

甘桂三叶凝胶制备工艺优化及其体外抗炎活性评价

唐柳婷^{1,2}, 姚力豪^{1,2}, 夏中尚^{2,3}, 李珍吉¹, 邓家刚^{2,3}, 杜正彩^{2,3}, 侯小涛^{1,2*}, 周江煜^{1*}
(1. 广西中医药大学药学院, 广西 南宁 530000; 2. 广西中医药大学广西中药药效研究重点实验室, 广西 中医湿病方药理论与转化重点实验室, 中药资源循环利用广西高校工程研究中心, 广西 南宁 530000; 3. 广西中医药大学中医药壮瑶医药研究院, 广西 南宁 530000)

摘要: **目的** 优化甘桂三叶凝胶制备工艺, 并评价其体外抗炎活性。**方法** 在单因素试验基础上, 以卡波姆-940 用量、甘油用量、药液量为影响因素, 凝胶体外释放度、稳定性、涂展性、黏度、外观性状的综合评分为评价指标, Box-Behnken 响应面法结合 AHP-CRITIC 混合加权法优化制备工艺。采用 LPS 诱导 RAW264.7 细胞建立炎症模型, Griess 法检测细胞上清液中 NO 水平, ELISA 法检测 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平。**结果** 最佳条件为卡波姆-940 用量 1.0 g, 甘油用量 6.5 g, 药液量 17.9 g, 综合评分为 94.76 分。与模型组比较, 甘桂三叶凝胶各浓度组 NO 释放量降低 ($P<0.01$), 并且 6.25、12.5 mg/mL 组 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 优化后的甘桂三叶凝胶表面光滑, 稳定性良好, 制备工艺合理可行, 具有较强的抗炎作用。

关键词: 甘桂三叶凝胶; 制备工艺; AHP-CRITIC 混合加权法; Box-Behnken 响应面法; 抗炎活性

中图分类号: R944 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2025)08-2697-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.08.035

阴道炎是最常见的妇科疾病之一, 大约 75% 的女性一生中至少感染 1 次, 其中 40%~50% 的女性会复发^[1-3]。目前, 临床上治疗阴道炎的常用药物有甲硝唑、克林霉素等抗生素, 局部治疗具有一定效果, 但存在复发性、耐药性等问题^[4-5]。中药刺激小, 副作用少, 在治疗妇科疾病方面具有独特优势^[6-9]。

甘桂三叶方由全国第六批老中医药专家学术经验继承工作指导老师、广西名中医邓家刚教授在广西金秀县瑶医临床经验方的基础上加味而成。原瑶医临床经验方由黄柏、苍术、蛇床子、苦参等中药组成, 常以药材水煎液熏洗、坐浴的方式治疗妇科带下病^[10], 具有清热燥湿、杀虫止痒功效, 适用于妇科阴道炎症、外阴感染等症。但该方法存在操作繁琐、药物不能长时间作用于患病部位等问题。而凝胶剂具有良好的粘附性, 可延长药物的滞留时间。本研究在原临床经验方基础上加入甘蔗叶、芒果叶、肉桂叶, 组成“甘桂三叶方”, 并改良传统剂型, 制成甘桂三叶凝胶, 以期更好地发挥治疗妇科阴道炎的功效, 同时对该凝胶进行体外抗炎活性评价, 以期为其临床应用提供参考。

1 材料

1.1 仪器 力辰科技笔试酸度计、LC-OES-60SH 悬臂式电动搅拌器 (上海力辰邦西仪器科技有限公司); HERACELL 150i CO₂ 培养箱 (美国 Thermo 公司); ELX800 多功能酶标仪 (美国 BioTek 公司); SQP 分析天平 [赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司]; 高速冷冻离心机 (上海卢湘仪离心机仪器有限公司); UV-2600 紫外-可见分光光度计 (日本岛津公司)。

1.2 药物与试剂 甘蔗叶 (批号 230301) 由广西凤糖生化股份有限公司提供; 肉桂叶 (批号 20230321) 采自广西壮族自治区东兴市广西庚源香料有限责任公司林场; 芒果叶、香茅、五倍子、黄柏、苍术、茜草、蛇床子、石榴皮、苦参、明矾 (批号 20221001、20221101、20230201、20220801、20230101、20220901、20220801、20221101、20220302、20220801) 均购自广西仙荣中药科技有限公司, 以上药材均经广西中医药大学韦松基教授鉴定为正品。卡波姆-940 (上海麦克林生化科技股份有限公司); 甘油、三乙醇胺 (上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 芦丁对照品 (货号 wkq21020402, 四川省维克奇生物科技有限公

收稿日期: 2024-11-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82060762); 广西科技重大专项 (桂科 AA22117003); 广西中医药大学“桂派中医传承创新团队” (2022A005); 广西研究生教育创新计划项目 (YCSY2023013)

作者简介: 唐柳婷 (1999—), 女 (壮族), 硕士生, 从事中药 (壮瑶药) 质量分析与评价研究。Tel: 17307853131, E-mail: 1504802065@qq.com

* 通信作者: 侯小涛 (1969—), 女, 博士, 教授, 从事中药活性成分与质量控制研究。Tel: 13878858205, E-mail: 568500387@qq.com

周江煜 (1973—), 女, 硕士, 副教授, 从事中药 (壮瑶药) 分析与质量控制研究。Tel: 13978854341, E-mail: 348471096@qq.com

司); 甲硝唑阴道凝胶 (批号 231101, 同方药业集团有限公司); 保妇康凝胶 (批号 230721, 江西杏林白马药业股份有限公司)。LPS (德国 Sigma 公司); DMEM 高糖培养基 (江苏凯基生物技术股份有限公司); 胎牛血清 (FBS, 美国 Gibco 公司); NO 检测试剂盒 (上海碧云天生物技术股份有限公司); TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 ELISA 试剂盒 (武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司)。

1.3 细胞 小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 由中国科学院昆明动物研究所提供。

2 方法

2.1 甘桂三叶方提取 按 5 倍处方量取甘蔗叶 30 g、肉桂叶 10 g、芒果叶 20 g、香茅 20 g、五倍子 10 g、黄柏 15 g、

表 1 甘桂三叶凝胶成型评分标准

评分/分	外观性状	黏度	涂展性	耐寒、耐热、离心稳定性
1~3	色泽不均,颗粒较多	过稀,过黏	较难涂展	明显分层
4~6	色泽较均,颗粒较少	较稀,较黏	基本可涂展	轻微分层
7~10	色泽均一,无颗粒感	适中	易涂展	无分层

2.2 单因素试验 由前期实验可知,卡波姆-940 用量、甘油用量、药液量对凝胶成型影响较大。因此,以卡波姆-940 用量 (0.3、0.8、1.3、1.8 g)、甘油用量 (3.0、5.0、7.0、9.0 g)、药液量 (10.0、15.0、20.0、25.0 g) 为影响因素,以凝胶成型评分为评价指标,考察其对凝胶外稳定性、涂展性、黏度、外观性状等的影响。

2.4 指标权重系数确定

2.4.1 AHP 法 对各指标进行两两比较评判重要性,确定各指标重要性为体外释放度>稳定性>涂展性=黏度>外观性状,在此基础上建立优先矩阵,见表 2。对优先矩阵进行处理,计算各指标权重系数^[14]。

表 2 各指标优先矩阵

指标	体外释放度	稳定性	涂展性	黏度	外观性状
体外释放度	1	6/5	5/4	5/4	4/3
稳定性	5/6	1	7/6	7/6	6/5
涂展性	4/5	6/7	1	1	8/7
黏度	4/5	6/7	1	1	8/7
外观性状	3/4	5/6	7/8	7/8	1

2.4.2 CRITIC 法 对实验结果进行标准化处理,消除量纲,公式为 $Y = (\text{指标值} - \text{最小指标值}) / (\text{最大指标值} - \text{最小指标值}) \times 100\%$, 消除量纲后导入 SPSS 21 软件进行分析,计算各指标权重系数^[15]。

2.4.3 AHP-CRITIC 混合加权法 为保证实验结果的科学性及合理性,参考文献 [16] 方法,将 AHP 法与 CRITIC 法结合混合加权,计算综合权重 ($\omega_{\text{综合}ij}$),计算公式为 $\omega_{\text{综合}ij} = \omega_{\text{AHP}ij} \times \omega_{\text{CRITIC}ij} / \sum \omega_{\text{AHP}ij} \times \omega_{\text{CRITIC}ij}$ 。

2.5 Box-Behken 响应面法优化凝胶处方 在单因素试验筛选出的各凝胶基质最佳用量范围的基础上,通过 Design-Expert 13 软件进行 Box-Behken 设计^[17-18],以卡波姆-940 用量 (A)、甘油用量 (B)、药液量 (C) 为影响因素,凝胶

苍术 15 g、茜草 20 g、蛇床子 20 g、石榴皮 15 g、苦参 30 g、明矾 5 g,共 1.025 kg,置于圆底烧瓶中,加 10 倍量纯水,回流提取 3 次,每次 1.5 h,过滤,合并滤液,减压浓缩至液体黏稠时加入 25 g 明矾粉末,继续浓缩成浸膏。

2.2 甘桂三叶凝胶制备 称取处方量卡波姆-940,加纯水搅拌,4 ℃放置过夜,充分溶胀后,加入处方量甘桂三叶方浸膏和甘油,三乙醇胺调节 pH 至 6 左右,用磁力搅拌器搅拌均匀,即得。以体外释放度、稳定性 (由于离心稳定性、耐寒稳定性、耐热稳定性均考察凝胶稳定性,故将三者之和作为稳定性指标)、涂展性、黏度、外观性状为指标,评价凝胶成型性,评分标准见表 1^[11-13]。

体外释放度、稳定性、涂展性、黏度、外观性状的综合评分 (Y) 为评价指标,按 AHP-CRITIC 混合加权法所得的权重系数计算综合评分,公式为综合评分 = (体外释放度/体外释放度最大值) $\times 100 \times 0.337 7 +$ (稳定性评分/稳定性最高评分) $\times 100 \times 0.153 3 +$ (涂展性评分/涂展性最高评分) $\times 100 \times 0.170 5 +$ (黏度评分/黏度最高评分) $\times 100 \times 0.169 4 +$ (外观性状评分/外观性状最高评分) $\times 100 \times 0.169 2$ 。因素水平见表 3。

表 3 Box-Behken 响应面法因素水平

水平	因素		
	A 卡波姆-940 用量/g	B 甘油用量/g	C 药液量/g
-1	0.8	5	15
0	1.05	6	17.5
1	1.3	7	20

2.6 体外释放度测定

2.6.1 标准曲线绘制 精密取芦丁对照品 10.0 mg,加 60% 乙醇溶解并定容至 100 mL 量瓶中,即得 0.102 mg/mL 芦丁对照品溶液。精密吸取对照品溶液 1、2、3、4、5 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,加入 0.4 mL 5% 亚硝酸钠溶液,混合均匀后静置 6 min,加入 0.4 mL 10% 硝酸铝溶液,混合均匀后静置 6 min,最后加入 4 mL 1 mol/L NaOH 溶液,摇匀后静置 15 min,60% 乙醇定容至刻度,摇匀;另取 1 mL 60% 乙醇作为空白对照,于 509 nm 波长处测定吸光度。以芦丁质量浓度为横坐标 (X),吸光度为纵坐标 (A) 进行回归,绘制标准曲线,得回归方程 $A = 12.429X + 0.014$ ($R^2 = 0.999 7$),可知对照品在 0.010 2~0.051 mg/mL 范围内线性关系良好。

2.6.2 体外释放度测定 参考文献 [17, 19-20] 方法,取甘桂三叶凝胶约 2.0 g,置于透析袋 (截留分子量 8 000~14 000 Da) 中。以 200 mL 20% 乙醇的生理盐水为释放介

质，将透析袋置于释放介质中，于 1、2、4、6、8、10、12、24 h 取样，每次取样 5 mL，同时补充等体积、等温度的释放介质，以释放介质为空白对照，于 509 nm 波长处测定吸光度，按公式（1）计算不同时间点总黄酮成分累计释放率。

$$Q = (V_0C_n + \sum_{i=1}^{n-1} C_iV) / \omega \times 100\%$$

(1)

式中， Q 为第 n 个时间点的累积释放率， V_0 为释放介质体积（200 mL）， V 为每次取样体积（5 mL）， C_n 和 C_i 为第 n 次和第 i 次取样时的实测浓度， ω 为所取样品中总黄酮含量。

2.7 工艺验证 为验证响应面试验结果的准确性，结合实际环境，实验室规模的验证工艺按最佳工艺参数制备 5 批甘桂三叶凝胶，以“2.2”项下标准进行评分，按“2.5”项下公式计算综合评分。

2.8 甘桂三叶凝胶体外抗炎试验

2.8.1 药品制备

2.8.1.1 甘桂三叶凝胶溶液 精密称取甘桂三叶凝胶约 3.000 0 g，置于 50 mL 离心管中，加入含 10% FBS 的 DMEM 培养基至 30 mL，涡旋，超声处理，过 0.22 μ m 微孔滤膜除菌，即得 100 mg/mL 的甘桂三叶凝胶溶液。

2.8.1.2 甲硝唑阴道凝胶溶液 分别精密称取甲硝唑阴道凝胶约 1.000 0、0.100 0 g，置于 50 mL 离心管中，均加入含 10% FBS 的 DMEM 培养基至 10 mL，涡旋混匀，超声溶解，过 0.22 μ m 微孔滤膜除菌，分别得到 100、10 mg/mL 的甲硝唑阴道凝胶溶液。

2.8.1.3 保妇康凝胶溶液 分别精密称取保妇康凝胶约 1.000 0、0.100 0 g，按“2.8.1.2”项下方法制备，分别得到 100、10 mg/mL 的保妇康凝胶溶液。

2.8.2 给药浓度对 RAW264.7 细胞活性的影响 取对数生长长期的 RAW264.7 细胞，以 1×10^5 /mL 的密度接种于 96 孔板，每孔 100 μ L，于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中孵育 24 h，加入不同质量浓度（100、50、25、12.5、10、5、2.5、1.25、0.625 mg/mL）的甘桂三叶凝胶、甲硝唑阴道凝胶和保妇康凝胶溶液，另设空白组及对照组，每种药物的每个质量浓度设置 6 个复孔，培养 24 h，采用 MTS 法检测细胞活性，公式为细胞活性= [（ $A_{\text{给药}} - A_{\text{空白}}$ ） / （ $A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}$ ）] $\times$ 100%。

2.8.3 甘桂三叶凝胶对 NO、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平的影响 取对数生长的细胞，以 2×10^6 /mL 的密度均匀接种于 12 孔板，每孔 1 mL，于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱孵育 24 h，设置空白组、模型组、甲硝唑阴道凝胶组、保妇康凝胶组及甘桂三叶凝胶 3.125、6.25、12.5 mg/mL 组，各给药组加入 1 μ g/mL LPS 干预 24 h，收集细胞培养上清液，按相应试剂盒说明书检测 NO、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平。

3 结果

3.1 单因素试验

3.1.1 卡波姆-940 用量 固定药液量 15.0 g、甘油用量

5.0 g。卡波姆-940 用量越大，凝胶的黏度越大。当卡波姆-940 用量为 0.3 g，调节凝胶 pH 至 7.8 时仍不能成型，故其用量不宜低于 0.3 g；为 0.8 g 时，凝胶表面光滑，黏度稍小；为 1.3 g 时，凝胶表面光滑细腻，黏度稍大；为 1.8 g 时，凝胶表面粗糙，质地黏稠。因此，卡波姆-940 用量选择为 0.8~1.3 g，具体见表 4。

表 4 卡波姆-940 用量筛选结果

卡波姆-940/g	指标/分						
	稳定性			涂展性	黏度	外观性状	总分
	离心	耐寒	耐热				
0.3	2	3.6	3.8	7	2	3.5	22.2
0.8	8	8.5	8.6	7.2	6.5	7.8	46.6
1.3	8	8.6	8.6	5.8	6.9	7.5	45.4
1.8	8	8.7	8.6	4.3	3.8	3.7	37.1

3.1.2 甘油用量 固定卡波姆-940 用量 1.0 g，纯水用量 50.0 g。甘油用量为 3 g 时，凝胶外观均匀，涂展性、稳定性良好，黏度稍微小；为 5 g 时，凝胶外观均匀，光滑细腻；为 7 g 时，凝胶外观均匀，黏度稍微大；为 9 g 时，凝胶光泽度稍差，细腻度不够，黏度稍大。因此，甘油用量选择为 5~7 g，具体见表 5。

表 5 甘油用量筛选结果

甘油/g	指标/分						
	稳定性			涂展性	黏度	外观性状	总分
	离心	耐寒	耐热				
3	8.9	9.5	9.4	8.9	8.2	9	53.9
5	9.2	9.5	9.5	8.9	8.6	9	54.7
7	9.2	9.5	9.5	8.9	8.4	9	54.5
9	9.2	9.4	9.5	8.7	8.3	8.8	53.9

3.1.3 药液用量 固定卡波姆-940 用量 1.0 g，纯水用量 50.0 g。当药液用量为 10 g 时，凝胶外观粗糙，质地较黏稠；为 15 g 时，凝胶外观均匀，表面略粗糙；为 20 g 时，凝胶表面光滑细腻，光泽度良好，黏度适中；为 25 g 时，凝胶涂展性良好，黏度稍微低。因此，药液用量选择为 15~20 g，具体见表 6。

表 6 药液用量筛选结果

药液/g	指标/分						
	稳定性			涂展性	黏度	外观性状	总分
	离心	耐寒	耐热				
10	9.5	9.5	9.5	8.7	6.3	8.2	51.7
15	9.6	9.6	9.6	9.0	8.0	8.3	54.1
20	9.6	9.6	9.6	9.2	9.5	8.8	56.3
25	9.4	9.2	9.4	9.2	6.3	8.4	51.9

3.2 各指标权重系数 根据优先矩阵结果，采用 AHP 法计算得到体外释放度、稳定性、涂展性、黏度、外观性状的权重系数分别为 0.235 6、0.208 8、0.187 0、0.199 3、0.169 3，最大特征根（ λ ）为 5.070 7，一致性指标（CI）为 0.017 7，查表得随机一致性指标（RI）为 1.12，一致性比率（CR）为 0.015 8<0.1，说明该优先矩阵通过一致性检验，各评价指标权重系数有效。利用 CRITIC 法得到体外

释放度、稳定性、涂展性、黏度、外观性状的权重系数分别为 0.291 4、0.149 2、0.185 3、0.172 8、0.203 2。最终运用 AHP-CRITIC 混合加权法计算得到体外释放度、稳定性、涂展性、黏度、外观性状的权重系数分别为 0.337 7、0.153 3、0.170 5、0.169 4、0.169 2。

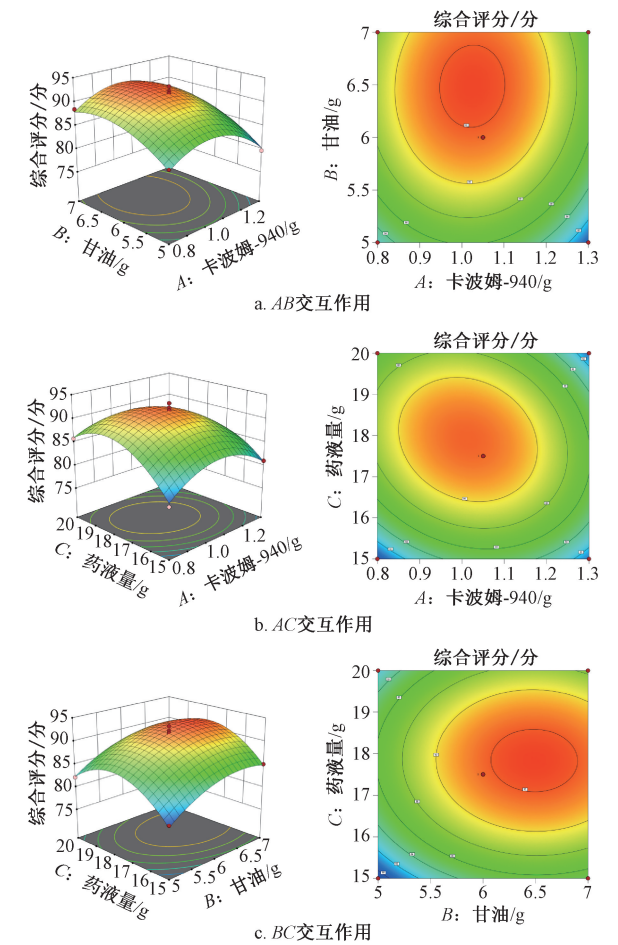
为评价 AHP-CRITIC 混合加权的合理性，通过 SPSS 21 软件对 3 种赋权方法所得的综合评分进行相关性分析，判断是否具有 consistency。结果，AHP 与 CRITIC、AHP 与 AHP-CRITIC、CRITIC 与 AHP-CRITIC 的相关系数分别为 0.993、0.982、0.995，具有显著相关性 ($P<0.01$)，说明 3 种赋权方法所得的综合评分具有一致性。接着对 3 种赋权法所得权重系数进行相关性分析，判断两者反映的信息是否具有叠加性。结果，AHP 法与 CRITIC 法所得权重系数之间的相关系数为 0.54，相关性不显著，表明二者所反映的信息不具有叠加性。综上所述，本研究采用 AHP-CRITIC 混合加权计算所得的权重系数具有较高的可信度。

3.3 Box-Behken 响应面法优化凝胶处方 经 Design-Expert 13 软件进行二项式拟合分析得到方程 $Y=91.70-1.04A+2.79B+1.50C+0.275\ 0AB-1.57AC-0.130\ 0BC-4.51A^2-2.84B^2-5.34C^2$ ($R^2=0.973\ 7$, $P<0.05$)，说明二项式拟合的效果较好。通过 Design-Expert 13 软件分析预测最佳参数为卡波姆-940 用量 1.018 g、甘油用量 6.483 g、药液用量 17.882 g。考虑实际应用中可操作性、便捷性等问题，将最佳处方调整为卡波姆-940 用量 1.0 g、甘油用量 6.5 g、药液用量 17.9 g。Box-Behnken 响应面法设计与结果见表 7，响应面分析见图 1。

表 7 Box-Behnken 响应面法设计与结果

试验号	A	B	C	体外释放度/%	综合评分/分
1	-1	1	0	67.36	88.48
2	-1	-1	0	70.19	83.19
3	1	0	1	61.41	81.46
4	0	0	0	59.40	91.72
5	0	0	0	65.51	91.76
6	-1	0	1	70.86	85.79
7	0	1	-1	60.32	85.10
8	0	0	0	62.91	93.23
9	0	-1	1	68.92	82.20
10	1	1	0	60.61	86.06
11	0	0	0	63.49	92.29
12	0	0	0	58.82	89.51
13	0	-1	-1	57.07	79.51
14	1	-1	0	56.53	79.67
15	1	0	-1	54.07	81.04
16	0	1	1	60.27	87.27
17	-1	0	-1	58.98	79.08

方差分析见表 8，可知此模型 P 为 0.000 1 ($P<0.05$ 时水平显著)，失拟项 $P=0.748\ 1>0.05$ ，表明方程失拟不显著，拟合程度良好，可用此模型对甘桂三叶凝胶处方进行预测与分析。相关系数 $R^2=0.973\ 7$ ，说明模型与实测值相关性高，能准确预测实际情况。失拟项系数 $R^2_{Adj}=0.939\ 9$ ，



注：左图为三维曲面图，右图为等高线图。

图 1 各因素响应面图

表示该模型可以解释 93.99% 响应值的变化。

表 8 方差分析结果

来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	365.18	9	40.58	28.82	0.000 1
A	8.63	1	8.63	6.13	0.042 5
B	62.38	1	62.38	44.31	0.000 3
C	17.97	1	17.97	12.76	0.009 1
AB	0.302 5	1	0.302 5	0.214 8	0.657 4
AC	9.89	1	9.89	7.02	0.032 9
BC	0.067 6	1	0.067 6	0.048 0	0.832 8
A^2	85.82	1	85.82	60.95	0.000 1
B^2	33.89	1	33.89	24.07	0.001 7
C^2	120.28	1	120.28	85.42	<0.000 1
残差	9.86	7	1.41	—	—
失拟项	2.37	3	0.789 1	0.421 5	0.748 1
纯误差	7.49	4	1.87	—	—
合计	375.03	16	—	—	—

3.4 工艺验证 各指标评分及综合具体见表 9，可知 5 批甘桂三叶凝胶外观性状、黏度、稳定性良好，综合评分平均值为 94.76 分。

3.5 体外抗炎活性评价

3.5.1 甘桂三叶凝胶对 RAW264.7 细胞活性的影响 由图

表 9 验证试验结果 (分, n=5)

试验号	外观性状	涂展性	黏度	稳定性	体外释放度/%	综合评分/分
1	8	8	7	8.3	59.16	90.34
2	9	8	8	8.7	62.47	96.45
3	9	9	8	8.7	61.70	97.79
4	9	8	7	9	60.63	94.07
5	9	8	7	8.3	64.48	95.16

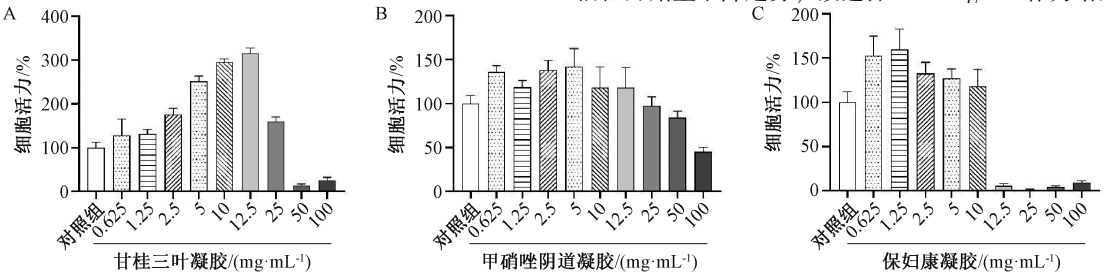
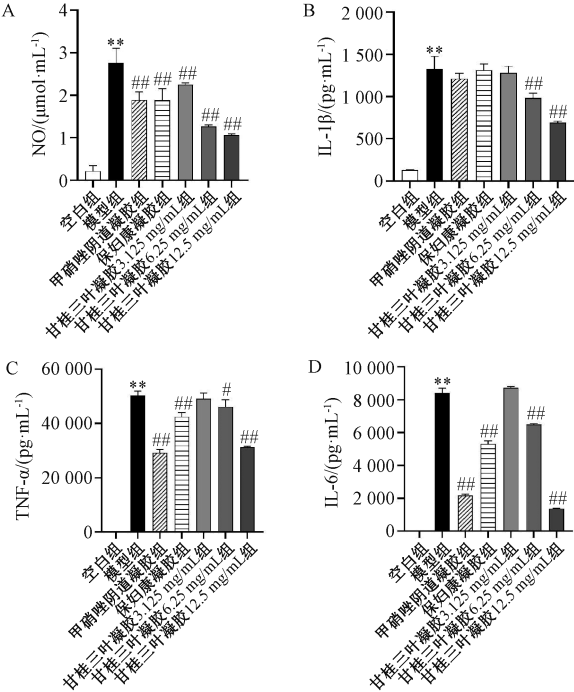


图 2 甘桂三叶凝胶对 RAW264.7 细胞活性的影响 ($\bar{x}\pm s$, n=6)

3.5.2 甘桂三叶凝胶对 NO、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平的影响 由图 3 可知,与空白组比较,模型组 RAW264.7 细胞上清液中 NO、IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 水平升高 ($P<0.01$)。由图 3A 可知,与模型组比较,各给药组细胞上清中 NO 含量降低 ($P<0.01$),并呈剂量依赖性。由图 3B 可知,与模型组比较,甘桂三叶凝胶 6.25、12.5 mg/mL 组细胞上清液中 IL-1 β 水平降低 ($P<0.01$)。由图 3C~3D 可知,与模型组比较,甲硝唑阴道凝胶组、保妇康凝胶组及甘桂三叶凝胶 6.25、12.5 mg/mL 组细胞上清液中 TNF- α 、IL-6 水平均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。



注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。
图 3 甘桂三叶凝胶对 RAW264.7 细胞上清液中 NO、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, n=6)

2A 可知,与对照组比较,甘桂三叶凝胶 25 mg/mL 浓度开始,细胞活性下降,故选择 12.5、6.25、3.125 mg/mL 进行后续实验。由图 2B 可知,甲硝唑阴道凝胶质量浓度大于 50 mg/mL 时,细胞大量死亡;质量浓度为 12.5 mg/mL 时,虽相对较低浓度对 RAW264.7 细胞有抑制作用,但细胞活性未低于正常组,故选择 12.5 mg/mL 作为给药浓度。由图 3C 可知,保妇康凝胶质量浓度大于 1.25 mg/mL 时,细胞活性开始呈下降趋势,故选择 1.25 mg/mL 作为给药浓度。

4 讨论

凝胶剂成型工艺通常以外观性状、涂展性等作为评分指标,存在主观性较强的问题。因此,增加客观的评价指标及确立客观的评价方法十分重要。AHP-CRITIC 混合加权法将主观赋值和客观赋值相结合,增强了评价结果的科学性和合理性^[21]。Box-Behnken 响应面法具有精确度高、试验次数少等优点^[22]。故本研究采用 AHP-CRITIC 混合加权法结合 Box-Behnken 响应面法,优化甘桂三叶凝胶的制备工艺,得到的最佳处方工艺可行性高,且客观、科学。

炎症反应和氧化应激在阴道炎的发生、发展中占主导地位^[23]。LPS 可刺激巨噬细胞产生过量的诱导型 NO 合成酶 (iNOS) 及 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 等促炎细胞因子,其水平过高会加重阴道黏膜及周围组织损伤,控制炎症反应可能是治疗阴道炎的潜在方法^[24]。体外抗炎实验结果显示,甘桂三叶凝胶在一定浓度时能够减少 LPS 诱导的 RAW264.7 炎症细胞分泌 NO 及细胞炎症因子,提示甘桂三叶凝胶可通过减少炎症因子产生,进而达到减轻炎症与治疗阴道炎的作用。

在阴道炎治疗药物中,凝胶剂更温和,可提高药物安全性和患者用药的顺应性。综上所述,本研究选择卡波姆-940 作为凝胶基质制备得到的甘桂三叶凝胶,对皮肤和黏膜无刺激性^[25],为甘桂三叶凝胶的临床应用提供了理论参考,并为经验方剂型改良提供了新的思路和方法。未来会考虑更进一步开展甘桂三叶凝胶的抑菌活性探究和动物阴道炎模型的药效研究。

参考文献:

[1] Rosati D, Bruno M, Jaeger M, et al. Recurrent vulvovaginal candidiasis: An immunological perspective[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(2): 144.
[2] 陈丹莉,杨健君,任翎璇,等. 红核妇洁洗液酮类成分治疗外阴阴道假丝酵母菌病的作用和机制研究[J]. 中国实用妇

科与产科杂志, 2023, 39(2): 231-235.

[3] Ravel J, Moreno I, Simon C. Bacterial vaginosis and its association with infertility, endometritis, and pelvic inflammatory disease[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2021, 224(3): 251-257.

[4] Menard J P. Antibacterial treatment of bacterial vaginosis: current and emerging therapies[J]. *Int J Womens Health*, 2011, 3: 295-305.

[5] 叶新越, 刘仔翔, 何枢衡, 等. 妇阴康洗剂的抑菌抗炎活性及对大鼠阴道炎的药效学研究[J]. 中成药, 2023, 45(6): 2022-2028.

[6] Zhao H Y, Zhao L J, Wu F, *et al.* Clinical research on traditional Chinese medicine treatment for bacterial vaginosis [J]. *Phytother Res*, 2021, 35(9): 4943-4956.

[7] 陈雅慧, 张 芳, 李盼盼, 等. 常用妇科中药制剂临床应用进展[J]. 中成药, 2017, 39(9): 1904-1908.

[8] 张 琦, 梁 欢. 外阴阴道假丝酵母菌病的中西医诊治进展[J]. 中医临床杂志, 2020, 32(12): 2371-2376.

[9] 傅 姣, 肖利平, 卢 军, 等. 益肾解毒汤在阴道炎治疗中对雌激素水平、肾功能、肝功能及瘙痒评分的影响[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(4): 229-233.

[10] 王粤湘, 彭锦绣. 妇科常见病中瑶医特色疗法与护理技术[M]. 南宁: 广西民族出版社, 2020: 37-41.

[11] 李 江, 陈凌云, 李 军. AHP-CRITIC 结合 Box-Behnken 响应面和 D-Optimal 设计优选茛龙愈创凝胶的制备工艺[J]. 中药材, 2020, 43(10): 2510-2515.

[12] 宋学忠, 曾丽婧, 闫 明, 等. 复方南星止痛凝胶的制备及评价[J]. 世界科学技术 (中医药现代化), 2023, 25(7): 2256-2265.

[13] 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.

[14] 李喜香, 闫治攀, 韩胜男. 紫连生肌凝胶剂处方的优化[J]. 中成药, 2022, 44(3): 707-711.

[15] 吴佳骏, 崔宏艳, 练海应, 等. 黄芩滑石颗粒成型工艺优化[J]. 中成药, 2024, 46(9): 3088-3092.

[16] 史俊祖, 王雪峰, 武瑞莉, 等. 基于 AHP-CRITIC 结合 Box- Behnken 响应面响应面法优选小儿定喘颗粒的提取工艺[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(12): 2928-2932.

[17] 周 婷, 朱 静, 黄 莹, 等. 四方藤凝胶剂处方工艺的 Box-Behnken 响应面效应面法优化[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(4): 865-868.

[18] 龙凯花, 张 红, 王春柳, 等. 用 Box-Behnken 响应面效应面法优化穿心莲内酯纳米乳原位凝胶处方工艺研究[J]. 世界中医药, 2023, 18(12): 1653-1656.

[19] 王 锐, 孟凡婷, 杨 婧. 妇科冰蛇膏温敏凝胶的制备与药效学研究[J]. 中医药导报, 2020, 26(3): 12-16.

[20] 田 斌. 蛇黄凝胶制备工艺与质量标准研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2021.

[21] 丁 涵, 徐忠坤, 王振中, 等. 基于 AHP-CRITIC 混合加权法和 Box-Behnken 响应面响应面法法优化羌芩颗粒成型工艺及其物理指纹图谱研究[J]. 中草药, 2024, 55(3): 787-797.

[22] 张志鹏, 张兰兰, 施文婷, 等. 基于 Box-Behnken 响应面响应面法法优化化湿败毒颗粒喷雾干燥工艺[J]. 中草药, 2023, 54(22): 7429-7435.

[23] 蒋 丽, 叶世芸, 郑立肯, 等. 基于 Nrf-2/HO-1/NF-κB 通路探讨苦参膜对混合细菌性阴道炎大鼠的治疗作用[J]. 中药药理与临床, 2022, 38(3): 127-134.

[24] Sato K, Tatsunami R, Wakame K. Epalrestat suppresses inflammatory response in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 cells[J]. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 2021, 49(5): 1-8.

[25] 熊 蕊, 吴方建. 经皮给药系统中新型载体的应用[J]. 中国药师, 2017, 20(12): 2233-2237.