

[制剂工艺]

甘草酸耦合紫草水提物水凝胶制备及其治疗放射性皮肤损伤作用评价

次旦南卓¹, 次旺仁增¹, 蔡维维², 侯 豹², 邱丽颖^{2*}
(1. 西藏藏医药大学, 西藏 拉萨 850000; 2. 江南大学, 江苏 无锡 214122)

摘要: **目的** 制备甘草酸耦合紫草水提物水凝胶, 并评价其治疗放射性皮肤损伤作用。**方法** 自组合法制备水凝胶, 傅里叶红外光谱、X 射线衍射、扫描电镜、流变学分析进行表征, RT-qPCR、流式细胞术评价抗炎活性, 细胞活性测试、溶血实验评价生物安全性, 以 ROS 表达及 DPPH·、ABTS· 自由基清除率为指标评价抗氧化活性。小鼠随机分为模型组、水凝胶组 (200 μL)、康复新组 (200 μL), X 射线辐照诱导皮肤损伤, 病理学染色评价对放射性皮肤损伤的修复作用。**结果** 水提物中含有生物碱、黄酮、多糖, 其中多糖主要由 D-葡萄糖组成。水凝胶呈网状孔隙结构, 生物安全性良好, 抗炎、抗氧化活性较强, 通过抑制 *TNF-α*、*IL-1β* mRNA 表达及促进胶原沉积来修复放射性皮肤损伤。**结论** 甘草酸耦合紫草水提物水凝胶可促进放射性皮肤损伤修复, 为相关治疗提供了新思路。
关键词: 甘草酸; 紫草水提物; 水凝胶; 放射性皮肤损伤; 自组合法; *TNF-α*; *IL-1β*; 胶原沉积
中图分类号: R944 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2026)08-2527-09
doi: 10. 3969/j. issn. 1001-1528. 2026. 08. 005

Preparation of hydrogel of glycyrrhizic acid coupled with *Lithospermi Radix* aqueous extract and evaluation of its therapeutic effects on radioactive skin injury

Ci-dan-nan-zhuo¹, Ci-wang-ren-zeng¹, CAI Wei-wei², HOU Bao², QIU Li-ying^{2*}
(1. Xizang University of Tibetan Medicine, Lhasa 850000, China; 2. Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

ABSTRACT: **AIM** To prepare the hydrogel of glycyrrhizic acid coupled with *Lithospermi Radix* aqueous extract, and to evaluate its therapeutic effects on radioactive skin injury. **METHODS** The hydrogel was prepared by self-assembly method, after which the characterization was performed by Fourier-transform infrared spectroscopy, X-ray diffraction, scanning electron microscopy and rheological analysis, RT-qPCR and flow cytometry were adopted in the evaluation of anti-inflammatory activity, cell viability test and hemolysis experiment were applied to evaluating biological safety, and anti-oxidant activity was evaluated with ROS expression and scavenging rates of DPPH·, ABTS· free radicals as indices. Mice were randomly assigned into model group, hydrogel group (200 μL) and Kangfuxin group (200 μL), after which the skin damage was induced by X-ray irradiation, the repair effects on radiation skin damage were evaluated by pathological staining. **RESULTS** There were alkaloids, flavonoids and polysaccharides in the aqueous extract, among which polysaccharides were mainly composed of D-glucose. The hydrogel demonstrated a network pore structure with good biological safety and strong anti-inflammatory, anti-oxidant activities, which repaired radiation-induced skin injury by inhibiting *TNF-α*, *IL-1β* mRNA expressions and promoting collagen deposition. **CONCLUSION** The hydrogel of glycyrrhizic acid coupled with *Lithospermi Radix* aqueous extract can promote the repair of radiation skin damage, thus provide a new research idea for related treatment.

收稿日期: 2026-03-17
基金项目: 西藏自治区科技计划项目 (XZ202101YD0003C); 西藏藏医药大学关于藏医药“十四五”规划内涵建设三期项目 (2023ZYGH04); 西藏藏医药大学学科建设项目 (BSDJS-25-XK-03)
作者简介: 次旦南卓 (1984—), 男, 硕士, 副教授, 研究方向为藏医药基础。E-mail: cdnzzydx@sina.com
* 通信作者: 邱丽颖 (1965—), 女, 博士, 教授, 研究方向为天然产物开发与应用。E-mail: qiulydoc@sina.com

KEY WORDS: glycyrrhetic acid; *Lithospermi Radix* aqueous extract; hydrogel; radioactive skin injury; self-assembly method; TNF- α ; IL-1 β ; collagen deposition

随着介入放射技术在临床上的成熟应用，长期工作在介入科和核医学科的一线职业人员常受慢性放射性皮肤损伤的困扰^[1]，严重时会出现皮肤溃疡、坏死、纤维化等症状^[2]。目前，临床上常以介入防护手套防护，但沉重的铅手套会影响精细操作，故开发可涂抹、使用便捷的外用制剂成为研究热点。

紫草具有凉血活血、清热解毒、透疹消斑等作用^[3]，常用于治疗疮疡、湿疹、水火烫伤，大多制成外用制剂，在治疗皮肤疾病过程中效果显著，能有效促进创面愈合^[4]，主要含生物碱、黄酮等成分，可抑菌、抗炎、免疫调节、抗氧化等^[5]。甘草广泛分布于我国北方及中亚国家^[6]，素有“国老”美誉^[7]，主要成分甘草酸具有较强的抗炎、抗病毒、抗菌、免疫调节作用^[8]，对炎症性、免疫性、感染性皮肤病均有良好的疗效^[9-11]，并且常与其他中药配伍，可增强疗效，降低后者不良反应^[12]。

因此，本实验利用甘草酸易组装成超分子水凝胶的特性，将其与紫草水提物耦合，制备甘草酸耦合紫草水提物，并考察该制剂治疗放射性皮肤损伤作用，以期充分发挥两者治疗优势及水凝胶良好性能。

1 材料

1.1 动物 40 只雄性 8 周龄 SPF 级 BALB/c 小鼠，平均体质量 (20 $\pm$ 2) g，由无锡市惠山江南实验动物场提供，动物使用许可证号 SYXK (苏) 2023-0005。研究经江南大学实验动物伦理委员会批准 (伦理编号 JN. NO20251114B032041 [173])。

1.2 试剂、药物与药材 甘草酸对照品 (货号 B10407) 购自上海士峰生物科技有限公司。脂多糖 (LPS, 编号 bs-8000P) 购自北京博奥森生物技术有限公司。即用型 SABC-POD 免疫组化试剂盒 (货号 1001)、DAB 显色试剂盒 (货号 1025) 均购自南京建成生物工程研究所；IL-1 β (货号 P8037-1)、TNF- α (货号 P9119-48T) ELISA 检测试剂盒均购自上海泰坦科技股份有限公司。IL-1 β 抗体 (货号 16806-1-ap) 购自武汉三鹰生物技术有限公司；TNF- α 抗体 (货号 A11534) 购自武汉爱博泰克生物技术有限公司。*L*-抗坏血酸 (货号 01080764) 购自上海优试化工有限公司；地塞米松 (DXMS,

货号 04497460) 购自上海泰坦科技股份有限公司。积雪苷霜软膏 (序列号 0204945423) 购自海南普利制药股份有限公司；地奈德乳膏 (国药准字 H20233813) 购自湖北人福成田药业有限公司；康复新液 (批号 B240946) 购自四川好医生攀西药业有限责任公司。其他试剂均购自国药集团化学试剂有限公司。紫草由西藏藏医药大学提供，经西藏藏医药大学藏药系格桑顿珠教授鉴定为正品。

1.3 仪器 数字切片扫描系统 (型号 Panoramic MIDI, 匈牙利 3DHISTECH 公司)；生物学 X 射线辐照仪 (型号 RS2000PRO, 美国 RadSource 公司)；傅里叶红外光谱仪、X 射线衍射仪 (型号 TENSOR II、D2 PHASER A26-X1-A2E0B2A0, 德国 Bruker 公司)；全功能微孔板检测仪 (型号 Synergy H4, 美国 BioTek 公司)；扫描电子显微镜 (型号 su1510, 日本日立公司)；旋转流变仪 (型号 Physica MCR301, 奥地利安东帕公司)；超高效液相色谱仪 (型号 Vanquish, 美国赛默飞世尔科技公司)；麻醉机 (型号 R500, 深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司)；高效液相色谱 (型号 Agilent 1100, 美国 Agilent 公司)。

1.4 细胞 RAW264.7 巨噬细胞购自武汉普诺赛生命科技有限公司；L929 小鼠成纤维细胞购自中国科学院细胞库。

2 方法

2.1 模型建立 40 只小鼠随机分为模型组、水凝胶组、康复新组、积雪苷霜组、地奈德乳膏组，麻醉后用脱毛膏进行腿部脱毛，生理盐水擦拭干净，侧卧于生物学 X 射线辐照仪中，脱毛腿部向上，设置辐照剂量为 40 Gy。辐照结束后，水凝胶组每天在辐照部位皮肤涂抹 200 μ L 水凝胶，康复新组每天涂抹 0.2 mL 康复新液，积雪苷霜组、地奈德乳膏组每天涂抹 0.2 g 药膏。15 d 后取皮，考察其损伤情况并评分，评分标准为大面积创伤未愈，计 3 分；小面积创伤未愈，计 2 分；皮肤红肿，计 1 分；皮肤无损伤，计 0 分。

2.2 取材 小鼠麻醉后眼球取血，脱颈处死，剪下腿部皮肤，一部分用 4% 多聚甲醛固定，用于苏木素-伊红 (HE) 染色和免疫组织化学研究；另一部分置于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱中保存，进行蛋白提取检测。

2.3 HE 染色、Masson 染色 采用石蜡对小鼠皮肤

组织进行包埋，制成厚度为 5 μm 的切片，置于 65 ℃烘箱中融蜡，预热二甲苯脱蜡，梯度乙醇水化，对细胞核和细胞质进行 HE 染色，梯度乙醇脱水，中性树胶封片，采用数字切片扫描系统进行扫描。

切片脱蜡水化，苏木素染色 8 min，蒸馏水洗涤，继续分化，丽春红染液染色 8 min，弱酸清洗液洗涤，分别用磷钼酸、苯胺蓝染色液染色 1 min。清洗后快速脱水，二甲苯透明，中性胶密封。通过 Image J 软件分析胶原沉积面积。

2.4 免疫组织化学 (IHC) 染色 将小鼠皮肤组织石蜡切片在 65 ℃下烘烤 1 h，二甲苯脱蜡，梯度酒精水化，柠檬酸盐缓冲液进行抗原修复，加入 H₂O₂，室温孵育 15 min 以灭活过氧化物酶，血清封闭 30 min 以减少非特异性结合，一抗、二抗孵育，DAB 显色，梯度酒精脱水，二甲苯透明，中性树胶封片。通过 Image J 软件分析阳性面积。

2.5 细胞培养 RAW264.7 巨噬细胞在含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基中培养，L929 细胞在含 10% 血清、1% 双抗体的 DMEM 中培养，设置 5% CO₂ 培养箱温度为 37 ℃，细胞增殖 80%~90% 时收集，进行下一次传代和铺板。首先，丢弃培养皿中的培养基，适量预热 PBS 缓冲液洗涤细胞 3 次。然后，采用移液枪分离附着在培养皿底部的细胞，充分混合，收集悬浮液。最后，适当稀释细胞悬浮液，在显微镜下采用血细胞计数器进行计数。

2.6 RT-qPCR 检测 IL-1β、TNF-α mRNA 表达 取对数生长期 RAW264.7、L929 细胞，以每孔 2×10⁵ 个的密度接种于 6 孔板中，设置空白对照组、LPS 组 (1 μg/mL)、给药组 (1 μg/mL LPS+0.1%、0.5%、2.5% 水凝胶)、地塞米松组，孵育 24 h 后诱导炎症模型，采用 TRIzol 试剂提取 RNA，取 1 μg，逆转录成 cDNA，SYBR Green 进行荧光定量 PCR 检测。以 β-actin 为内参，采用 2^{-ΔΔCT} 法检测 IL-1β、TNF-α mRNA 表达。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Tab. 1 Primer sequences	
基因	引物序列 (5'-3')
IL-1β	正向 5'-GCTGAAAGCTCTCCACCTCAATG-3'
	反向 5'-TGTCTGTTGCTTGGTCTCTCTTG-3'
TNF-α	正向 5'-CATCTTCTCAAAATTCGAGTGAC-3'
	反向 5'-TGGGAGTAGACAAGGTACAAC-3'
β-actin	正向 5'-CATGGAGTCCTGTGGCATCC-3'
	反向 5'-CTCCTTCTGCATCCTGTCCG-3'

2.7 流式细胞术检测 采用 LPS (1 μg/mL) 诱导 RAW264.7 细胞向 M1 型巨噬细胞的极化，预处理后

对 RAW264.7、L929 细胞进行染色，破膜，CD86、CD206 巨噬细胞标记物固定，分析细胞表型。

2.8 水提物制备和表征

2.8.1 制备方法 称取干燥紫草根 100 g，粉碎后加入 10 倍量蒸馏水，在 100 ℃下提取 3 h，重复 3 次，提取液过滤后除去残渣，合并滤液，浓缩后分为 2 份，其中 1 份冻干，即得。

2.8.2 多糖提取与纯化 向“2.8.1”项下另一份浓缩液中加入乙醇，使其体积分数为 60%~80%，4 ℃静置过夜，沉淀离心后收集多糖，无水乙醇洗涤，冻干。

2.8.3 多糖含量测定 采用酸水解-莱茵-埃农氏法。称取粉碎后的水提物冻干粉适量，置于 250 mL 量瓶中，首先加入 50 mL 去离子水，再缓慢加入乙酸锌、亚铁氰化钾溶液各 5 mL，加入水定容至刻度，混匀，静置 30 min，过滤，取续滤液，准确吸取 50 mL，置于 100 mL 烧杯中，加入 5 mL 盐酸和 20 mL 水，摇匀，68 ℃水浴 15 min，取出，冷却，氢氧化钠溶液中和至中性，加入水定容至刻度。吸取碱性酒石酸铜甲、乙溶液各 5 mL，加入 10 mL 水，样品溶液滴定至终点，若多糖含量较低，则加入 10 mL 样品水解液，葡萄糖标准溶液滴定，以蓝色刚好褪去为终点，记录葡萄糖消耗体积，测定转化前后转化糖质量分数，计算蔗糖含量。

2.8.4 单糖组成分析

2.8.4.1 多糖水解 取多糖 20 mg，置于 10 mL 水解管中，加入 5 mL 2 mol/L TFA (液体样品取等体积 4 mol/L TFA，与样品溶液按 1:1 比例混合)，充入 N₂ (10 L/min，1 min) 封管，置于 110 ℃烘箱中水解 2 h，冷却后打开瓶盖，取 1 mL，加入 1 mL 甲醇，70 ℃水浴中 N₂ 吹干，重复 2 次以去除 TFA，加入 1 mL 0.3 mol/L NaOH 溶液充分溶解残渣，作为水解液。

2.8.4.2 单糖衍生化 取单糖标准液、多糖水解液各 400 μL，置于 5 mL 具塞试管中，加入 400 μL PMP 甲醇溶液，涡旋混匀，70 ℃水浴反应 2 h，取出，冷却至室温，加入 400 μL 0.3 mol/L HCl 中和 (pH 6~7)，加入水、氯仿各 1 200 μL，涡旋混匀，静置，弃去氯仿相，萃取 2 次，水相经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后进样分析。

2.8.4.3 色谱条件 C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm，5 μm)；流动相 100 mmol/L 磷酸钠缓冲液 (pH = 6.7) -乙腈；体积流量 1 mL/min；柱温

30 ℃；检测波长 250 nm；进样量 5 μL。

2.9 水凝胶制备 将 6 mmol/L 甘草酸溶于 1 mL PBS 缓冲液中，调节 pH 至 7.2，当甘草酸完全溶解后分别加入 10、30、50 mg 水提物（编号 1~3），80 ℃水浴孵育 6 h，置于 4 ℃冰箱中静置 24 h，即得。

2.10 傅里叶红外光谱分析 检测水提物、水凝胶在 4 000~400 cm⁻¹波数范围内的光谱分布。

2.11 DPPH·、ABTS⁺·自由基清除能力测定 将水凝胶与 DPPH·自由基溶液混合，作为测定液，同时设置对照液，在室温下置于黑暗中 30 min，4 000 r/min 离心 5 min，在 517 nm 波长处检测吸光度 A，阳性药物为 L-抗坏血酸（Vc），计算 DPPH·自由基清除率，公式为清除率=[1-(A_{测定}-A_{对照})/A_{空白}]×100%。同法测定 ABTS⁺·自由基清除率。

2.12 统计学分析 通过 GraphPad Prism 9.5.0 软

件进行处理，数据以 ($\bar{x}\pm s$) 表示，组间比较采用 *t* 检验。*P*<0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 水提物组成表征 采用 UPLC-Q-TOF-MS 法鉴定出 595 种成分，见图 1A，主要包括生物碱、黄酮和多糖，其中正离子模式下鉴定出 341 种，其活性成分有小檗碱、伪麻黄碱、穿心莲内酯、甜菜碱等，具体见表 2，同时多糖含量为 59.81%，纯度为 93.71%。红外光谱（图 1B）显示，水提物具有典型的多糖特征^[13]，在 3 210.42 cm⁻¹附近的强峰是羟基振动伸缩，2 926.45 cm⁻¹处的强吸收带是 C-H 振动^[14]，1 400.35 cm⁻¹处的吸收峰是 C-O 拉伸振动^[15]，1 575 cm⁻¹处的弱吸收带是-NH、C-N 耦合酰胺 II 带^[16]，990.30 cm⁻¹处的吸收带是 C-N 伸缩振动。多糖中主要单糖为 D-葡萄糖，相对含量为 85.77%，见图 1C、表 3。

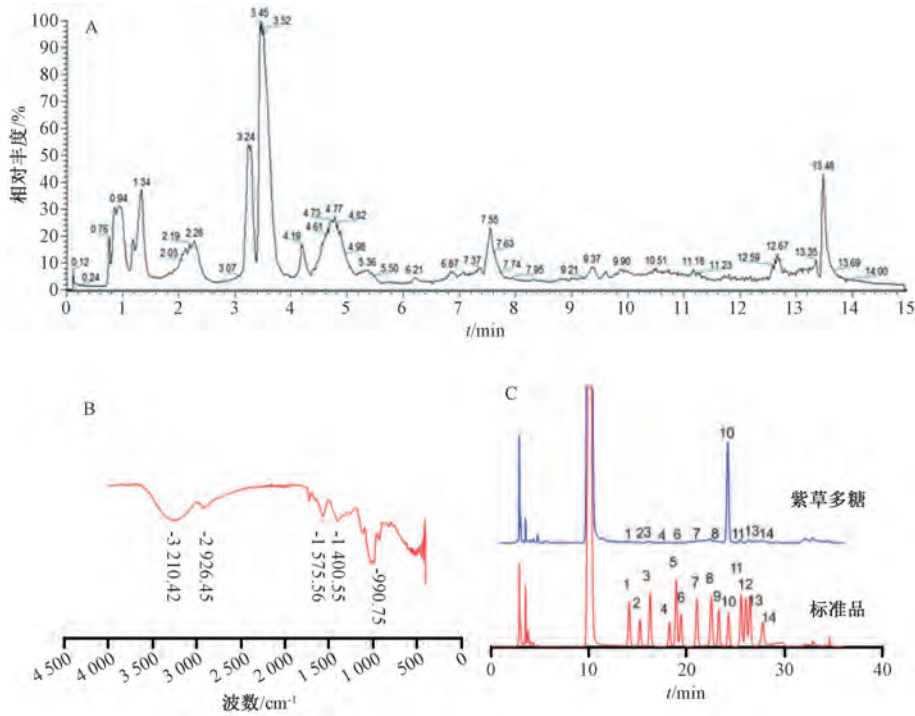


图 1 紫草水提物组成表征

Fig. 1 Component characterization of *Lithospermi Radix* aqueous extract

3.2 水凝胶表征 孵育 6 h、静置 24 h 后，1、2 号水凝胶由液态变为凝胶态，见图 2A，并且冻干后呈均匀排列的网状孔隙结构，见图 2B。

在傅里叶红外光谱（图 2C）中，C-O 拉伸振动引起 1 400.35 cm⁻¹处的吸收峰，与甘草酸耦合后迁移到 1 417.42 cm⁻¹处；C-N 键伸缩振动在 990.30 cm⁻¹处产生的吸收带偏移至 1 042.34 cm⁻¹处，但在 3 210.42 cm⁻¹附近多糖羟基振动伸缩引

2530

起的吸收带并未产生明显偏移，表明水提物与甘草酸通过弱相互作用力来产生稳定的耦合。

在 X 射线衍射图谱^[17]（图 2D）中，有 10 个显著衍射峰，分别为 2θ 8.395°、12.315°、13.943°、14.989°、15.812°、15.933°、16.295°、17.202°、14.989°、20.295°、29.723°处的尖锐峰，结晶有序；甘草酸与水提物自组装后，前者特征衍射峰消失，形成新的二维结构，并且在 2θ 31.391°、

表 2 紫草水提物活性成分

Tab. 2 Active components in *Lithospermi Radix* aqueous extract

序号	名称	分子式	相对分子质量	t_R/min	离子模式
1	甜菜碱	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2$	118.086 5	0.316	$[\text{M}+\text{H}]^+$
2	胆碱	$\text{C}_5\text{H}_{13}\text{NO}$	104.107 4	0.845	$[\text{M}+\text{H}+\text{CH}_3\text{OH}]^+$
3	芽子碱	$\text{C}_9\text{H}_{15}\text{NO}_3$	168.101 8	1.820	$[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$
4	伪麻黄碱	$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{NO}$	166.122 6	3.398	$[\text{M}+\text{H}]^+$
5	多花水仙碱	$\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_5$	332.148 6	6.098	$[\text{M}+\text{H}]^+$
6	小檗碱	$\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{NO}_4$	336.122 3	6.112	$[\text{M}+\text{H}]^+$
7	穿心莲内酯	$\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_5$	311.221 3	8.065	$[\text{M}+\text{H}]^+$
8	棕榈酰肉碱	$\text{C}_{23}\text{H}_{45}\text{NO}_4$	400.341 4	12.704	$[\text{M}+\text{H}]^+$
9	毒芹碱	$\text{C}_8\text{H}_{17}\text{N}$	128.143 5	13.578	$[\text{M}+\text{H}]^+$

45.261°、56.759°、78.549°处形成新的尖锐峰,即有序结晶结构。

在紫外图谱(图 2E)中,水凝胶呈现显著的红移现象,表明其颜色有明显变化。

随着 pH 变化,水凝胶电位发生改变,主要为负电位,见图 2F。因此,水凝胶能通过阳离子陷阱效应来产生定向热电场,有效引导细胞定向迁移,整合促血管生成外泌体等活性成分,均匀分散并控制释放,实现电场刺激与生物活性因子协同作用,促进再上皮化和真皮再生,从而提升创面愈合效果。

在 37 ℃ 下,水凝胶黏度范围在 $1.0\times 10^{-1} \sim$

表 3 单糖相对含量测定结果

Tab. 3 Results for relative content determination of monosaccharides

序号	名称	相对含量/%	t_R/min
1	L-古洛糖醛酸	0.591	14.072 9
2	D-甘露糖醛酸	0.094	14.990 7
3	D-甘露糖	0.622	16.217 7
4	D-氨基葡萄糖	0.395	17.979 3
5	D-核糖	0	0
6	L-鼠李糖	0.155	19.368 2
7	D-葡萄糖醛酸	0.218	21.406 3
8	D-半乳糖醛酸	1.408	22.327 9
9	D-氨基半乳糖	0	0
10	D-葡萄糖	85.773	24.203 7
11	D-半乳糖	1.711	25.432 0
12	D-木糖	0	0
13	L-阿拉伯糖	2.507	26.351 4
14	L-岩藻糖	6.527	27.771 1

$1.0\times 10^5 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ 之间,并且随着剪切速率增加而逐渐降低,表明水凝胶具有稳定的弹性网络和流动性,能实现有效的药物输送,避免其坍塌,见图 2G;1、2 号水凝胶损耗模量 G'' 在 $1.0\times 10^{-1} \sim 1.0\times 10^2 \text{ r/s}$ 范围内,超过储能模量 G' ,表明水凝胶主要表现为黏性,并呈现出液态,见图 2H。

综上所述,1、2 号水凝胶均具有良好的相关特性。根据制剂在皮肤上适宜涂抹的情况,最终选择 2 号水凝胶用于后续细胞、动物实验。

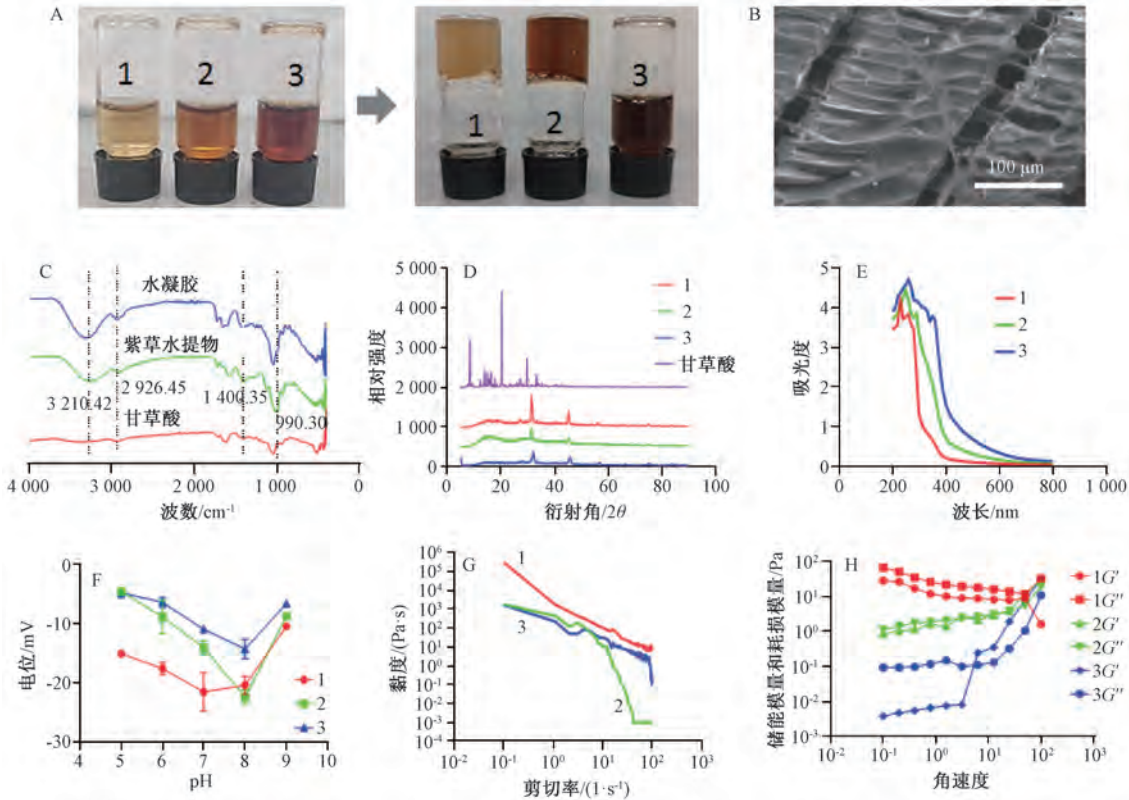


图 2 甘草酸耦合紫草水提物水凝胶表征图

Fig. 2 Characterization plots for hydrogel of glycyrrhizic acid coupled with *Lithospermi Radix* aqueous extract

3.3 体外活性评价

3.3.1 生物安全性 由图 3A~3B 可知，2 号水凝胶在浓度 0.02% ~ 12.5% 范围内对 RAW264.7、L929 细胞活性均无显著影响 ($P>0.05$)。由图 3C 可知，水凝胶浓度分别为 0.1%、0.5%、2.5% 时，溶血率分别为 0.333%、0.400%、0.612%，均明显低于国际标准化组织规定的物质溶血率标准 (2%)，表明其生物安全性良好。

3.3.2 抗炎活性 由图 4A~4D 可知，LPS 诱导 RAW264.7 细胞比例增加至 42.00% ($P<0.01$)，而水凝胶干预后降低 ($P<0.01$)，并且 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ mRNA 表达亦然 ($P<0.01$)。由图 4E~4F 可知，LPS 可促进 L929 细胞 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ mRNA 表达 ($P<0.01$)，而水凝胶干预后两者 mRNA 表达降低 ($P<0.01$)，与地塞米松接近。

3.3.3 抗氧化活性 由图 5A~5B 可知，随着水凝胶浓度增加 ROS 水平降低 ($P<0.01$)。由图 5C~5D 可知，随着水凝胶浓度增加 DPPH ·^[18]、ABTS⁺ ·^[19] 自由基清除率升高，但弱于 *L*-抗坏血酸。

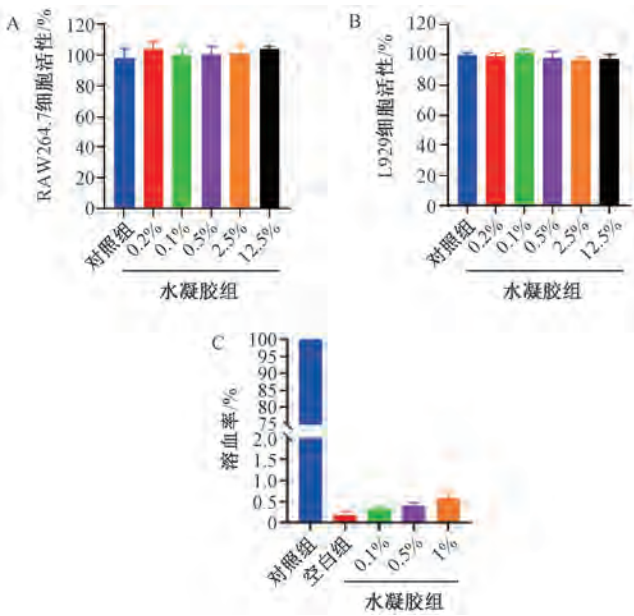
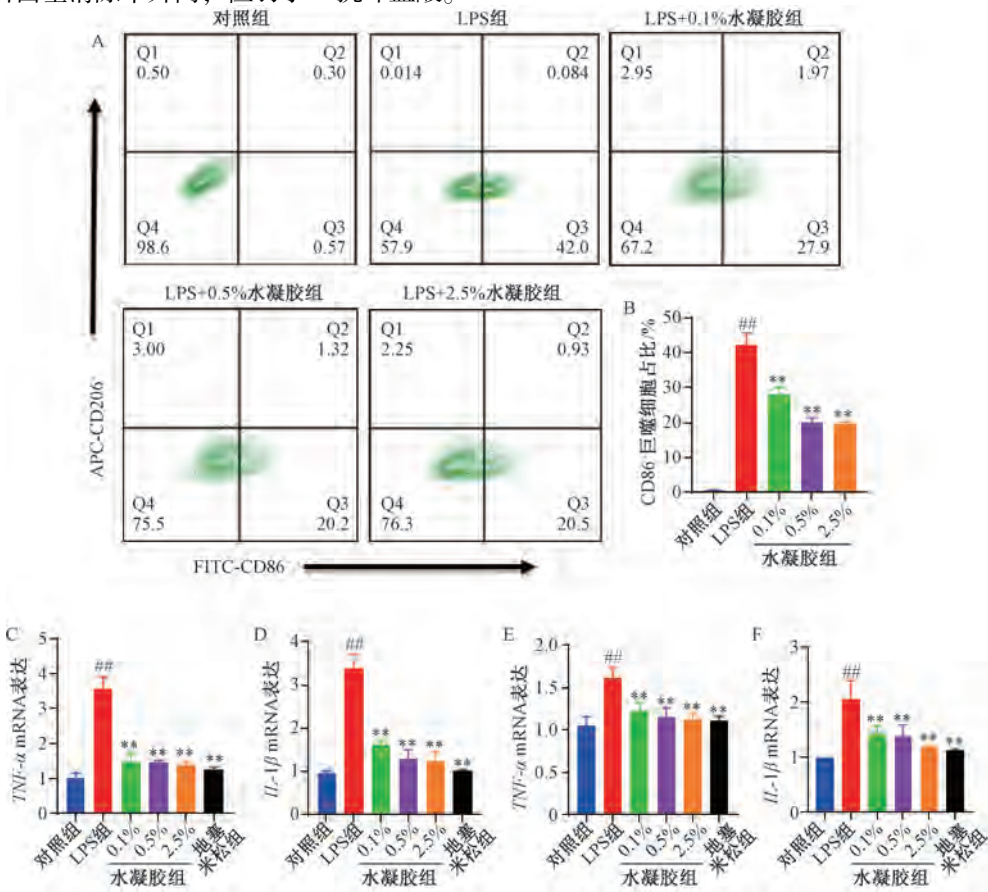


图 3 甘草酸耦合紫草水提取物水凝胶生物安全性

Fig.3 Biological safety of hydrogel of glycyrrhizic acid coupled with *Lithospermi Radix* aqueous extract



注：与对照组比较， $^{##}P<0.01$ ；与 LPS 组比较， $^{**}P<0.01$ 。

图 4 甘草酸耦合紫草水提取物水凝胶抗炎活性 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Fig.4 Anti-inflammatory activity of hydrogel of glycyrrhizic acid coupled with *Lithospermi Radix* aqueous extract ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

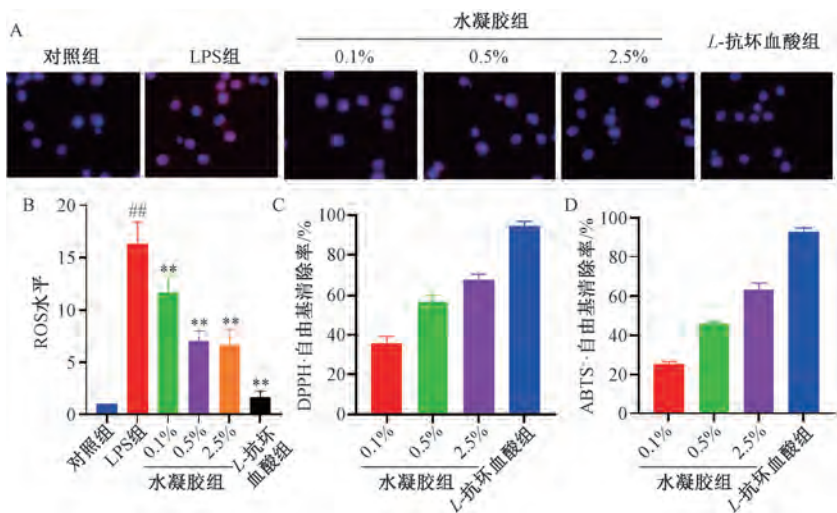


图 5 甘草酸耦合紫草水提物水凝胶抗氧化活性 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

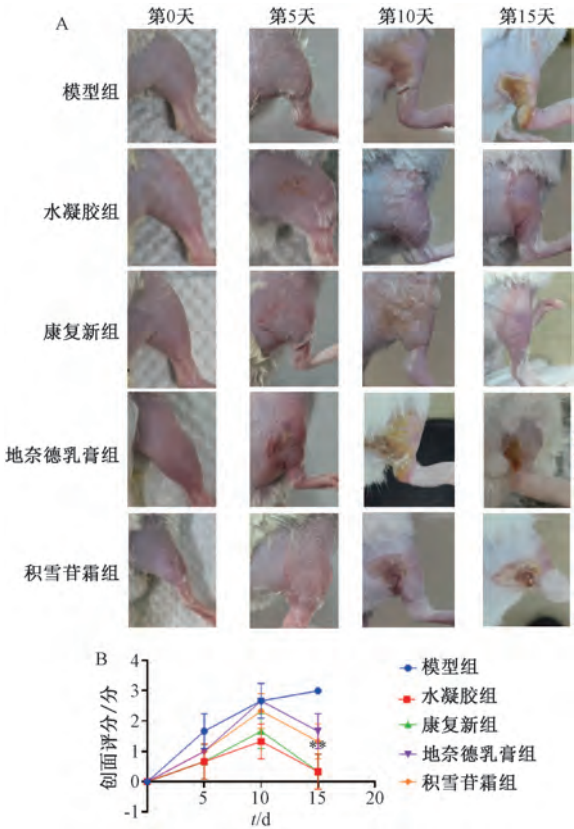
Fig. 5 Anti-oxidant activity of hydrogel of glycyrrhizic acid coupled with *Lithospermi Radix* aqueous extract ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

3.4 体内药效学评价 由图 6A 可知, X 射线照射 5 d 后小鼠皮肤出现红肿、脱皮等症状; 10 d 后模型组开始出现破溃, 而水凝胶组和康复新组出现脱皮; 15 d 后模型组出现大面积破溃, 而水凝胶组、康复新组、地奈德乳膏组和积雪苷霜组长出新的皮肤。由图 6B 可知, 水凝胶组、康复新组、地奈德乳膏组和积雪苷霜组对小鼠皮肤损伤具有修复作用, 以水凝胶组更明显 ($P<0.01$), 这可能是因为制剂通过甘草酸“治疗体系——抗炎特性”“凝胶体系——形成网状结构”来起到治疗、负载水提物的双重作用, 并且甘草、紫草配伍效果显著优于单用前者。

HE 染色 (图 7A) 显示, X 射线照射 15 d 后模型组小鼠皮肤存在厚结痂层, 其下方皮肤组织被大量炎症细胞浸润; 水凝胶组小鼠皮肤开始出现新生上皮组织, 炎症细胞消退; 康复新组小鼠皮肤新生上皮组织较松散。Masson 染色 (图 7B) 显示, 水凝胶组和康复新组小鼠皮肤组织出现大量胶原蛋白, 并且其表达高于模型组 ($P<0.01$), 见图 7E。IHC 染色 (图 7C、7D、7F、7G) 显示, 水凝胶组和康复新组小鼠皮肤 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 表达低于模型组 ($P<0.01$)。

4 讨论与结论

X 射线辐照皮肤组织时, 会导致角质细胞、成纤维细胞 DNA 链断裂及碱基损伤, 影响细胞正常功能与增殖, 甚至引发凋亡^[20], 同时它与细胞内水分作用后产生大量自由基, 通过氧化反应来攻击生物大分子, 加重损伤^[21]。另外, 受损细胞释放

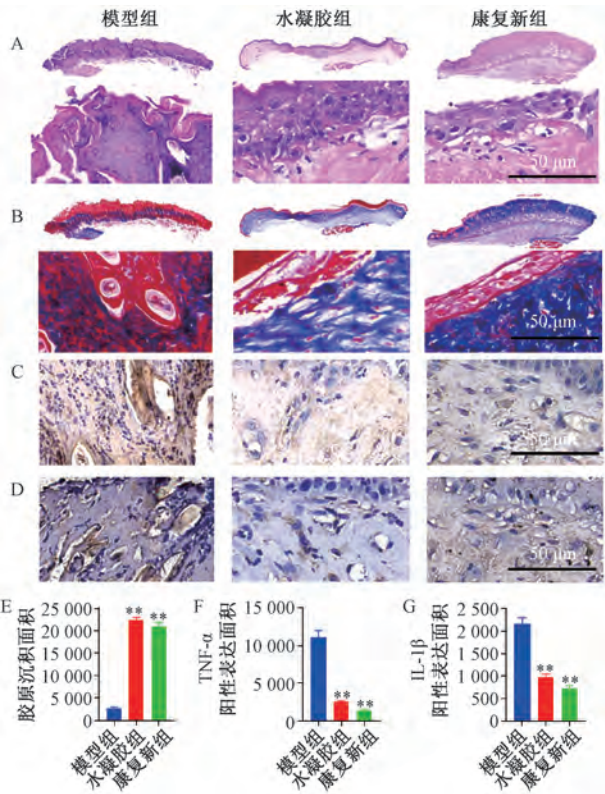


注: 与模型组比较, ** $P<0.01$ 。

图 6 甘草酸耦合紫草水提物水凝胶对 X 射线诱导小鼠皮肤损伤的修复作用 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Fig. 6 Repair effect of hydrogel of glycyrrhizic acid coupled with *Lithospermi Radix* aqueous extract on X-ray-induced mouse skin injury ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

炎症介质, 引发局部炎症, 使皮肤出现红肿、疼痛等症状^[22], 而上述炎症反应又会进一步加剧组织



注：与模型组比较，** $P < 0.01$ 。

图 7 各组小鼠皮肤病理学染色 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 7 Pathological stainings of mouse skins in various groups ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

损伤。甘草酸耦合紫草水提物水凝胶兼具紫草多糖的抗氧化作用、甘草酸的抗炎作用、水凝胶保湿易涂抹的优势，具有治疗放射性皮肤损伤的潜力。

甘草酸作为典型的中药小分子凝胶因子，因其独特的理化性质和生物活性而广泛应用于医药领域^[23]，其溶液可凭借自身结构基团，通过分子间氢键、疏水作用及 π - π 堆积来参与自组装^[24]。本实验发现，甘草酸与紫草水提物主要通过上述相互作用，并以物理交联为主来组装成凝胶，而紫草多糖中的羟基可与该成分形成稳定的胶体，并保留其生物活性^[25]，结合扫描电镜图像及甘草酸特性，推测其自组装可能形成控释框架，负载紫草水提物^[26]。

甘草酸耦合紫草水提物水凝胶具有良好的生物相容性和适宜的黏度，是应用于皮肤损伤的基础。体外实验证实，该制剂抗氧化、抗炎活性较强，可改善辐照小鼠皮肤损伤，加速胶原蛋白沉积及皮肤再生。

综上所述，甘草酸耦合紫草水提物水凝胶生物相容性和降解性良好，可形成三维网络结构，为皮

肤创面提供良好的愈合环境；紫草多糖与甘草酸协同作用时可清除自由基，减轻氧化损伤，抑制过度炎症，促进皮肤修复再生。同时，该制剂应用方便，安全性高，刺激性小，为治疗放射性皮肤损伤提供了新思路。

利益冲突：所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献：

[1] 周晓靓, 杨雨薇, 刘金剑, 等. 纳米氧化铍软膏对放射性皮肤损伤的防护作用[J]. 辐射防护, 2024, 44(6): 711-717.

[2] 张志兴, 石 磊. 介入放射学中的辐射防护[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2001, 21(3): 228-229.

[3] 沈晓静, 袁文娟, 刘佳瑶, 等. 紫草化学成分及生物活性研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(11): 102-110.

[4] 薛彩红, 滕 明. 紫草外用治疗皮肤病的研究进展[J]. 中国中医药现代远程教育, 2023, 21(2): 188-190.

[5] 詹志来, 胡 峻, 刘 谈, 等. 紫草化学成分与药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(21): 4127-4135.

[6] 李泽宇, 郝二伟, 李 卉, 等. 甘草配伍应用的药理作用及机制分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(14): 270-282.

[7] Zuo J W, Meng T, Wang Y Y, *et al.* A review of the antiviral activities of glycyrrhizic acid, glycyrrhetic acid and glycyrrhetic acid monoglucuronide[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2023, 16(5): 641.

[8] 刘洪伟, 刘道刚. 甘草酸生物学功能及其应用研究进展[J]. 实用中医药杂志, 2021, 37(8): 1453-1457.

[9] Zhang Y W, Wang Q, Sun S Y, *et al.* The therapeutic effect of glycyrrhizic acid compound ointment on imiquimod-induced psoriasis-like disease in mice[J]. *PLoS One*, 2023, 18(8): e0290637.

[10] 许 莎, 谭 虹, 步青云. 消风散联合复方甘草酸苷治疗急性接触性皮炎的临床研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2021, 30(30): 3381-3384.

[11] 李欢欢. 复方甘草酸苷与泛昔洛韦治疗带状疱疹患者的临床效果[J]. 中国冶金工业医学杂志, 2024, 41(5): 封2.

[12] 金文静, 李子豪, 陈永方, 等. 甘草酸及其制剂治疗皮肤病的研究进展[J]. 中草药, 2025, 56(18): 6833-6841.

[13] Guo L, Dai H W, Ma J Y, *et al.* Isolation, structure characteristics and antioxidant activity of two water-soluble polysaccharides from *Lenzites betulina*[J]. *BMC Chem*, 2021, 15(1): 19.

[14] Ren Y Y, Zhu Z Y, Sun H Q, *et al.* Structural characterization and inhibition on alpha-glucosidase activity of acidic polysaccharide from *Annona squamosa*[J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 174: 1-12.

[15] Ji X L, Hou C Y, Yan Y Z, *et al.* Comparison of structural characterization and antioxidant activity of polysaccharides from jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) fruit[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 149: 1008-1018.

[16] Elgamouz A, Alsaidi R, Alsaidi A, *et al.* The effects of storage on quality and nutritional values of Ehrenberg's snapper muscles (*Lutjanus ehrenbergi*): Evaluation of natural

antioxidants effect on the denaturation of proteins[J]. *Biomolecules*, 2019, 9 (9): 442.

[17] Bella G, Nicolò F, Bruno G, *et al.* Intermolecular forces driving hexamethylenetetramine co-crystal formation, a DFT and XRD analysis[J]. *Molecules*, 2021, 26(19): 5746.

[18] Sirivibulkovit K, Nouanthavong S, Sameenoi Y. Paper-based DPPH assay for antioxidant activity analysis[J]. *Anal Sci*, 2018, 34(7): 795-800.

[19] Ilyasov I R, Beloborodov V L, Selivanova I A, *et al.* ABTS/PP decolorization assay of antioxidant capacity reaction pathways[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3): 1131.

[20] 高红林, 张玉民, 褚丽萍, 等. 不同剂量 X 射线对 BALB/c 小鼠放射性皮肤损伤程度比较[J]. 中国辐射卫生, 2016, 25(2): 161-162; 166.

[21] 刘 奇. 银愈生物凝胶敷料治疗急性放射性皮肤损伤的实

验研究[D]. 衡阳: 南华大学, 2015.

[22] 刘 洋, 胡大海. 创面损伤引发的炎症信号减弱 MRL/MpJ 小鼠组织再生反应[J]. 中华烧伤杂志, 2010, 26(4): 259.

[23] Xiao M, Guo Z Q, Yang Y T, *et al.* Glycyrrhizic acid-based multifunctional nanoplatfrom for tumor microenvironment regulation[J]. *Chin J Nat Med*, 2024, 22(12): 1089-1099.

[24] 张丽蓉, 董 志, 杨月蕊, 等. 基于甘草酸的水凝胶形成与应用研究进展[J]. 药学研究, 2022, 41(12): 821-824; 831.

[25] Selyutina O Y, Polyakov N E. Glycyrrhizic acid as a multifunctional drug carrier-From physicochemical properties to biomedical applications: A modern insight on the ancient drug[J]. *Int J Pharm*, 2019, 559: 271-279.

[26] Fischer P, Lutz-Bueno V. Glycyrrhizic acid aggregates seen from a synthetic surfactant perspective[J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2024, 26(4): 2806-2814.

疏肝补肾颗粒干法制粒工艺优化及其物理指纹图谱建立

王超群¹, 刘 延², 房 鑫¹, 张继全¹, 梁 爽^{1*}
(1. 上海中医药大学创新中药研究院中药现代制剂技术教育部工程研究中心, 上海 201203; 2. 海军军医大学第二附属医院生殖医学中心, 上海 200003)

摘要: **目的** 优化疏肝补肾颗粒干法制粒工艺, 并建立其物理指纹图谱。**方法** 基于质量源于设计 (QbD) 理念, 选择滚轮压力、送料转速、压辊转速作为关键工艺参数 (CPPs), 成型率、溶化率、吸湿率、休止角作为关键质量属性 (CQAs)。在单因素试验基础上, 以送料转速、压辊转速、压辊压力为影响因素, CQAs 为评价指标, 星点设计-效应面法优化干法制粒工艺, AHP-CRITIC 混合加权法计算综合评分。单形格子设计筛选辅料, 以粉体学参数为评价指标建立物理指纹图谱。**结果** 最佳条件为送料转速 40.93 r/min, 压辊转速 5.53 r/min, 压辊压力 11.84 MPa, 辅料糊精, 综合评分为 95.127 分。15 批样品物理指纹图谱相似度均大于 0.98。**结论** 糊精可保障疏肝补肾颗粒良好的成型性与溶散性, 物理指纹图谱能表征该制剂粉体学特性, 从而为其他中药颗粒剂的质量评价提供新方法。
关键词: 疏肝补肾颗粒; 干法制粒工艺; 物理指纹图谱; 星点设计-效应面法; AHP-CRITIC 混合加权法; 质量源于设计 (QbD)
中图分类号: R943 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2026)08-2535-10
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.08.006

Optimization of dry granulation process for Shugan Bushen Granules and establishment of their physical fingerprints

WANG Chao-qun¹, LIU Yan², FANG Xin¹, ZHANG Ji-quan¹, LIANG Shuang^{1*}
(1. Ministry of Education Engineering Research Center for Modern Chinese Medicine Preparation Technology, Innovation Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China 2. Center for Reproductive Medicine, The Second Affiliated Hospital of Naval Medical University, Shanghai 200003, China)

收稿日期: 2025-12-23

基金项目: 上海市 2023 年度“科技创新行动计划”生物医药科技支撑专项 (23S21900300)

作者简介: 王超群 (1999—), 女, 硕士, 研究方向为传统药效物质基础。E-mail: 13625472761@163.com

* 通信作者: 梁 爽 (1973—), 男, 博士, 研究员, 硕士生导师, 研究方向为传统药效物质基础。E-mail: ls7312@163.com