

[制剂工艺]

祛风除痹成膜凝胶制备及其抗炎镇痛作用、安全性评价

李春蓉^{1,2}, 李政华^{1,2}, 何茜^{1,2}, 彭泗铭^{1,2}, 陈胡兰^{1,3}, 初天哲^{1,2*}, 谭玉柱^{1,2*}

(1. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137; 2. 成都中医药大学中药材标准化教育部重点实验室, 四川 成都 611137; 3. 成都中医药大学医学技术学院, 四川 成都 611137)

摘要: **目的** 制备祛风除痹成膜凝胶, 并评价其抗炎镇痛作用和安全性。**方法** 以乌头茎叶为原料, 制备成膜凝胶。在单因素试验基础上, 以成膜剂(PVA1788)用量、增塑剂(丙三醇)用量、无水乙醇用量为影响因素, 成膜时间、外观性状的综合评分为评价指标, 正交试验优化制备工艺。采用醋酸致小鼠扭体模型考察镇痛作用, 佐剂诱导大鼠关节炎模型考察抗炎作用, 家兔皮肤刺激性实验考察安全性。**结果** 最佳条件为基质(MC-400)用量0.3 g, 成膜剂用量0.1 g, 增塑剂用量0.5 g, 无水乙醇用量1 g, 药物用量0.5 g, 综合评分为33.69分。与对照组比较, 祛风除痹成膜凝胶中、高剂量组小鼠扭体次数减少($P<0.01$), 其中高剂量组疼痛抑制率为50.94%; 与模型组比较, 祛风除痹成膜凝胶各剂量组大鼠足趾肿胀度、关节炎指数、血清TNF- α 水平降低($P<0.05$, $P<0.01$), 并且中、高剂量组血清IL-6、IL-1 β 水平降低($P<0.05$, $P<0.01$)。末次给药后1、24、48、72 h, 家兔完整、破损皮肤未出现异常, 无刺激性。**结论** 该方法稳定可靠, 可用于制备抗炎镇痛较强、安全性良好的祛风除痹成膜凝胶。

关键词: 成膜凝胶; 祛风除痹; 乌头茎叶; 制备工艺; 正交试验; 抗炎镇痛作用; 安全性

中图分类号: R944

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)04-1099-08

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.04.005

Preparation of film-forming gel for expelling wind and removing paralysis and evaluation of its anti-inflammatory and analgesic effects, safety

LI Chun-rong^{1,2}, LI Zheng-hua^{1,2}, HE Qian^{1,2}, PENG Si-ming^{1,2}, CHEN Hu-lan^{1,3},
CHU Tian-zhe^{1,2*}, TAN Yu-zhu^{1,2*}

(1. School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 2. Key Laboratory of Standardization of Chinese Medicine, Ministry of Education, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 3. School of Medical Technology, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

ABSTRACT: AIM To prepare the film-forming gel for expelling wind and removing paralysis, and to evaluate its anti-inflammatory and analgesic effects, safety. **METHODS** The film-forming gel was prepared with stems and leaves of *Aconitum carmichaelii* Debx. as raw material. With film-forming agent (PVA1788) consumption, plasticizer (glycerol) consumption and anhydrous ethanol consumption as influencing factors, the comprehensive score for film-forming time and appearance characters as an evaluation index, the preparation process was optimized by orthogonal test on the basis of single factor test. Acetic acid-induced mouse writhing model, adjuvant-induced rat arthritis model and rabbit skin irritation test were employed to investigate anti-inflammatory effect, analgesic effect and safety, respectively. **RESULTS** The optimal conditions were determined to be 0.3 g for substrate (MC-400) consumption, 0.1 g for film-forming agent consumption, 0.5 g for plasticizer consumption, 1 g for anhydrous ethanol consumption, and 0.5 g for drug consumption, and the comprehensive score was 33.69.

收稿日期: 2025-12-19

基金项目: 国家自然科学基金(82574371); 国家重点研发计划(2025YFC3509100); 四川省科技教育联合基金(2025NSFSC2032, 2025NSFSC2160)

作者简介: 李春蓉(2000—), 女, 硕士, 从事药物资源发现、中药资源循环利用研究。E-mail: lichunrong@stu.cdutcm.edu.cn

* 通信作者: 初天哲(1996—), 女, 硕士, 实验师, 从事中药药剂新剂型研究。E-mail: chutianzhe01@163.com

谭玉柱(1985—), 男, 博士, 教授, 从事药物资源发现、中药资源循环利用研究。E-mail: tanyuzhu@cdutcm.edu.cn

Compared with the control group, the film-forming gel for expelling wind and removing paralysis medium-dose and high-dose groups demonstrated reduced mouse writhing frequency ($P < 0.01$), among with the high-dose group displayed the pain inhibitory rate of 50.94%. Compared with the model group, the film-forming gel for expelling wind and removing paralysis various dose groups demonstrated decreased rat paw swelling degree, arthritis index and serum TNF- α level ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and decreased serum IL-6, IL-1 β levels were observed in the medium-dose and high-dose groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$). At 1, 24, 48, 72 h after last administration, the abnormalities in rabbit unbroken, broken skins did not occur, exhibiting non-irritation. **CONCLUSION** This stable and reliable method can be used for the preparation of film-forming gel for expelling wind and removing paralysis with strong anti-inflammatory and analgesic effects and good safety.

KEY WORDS: film-forming gel; expelling wind and removing paralysis; the stems and leaves of *Aconitum carmichaelii* Debx.; preparation process; orthogonal test; anti-inflammatory and analgesic effects; safety

类风湿关节炎是一种自身免疫性疾病, 可导致患者关节畸形及功能丧失, 对其生活造成极大影响^[1]。目前, 临床治疗类风湿关节的常用药物包括糖皮质激素、非甾体抗炎药、抗风湿药物等, 但长期服用会导致严重不良反应^[2], 而中医药治疗本病已有数千年历史, 疗效显著^[3-4]。乌头汤源自《金匱要略》, 主要用于治疗风湿性疾病, 效果良好^[5-6], 但由于方中君药乌头性烈、有毒, 导致其应用受限。乌头在临床上只用其母根(川乌)与子根加工品(附子)入药, 但其茎叶生物量丰富, 白白丢弃将导致资源严重浪费^[7], 并且该部位所含总生物碱的含量约其为地下部位的1/2, 对类风湿关节炎有良好的疗效和更小的急性毒性^[8-11]。

近年来, 药物递送系统受到关注, 其中经皮给药发展迅速, 相较于传统口服给药, 它具有避免首过效应、增强依从性等优点^[12-13], 并且成膜制剂是一种效果良好的药物递送形式, 可作为储存库, 从而实现缓释等功能^[14-16]。课题组前期将乌头汤中的制川乌替换为乌头茎叶, 制备祛风除痹洗液^[17], 本实验在此基础上进一步改良剂型, 制备成膜凝胶, 并评价其抗炎镇痛作用及安全性。

1 材料

1.1 动物 SPF级昆明种小鼠, 体质量18~22 g, 雌雄各半; SD大鼠, 体质量180~220 g, 雄性; 普通级新西兰兔, 体质量2.0~2.5 kg, 雌雄各半, 均由成都达硕实验动物有限公司提供, 动物生产许可证号SCXK(川)2020-0030。正式实验前所有动物适应性饲养1周, 环境条件温度(22±2)℃, 相对湿度(60±5)℃, 标准光照/黑暗周期12 h。动物实验经成都中医药大学伦理委员会批准(2024044)。

1.2 试剂与药物 羧甲基纤维素钠(批号9004-

32-4)、聚乙烯醇1788(批号2023042701)、无水乙醇(批号2024011601), 均购于成都市科隆化学制品有限公司; 丙三醇(批号20160906), 购于成都金山化学试剂有限公司; 柠檬酸三乙酯(批号202107209), 购于北京迈瑞达科技有限公司; 聚乙二醇400(批号RH519770), 购于上海易恩科技发展有限公司; 丙二醇, 购于成都市科隆化学制品有限公司; 完全弗氏佐剂(货号F5881), 购于西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司。ELISA试剂盒(IL-1 β), 购于武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司; TNF- α 、IL-6, 均购于上海酶联生物科技有限公司。乌头茎叶采自四川江油, 经成都中医药大学高继海副教授鉴定为正品, 标本(编号CW-20200901)保存于成都中医药大学西南特色中药资源国家重点实验室(药物资源发现与中药资源循环利用1002实验室)。扶他林, 购于北京诺华制药有限公司。

1.3 仪器 Rapid TA+质构仪(上海腾拔仪器科技有限公司); BTF-1200C-S黏度计(上海方瑞仪器有限公司); 101电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司); BCE2224-1CCN电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]; PHS-2F PH计(上海仪电科学仪器股份有限公司); ReadMax1200光吸收全波长酶标仪(上海闪谱生物科技有限公司); PV-200足趾肿胀仪(成都泰盟软件有限公司)。

2 方法与结果

2.1 提取物制备 乌头茎叶粗粉加入20倍量0.1 mol/L盐酸浸泡1 h, 在70℃下提取2次, 每次3 h, 提取液浓缩上样至001×12型阳离子交换树脂, 上样液质量浓度为0.3 g/mL, 盐酸调pH至3, 上样量为0.5 BV, 3 BV超纯水除杂, 4 BV

3 mol/L氨水-95%乙醇洗脱,富集纯化总生物碱。另取麻黄、黄芪、白芍、炙甘草各80 g,置于同一容器中,加入6倍量50%乙醇浸泡30 min,冷凝回流提取3次,第1次1 h、第2、3次各0.5 h,合并提取液,在60℃下真空浓缩至每1 mL相当于0.2 g生药。将乌头茎叶总生物碱与上述4种药材提取液按1:3比例混合,浓缩至生药量15 g/mL,置于-4℃冰箱中保存,即得。

2.2 成膜凝胶制备 称取凝胶基质、成膜剂、增塑剂适量,加水溶胀,搅拌均匀过夜,向凝胶中依次加入处方量乙醇、药物,搅拌至分散均匀,加入水至足量,即得,分装于透明密闭玻璃瓶中。

2.3 配方筛选

2.3.1 成膜时间 取成膜凝胶0.2 g,置于35℃

塑料培养皿中,在薄膜上放置盖玻片,如果移除后其表面干净无异物,则认为已经干燥,记录干燥所需时间,即成膜时间,平行3次,以<8 min为优,8~11 min为良,>11 min为差。

2.3.2 pH 参照2020年版《中国药典》通则0631,取成膜凝胶约1 g,加入20 mL水搅拌30 min,采用PH计测量,平行3次,以5.5~6.5为优。

2.3.3 黏度 采用黏度计测量,平行3次,以1 500~6 500 mPa·s为优。

2.3.4 外观性状 精密量取成膜凝胶溶液0.5 mL,均匀涂于4 cm×4 cm玻璃板上,自然干燥后按表1标准进行评价。

表1 成膜凝胶外观性状评分标准

Tab. 1 Scoring standards for appearance characters of film-forming gel

评分标准	优(8~10分)	良(5~7分)	中(2~4分)	差(0~1分)
成膜性	成膜均匀	成膜不均匀有突起	成膜完全不均匀,有破损	不成膜
均匀性	凝胶表面光滑均有光泽,均匀细腻	平整,均匀有细小颗粒	不平整结块	不成凝胶
柔韧性	撕拉有弹性,无破损,可被轻松取下	可被完整取下	难以取下,取下后有破裂	完全断裂

2.3.5 力学性能 取成膜凝胶0.5 g,置于35℃塑料培养基中,干燥成膜后切取1 cm×5 cm测量机械性能,当其薄膜拉伸强度为40~80 N/mm²、断裂伸长率为0.3~0.6时分别表示具有良好的强度、韧性。

2.4 单因素试验

2.4.1 基质种类 分别考察了甲基纤维素-400(MC-400)、明胶、羧甲基纤维素钠(CMC-Na)、卡波姆,发现明胶和卡波姆与药液混合后未形成均匀可成膜的基质,而MC-400和CMC-Na虽然均可成膜,但后者过于黏稠,流动性不佳,而且易发霉,故最终确定为MC-400。

2.4.2 基质用量 表2显示,随着基质用量增加黏度升高,但超过0.3 g后黏度过大,导致成膜凝胶外观不均匀,存在硬块,并且难以形成外观良好的薄膜,影响其外观性状和涂展性,故最终确定为0.3 g。

表2 基质用量筛选结果

Tab. 2 Results for matrix consumption screening

基质用量/g	外观评分/分	成膜时间/min	pH	黏度/(mPa·s)
0.1	21	7.31	5.46	3 102.67
0.2	25	8.20	5.51	3 721.54
0.3	25	9.43	5.76	4 647.32
0.4	22	10.20	5.50	6 640.67
0.5	20	10.55	5.46	8 379.38

2.4.3 成膜剂种类 分别考察了羟丙基纤维素(HPC)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚乙烯醇1788(PVA1788)、羟丙基甲基纤维素(HPMC-400),发现加入HPC或HPMC-400后基质浑浊;加入PVA1788或PVP后基质呈透明胶状,其中后者流动性过大,局部涂抹时易流走,使用体验差,而前者具有良好的外观及适中的流动性,故最终确定为PVA1788。

2.4.4 成膜剂用量 表3显示,成膜剂用量超过0.2 g后薄膜不均匀,有块状颗粒产生,故最终确定为0.2 g。

表3 成膜剂用量筛选结果

Tab. 3 Results for film-forming agent consumption screening

成膜剂用量/g	外观评分/分	成膜时间/min	pH	黏度/(mPa·s)
0.1	24	6.22	5.78	5 496.67
0.2	25	7.41	5.69	5 640.67
0.3	22	8.23	5.67	6 350.33
0.4	20	8.53	5.58	13 708.67
0.5	18	10.35	5.51	21 879.23

2.4.5 增塑剂种类 分别考察了丙三醇、丙二醇、聚乙二醇400(PEG400)、柠檬酸三乙酯(TEC),结果见表4。由此可知,加入丙二醇或TEC后薄膜不均匀,有裂痕;加入丙三醇或PEG后可均匀成膜,拉伸强度减小,断裂伸长率升高,以前者更明显,故最终确定为丙三醇。

表4 增塑剂种类筛选结果

Tab. 4 Results for plasticizer kind screening

种类	外观评分/分	成膜时间/min	黏度/(mPa·s)	pH	拉伸强度/(N·mm ⁻²)	断裂伸长率
无增塑剂	23	8.15	2 209.03	5.50	118.05	0.20
丙三醇	25	8.15	2 068.03	5.56	90.65	0.44
丙二醇	16	10.29	2 096.57	5.48	17.82	0.39
PEG	24	9.04	1 999.90	5.48	47.83	0.39
TEC	15	11.05	1 185.30	5.42	41.47	0.67

2.4.6 增塑剂用量 表5显示,增塑剂用量为 薄膜不均匀,出现块状颗粒,故最终确定为0.5 g。0.5 g时力学性能最佳,但超过0.5 g后黏度升高,

表5 增塑剂用量筛选结果

Tab. 5 Results for plasticizer consumption screening

增塑剂用量/g	外观评分/分	成膜时间/min	黏度/(mPa·s)	pH	拉伸强度/(N·mm ⁻²)	断裂伸长率
0.1	20	8.06	2 587.23	5.47	30.48	0.72
0.3	22	10.43	1 701.93	5.53	52.26	0.48
0.5	24	8.25	2 239.10	5.52	90.65	0.44
0.7	20	9.35	1 854.27	5.46	79.74	0.46
0.9	19	8.35	2 689.43	5.49	64.45	0.30

2.4.7 无水乙醇用量 表6显示,无水乙醇用量为 1.5 g外观性状和力学性能良好,故最终确定为1.5 g。

表6 无水乙醇用量筛选结果

Tab. 6 Results for anhydrous ethanol consumption screening

无水乙醇用量/g	外观评分/分	成膜时间/min	黏度/(mPa·s)	pH	拉伸强度/(N·mm ⁻²)	断裂伸长率
1	20	10.88	1 683.67	5.42	46.32	0.37
1.5	22	10.36	1 666.13	5.41	58.15	0.36
2	22	10.27	2 088.90	5.37	68.93	0.23
2.5	21	9.28	1 571.67	5.38	36.38	0.25
3	21	8.69	1 221.87	5.36	23.34	0.30

2.4.8 药物用量 表7显示,药物用量超过0.7 g 后薄膜出现裂痕,故最终确定为0.5 g。

表7 药物用量筛选结果

Tab. 7 Results for drug consumption screening

药物用量/g	外观评分/分	成膜时间/min	黏度/(mPa·s)	pH	拉伸强度/(N·mm ⁻²)	断裂伸长率
0.1	20	10.01	4 007.67	6.03	48.12	0.29
0.3	22	9.35	2 962.33	5.97	62.95	0.30
0.5	24	9.27	2 812.33	5.97	61.49	0.36
0.7	19	9.07	3 065.67	6.02	42.18	0.21
0.9	18	9.56	4 413.67	6.03	41.84	0.26

2.5 正交试验 在单因素试验基础上,选择成膜剂用量(A)、增塑剂用量(B)、无水乙醇用量(C)作为影响因素,成膜时间、外观性状的综合评分(Y)作为评价指标,公式为综合评分=(15-成膜时间)+(成膜性评分+柔韧性评分+均匀性评分),因素水平见表8,结果见表9,方差分析见表10。由此可知,各因素影响程度依次为A>C>B;最优工艺为A₁B₂C₁,即成膜剂用量0.1 g,增塑剂用量0.5 g,无水乙醇用量1 g。

2.6 验证试验 按“2.5”项下优化工艺进行3批验证试验,结果见表11,可知该工艺稳定可靠

表8 正交试验因素水平

Tab. 8 Factors and levels for orthogonal test

水平	A 成膜剂用量/g	B 增塑剂用量/g	C 无水乙醇用量/g
1	0.1	0.3	1
2	0.2	0.5	1.5
3	0.3	0.7	2

(综合评分RSD为1.17%)。最终确定,最优工艺为称取0.3 g MC-400、0.1 g PVA1788,加入0.5 g 丙三醇、4 g 去离子水,搅拌均匀,室温静置溶胀12 h后加入0.5 g 药物、1 g 无水乙醇,搅拌均匀,即得(总量为10 g)。

表9 正交试验设计与结果

Tab. 9 Design and results for orthogonal test

试验号	A	B	C	D(空白)	Y 综合评分/分
1	1	1	1	1	33.97
2	1	2	2	2	32.56
3	1	3	3	3	34.62
4	2	1	2	3	29.81
5	2	2	3	1	29.60
6	2	3	1	2	29.70
7	3	1	3	2	16.88
8	3	2	1	3	20.00
9	3	3	2	1	16.70
K_1	101.15	80.66	83.67	80.27	—
K_2	89.11	82.16	79.07	79.14	—
K_3	53.58	81.02	81.10	84.43	—
k_1	33.72	26.89	27.89	26.76	—
k_2	29.70	27.39	26.36	26.38	—
k_3	17.86	27.01	27.03	28.14	—
R	15.86	0.50	1.53	1.76	—

表10 方差分析结果

Tab. 10 Results for analysis of variance

来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
A	407.805	2	203.903	78.817	0.013
B	0.409	2	0.204	0.079	0.927
C	3.543	2	1.771	0.685	0.594
D(误差)	5.174	2	2.587	—	—

表11 验证试验结果 (n=3)

Tab. 11 Results for verification tests (n=3)

试验号	成膜时间/	成膜性	均匀性	柔韧性	综合
	min	评分/分	评分/分	评分/分	
1	8.74	10	9	9	33.24
2	7.74	9	9	9	34.26
3	8.43	9	9	9	33.57
平均值	8.30	9.33	9.00	9.00	33.69

2.7 镇痛作用研究 40只小鼠随机分为5组,每组8只,分别为对照组、阳性药(扶他林)组(0.05 g/kg)及祛风除痹成膜凝胶低、中、高剂量组(0.025、0.075、0.125 g/kg),适应性喂养7 d后给药,给药前一天小鼠背部脱毛(面积2 cm×3 cm),给药组涂抹相应药物,对照组涂抹空白凝胶,连续5 d。末次给药1 h后,小鼠腹腔注射0.9%冰醋酸(10 mL/kg),观察其15 min内扭体次数(以同时出现腹部凹陷、身体拉长、臀部抬高为扭体),计算抑制率,公式为抑制率=[(模型组平均扭体次数-给药组平均扭体次数)/模型组平均扭体次数]×100%,结果见表12。由此可知,与对照组比较,祛风除痹成膜凝胶中、高剂量组小鼠扭体次数减少(P<0.01),其中高剂量组抑制率大于50%。

表12 成膜凝胶对小鼠扭体次数的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Tab. 12 Effect of film-forming gel on mouse writhing frequency ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	扭体次数/次	抑制率/%
对照组	33.13±4.58	—
阳性药组	12.25±2.82**	63.02
祛风除痹成膜凝胶高剂量组	16.25±6.18**	50.94
祛风除痹成膜凝胶中剂量组	21.50±2.62**	35.09
祛风除痹成膜凝胶低剂量组	28.38±6.61	14.34

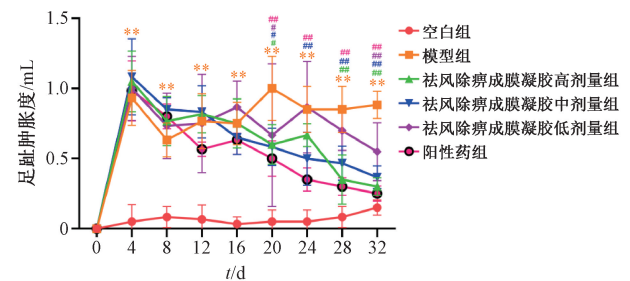
注:与对照组比较,**P<0.01。

2.8 抗炎作用研究

2.8.1 分组、造模与给药 36只大鼠随机分为6组,每组6只,分别为空白组、模型组、阳性药(扶他林)组(0.25 g/kg)及祛风除痹成膜凝胶低、中、高剂量组(0.05、0.15、0.25 g/kg),适应性喂养1周后除空白组外各组右后足底注射0.1 mL完全弗氏佐剂,空白组右后足底注射等量生理盐水^[18-19]。造模后第14天起,给药组大鼠每天给予相应药物,空白组和模型组大鼠每天给予空白基质。

2.8.2 指标检测

2.8.2.1 足趾肿胀度 在造模前一天至给药结束,每4 d采用组织肿胀仪测量大鼠右后足趾长度,计算足趾肿胀度,结果见图1。由此可知,造模后与空白组比较,模型组及各给药组大鼠足趾肿胀度升高(P<0.01),表明造模成功;给药后第32天,与模型组比较,祛风除痹成膜凝胶各剂量组大鼠足趾肿胀度降低(P<0.05, P<0.01)。



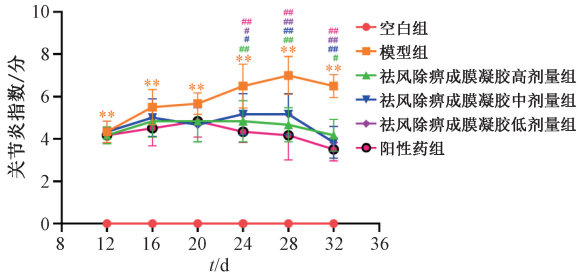
注:与空白组比较,**P<0.01;与模型组比较,#P<0.05,##P<0.01。

图1 各组大鼠足趾肿胀度 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig. 1 Rat paw swelling degrees in various groups ($\bar{x}\pm s, n=6$)

2.8.2.2 关节炎指数 造模前一天至给药结束,每4 d记录大鼠关节炎指数,最高16分,评分标准为0分,无红肿;1分,1~2个趾间关节肿胀或发红;2分,3~4个趾间关节或1个较大关节肿胀或发红;3分,4个以上关节肿胀或发红;4分,

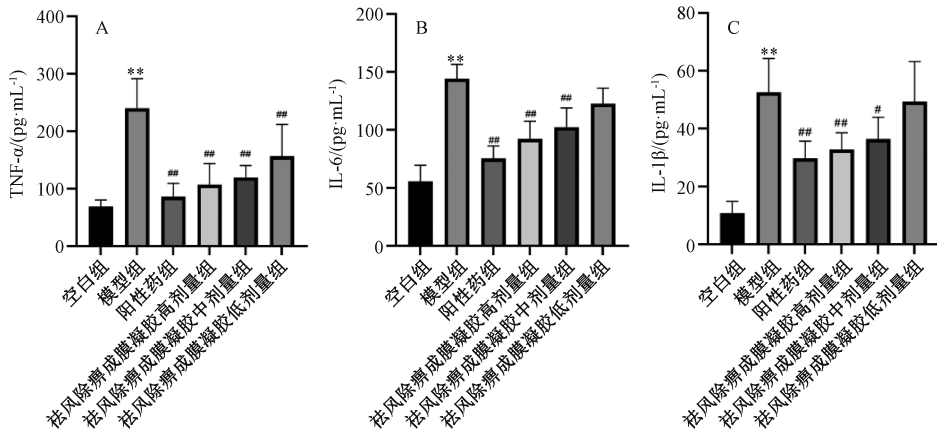
整个关节严重发炎,结果见图2。由此可知,造模后与空白组比较,模型组和给药组大鼠关节炎指数升高 ($P<0.01$),表明造模成功;给药后第32天,与模型组比较,祛风除痹成膜凝胶各剂量组大鼠关节炎指数降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。



注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

图2 各组大鼠关节炎指数 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

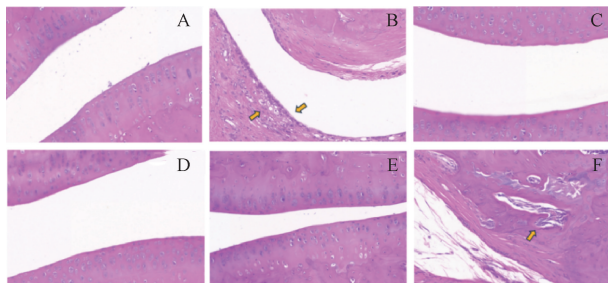
Fig. 2 Rat arthritis indices in various groups ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)



注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

图3 各组大鼠血清 TNF-α (A)、IL-6 (B)、IL-1β (C) 水平 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Fig. 3 Rat serum TNF-α (A), IL-6 (B) and IL-1β (C) levels in various groups ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)



注:A~E分别为空白组、模型组、阳性药组及祛风除痹成膜凝胶高、中、低剂量组。

图4 各组大鼠踝关节 HE 染色图 ($\times 40$)

Fig. 4 HE staining images of rat ankle joints in various groups ($\times 40$)

关节有大量炎性细胞浸润;与模型组比较,祛风除痹成膜凝胶中、高剂量组大鼠踝关节病理变化和增生不明显。

2.8.2.3 血清 TNF-α、IL-6、IL-1β 水平 给药结束后大鼠禁食,腹腔注射戊巴比妥钠麻醉,腹主动脉取血,室温静置 2 h, 3 000 r/min 离心 10 min,取上清液,置于-80℃冰箱中保存,按照 ELISA 试剂盒说明书检测 TNF-α、IL-6、IL-1β 水平,结果见图3。由此可知,与空白组比较,模型组大鼠血清 TNF-α、IL-6、IL-1β 水平升高 ($P<0.01$);与模型组比较,祛风除痹成膜凝胶各剂量组大鼠血清 TNF-α 水平降低 ($P<0.01$),中、高剂量组大鼠血清 IL-6、IL-1β 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$),见图3。

2.8.2.4 病理切片 苏木精-伊红 (HE) 染色后,在显微镜下观察大鼠踝关节病理变化,结果见图4。由此可知,空白组大鼠踝关节软骨表面光滑,未观察到软骨损伤和炎性细胞浸润;模型组大鼠踝

2.9 安全性研究 8 只家兔预饲养 3 d 后随机分组,实验前 24 h 对其背部两侧皮肤进行剃毛,选取无红斑、破损、结痂区域,记号笔标记 2.5 cm×2.5 cm 作为给药区,给药前采用消毒针头在破损皮肤剃毛区域划出“井”字,以出现渗血为度。破损皮肤组和完整皮肤组家兔左侧皮肤涂抹空白基质,右侧皮肤涂抹成膜凝胶,剂量均为 0.5 g/只,给药后贴敷至少 4 h,除去药物,温水清洁给药部位,每天 1 次,连续 7 d,在自然光线下肉眼观察皮肤反应。在每次除去药物后 1 h 和再次贴敷前,以及末次给药后 1、24、48、72 h,观察家兔皮肤药物贴敷部位是否有色素沉着、出血点、皮肤粗糙或变薄情况,记录其发生、消退时间以评价红斑、水肿情况,并进行皮肤刺激反应评分^[20],结果见表 13、图 5。

表 13 家兔皮肤刺激性实验结果
Tab. 13 Results for rabbit skin irritation tests

组别	动物数/只	皮肤刺激反应评分/分				皮肤刺激程度	
		末次给药后 1 h	末次给药后 24 h	末次给药后 48 h	末次给药后 72 h		
完整皮肤组	空白基质	4	0	0	0	0	无刺激性
	祛风除痹成膜凝胶	4	0	0	0	0	无刺激性
破损皮肤组	空白基质	4	0	0	0	0	无刺激性
	祛风除痹成膜凝胶	4	0	0	0	0	无刺激性

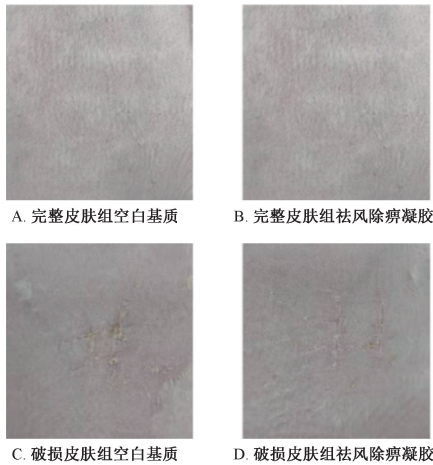


图 5 家兔皮肤病理变化 (除去药物 72 h)

Fig. 5 Pathological changes of rabbit skins (drug removal for 72 h)

由此可知,完整皮肤组和破损皮肤组家兔涂抹成膜凝胶后,给药部位皮肤均未出现红斑和水肿,无明显出血点等异常情况,末次给药后 1、24、48、72 h 也无上述病理变化;2 组相关评分均为 0 分,即皮肤刺激强度为无刺激性。

3 讨论与结论

本实验以成膜时间、pH、黏度、外观性状、力学性能为评价指标,采用单因素试验结合正交试验。最终确定,祛风除痹成膜凝胶最优制备工艺为称取 0.3 g MC-400 与 0.1 g PVA1788,加入 0.5 g 丙三醇润湿基质,再加入 4 g 去离子水,室温放置溶胀 12 h 后加入 0.5 g 药物,最后加入 1 g 无水乙醇,搅拌均匀,制成总量为 10 g 的制剂,它具有良好的外观,便于患者使用。

类风湿关节炎作为一种慢性自身免疫性疾病, TNF- α 、IL-6、IL-1 β 在本病发生过程中通过多种机制来促进炎症和关节破坏^[21-22]。本实验发现,祛风除痹成膜凝胶中、高剂量组大鼠血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平低于模型组,表明该制剂抗炎机制可能与调节三者水平有关,从而减轻炎症反应。皮肤刺激性实验表明,祛风除痹成膜凝胶对家兔未呈现刺激性。

综上所述,针对中药材的非药用部位进行研究时,可提高资源利用率,顺应碳中和背景下中药产业高质量的技术路径^[23],并且其资源价值的发现是开发新药物、扩大药用部位、综合利用资源的重要途径^[4,24]。本实验发现,乌头茎叶毒性比川乌和附子更低,并且抗炎镇痛作用良好,应用潜力巨大^[10-11,17],可为其他中药非药用部位的开发提供新思路。

参考文献:

[1] Kondo N, Kuroda T, Kobayashi D. Cytokine networks in the pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(20): 10922.

[2] 张艳艳, 黄晓玲, 王琼燕. 探讨风湿免疫性疾病患者抗风湿药的不良反应及其安全管理对策[J]. *北方药学*, 2024, 21(5): 105-107.

[3] Moudgil K D, Berman B M. Traditional Chinese medicine: potential for clinical treatment of rheumatoid arthritis[J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2014, 10(7): 819-822.

[4] Lü S W, Wang Q S, Li G Y, et al. The treatment of rheumatoid arthritis using Chinese medicinal plants; From pharmacology to potential molecular mechanisms[J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 176: 177-206.

[5] 巴鑫, 陈哲, 涂胜豪. 乌头汤治疗类风湿关节炎的研究进展[J]. *医药导报*, 2023, 42(2): 173-177.

[6] 吴挺超, 岳仁宋, 何茗芪, 等. 基于医案数据挖掘探讨《金匱要略》乌头汤的应用规律[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2022, 28(4): 614-618.

[7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.

[8] 欧水平, 郑琴, 王森, 等. 乌头各组织部位生物碱类成分动态差异性研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(13): 83-87.

[9] 欧水平. 基于“一体多用”的乌头新药用部位及制剂研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2013.

[10] Zhou Y L, Zhang D N, Qiao J X, et al. Diverse alkaloids from the aerial parts of *Aconitum carmichaelii* and antiproliferative activity of costemline via inhibiting SIRT1/ROCK1/P-STAT3 pathways[J]. *Phytochemistry*, 2023, 207: 113558.

[11] Zhou Y L, Qu C, Yan H L, et al. Unlocking the hidden potential: Enhancing the utilization of stems and leaves through metabolite analysis and toxicity assessment of various parts of *Aconitum*

- carmichaelii*[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 323: 117693.
- [12] 宋怡, 周州, 罗舒, 等. 中药经皮给药制剂的研究与应用探讨[J]. *四川农业科技*, 2023(8): 118-122.
- [13] 贾成友, 张传辉, 李微, 等. 抗类风湿关节炎中药经皮给药制剂研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(16): 226-230.
- [14] Punnell L C, Lunter D J. Film-forming systems for dermal drug delivery[J]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(7): 932.
- [15] Tran T T D, Tran P H L. Controlled release film forming systems in drug delivery: The potential for efficient drug delivery[J]. *Pharmaceutics*, 2019, 11(6): 290.
- [16] 李文娜, 欧水平, 王玉和. 皮肤用成膜制剂研究进展[J]. *遵义医科大学学报*, 2021, 44(3): 389-395.
- [17] 瞿灿, 乔继续, 杨亦奇, 等. 乌头茎叶洗液的抗炎镇痛作用及皮肤给药安全性研究[J]. *成都中医药大学学报*, 2025, 48(2): 1-7.
- [18] Shen Y, Fan X T, Qu Y H, et al. Magnoflorine attenuates inflammatory responses in RA by regulating the PI3K/Akt/NF-kappaB and Keap1-Nrf2/HO-1 signalling pathways *in vivo* and *in vitro*[J]. *Phytomedicine*, 2022, 104: 154339.
- [19] Ren M, Ma K, Pang X Y, et al. Anti-rheumatoid arthritis effects of total saponins from *Rhizoma Panacis Majoris* on adjuvant-induced arthritis in rats and rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes[J]. *Phytomedicine*, 2023, 119: 155021.
- [20] 国家食品药品监督管理总局. 化妆品安全技术规范[S]. 北京: 人民卫生出版社, 2022.
- [21] Zhang Y Y, Gao Z J, Chao S S, et al. Transdermal delivery of inflammatory factors regulated drugs for rheumatoid arthritis[J]. *Drug Deliv*, 2022, 29(1): 1934-1950.
- [22] Guo Q, Wang Y X, Xu D, et al. Rheumatoid arthritis: pathological mechanisms and modern pharmacologic therapies[J]. *Bone Res*, 2018, 6: 15.
- [23] 董孝斌, 肖晓民, 乔宇莹, 等. 碳中和背景下中药产业高质量发展研究[J]. *中国工程科学*, 2024, 26(6): 98-107.
- [24] 明文华, 李晴晴, 黎彩凤, 等. 中药新资源药材实现配伍的方法学探讨[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, 31(12): 248-256.

杜仲叶总黄酮提取工艺优化及其抗氧化活性评价

董小丽^{1,2}, 谢兴文³, 张家旭^{1,2}, 李婉玉^{1,2}, 马趣环², 石晓峰^{2*}

(1. 甘肃中医药大学, 甘肃兰州 730000; 2. 甘肃省医学科学研究院, 甘肃兰州 730050; 3. 甘肃中医药大学附属医院, 甘肃兰州 730000)

摘要: 目的 优化杜仲叶总黄酮提取工艺, 并评价其抗氧化活性。**方法** 在单因素试验基础上, 以乙醇体积分数、液料比、浸泡时间、提取时间为影响因素, 总黄酮、芦丁、异槲皮苷、紫云英苷、根皮苷、槲皮素、山柰酚含量及浸膏得率的综合评分为评价指标, AHP-熵权 TOPSIS 法结合 Box-Behnken 响应面法优化提取工艺。再测定 DPPH·、ABTS⁺· 自由基清除率。**结果** 最佳条件为乙醇体积分数 60%, 液料比 21:1, 浸泡时间 1.5 h, 提取时间 2.0 h, 提取次数 2 次, 各成分含量及浸膏得率分别为 79.671、0.131、1.127、0.035、2.143、0.855、0.157 mg/g 及 37.534%。总黄酮对 DPPH·、ABTS⁺· 自由基的 IC₅₀ 值分别为 0.028、0.053 mg/mL。**结论** 该方法稳定可靠, 可用于提取抗氧化活性较强的杜仲叶总黄酮。

关键词: 杜仲叶; 总黄酮; 提取工艺; AHP-熵权 TOPSIS 法; Box-Behnken 响应面法; 抗氧化活性

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)04-1106-09

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.04.006

收稿日期: 2025-08-29

基金项目: 甘肃省科技重大专项(22ZD6FA021-4); 第七届兰州市人才创新创业大赛项目(2024-02-07); 甘肃中医药大学研究生“创新创业基金”(2025CXCY-0-038)

作者简介: 董小丽(2001—), 女, 硕士在读, 从事中药药效物质基础及其质量控制研究。E-mail: 2986971822@qq.com

* 通信作者: 石晓峰(1964—), 男, 教授, 博士生导师, 从事中药药效物质基础及其质量控制研究。E-mail: shixiaofeng2005@sina.com