当归苦参凝胶的制备及其治疗小鼠湿疹的药效学研究*

崔荣洽[1]，李康[1]，赵旭[2]，郭淑杰[1]，谢淑敏[1]，常万顺[1]，陈朝华[1]，黄海英[1]，王磊[1]

1. 河南中医药大学，河南 郑州 450046；2. 郑州雪麦龙食品香料有限公司，河南 郑州 451162

摘要：目的：制备当归苦参凝胶，并研究其对小鼠湿疹的治疗作用。方法：设计正交试验，以苦参碱、氧化苦参碱、阿魏酸含量和干膏率为评价指标，优选当归、苦参的提取工艺；采用星点设计－效应面法，考察卡波姆－940、甘油、聚氧乙烯蓖麻油的用量，优选当归苦参凝胶处方工艺；通过高效液相色谱法对当归苦参凝胶进行含量测定；通过检测小鼠血清中免疫球蛋白 E（immunoglobulin E，IgE）、白细胞介素－6（interleukin－6，IL－6）、白细胞介素－1β（interleukin－1β，IL－1β）及皮肤中胸腺基质淋巴细胞生成素（thymic stromal lymphopoietin，TSLP）表达水平，观察当归苦参凝胶对小鼠湿疹的治疗作用。结果：当归、苦参的提取工艺为：16 倍水，加热回流 3 次，每次 1 h；当归苦参凝胶的处方工艺为：卡波姆－940 用量 1.5%，甘油用量 16%，聚氧乙烯蓖麻油用量 10%；当归苦参凝胶中苦参碱、氧化苦参碱、阿魏酸含量分别为 0.41 mg·g^{-1}、1.38 mg·g^{-1}、0.04 mg·g^{-1}，方法学考察结果良好。与模型组相比，当归苦参凝胶组 IgE、IL－6、IL－1β 及 TSLP 表达水平呈现不同程度下调，其他症状均有所改善，显示出良好的治疗效果。结论：本方法制备的当归苦参凝胶质量稳定均一，对小鼠湿疹有显著的治疗作用。

关键词：当归苦参凝胶；湿疹；药效学研究；正交试验；星点设计

DOI：10.16368/j.issn.1674－8999.2025.07.252

中图分类号：R284.2　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1674－8999(2025)07－1559－10

Preparation of Danggui Kushen Gel and Its Pharmacodynamics in Treatment of Eczema in Mice

CUI Rongqia[1], LI Kang[1], ZHAO Xu[2], GUO Shujie[1], XIE Shumin[1], CHANG Wanshun[1], CHEN Zhaohua[1], HUANG Haiying[1], WANG Lei[1]

1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou Henan China 450046; 2. Xuemailong Food Spices Limited Company of Zhengzhou, Zhengzhou Henan China 451162

Abstract: Objective: To prepare Danggui Kushen Gel and study its therapeutic effect on eczema in mice. Methods: An orthogonal test was designed, and the extraction process of Angelica sinensis－Sophora radix was optimized with matrine, oxidized matrine, ferulic acid content and dry paste rate as evaluation indexes. The dosage of carbomer－940, glycerin and polyoxyethylene castor oil was investigated with central composite design－effect surface method, and the prescription process of Danggui Kushen Gel was optimized. The content of Angelica sophora sophora gel was determined by high performance liquid chromatography. By detecting the expression levels of immunoglobulin E (IgE), interleukin－6 (IL－6), interleukin－1β (IL－1β) and thymic stromal lympho－poietin (TSLP) in the skin of mice, the expression levels of immunoglobulin E (IgE), interleukin－6 (IL－6), interleukin－1β (IL－1β) and thymic stromal lymphopoietin (TSLP) in the skin were measured. To observe the therapeutic effect of Angelica sophora sophora gel on eczema in mice. Results: The extraction process of Angelica sinensis and Sophora sophora was as follows: 16 times water, heating and refluxing for 3 times, 1 hour each time; The prescription process of Danggui Kushen Gel is as follows: carbomer－940 dosage 1.5%, glycerol dosage 16%, polyoxyethylene castor oil dosage 10%; The contents of matrine, oxymatrine and ferulic acid in Danggui Kushen Gel were

* **基金项目**：教育部高教司实验教学和教学实验室建设研究项目；河南省科技厅 2022 年度省级科技研发计划联合基金项目（22301420090）；河南省教育科学规划 2023 年度重点课题项目（2023JKZD16）

0.41 mg · g^{-1}, 1.38 mg · g^{-1} and 0.04 mg · g^{-1}, respectively, and the methodological results were good. Compared with the model group, the expression levels of IgE, IL-6, IL-1β and TSLP in the Angelica sophora gel group were down-regulated to varying degrees, and other symptoms were improved, showing good therapeutic effect. Conclusion: The quality of Danggui Kushen Gel prepared by this method is stable and uniform, and it has a significant therapeutic effect on eczema in mice.

Key words: Danggui Kushen Gel; eczema; pharmacodynamic research; orthogonal test; central composite design

湿疹是由内外多种因素引起的一种常见的皮肤炎症反应。据统计，成人湿疹发病率为 7% ~10%，儿童湿疹发病率达 30%[1-2]。一般表现为丘疱疹、瘙痒、皮肤干燥等，具有反复发作，难治愈等特性[3-4]，与免疫、遗传、环境等多种因素有关。目前西医治疗湿疹主要采用糖皮质激素、免疫抑制剂等[5]，虽疗效较好，但长期使用易造成患者对药物的依赖性，还可能产生局部感染，甚至引起全身不良反应[1,6-7]。

当归苦参丸源自明代嘉靖、万历年间名医龚信、龚廷贤父子治疗皮肤病的方药，后由同仁堂开发研制成丸剂。其由当归、苦参两味药组成，气微，味苦，功能凉血、祛湿，用于血燥湿热引起的湿疹刺痒，目前临床常见当归苦参丸用于治疗慢性湿疹、阴囊湿疹等皮肤疾病[8-10]，但丸剂服用存在首过效应、生物利用度低等缺点，不利于药效的发挥。凝胶剂是临床上治疗皮肤疾病的首选剂型，具有皮肤吸收率高、不良反应发生率低等优点[11]，因此考虑将当归苦参丸改制成凝胶剂，提高当归苦参制剂在皮肤的吸收效率。

胸腺基质淋巴细胞生成素（thymic stromal lymphopoietin, TSLP）对湿疹等免疫相关疾病中多种免疫细胞具有调控作用，有研究表明 TSLP 与湿疹严重程度、持续时间及表皮屏障功能密切相关[12]。

本研究采用正交试验优选当归苦参提取工艺，采用星点设计-效应面法优选当归苦参凝胶处方工艺，通过对指标成分的含量测定，发现其制剂稳定、质量均一，并对其治疗小鼠湿疹的药效进行初步研究。

1　材料

1.1　仪器　MS105 型十万分之一分析天平（瑞士梅特勒-托利多公司）；冷冻干燥机（北京博医康实验仪器有限公司）；PHS-3C 型 pH 计（上海仪电科学仪器有限公司）；Agilent 1260 高效液相色谱仪（Agilent 公司）；超纯水机（四川优普超纯科技有限公司）。

1.2　试剂　苦参、当归药材（郑州瑞龙制药股份有限公司，批号：22120101、22120202）；苦参碱、氧化苦参碱、阿魏酸标准品（成都曼思特生物科技有限公司，批号：MUST-23032312、MUST-23020913、MUST-22052411，纯度均≥99%）；卡波姆-940（北京索莱宝科技有限公司，批号：1021O021）；2,4-二硝基氯苯（2,4-dinitrochlorobenzene, DNCB）（上海麦克林生化科技有限公司，批号：BCCD8094）；复方醋酸地塞米松凝胶［金日制药（中国）有限公司，批号：221007］；免疫球蛋白 E（immunoglobulin E, IgE）、白细胞介素-6（interleukin-6, IL-6）、白细胞介素-1β（interleukin-1β, IL-1β）检测试剂盒（郑州联驰生物科技有限公司，批号：MM-0056M1、MM-0163M1、MM-0040M1）；TSLP 抗体（英国 Abcam 公司，批号：ab188766）；甲醇、乙腈、磷酸均为色谱纯，水为超纯水，其余试剂为分析纯。

1.3　动物　SPF 级 BALB/c 小鼠（5 ~6 周龄），购于济南朋悦实验动物繁育有限公司，生产许可证号：SCXK（鲁）2022-0006，所有动物实验经河南中医药大学实验动物伦理委员会审核批准，批准编号：DWLL202205003，且实验均按相关指导原则和规定进行。

2　方法

2.1　当归、苦参药材指标成分的含量测定

2.1.1　混合对照品溶液的制备　精密称定适量苦参碱、氧化苦参碱及阿魏酸对照品，用 20% 甲醇分别配制质量浓度为 1 g · L^{-1} 对照品溶液，采用倍比稀释法配制系列混合对照品溶液。

2.1.2　供试品溶液的制备　称取适量等比例当归、苦参药材粉末，8 倍水加热回流 2 次，每次 1 h，合并提取液，减压浓缩至 1 g · mL^{-1}，8 000 r · min^{-1} 离心 15 min，上清液用 20% 甲醇稀释，0.22 μm 微孔滤膜过滤，得供试品溶液。

2.1.3　色谱条件　YMC-Triart C_{18} 色谱柱（250.0 mm × 4.6 mm, 5 μm），乙腈（A）-0.2% 磷酸水溶液（B）为流动相，梯度洗脱：0 ~5 min、5% A，5 ~18 min、5% ~17% A，18 ~50 min、17% ~40% A，

流速 1.0 mL · min^{-1}，柱温 30 ℃，进样量 10 μL，检测波长 220 nm。

2.1.4　方法学考察

2.1.4.1　线性关系考察　按 2.1.3 项下色谱条件测定，峰面积为横坐标（X），对照品浓度为纵坐标（Y），建立回归方程。

2.1.4.2　精密度实验　取供试品溶液，按 2.1.3 项下色谱条件，连续进样 6 次，计算苦参碱、氧化苦参碱及阿魏酸峰面积的 RSD 值。

2.1.4.3　重复性实验　按 2.1.2 项下方法，平行制备 6 份供试品溶液，按 2.1.3 项下方法进样，计算苦参碱、氧化苦参碱及阿魏酸平均含量的 RSD 值。

2.1.4.4　稳定性实验　取一份供试品溶液，按 2.1.3 项下方法，分别于 0 h、2 h、4 h、8 h、12 h、24 h 进样，计算苦参碱、氧化苦参碱及阿魏酸峰面积的 RSD 值。

2.1.4.5　加样回收实验　取 2.1.3 项下制备的供试品溶液 0.5 mL，共 6 份，每份加入精密配制适量浓度混合对照品溶液 0.5 mL，按 2.1.3 项下色谱条件进样，计算苦参碱、氧化苦参碱及阿魏酸平均加样回收率和 RSD 值。

2.1.5　含量测定　按 2.1.2 项下方法平行制备 3 份供试品溶液，计算当归苦参药液中苦参碱、氧化苦参碱及阿魏酸平均含量。

2.2　正交试验设计优选当归－苦参药材提取工艺

采用 $L_9(3^4)$ 正交试验表进行设计，以料液比（A，倍）、提取溶剂（B）、提取次数（C，次）为考察因素，以苦参碱、氧化苦参碱、阿魏酸的总提取率和收膏率作为评价指标，当归、苦参药材提取正交设计因素水平见表 1。

综合评分 =［（苦参碱含量/苦参碱含量最大值）×0.15 +（氧化苦参碱含量/氧化苦参碱含量最大值）× 0.45 +（阿魏酸含量/阿魏酸含量最大值）×0.15 +（干浸膏得率/干浸膏得率最大值）× 0.25］×100%

表 1　正交设计因素与水平

水平	料液比（A）	提取溶剂（B）	提取次数（C）
1	1∶8	水	1
2	1∶12	50% 乙醇	2
3	1∶16	70% 乙醇	3

2.3　正交设计验证实验　按照最优提取工艺平行制备 3 份样品，计算平均综合评分。

2.4　星点设计优选当归苦参凝胶处方工艺

2.4.1　当归苦参凝胶的制备　精密称取卡波姆－940 适量，加超纯水充分溶胀 24 h，得凝胶基质，备用。将适量水、2.0 g 聚氧乙烯蓖麻油、3.2 g 甘油、0.8 g 新氮酮、0.1 g 山梨酸钾混匀后加入凝胶基质中，溶胀过夜；边搅拌边加入当归苦参浓缩液 3 mL，加三乙醇胺调节 pH 值至 7 左右，搅拌均匀，再加入超纯水至 20.0 g 得当归苦参凝胶。

2.4.2　当归苦参凝胶的评价指标[13－15]

2.4.2.1　外观　凝胶外观澄清透明、均匀细腻、无明显分层、无气泡为 10 分，根据凝胶均匀度，有无气泡，有无分层等给予不同分数。

2.4.2.2　涂展性　易于涂展，无油腻感为 10 分，根据涂布难易程度、舒适度等给予不同分数。

2.4.2.3　黏度　在室温下测定凝胶黏度，3 号转子，转速为 1.5 r · min^{-1}，黏度在 40 000～50 000 mPa · s^{-1} 范围内为 10 分，根据实际数值给予不同分数。

2.4.2.4　保湿率　精密称定适量干燥至恒定质量 m_0 的凝胶，均匀涂于载玻片上，置恒温恒湿［（25 ± 2）℃，（43 ± 2）%］密闭干燥器中 24 h 后取出，精密称定质量 m_t，计算保湿率，保湿率 =（m_t/m_0）× 100%，数值最高者为 10 分，根据实际数值给予不同分数。

2.4.2.5　稳定性　离心稳定性：取适量当归苦参凝胶于离心管中，8 000 r · min^{-1} 离心 10 min，分层记 0 分，未分层继续离心，仍未分层记 10 分，轻微分层现象记 5 分，明显分层记 1 分；耐热稳定性：取适量凝胶于离心管中，置 50 ℃恒温箱中 12 h，未分层记 10 分，轻度分层记 5 分，明显分层记 1 分；耐寒稳定性：取适量凝胶于离心管中，置 －20 ℃环境中 24 h，未分层记 10 分，轻度分层记 5 分，明显分层记 1 分；耐冷稳定性：取适量凝胶于离心管中，置 4 ℃冰箱 24 h，未分层记 10 分，轻度分层记 5 分，明显分层记 1 分。

2.4.3　综合评分计算　制备好的凝胶外观应光滑细腻，易于涂布且具有一定黏度，贴于皮肤使治疗更充分，同时稳定、便于保存，性状不易随着温度、时间等发生改变。

凝胶综合评分（Y）= 外观 ×0.3 +（黏度 + 涂展性 + 保湿率）× 0.45 +（离心稳定性 + 耐热稳定性 + 耐寒稳定性 + 耐冷稳定性）×0.25

2.4.4　星点设计－效应面法　通过前期实验发现卡波姆－940（X_1）、甘油（X_2）、聚氧乙烯蓖麻油（X_3）3 个因素对当归苦参凝胶有较大影响。故以凝胶中各因素用量为考察条件，根据凝胶综合评分（Y），运用 Design－Expert 13 软件对最优制备工艺

进行预测。采用星点设计－效应面法进行设计，因素水平见表 2。

表 2　星点设计因素与水平

Y	X_1/%	X_2/%	X_3/%
－1.682	0.66	5.27	1.95
－1	1.0	8	4
0	1.5	12	7
1	2	16	10
1.682	2.34	18.73	12.04

2.4.5　星点设计验证实验　按照优选出的制备工艺平行制备 3 份当归苦参凝胶，并进行综合评分。

2.5　当归苦参凝胶的含量测定

2.5.1　色谱条件　同 2.1.3 项下方法。

2.5.2　溶液的制备

2.5.2.1　供试品溶液的制备　称取适量当归苦参凝胶，加入 20% 甲醇，精密称定，超声处理（频率 3×10^4 Hz、功率 800 W）30 min，冷却至室温后补足失去的质量，离心取上清液，0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得。

2.5.2.2　混合对照品溶液的制备　按 2.1.1 项下方法制备混合对照品溶液。

2.5.2.3　空白凝胶溶液的制备　按 2.5.2.1 项下方法制备空白凝胶溶液。

2.5.3　方法学考察

2.5.3.1　线性关系考察　同 2.1.4.1 项下方法。

2.5.3.2　精密度实验　取一份 2.5.2.1 项下制备的供试品溶液，按 2.1.3 项下色谱条件，连续进样 6 次，计算苦参碱、氧化苦参碱及阿魏酸峰面积的 RSD 值。

2.5.3.3　重复性实验　按照 2.5.2.1 项下方法，平行制备 6 份供试品溶液，按 2.1.3 项下方法进样，计算苦参碱、氧化苦参碱及阿魏酸平均含量的 RSD 值。

2.5.3.4　稳定性实验　取一份 2.5.2.1 项下制备的供试品溶液，按 2.1.3 项下方法，分别于 0 h、2 h、4 h、8 h、12 h、24 h 进样，计算苦参碱、氧化苦参碱及阿魏酸峰面积的 RSD 值。

2.5.3.5　加样回收实验　取 2.5.2.1 项下制备的供试品溶液 0.5 mL，每份加入精密配制的混合对照品溶液 0.5 mL，共 6 份，按 2.1.3 项下色谱条件进样，计算苦参碱、氧化苦参碱及阿魏酸平均加样回收率和 RSD 值。

2.5.4　含量测定　按 2.5.2.1 项下方法平行制备 3 份供试品溶液，按 2.1.1 项下方法进样，计算当归苦参凝胶中苦参碱、氧化苦参碱及阿魏酸平均含量和 RSD 值。

2.6　当归苦参凝胶治疗小鼠湿疹的药效学评价

2.6.1　小鼠湿疹模型的建立[16-17]　SPF 级雄性 Balb/c 小鼠，体质量 20～25 g，5～6 周，随机分为 6 组，每组 10 只，分别为空白组、模型组、当归苦参凝胶低、中、高剂量组（当归苦参生药量分别为 150 mg·g^{-1}、300 mg·g^{-1}、600 mg·g^{-1}）、阳性药组（复方醋酸地塞米松凝胶，醋酸地塞米松含量为 0.75 mg·g^{-1}）。小鼠适应性喂养 1 周，背部剃毛，采用丙酮－橄榄油（4∶1）混合溶剂配制 DNCB 溶液，空白组在小鼠背部及耳部给予适量丙酮－橄榄油（4∶1）混合溶剂，其余各组给予 DNCB 溶液，第 1 天和第 4 天在背部皮肤涂抹 200 μL 1% DNCB 溶液，右耳皮肤涂抹 20 μL 1% DNCB 溶液进行激发，第 7 天及以后改用 0.5% DNCB 溶液继续造模，3 d 1 次，共 8 次。小鼠呈现耳部红肿、卷曲，背部呈现结痂、红斑等现象，代表造模成功。第 8 天开始治疗，空白组和模型组在小鼠背部和右耳给予适量空白凝胶（不含当归苦参药液），其余各组分别给予低、中、高剂量的当归苦参凝胶和复方醋酸米松凝胶涂抹在小鼠背部和右耳，给药剂量为 0.1 g·cm^{-2}，每天 1 次，连续给药 15 d。

2.6.2　湿疹程度评分　在实验过程中对各组小鼠的皮肤症状进行评分，评价指标：红斑/出血、疤痕/干燥、水肿和脱皮/糜烂（无 0；轻度 1；中度 2；重度 3），计算总分。

2.6.3　耳片肿胀度　实验第 23 天，颈椎脱臼法处死小鼠，沿轮廓线剪下双耳，直径 0.5 cm 打孔器剪切相同孔径耳组织圆片，称量，计算耳片肿胀度。

肿胀度＝（右耳片质量－左耳片质量）/左耳片质量×100%

2.6.4　脾脏系数　取小鼠脾脏，除去脂肪等物质，称量，计算脾脏系数。

脾脏系数＝脾脏质量/体质量×100%

2.6.5　组织病理学观察　取小鼠背部皮肤用 4% 多聚甲醛溶液固定，石蜡包埋，切成 5 μm 切片，脱蜡、水化，并用苏木精－伊红染色法（hematoxylin－eosin staining，HE）进行染色。光学显微镜观察背部皮肤病理变化。

2.6.6　炎症因子水平检测　小鼠摘眼球取血，4 ℃下 3 000 r·min^{-1}离心 10 min，取适量血清，运用酶联免疫吸附试验（enzyme linked immunosorbent assay，ELISA）对血清中 IgE、IL－6、IL－1β 水平进行测定。

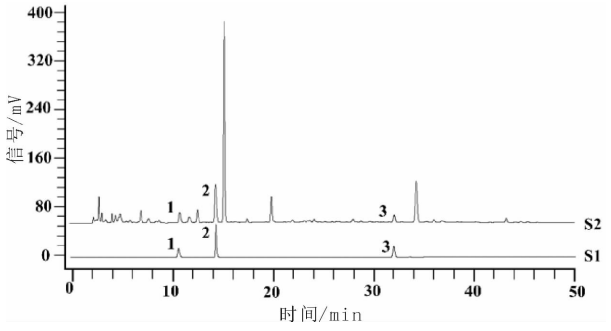
2.6.7　TSLP 蛋白表达测定　小鼠皮肤组织经裂

解液等一系列处理后，-20 ℃保存备用。聚丙烯酰胺凝胶中加 10 μg 样品进行电泳，转膜，5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h，TSLP 抗体（1∶1 000）4 ℃孵育过夜，室温孵育二抗 1 h，显影。采用 Image J 软件进行灰度值分析。

3　结果

3.1　当归、苦参药材指标成分的含量测定

3.1.1　色谱图　混合对照品和供试品溶液色谱图见图 1。



注：1：苦参碱；2：氧化苦参碱；3：阿魏酸。

图 1　混合对照品（S1）和当归苦参供试品溶液（S2）高效液相色谱图

3.1.2　方法学考察

3.1.2.1　线性关系考察　苦参碱、氧化苦参碱、阿魏酸线性范围分别为：5 ~ 160 mg · L^{-1}、15 ~ 480 mg · L^{-1}、2 ~ 64 mg · L^{-1}；线性方程为苦参碱：Y = 5.258 7X + 5.633 6（r = 0.999 9），氧化苦参碱：Y = 4.811 2X + 9.773 1（r = 1.000 0），阿魏酸：Y = 34.146X + 5.402（r = 0.999 8）。

3.1.2.2　精密度实验　苦参碱、氧化苦参碱及阿魏酸峰面积的 RSD 值分别为 1.0%、0.7%、1.6%，表明仪器精密度良好。

3.1.2.3　重复性实验　苦参碱、氧化苦参碱及阿魏酸平均含量的 RSD 值分别为 2.3%、1.9%、2.3%，表明该方法重复性良好。

3.1.2.4　稳定性实验　苦参碱、氧化苦参碱及阿魏酸峰面积的 RSD 值分别为 2.1%、1.1%、1.2%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

3.1.2.5　加样回收实验　苦参碱、氧化苦参碱及阿魏酸平均加样回收率分别为 101.10%、102.60%、98.91%，RSD 值分别为 2.2%、1.0%、1.1%，表明该方法准确度良好。

3.1.3　含量测定　当归苦参药液中苦参碱、氧化苦参碱及阿魏酸平均含量分别为 3.10 mg · g^{-1}、8.76 mg · g^{-1}、0.48 mg · g^{-1}。

3.2　正交试验结果　正交试验结果见表 3，方差分析结果见表 4。

表 3　正交试验设计与结果

组号	料液比（A）/倍	提取溶剂（B）	提取次数（C）/次	空白（D）	成分含量/mg · g^{-1}			出膏率/%	综合评分/%
					苦参碱	氧化苦参碱	阿魏酸		
1	1	1	1	1	1.14	4.02	0.14	21.00	38.36
2	1	2	2	2	1.33	8.90	0.43	35.00	74.66
3	1	3	3	3	0.94	11.52	0.41	33.00	78.00
4	2	1	2	3	1.99	7.93	0.32	31.00	69.96
5	2	2	3	1	1.31	8.77	0.35	36.00	71.12
6	2	3	1	2	0.62	8.68	0.35	30.00	62.60
7	3	1	3	2	2.61	9.08	0.41	41.00	87.26
8	3	2	2	3	0.69	7.87	0.37	30.00	61.68
9	3	3	1	1	0.61	12.85	0.40	35.00	80.22
K1	191.016	195.584	189.702	189.702					
K2	203.687	207.458	224.836	224.519					
K3	229.158	220.820	236.377	209.641					
k1	63.672	65.195	54.216	63.234					
k2	67.896	69.153	74.945	74.840					
k3	76.386	73.607	78.792	69.880					
R	12.714	8.412	24.576	11.606					

表 4　方差分析结果

因素	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
料液比（A）	251.570	2.000	125.785	1.236	
提取溶剂（B）	106.264	2.000	53.132	0.522	
提取次数（C）	4 225.886	2.000	2 112.943	20.769	<0.05
空白（D）	203.466	2.000			

注：$F_{0.05(2,2)}$ = 19。

K 值为每个因素各个水平下的综合评分总和，k 值为对应 K 值平均值，R 为对应因素下 k 值极差。R 值越大代表该因素影响越大，由表 3、表 4 可知各因素对综合评分影响依次为 C > A > B，故确定提取次数（C）为 3 次，料液比（A）1∶16，由于提取溶剂（B）R 值最小且 P 值无显著性差异，故提取溶剂（B）确定为水。最优提取工艺为 $A_3B_1C_3$，即 16 倍水加热回流 3 次，每次 1 h。

3.3　正交设计验证实验　平均综合评分为 87.57，RSD 值为 2.95%，表明提取工艺稳定可行。

3.4　星点设计结果　试验结果见表 5。

采用 Design－Expert 13 软件对表 5 数据进行相关处理，得到多元线性回归方程 $Y = 20.35 + 0.117\ 7A + 0.624\ 2B + 0.476\ 9C - 0.193\ 7AB - 0.631\ 2AC + 0.343\ 8BC - 3.18A^2 - 0.302\ 1B^2 - 0.240\ 2C^2$，相关系数 $r = 0.972\ 4$，表明该模型拟合良好。二项式回归模型方差分析结果见表 6，模型方差 $P < 0.000\ 1$，表明模型有显著性差异，失拟项 $P = 0.123\ 4 > 0.05$，表明无显著性差异，所以此模型可用于当归苦参凝胶性能的分析和预测。响应面分析结果见图 2，由图可知凝胶综合评分（Y）随着卡波姆－940、甘油、聚氧乙烯蓖麻油用量增加呈先增加后降低的趋势，以甘油、聚氧乙烯蓖麻油用量更为明显。最优制备工艺为：卡波姆－940 用量 1.5%，甘油用量 16%，聚氧乙烯蓖麻油用量 10%。

表 5　星点设计与结果

试验号	X1	X2	X3	Y
1	1.5	12	7	20.00
2	1.5	12	7	20.05
3	1.5	12	7	20.55
4	2	16	4	16.40
5	1	8	4	15.10
6	0.66	12	7	11.35
7	2	8	4	17.20
8	2.34	12	7	11.80
9	1	8	10	16.70
10	1.5	12	7	21.20
11	2	16	10	16.85
12	2	8	10	15.80
13	1.5	12	7	20.20
14	1.5	12	1.95	18.90
15	1.5	12	12.04	20.90
16	1	16	10	18.05
17	1.5	12	7	20.00
18	1	16	4	15.55
19	1.5	5.27	7	17.80
20	1.5	18.73	7	21.65

3.5　星点设计验证实验　当归苦参凝胶平均综合评分为 20.95，与预测值 21.24 相近，表明工艺稳定可行。

3.6　当归苦参凝胶的含量测定

3.6.1　色谱图　空白凝胶、混合对照品和供试品溶液色谱图见图 3。

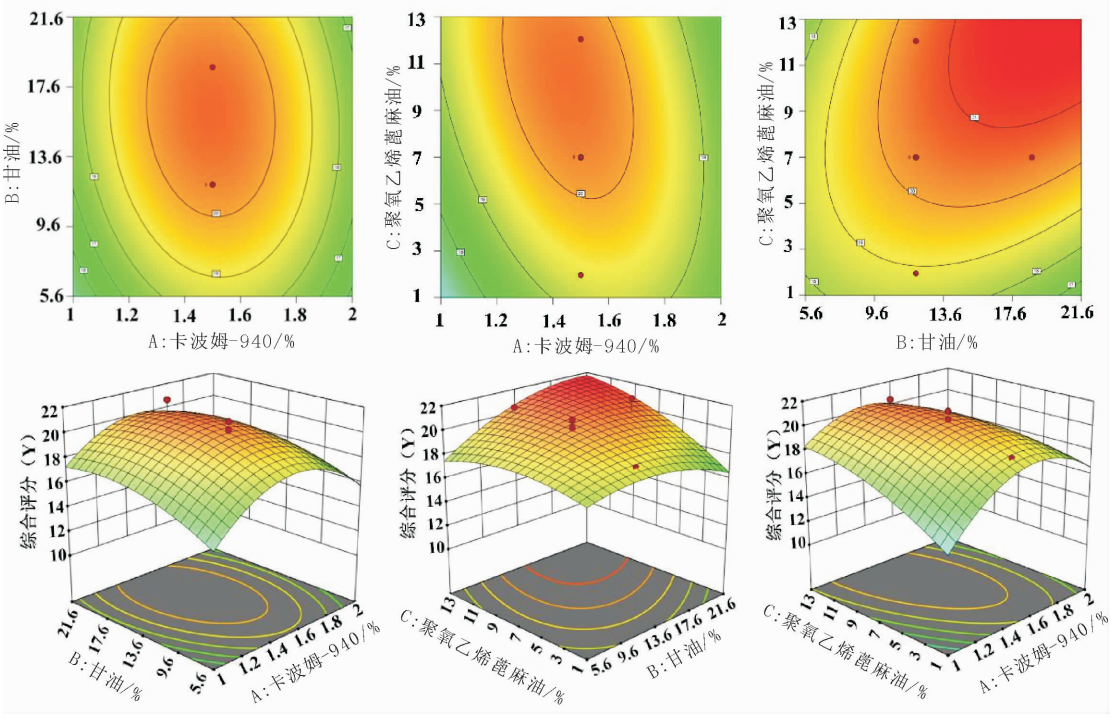
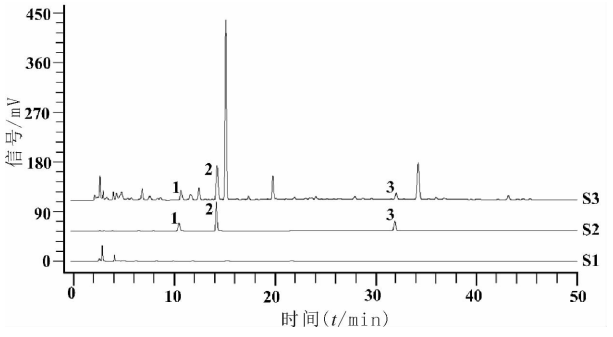


图 2　卡波姆－940（A）、甘油（B）、聚氧乙烯蓖麻油（C）用量对综合评分（Y）影响的等高线图和三维效应面图

表 6　二项式回归模型方差分析结果

方差来源	平方和	自由度	均方	*F* 值	*P* 值
Model	159.19	9	17.69	39.09	<0.000 1
A 卡波姆 -940	0.189 0	1	0.189 0	0.417 8	0.532 6
B 甘油	5.32	1	5.32	11.76	0.006 4
C 聚氧乙烯蓖麻油	3.11	1	3.11	6.87	0.025 6
AB	0.300 3	1	0.300 3	0.663 6	0.434 3
AC	3.19	1	3.19	7.04	0.024 1
BC	0.945 3	1	0.945 3	2.09	0.179 0
A2	146.06	1	146.06	322.76	<0.000 1
B2	1.32	1	1.32	2.91	0.119 1
C2	0.831 5	1	0.831 5	1.84	0.205 1
总残差	4.53	10	0.452 5		
失拟项	3.41	5	0.681 4	3.05	0.123 4
纯误差	1.12	5	0.223 7		
总和	163.72	19			



注：1：苦参碱；2：氧化苦参碱；3：阿魏酸。

图 3　空白凝胶溶液（S1）、混合对照品溶液（S2）和当归苦参凝胶供试品溶液（S3）高效液相色谱图

3.6.2　方法学考察

3.6.2.1　线性关系考察　苦参碱、氧化苦参碱、阿魏酸线性范围分别为：5 ~ 160 mg · L^{-1}、12.5 ~ 400.0 mg · L^{-1}、1 ~ 32 mg · L^{-1}；线性方程为苦参碱：Y = 4.956 4X + 5.517 6（r = 1），氧化苦参碱：Y = 5.555 3X + 3.801 2（r = 1），阿魏酸：Y = 29.589 0 X + 1.265 1（r = 1）。

3.6.2.2　精密度实验　苦参碱、氧化苦参碱及阿魏酸峰面积的 RSD 值分别为 0.2%、0.2%、0.6%，表明仪器精密度良好。

3.6.2.3　重复性实验　苦参碱、氧化苦参碱及阿魏酸平均含量的 RSD 值分别为 1.4%、0.4%、1.2%，表明该方法重复性良好。

3.6.2.4　稳定性实验　苦参碱、氧化苦参碱及阿魏酸峰面积的 RSD 值分别为 1.1%、0.3%、1.7%，表明该供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

3.6.2.5　加样回收实验　苦参碱、氧化苦参碱及阿魏酸平均加样回收率分别为 97.47%、103.40%、102.90%，RSD 值分别为 1.3%、1.6%、1.2%，表明该方法重复性良好。

3.6.3　含量测定　当归苦参凝胶中苦参碱、氧化苦参碱及阿魏酸平均含量分别为 0.41 mg · g^{-1}、1.38 mg · g^{-1}、0.04 mg · g^{-1}，RSD 值分别为 2.0%、1.6%、1.1%，表明凝胶制剂质量均一稳定。

3.7　当归苦参凝胶治疗小鼠湿疹的药效学评价

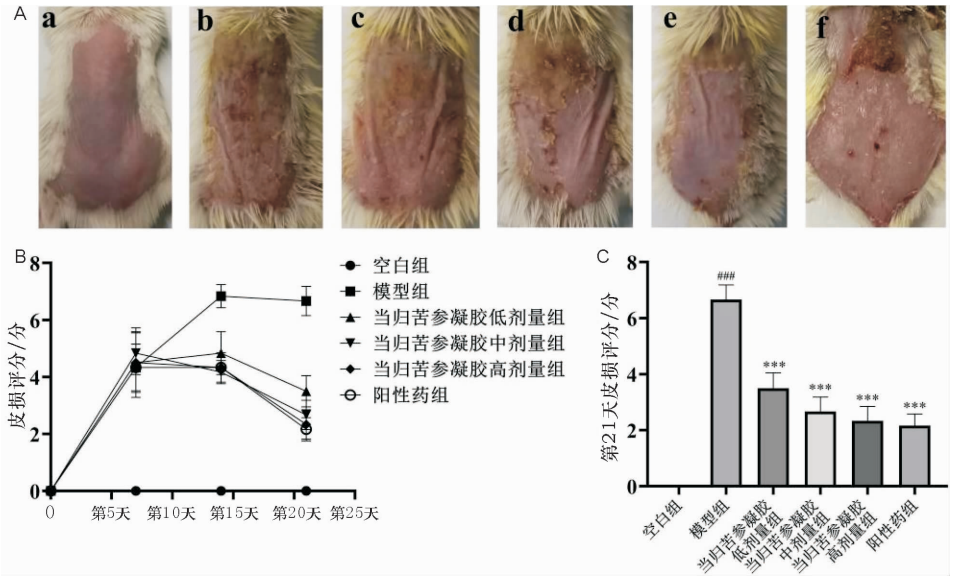
3.7.1　各组小鼠湿疹程度评分比较　小鼠湿疹模型示意图见图 4A。评分结果见图 4B，第 7 天，与空白组相比，其余各组临床皮损评分显著上升，表明小鼠湿疹模型造模成功；第 14 天、第 21 天，与模型组相比，各给药组评分均有所降低。由图 4C 可知，第 21 天，与空白组相比，模型组评分显著增加；与模型组相比，低、中、高剂量组和阳性药组评分显著降低（P <0.05）。

3.7.2　各组小鼠耳片肿胀度比较　结果见图 5A，从图中可以看出模型组小鼠耳片肿胀明显；与模型组相比，各给药组均有不同程度的降低，且当归苦参凝胶给药组呈现剂量依赖性。

3.7.3　各组小鼠脾脏系数比较　结果见图 5B，模型组小鼠脾脏系数显著高于空白组；与模型组相比，各给药组小鼠脾脏系数均显著降低（P <0.05）。

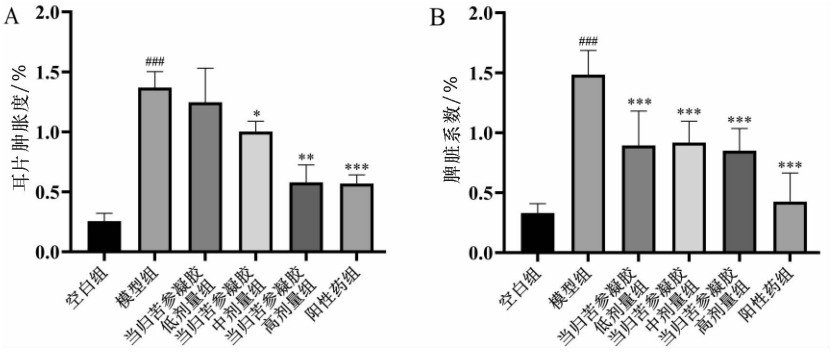
3.7.4　各组小鼠组织病理学观察结果比较　如图 6 所示，与空白组相比，模型组表皮厚度明显增加，且有大量的炎症细胞浸润；与模型组相比，当归苦参凝胶低剂量组表皮厚度略有改善，炎症细胞浸润减少，当归苦参凝胶中、高剂量组和阳性药组表皮厚度显著降低，且炎症细胞浸润得到明显改善（P < 0.05）。

3.7.5　各组小鼠炎症因子水平检测结果比较　从图 7 可以看出，与空白组相比，模型组 IgE、IL - 6、IL - 1β 水平均显著上调；与模型组相比，中、高剂量组和阳性药组炎症因子水平显著下调（P <0.05）。



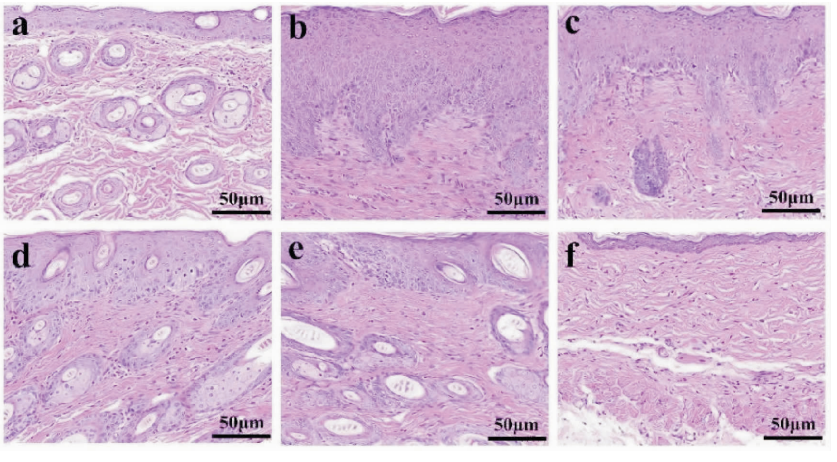
注：A：a—f 分别为空白组，模型组，当归苦参凝胶低、中、高剂量组，阳性药组；B：小鼠皮损评分图；C：小鼠第 21 天皮损评分；与空白组相比，###$P<0.001$；与模型组相比，***$P<0.001$。

图 4　各组小鼠湿疹模型示意图



注：与空白组相比，###$P<0.001$；与模型组相比，*$P<0.05$，**$P<0.01$，***$P<0.001$。

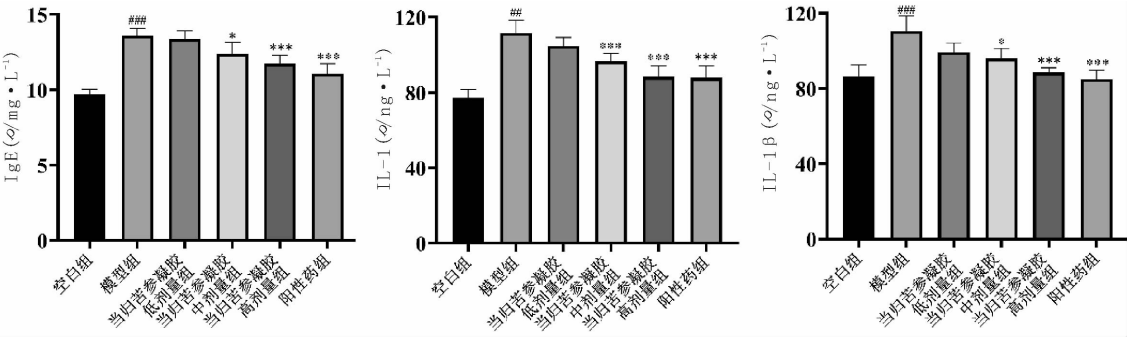
图 5　各组小鼠耳片肿胀度及小鼠脾脏系数比较



注：a—f 分别为空白组，模型组，当归苦参凝胶低、中、高剂量组，阳性药组。

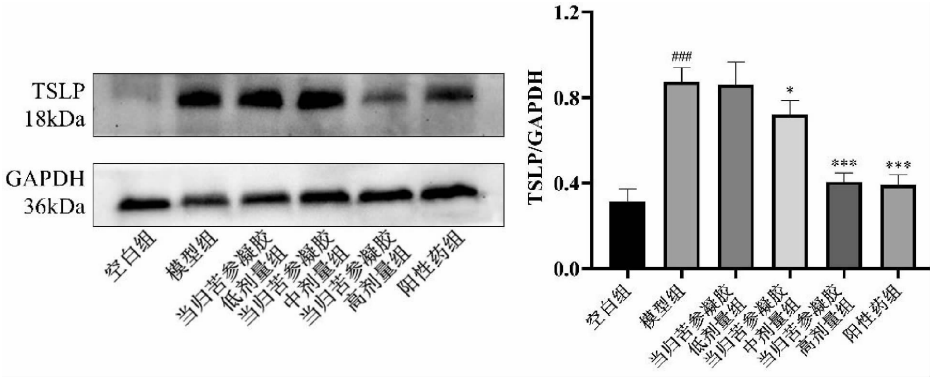
图 6　各组小鼠背部皮肤 HE 染色结果

3.7.6　各组小鼠 TSLP 蛋白表达测定结果比较　由图 8 可知，与空白组相比，模型组 TSLP 蛋白表达量上调；与模型组相比，各给药组 TSLP 表达水平呈现不同程度的减少，当归苦参凝胶高剂量组和阳性药组 TSLP 表达显著下调。



注：与空白组相比，##$P<0.01$，###$P<0.001$；与模型组相比，*$P<0.05$，***$P<0.001$。

图 7　各组小鼠血清中 IgE、IL－6、IL－1β 水平比较



注：与空白组相比，###$P<0.001$；与模型组相比，*$P<0.05$，***$P<0.001$。

图 8　各组小鼠 TSLP 蛋白表达水平比较

4　讨论

苦参碱、氧化苦参碱和阿魏酸作为当归、苦参的主要活性成分，以其含量和出膏率为评价指标，通过正交试验优选当归、苦参提取的最优工艺。前期通过单因素实验发现，当归苦参凝胶处方中卡波姆－940、甘油、聚氧乙烯蓖麻油用量影响较大，故对此进行深入研究。星点设计－效应面法是一种新型的实验设计方法，具有操作简单、精确度高的优点，能够较好地运用到凝胶剂的处方工艺优化中。本实验将单因素实验结果用于星点设计－效应面法模型拟合，建立三因素五水平实验模型，预测最佳制备工艺，验证实验与预测结果一致。

苦参在抗病毒、皮肤疾病等治疗中有重要作用，苦参中的关键喹嗪生物碱苦参碱，在治疗湿疹等皮肤病方面显示出良好的治疗效果[18]。Zhou 等[19]研究表明，阿魏酸治疗小鼠湿疹疗效较好，因此对当归苦参凝胶中苦参碱、氧化苦参碱、阿魏酸进行含量测定。IL－6 和 IL－1β 等促炎因子传递炎症信号，显著影响免疫和炎症反应调节[20－21]。Dong 等[22]研究发现氧化苦参碱质量浓度为 1～20 mg·L^{-1}时，可以下调 IL－6、IL－1β 等炎症因子的水平；贺乙等[23]研究发现当归饮子可以改善豚鼠湿疹皮肤表皮角化过度，降低血清中 IgE 等炎症因子水平，进而改善皮肤屏障。经研究发现当归苦参凝胶可以明显改善小鼠湿疹模型中 IgE、IL－6、IL－1β 炎症因子表达水平。TSLP 是治疗湿疹的重要靶点之一，有研究表明其在患者皮肤的表皮中高度表达[24]；Kim 等[25]研究表明 TSLP 在小鼠湿疹模型中过表达，且与湿疹症状息息相关。上述研究发现给药治疗后，当归苦参凝胶可以显著下调 TSLP 表达水平。

本研究制备当归苦参凝胶，有助于提高用药依从性。通过建立小鼠湿疹模型，结合小鼠耳片肿胀度、脾脏系数、皮肤组织病理切片、炎症因子水平和 TSLP 蛋白表达量各项指标，发现中、高剂量当归苦参凝胶对小鼠湿疹有良好的治疗作用，为该药的新药研发提供支撑。

参考文献：

[1] CALLEN J, CHAMLIN S, EICHENFIELD L F, et al. A systematic review of the safety of topical therapies for atopic dermatitis[J]. Br J Dermatol, 2007, 156(2): 203－221.

[2] CHAN H H L, NG T. Traditional Chinese medicine (TCM) and allergic diseases[J]. Curr Allergy Asthma Rep, 2020,

20(11):67.
[3]BEJJANI F,EVANNO E,ZIBARA K,et al. The AP-1 transcriptional complex:Local switch or remote command? [J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer,2019,1872(1):11-23.
[4]BROWN S J,IRWIN MCLEAN W H. One remarkable molecule:filaggrin[J]. J Invest Dermatol,2012,132(3 Pt 2):751-762.
[5]EICHENFIELD L F,TOM W L,BERGER T G,et al. Guidelines of care for the management of atopic dermatitis:section 2. Management and treatment of atopic dermatitis with topical therapies[J]. J Am Acad Dermatol,2014,71(1):116-132.
[6]陈兴,王梅,黄丽霞,等. 基于网络药理学探讨当归苦参丸治疗湿疹的作用机制[J]. 沈阳药科大学学报,2021,38(8):845-854.
[7]PUAR N,CHOVATIYA R,PALLER A S. New treatments in atopic dermatitis[J]. Ann Allergy Asthma Immunol,2021,126(1):21-31.
[8]常征,朱彬,张艳菊,等. 当归苦参丸联合透明质酸凝胶外用治疗脂溢性皮炎的效果分析[J]. 中国医药,2022,17(7):1079-1083.
[9]裴宇,万军,李龙学. 当归苦参丸联合咪唑斯汀片治疗慢性湿疹临床疗效观察[J]. 长江大学学报:自然科学版,2011,8(4):165,167.
[10]杜付祥. 止痒洗剂合当归苦参丸治疗阴囊湿疹 30 例[J]. 中国民间疗法,2004,12(6):29-30.
[11]李彩霞,王雪纯,余喻先,等. 中药新型外用制剂的研究进展[J]. 中国药房,2022,33(3):372-377.
[12]WANG S H,ZUO Y G. Thymic stromal lymphopoietin in cutaneous immune-mediated diseases[J]. Front Immunol,2021,12:698522.
[13]杨佳丽,赵阳,杜丽,等. 马齿苋鲜品凝胶制备及其对小鼠湿疹的初步作用[J]. 药学研究,2019,38(7):378-381,406.
[14]雷雅婷,张也,刘隆基,等. 湿疹康凝胶制备工艺优化及质量评价[J]. 中成药,2022,44(6):1745-1750.
[15]卢秀霞,潘婷婷,杨杏,等. 茶树油凝胶的制备及其药效学与刺激性评价[J]. 中草药,2018,49(21):5082-5092.
[16]HAN X Y,CHEN Z Y,YUAN J F,et al. Artemisia annua water extract attenuates DNCB-induced atopic dermatitis by restraining Th2 cell mediated inflammatory responses in BALB/c mice[J]. J Ethnopharmacol,2022,291:115160.
[17]KIM S Y,HAN S D,KIM M,et al. Mentha arvensis essential oil exerts anti-inflammatory in LPS-stimulated inflammatory responses via inhibition of ERK/NF-κB signaling pathway and anti-atopic dermatitis-like effects in 2,4-dinitrochlorobezene-induced BALB/c mice[J]. Antioxidants (Basel),2021,10(12):1941.
[18]SUN X Y,JIA L Y,RONG Z,et al. Research advances on matrine[J]. Front Chem,2022,10:867318.
[19]ZHOU Z K,SHI T X,HOU J,et al. Ferulic acid alleviates atopic dermatitis-like symptoms in mice via its potent anti-inflammatory effect[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol,2020,42(2):156-164.
[20]WOJDASIEWICZ P,PONIATOWSKI L A,SZUKIEWICZ D. The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis[J]. Mediators Inflamm,2014,2014:561459.
[21]ZENG H R,ZHAO B,RUI X,et al. A TCM formula VYAC ameliorates DNCB-induced atopic dermatitis via blocking mast cell degranulation and suppressing NF-κB pathway[J]. J Ethnopharmacol,2021,280:114454.
[22]DONG X Q,DU Q,YU W H,et al. Anti-inflammatory effects of oxymatrine through inhibition of nuclear factor-kappa B and mitogen-activated protein kinase activation in lipopolysaccharide-induced BV2 microglia cells[J]. Iran J Pharm Res,2013,12(1):165-174.
[23]贺乙,范丽娜,武亦阁,等. 当归饮子对血虚风燥型皮炎-湿疹表皮通透屏障功能障碍调控机制研究[J]. 现代中西医结合杂志,2022,31(1):16-20,25.
[24]GARCIA-REYES M M,ZUMAYA-PEREZ L C,PASTELIN-PALACIOS R,et al. Serum thymic stromal lymphopoietin (TSLP) levels in atopic dermatitis patients:a systematic review and meta-analysis[J]. Clin Exp Med,2023,23(8):4129-4139.
[25]KIM H M,KANG Y M,JIN B R,et al. Morus alba fruits attenuates atopic dermatitis symptoms and pathology in vivo and in vitro via the regulation of barrier function,immune response and pruritus[J]. Phytomedicine,2023,109:154579.

收稿日期:2025-01-17
作者简介:崔荣洽(1999-),女,河南周口人,理学硕士,主要从事中药新剂型的开发与应用研究。
通信作者:黄海英(1979-),女,河南三门峡人,教授,博士研究生导师,主要从事中药新剂型的开发与应用研究。E-mail:huang.haiying@126.com

编辑:纪彬