GB作为固体脂质。进一步考察GB用量对制剂EE及稳定性的影响图1C显示, 制剂的EE随GB的用量增加而增大, 当GB的用量大于4%时, EE没有显著变化。稳定性实验图1D表明, VAP残留率随GB用量增加而升高, 4%组残留93%, 5%组未见显著增益。综上, 4% GB既能保证高包封, 又可形成致密晶体网络, 有效阻隔光、热、氧对药物的降解; 过量脂质反而增加系统黏度, 对稳定性改善有限, 故确定4%为GB的最优用量。

液体脂质的加入对制剂的EE有一定影响, 故对MCT的用量进行筛选。图1E、F显示, 当MCT用量为2%时制剂的粒径分布均一且EE最高 (91.1%), 显著高于其他用量。归因于适量MCT引入固体脂质晶格, 产生晶格缺陷和无序区, 促进VAP增溶从而提高EE; 当MCT用量大于2%时EE下降, 表明过量液体脂质导致固态结晶骨架崩解、引发药物外排[25]。因此, 确定2%为MCT的最优用量。

表面活性剂M82的用量显著影响制剂的粒径及EE, 图1G、H显示, 当M82用量为2%时制剂的粒径分布均一且EE最高 (90.8%), 显著高于其他用量。归因于充足界面吸附、降低界面张力, 促进纳米晶核形成; 当M82用量大于2%时包封率下降, 表明过量表面活性剂将药物增溶于胶束相, 导致结晶药物泄漏。因此, 确定2%为M82的最优用量。

根据原辅料的筛选结果, 确定VAP-SLN的处方组成为: VAP (20 $mg·mL^{-1}$)、4%山嵛酸甘油酯、2% MCT、

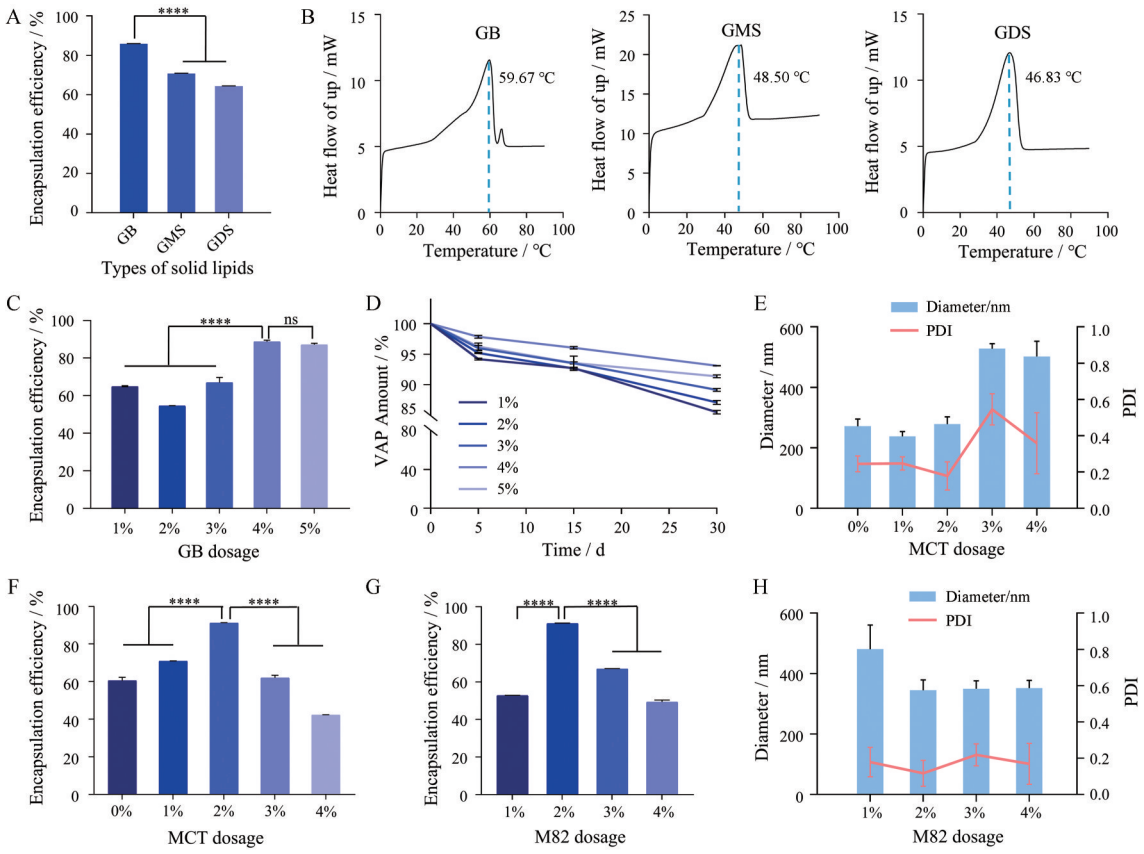


Figure 1 Results of prescription screening. A: Influence of solid lipid types on encapsulation efficiency; B: Effect of solid lipid type on phase transition temperature of formulation; C: Influence of GB dosage on EE; D: Remaining content of VAP with different GB dosages after storage at 40 ℃ for 30 days; E: Influence of MCT dosage on particle size and PDI; F: Influence of MCT dosage on EE; G: Influence of M82 dosage on EE; H: Influence of M82 dosage on particle size and PDI. n = 3, $\bar{x} \pm s$. $^{****}P < 0.000\ 1$. ns: No significant difference; EE: Encapsulation efficiency; PDI: Polymer dispersity index

2% M82、0.5%大豆磷脂、1% Tween 80, 并以超纯水补足至100%。

2 VAP-SLN理化性质及稳定性表征结果

制剂理化性质表征结果如下, 制剂外观如图2A显示, 呈乳白色均一液体, 流动性良好。从透射电镜图2B结果可观测到其形态为具有实心结构球形。动态光散射图2C、D分析表明, VAP-SLN和VAP-EMU的粒径均在200 nm左右, 平均电位在−50到−60 mV之间, 高绝对值电位表明制剂的稳定性较好。

DL和EE的测定结果显示, VAP-SLN中负载VAP的含量为1.9%, VAP-EMU中负载VAP的含量为1.8%。图2E表明VAP-SLN平均EE为91.1%, 而VAP-EMU的平均EE为79.1%, 表明固体脂质纳米粒和纳米乳液对药物具有较高包载能力, 为后续体内外实验提供了可靠基础。

稳定性试验结果图2F、G显示, VAP-SLN在25和40 ℃下放置一个月后VAP含量约为96.4%和93.2%, 显著高于VAP-EMU组和Free-VAP组的VAP含量。表明VAP-SLN在不同温度条件下均表现出更优的稳定性, 尤其在高温条件下, VAP-SLN能更有效抑制温度介导的VAP降解, 归因于VAP-SLN中含有高T_m的固体脂质, 使其T_m (59.8 ℃) 高于VAP-EMU的T_m (43.3 ℃), 在高温条件下不易发生相变从而抑制VAP的降解。

以细胞存活率为评价指标评价SLN制剂安全性。结果如图2H显示, SLN的浓度在5～100 μg·mL^{-1}时, 无明显细胞毒性。说明SLN在100 μg·mL^{-1}及以下浓度具有良好的生物相容性, 为后续实验的给药浓度提供了依据。

采用超滤法考察VAP-SLN的体外释药行为, 结果如图2I所示, 在pH 7.4的释放介质中, VAP-SLN在24 h内的累积释放量显著低于VAP-EMU, 且整体释放水平较低; 而在pH 5.0条件下, 其释放量显著升高, 提示其可在细胞内溶酶体环境中实现VAP的缓慢释放。该特性不仅有助于减少VAP在递送过程中的降解, 提高其稳定性, 还可实现药物的持续释放, 从而延长药效持续时间。

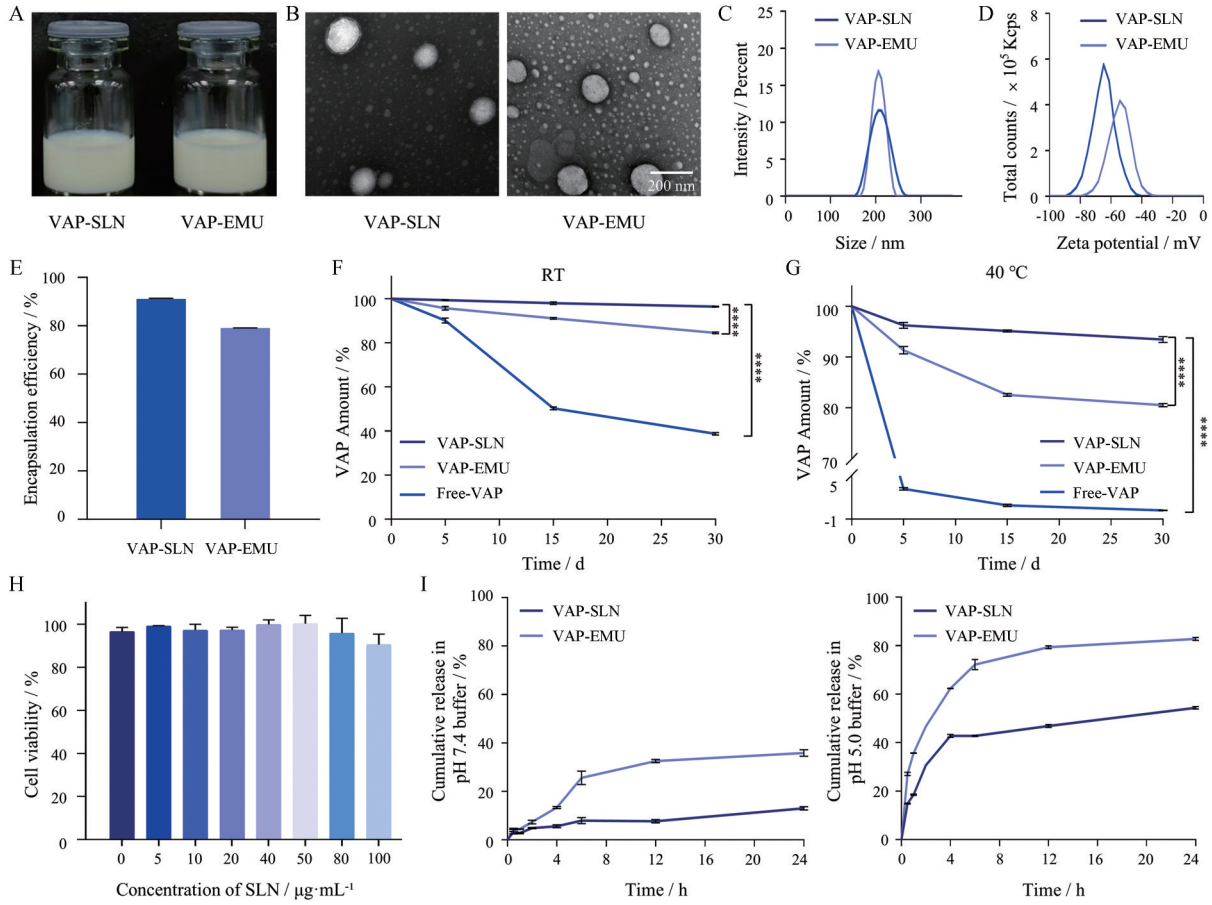


Figure 2 The characterization and stability of VAP-SLN. A: Appearance of VAP-SLN and VAP-EMU; B: Transmission electron microscopy images of VAP-SLN and VAP-EMU; C: Particle size distribution diagrams of VAP-SLN and VAP-EMU; D: Zeta potential diagrams of VAP-SLN and VAP-EMU; E: EE of VAP-SLN and VAP-EMU; F: Change curves of VAP content in VAP-SLN, VAP-EMU, and Free-VAP stored at 25 ℃ for 30 days; G: Change curves of VAP content in VAP-SLN, VAP-EMU, and Free-VAP stored at 40 ℃ for 30 days; H: Effects of different concentrations of SLN on the survival rate of HaCaT cells; I: Release curves of VAP-SLN and VAP-EMU in pH 7.4 and pH 5.0 buffer within 24 h. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. $^{****}P < 0.000\ 1$

3 细胞摄取的研究

通过激光共聚焦显微镜考察了 c6 标记的 VAP-SLN 和 VAP-EMU 的细胞摄取情况, 结果如图 3A、B 所示, VAP-SLN 组的荧光强度明显高于 VAP-EMU 组, 移除制剂后再孵育 4 h, VAP-SLN 组滞留量仍优于 VAP-EMU 组。流式定量图 3C～F 证实, VAP-SLN 的平均荧光强度显著高于 VAP-EMU, 移除制剂后再孵育 4 h, VAP-SLN 组滞留量与 VAP-EMU 组相比显著升高。上述结果表明 SLN 的固态脂质基质可促进细胞高效摄取并延长胞内滞留时间[26], 为后续提升 VAP 在细胞内的生物利用度奠定了良好基础。

4 VAP-SLN 皮肤渗透与滞留研究

在体内进行 SLN 的皮肤渗透与滞留研究, 激光共聚焦显微镜结果图 3G 显示, Free-VAP 组荧光信号及渗透深度均较低; VAP-SLN 与 VAP-EMU 组荧光显著增强且分布更深, 其中 VAP-SLN 组荧光强度最高, 表明 SLN 可显著促进 VAP 经皮渗透并增强其在皮肤层中的滞留能力。皮肤组织研磨检测结果图 3H 显示, VAP 皮肤滞留量表现为 VAP-SLN > VAP-EMU > Free-VAP, 表明 VAP-SLN 相较于 VAP-EMU 及 Free-VAP, 更能促进 VAP 穿透皮肤屏障并可以实现长效滞留。

5 体外抗光损伤效果

5.1 光损伤细胞模型建立以及 VAP-SLN 对细胞增殖的影响 以细胞存活率为评价指标, 筛选光损伤细胞模型光照条件。如图 4A 所示, 当辐射剂量为 800～1 000 mJ·cm^{-2} 时, 细胞存活率 48.9%～51.0%, 故确定 800～1 000 mJ·cm^{-2} 用于建立体外光损伤模型。按 CCK-8 试剂盒操作, 测定给药−光照后细胞增殖率。图 4B 表明, VAP-SLN 组细胞增殖率显著高于 UV 模型组及 VAP-EMU 组, 说明 VAP-SLN 可抑制光损伤诱导的细胞死亡。

5.2 VAP-SLN 对细胞内 ROS、炎症因子分泌水平的影响 光损伤会诱导细胞的氧化应激、炎症反应, 进而

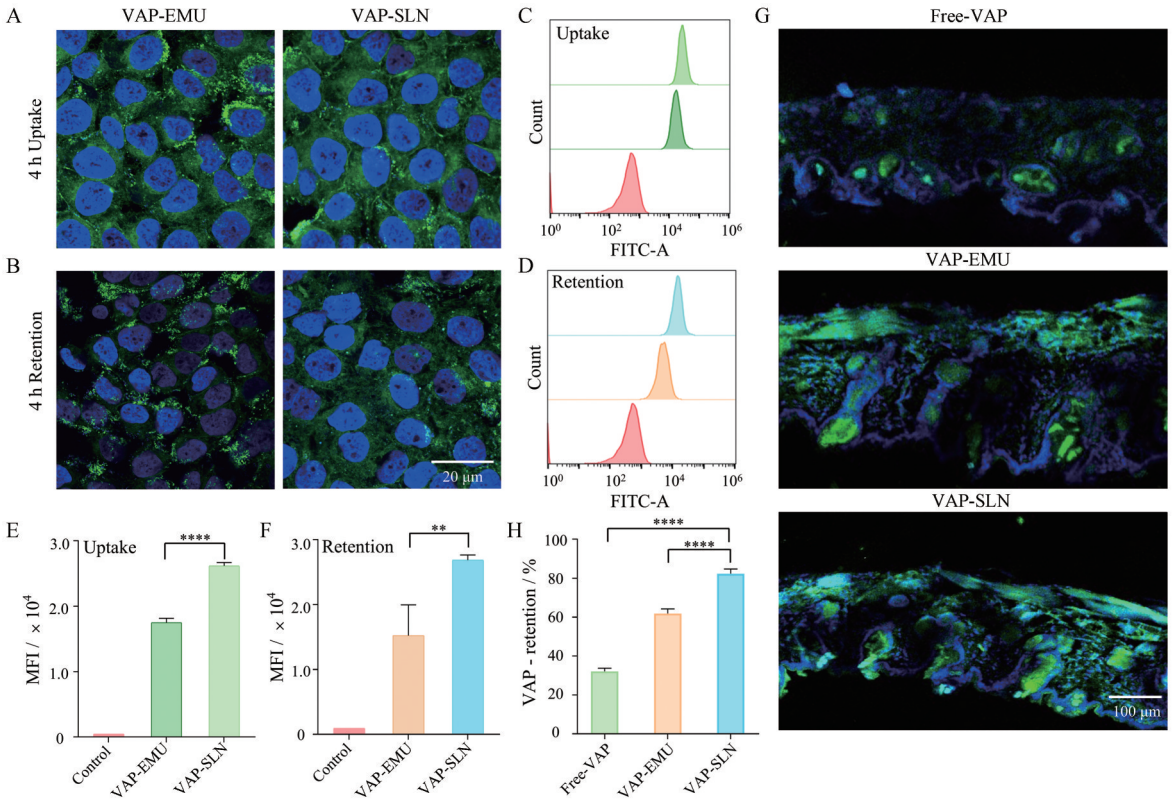


Figure 3 Evaluation of cellular uptake and transdermal behavior and retention. A: Representative CLSM images after 4 h incubation with c6-labeled SLN and EMU; B: Representative CLSM images of additional 4 h incubation in fresh medium post-removal of preparations; C, D: Representative FCM histograms of VAP-labeled SLN and EMU fluorescence for cellular uptake (C) and retention (D); E, F: Corresponding quantitative analysis showing MFI of uptake (E) and retention (F), respectively; G: Representative CLSM images of mouse skin tissue after 6 h application with c6-labeled Free-VAP, VAP-SLN and VAP-EMU; H: The VAP retention of mouse skin tissue after 6 h application with Free-VAP, VAP-EMU, and VAP-SLN. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. $^{**}P < 0.01$, $^{****}P < 0.000\ 1$. CLSM: Confocal laser scanning microscopy; FCM: Flow cytometry; MFI: Mean fluorescence intensity

诱导产生过量的ROS。采用DCFH-DA荧光探针评估VAP-SLN对HaCaT炎性细胞ROS水平的影响。结果如图4C、D所示, 与对照组比较, 模型组ROS水平显著上升; 与模型组比较, VAP-SLN处理后胞内荧光信号明显减弱, 表明细胞上清中ROS水平显著降低, 且优于Free-VAP或VAP-EMU组。

通过ELISA法测定细胞培养液中炎症因子TNF-α、IL-6的含量。结果如图4E、F所示, 光照HaCaT细胞后, 细胞炎性因子TNF-α、IL-6的分泌水平显著高于对照组, 说明炎症模型的成功建立; 与模型组相比, VAP-SLN组细胞上清中的TNF-α、IL-6水平显著降低, 且优于Free-VAP组和VAP-EMU组。

5.3 VAP-SLN对细胞内SA-β-gal活性的影响 光损伤在导致细胞的氧化应激及炎症反应的同时, 可能进一步导致细胞进入衰老状态。SA-β-gal活性是评估细胞衰老程度的重要指标, 根据SA-β-gal试剂盒操作, 给药–造模后对细胞染色, 倒置显微镜下老化细胞胞质呈蓝绿色, 阴性细胞无色, ImageJ计算阳性率。图4G显示, 光照HaCaT细胞后, 细胞中蓝绿色的细胞数目显著高于对照组; 同时, VAP-SLN组蓝绿色细胞显著少于模型组, 且优于Free-VAP组和VAP-EMU组。

综上, SLN通过提高VAP的细胞摄取效率并形成药物贮库, 显著增强了其抑制ROS生成、炎症因子分泌的效果, 从而阻断细胞衰老进程, 实现光损伤的精准干预。

6 体内抗光损伤效果

6.1 皮肤光损伤模型建立 采用UV光源对小鼠进行照射, 分别设定照射时间为5、10、15、20 min, 照射后24 h观察背部皮肤, 发现照射15 min的小鼠背部有可见红斑出现。据此确定MED对应照射剂量为553.9 mJ·cm^{-2}。光损伤模型建立方法如下: 每周5次照射, UVA照射时间与UVB照射时间之比为10∶1, 在每次光照前1 h对BALB/c-nu小鼠进行不同制剂给药处理, 造模及给药过程如图5A所示。

6.2 背部皮肤的宏观特征评价 UV诱导的表皮屏障破坏和红斑是评估光损伤严重程度的关键指标。如图

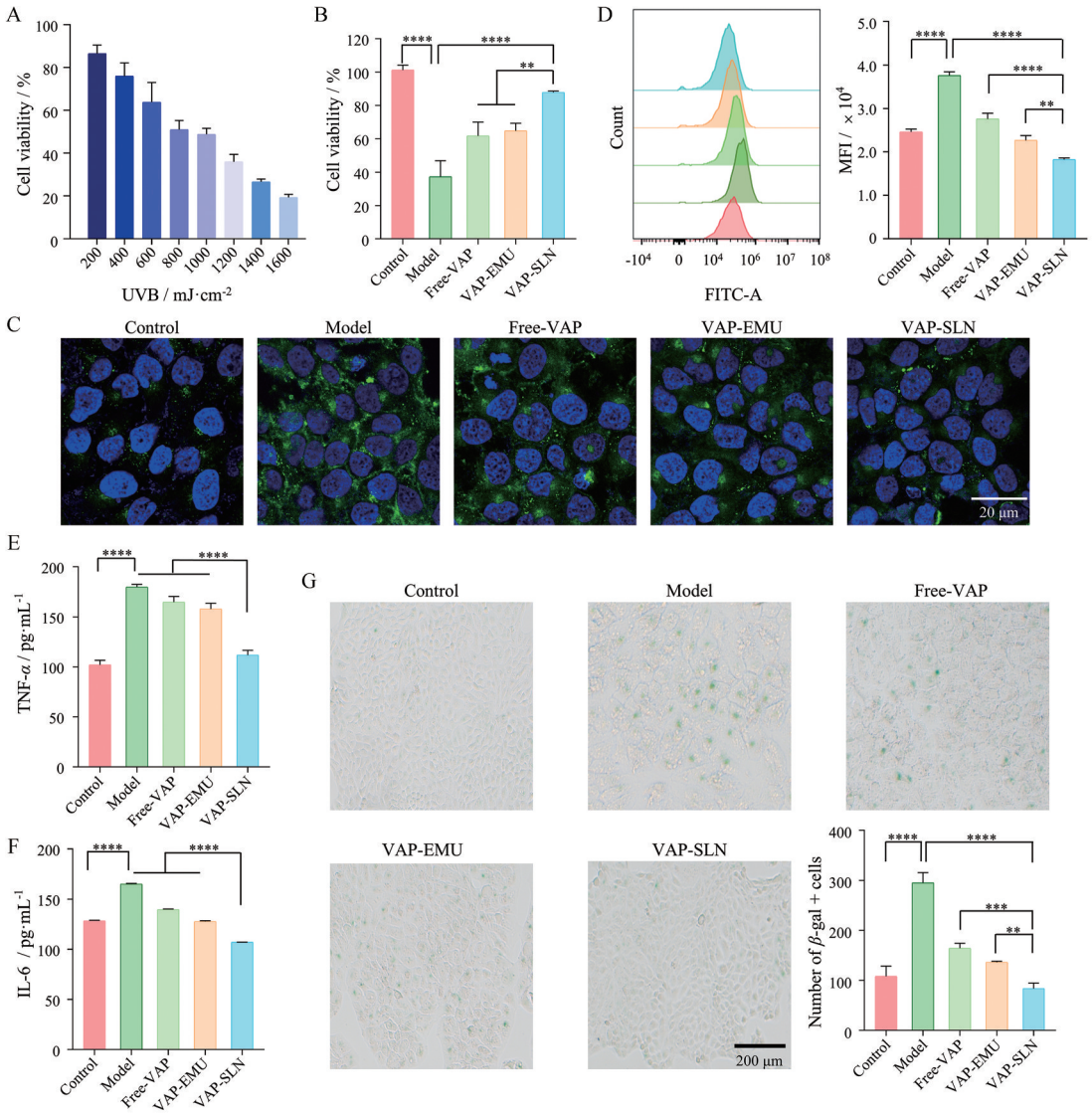


Figure 4 Antioxidative and anti-inflammatory effect of VAP-SLN in photodamaged HaCaT cells. A: Cell activity under different radiation doses; B: Cell activity after different treatment in photodamaged cells; C: Representative CLSM image of intracellular ROS detected by DCFH-DA probe; D: Quantitative analysis of ROS measured by FCM; E, F: Concentrations of TNF-α and IL-6 in the supernatant measured by ELISA; G: SA-β-gal staining and quantitative analysis of positive cell. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, $^{****}P < 0.000\ 1$. SA-β-gal: Senescence-associated β-galactosidase

5B所示, 与空白组相比, 模型组小鼠经长期UV照射后皮肤干燥、粗糙、泛红、出现皮屑。VAP-SLN组小鼠皮肤损伤、粗糙度、泛红与对照组、模型组、游离药组、VAP-EMU组相比显著减少。上述结果表明VAP-SLN有效缓解UV诱导的角质层屏障紊乱和皮肤受损, 从宏观层面证实其对皮肤光损伤的保护作用。

6.3 VAP-SLN对小鼠皮肤组织形态的影响 UV诱导的光损伤以表皮增生、炎症浸润及胶原降解为特征[27]。组织学评价结果图5C表明, UV照射后模型组与Free-VAP组真皮内可见大量炎症细胞浸润, 表皮−真皮连接疏松; VAP-SLN组炎症浸润显著缓解, 结构基本恢复至正常水平, 提示其可明显抑制UVB诱导的皮肤损伤。Masson染色及胶原面积定量图5D、E显示, 正常小鼠真皮胶原纤维丰富、排列致密; UV照射后模型组胶原断裂、排列紊乱, 胶原面积与对照组相比显著降低, VAP-SLN组胶原纤维恢复, 排列较为紧密, 胶原面积与模型组相比显著升高, 且优于Free-VAP组。结果表明VAP-SLN有效维持皮肤组织的正常结构, 减轻真皮炎症浸润与胶原降解。

6.4 VAP-SLN对小鼠皮肤组织中ROS、炎症因子水平的影响 UV照射可显著升高皮肤局部ROS水平并触发炎症反应, 因此评估了VAP-SLN的ROS清除和抗

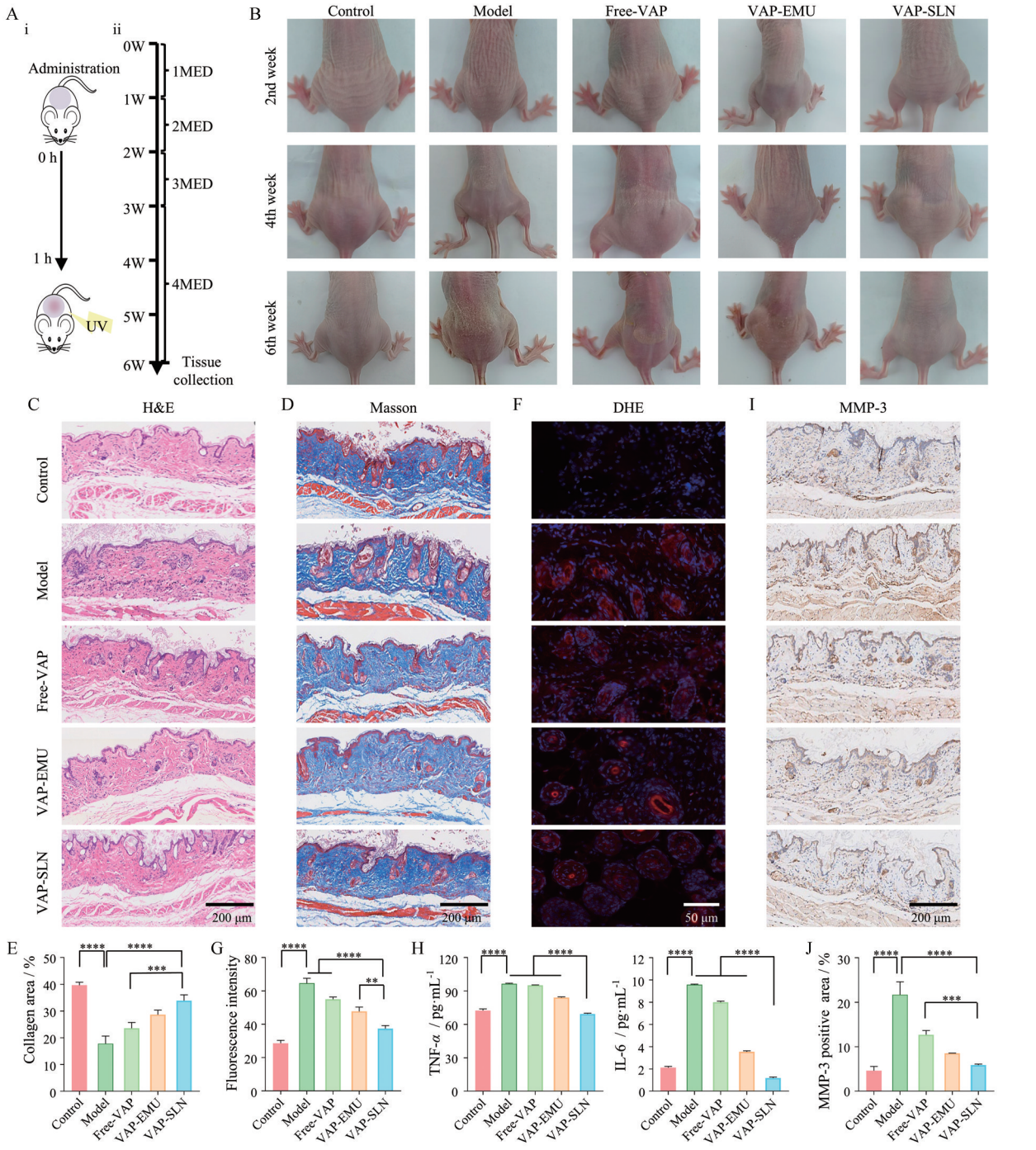


Figure 5 Therapeutic effect of VAP-SLN against UV-induced skin photodamage in mice. A: Establishment of mice skin photodamage model; B: Long-term (6 week) observation of different treatment groups; C: H&E staining of skin tissues after different treatment; D: Masson staining of skin tissue after different treatment; E: Quantitative analysis of the positive area of collagen fibers in different groups; F: DHE staining of skin tissues in different groups; G: Mean fluorescence intensity of reactive oxygen species in skin tissues after different treatments; H: The concentrations of TNF-α and IL-6 in the supernatant of skin tissue determined by ELISA; I: Immunohistochemistry of MMP-3 in skin tissue in different groups; J: Quantitative analysis of MMP-3 positive area in different groups. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, $^{****}P < 0.000\ 1$. H&E: Hematoxylin and eosin; DHE: Dihydroethidium; MMP-3: Matrix metalloproteinase-3

炎作用。DHE染色结果图5F、G显示模型组ROS水平与对照组相比显著升高, VAP-SLN组的ROS水平与模型组相比显著降低, 且优于Free-VAP组和VAP-EMU组。ELISA结果图5H表明, 模型组炎性因子TNF-α、IL-6的分泌水平明显显著高于对照组, VAP-SLN组则显著抑制两者表达, 且效果优于Free-VAP组和VAP-EMU

组。综上, 证实VAP-SLN通过ROS清除、炎症因子抑制, 阻断UV诱导的氧化应激、炎症反应, 从而发挥抗光损伤作用。

6.5 VAP-SLN对小鼠皮肤组织中MMP-3表达的影响 UV照射可诱导皮肤组织中MMP-3的过度表达, 进而促进胶原蛋白的降解。通过免疫组织化学染色评估VAP-SLN对皮肤组织中MMP-3表达的影响, 图5I、J表明, 与模型组及Free-VAP组相比, VAP-SLN显著下调UV诱导的MMP-3过量表达。表明VAP-SLN通过抑制MMP-3过度表达, 阻断胶原纤维降解途径, 从而维持真皮细胞外基质稳态, 显著缓解UV诱导的皮肤光损伤。

综上, VAP-SLN凭借高T_m固态脂质基质形成的晶格结构, 增强细胞摄取与滞留特性, 持续释放的VAP协同清除ROS、抑制炎症反应并下调MMP-3, 显著阻断UVB诱导的表皮增生、炎细胞浸润及胶原降解, 为光损伤修复提供兼具结构重塑、抗氧化、抗炎功效的外用纳米药物平台。

讨论

本研究成功制备了一种包载VAP的固体脂质纳米粒递送系统, 提高了VAP的稳定性并增强其抗皮肤光损伤的功效。通过高速剪切−高压均质法优化制备的VAP-SLN以高熔点固体脂质为骨架, 可以有效隔绝光、热、氧, 显著提升VAP化学稳定性。该制剂采用的高速剪切和高压均质法为成熟工业化工艺, 核心辅料为药用级且具有安全性, 具备产业化的前景。

在抗光损伤机制探究层面, 本研究证实VAP-SLN通过抗氧化−抗炎−抗胶原降解等通路有效抑制皮肤光损伤。SLN经膜融合及脂质交换高效穿透角质层, 在真皮层形成药物贮库, 促进细胞高效摄取并延长胞内滞留时间[28-30]。在细胞内释放VAP并清除过量ROS, 同时抑制TNF-α、IL-6等炎症因子分泌, 阻断炎症反应; 抑制细胞内SA-β-gal活性从而延缓细胞衰老[31]。体内光损伤小鼠模型的结果显示, VAP-SLN可以减轻表皮增生与真皮胶原丢失, 抑制光损伤所造成的炎症浸润及胶原降解等现象, 同时减少皮肤组织中ROS的含量、炎症因子的水平, 以及下调MMP-3表达并恢复胶原纤维架构, 维持细胞外基质稳态[32], 实现光损伤的多环节干预。

综上所述, 本研究为VAP在皮肤光损伤中的应用构建了新型递送系统。VAP-SLN增强了VAP的稳定性, 在光损伤模型中展示出抗氧化、抗炎、抗胶原降解及延缓细胞衰老等方面治疗效果, 不仅为VAP在皮肤光损伤防治中的高效、稳定应用提供了切实可行的技术路径, 而且可拓展应用于其他易氧化、刺激性强的功效成分, 为皮肤光损伤治疗提供切实可行的纳米递送平台, 可用于急性光损伤即时修复与慢性光老化长期干预的临床场景, 为皮肤光损伤精准治疗提供了新的实用选择。

作者贡献: 宋润琳负责文献查阅、实验设计、实验操作、数据分析、论文初稿撰写; 方跃霖负责实验指导、样品采集和论文修改; 杨林负责数据核对; 张馨欣负责课题的设计、指导和论文修改。

利益冲突: 本文所有作者声明不存在利益冲突关系。

References

[1] He XF, Hu Y, Wu YY, et al. Hyaluronic acid modified chuanxiong oil liposomes as a novel therapeutic agent for photoaging prevention [J]. Sci Rep, 2025, 15: 12237.

[2] Ren QQ, Yuan YL, Qu LP. Plant extracts affecting skin photoaging signaling pathways [J]. Deterg Cosmet (日用化学品科学), 2023, 46: 34-41.

[3] Chen X, Yang CS, Jiang G. Research progress on skin photoaging and oxidative stress [J]. Postepy Dermatol Alergol, 2021, 38: 931-936.

[4] Han MR, Bae JS, Ban JJ, et al. Black rice (*Oryza sativa* L.) extract modulates ultraviolet-induced expression of matrix metalloproteinases and procollagen in a skin cell model [J]. Int J Mol Med, 2018, 41: 3073-3080.

[5] Ma YC, Li CX, Su WP, et al. Carotenoids in skin photoaging: Unveiling protective effects, molecular insights, and safety and bioavailability frontiers [J]. Antioxidants (Basel), 2025, 14: 577.

[6] Zahr T, Boda VK, Ge J, et al. Small molecule conjugates with selective estrogen receptor β agonism promote anti-aging benefits in metabolism and skin recovery [J]. Acta Pharm Sin B, 2024, 14: 2137-2152.

[7] Bellavite P, Imbriano A. Skin photoaging and the biological mechanism of the protective effects of hesperidin and derived molecules [J]. Antioxidants (Basel), 2025, 14: 788.

[8] Jing ZQ, Wang X, Yan TY, et al. Construction of a tripterine-loaded PAMAM nanoparticle drug delivery system targeting folate receptor and mitochondria and its anti-inflammatory effects *in vitro* [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2023, 58: 550-559.

[9] Huang MQ, Yang ZX, Yao MZ, et al. Puerarin inhibits UVB-induced DNA damage in HaCaT cells *via* the ceramide pathway [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2012, 47: 609-613.

[10] Cao LL, Qian XY, Min J, et al. Cutting-edge developments in the application of hydrogels for treating skin photoaging [J]. Front Mater, 2024, 11: 1443514.

[11] Goodman GJ, Bagatin E. Photoaging and cosmeceutical solutions in sun-overexposed countries: The experience of Australia and

Brazil [J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2024, 38: 36-44.

[12] Shu P, Li MG, Zhao N, et al. Efficacy and mechanism of retinyl palmitate against UVB-induced skin photoaging [J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1278838.

[13] Zhang JY, Li ZJ, Song XP, et al. Ginsenoside CK and retinol on UVA-induced photoaging exert the synergistic effect through antioxidant and antiapoptotic mechanisms [J]. Sci Rep, 2025, 15: 16664.

[14] Ning JT, Deng X, Chen L, et al. Construction of a nanodelivery system for glycyrrhizin A-loaded glycyrrhizin-like exocytic particles based on drug-loaded integration and *in vitro* anti-inflammatory evaluation [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2025, 60: 1147-1155.

[15] Lee SG, Jeong JH, Kim SR, et al. Topical formulation of retinyl retinoate employing nanostructured lipid carriers [J]. J Pharm Invest, 2012, 42: 243-250.

[16] Gordillo-Galeano A, Mora-Huertas CE. Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: A review emphasizing on particle structure and drug release [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2018, 133: 285-308.

[17] Souto EB, Fangueiro JF, Fernandes AR, et al. Physicochemical and biopharmaceutical aspects influencing skin permeation and role of SLN and NLC for skin drug delivery [J]. Heliyon, 2022, 8: e08938.

[18] Chen BY, Luo M, Liang JM, et al. Surface modification of PGP for a neutrophil-nanoparticle co-vehicle to enhance the antidepressant effect of baicalein [J]. Acta Pharm Sin B, 2018, 8: 64-73.

[19] Costa CP, Moreira JN, Sousa Lobo JM, et al. Intranasal delivery of nanostructured lipid carriers, solid lipid nanoparticles and nanoemulsions: A current overview of *in vivo* studies [J]. Acta Pharm Sin B, 2021, 11: 925-940.

[20] Duan YT, Dhar A, Patel C, et al. A brief review on solid lipid nanoparticles: Part and parcel of contemporary drug delivery systems [J]. RSC Adv, 2020, 10: 26777-26791.

[21] Santos Maia C, Mehnert W, Schaller M, et al. Drug targeting by solid lipid nanoparticles for dermal use [J]. J Drug Target, 2008, 10: 489-495.

[22] Souto EB, Müller RH. Cosmetic features and applications of lipid nanoparticles (SLN, NLC) [J]. Int J Cosmet Sci, 2008, 30: 157-165.

[23] Tanveer MA, Rashid H, Tasduq SA. Molecular basis of skin photoaging and therapeutic interventions by plant-derived natural product ingredients: A comprehensive review [J]. Heliyon, 2023, 9: e13580.

[24] Li YN, Huang X, Jin J, et al. Interaction of TAGLN and USP1 promotes ZEB1 ubiquitination degradation in UV-induced skin photoaging [J]. Cell Biosci, 2023, 13: 80.

[25] Subramaniam B, Siddik ZH, Nagoor NH. Optimization of nanostructured lipid carriers: Understanding the types, designs, and parameters in the process of formulations [J]. J Nanopart Res, 2020, 22: 141.

[26] Rivolta I, Panariti A, Lettiero B, et al. Cellular uptake of coumarin-6 as a model drug loaded in solid lipid nanoparticles [J]. J Physiol Pharmacol, 2011, 62: 45-53.

[27] Ge YC, Li M, Bai SR, et al. Doxercalciferol alleviates UVB-induced HaCaT cell senescence and skin photoaging [J]. Int Immunopharmacol, 2024, 127: 111357.

[28] Liu KY, Zhao CX, Zhang K, et al. Pilose antler protein relieves UVB-induced HaCaT cells and skin damage [J]. Molecules, 2024, 29: 4060.

[29] Gu YP, Han JX, Jiang CP, et al. Biomarkers, oxidative stress and autophagy in skin aging [J]. Ageing Res Rev, 2020, 59: 101036.

[30] Yasir M, Sara UVS. Solid lipid nanoparticles for nose to brain delivery of haloperidol: *In vitro* drug release and pharmacokinetics evaluation [J]. Acta Pharm Sin B, 2014, 4: 454-463.

[31] Tang J, Xiong LD, Shu XH, et al. Antioxidant effects of bioactive compounds isolated from cordyceps and their protective effects against UVB-irradiated HaCaT cells [J]. J Cosmet Dermatol, 2019, 18: 1899-1906.

[32] Li LJ, Guo CL, Fang YL, et al. Deformable hyaluronic acid niosomes overcome multi-barriers for improved ergothioneine transdermal delivery against UV-induced skin damage [J]. Chin Chem Lett, 2025, 36: 110839.