中图分类号：R932；R283　　文献标志码：A　　文章编号：1006－4931（2024）23－0059－09
doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2024.23.014

薰衣草精油喷膜剂制备及其药效评价*

陈和平[1]，蒋少晨[2]，孔德华[2]，赵关明[3]，王晓龙[4]，李　波[1]，姜　黎[1]，吴　倪[1]，应　雪[1,2△]

（1. 成都医学院第三附属医院·四川省成都市郫都区人民医院，四川 成都　611700；2. 成都医学院药学院·结构特异性小分子药物研究四川省高校重点实验室，四川 成都　610500；3. 成都天佑晶创科技有限公司，四川 成都　610000；4. 宁波芳香码头生物科技有限公司，浙江 宁波　315000）

摘要：目的　建立薰衣草精油喷膜剂的制备工艺，并进行药效评价。**方法**　以提取时间、乙醇体积分数、乙醇用量为考察因素，以干膏率、游离总蒽醌含量、欧前胡素含量为评价指标，采用 $L_9(3^3)$ 正交试验法优选大黄、白芷的提取工艺。将提取液混合后进行喷雾干燥，通过单因素试验筛选喷膜剂的成膜材料、乙醇体积分数、药粉溶解方式，制备薰衣草精油喷膜剂。对制备的薰衣草精油喷膜剂进行体外抑菌实验；构建小鼠烫伤模型，评价其药效。**结果**　优选大黄、白芷的提取工艺为加 10 倍量 60% 乙醇提取 2 次，每次 2.0 h，提取液混合后于 120 ℃下进行喷雾干燥。单因素试验结果显示，成膜材料选择 3% 羟丙基甲基纤维素，溶剂选择 80% 乙醇，药粉、薰衣草精油、四针氧化锌晶须复合物直接加入溶胀的膜材中，补足溶剂，即成薰衣草精油喷膜剂。抑菌实验结果显示，薰衣草精油喷膜剂对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌的抑菌圈为 8～12 mm，抑菌作用良好。药效评价结果显示，薰衣草精油喷膜剂能加快烫伤的愈合。**结论**　成功制备了抗菌作用良好且能促进烫伤皮肤修复的薰衣草精油喷膜剂。

关键词：薰衣草精油；喷膜剂；四针氧化锌晶须复合物；$L_9(3^3)$ 正交试验法；抑菌作用；药效

***基金项目：**国家自然科学基金[81760421]；四川省自然科学基金[2023NSFSC0680]；四川省科技计划项目[23NSFC1225]；四川省中医药管理局中医药科研专项课题[272]；四川省医学科研课题计划[S16051]。

第一作者：陈和平，男，大学本科，主任药师，研究方向为中药药理学及制剂，（电子信箱）chp0999@sina.com。

△通信作者：应雪，女，博士，教授，研究方向为药物新制剂与新剂型，（电子信箱）yingxueshzu@163.com。

接置封装袋中作保温处理，结果第 2 天起，厚朴开始长出各种菌落，这不仅与酶促反应相关，也与植物中内生菌的转化相关[12－13]。厚朴“发汗”的不同阶段的优势菌属差异明显，中期阶段优势真菌为假丝酵母属，而后期则以曲霉属占优[14]。真菌物种的丰度和多样性表现出先上升后下降的趋势[15]，这与本研究结果中厚朴“发汗”过程中厚朴酚与和厚朴酚含量的变化趋势一致，可能与其内生菌的活动相关。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典（一部）[M]. 北京：中国医药科技出版社，2020：263.

[2] 祁玉芳，范星晨，汪思晨，等. 基于 AHP－CRITIC 复合加权法优选厚朴姜炙工艺及姜炙前后化学成分变化研究[J]. 中国中药杂志，2023，48（14）：3806－3814.

[3] 陈　泽，曾进军. 厚朴酚通过调节 SDF－1/CXCR4 信号通路减轻 LPS 诱导的肾小球血管内皮细胞损伤[J]. 现代医学，2023，51（9）：1292－1298.

[4] 张成盈，姜　璐，王永森，等. 基于网络药理学和分子对接探讨厚朴排气合剂治疗慢性便秘潜在作用机制[J]. 现代药物与临床，2023，38（9）：2146－2154.

[5] 张明发，沈雅琴. 厚朴及其有效成分防治阿尔茨海默病和帕金森病的药理作用及机制研究进展[J]. 药物评价研究，2023，46（9）：2054－2060.

[6] 刘　畅，王　潇，刘　芳，等. “发汗”前后厚朴质量标志物的预测分析[J]. 中国中药杂志，2021，46（11）：2686－2690.

[7] 刘　畅，王　潇，刘　芳，等. 基于多指标质量差异关键属性优化厚朴产地加工“发汗”工艺[J]. 中草药，2021，52（3）：677－684.

[8] 张佳旭，黄成凤，朱兴龙，等. 基于 CRITIC 结合 Box－Behnken 响应面法的厚朴产地趁鲜加工与炮制一体化工艺研究[J]. 中草药，2023，54（17）：5560－5567.

[9] 张　玲，赵　慧，严　颖，等. 不同加工及“发汗”条件厚朴中多元功效成分的测定及主成分分析[J]. 时珍国医国药，2020，31（3）：606－608.

[10] 王　潇，王　婷，张　晨，等. 基于代谢组学研究厚朴“发汗”前后对胃肠动力障碍大鼠的影响[J]. 中国中药杂志，2019，44（60）：1170－1178.

[11] 陈佩东，薛　露，严　辉，等. 厚朴“发汗”工艺的研究[J]. 中成药，2015，37（11）：2469－2472.

[12] 王赛赛. 油莎草内生菌的促生效应及黄酮类化合物的合成机制研究[D]. 无锡：江南大学，2022.

[13] 朱兴龙，卢丽洁，吴清华，等. 基于成分变化研究厚朴“发汗”过程中颜色与酶促反应的关系[J]. 中国中药杂志，2022，47（5）：1262－1272.

[14] 魏　担，吴清华，刘钰萍，等. 基于高通量测序研究厚朴“发汗”过程中微生物群落多样性及其特征[J]. 中国中药杂志，2019，44（24）：5405－5412.

[15] 李玉平，严春兰，骆进程，等. 中药厚朴发汗过程中微生物群落结构及特征的分析[J]. 云南中医中药杂志，2022，43（7）：78－84.

（收稿日期：2023－12－13；修回日期：2024－07－09）

Preparation and Pharmaceutial Evaluation of Film Spraying Agent of Lavender Essential Oil

CHEN Hepin[1], JIANG Shaochen[2], KONG Dehua[2], ZHAO Guanming[3], WANG Xiaolong[4], LI Bo[1], JIANG Li[1], WU Ni[1], YING Xue[1,2]
(1. The Third Affiliated Hospital of Chengdu Medical College · Chengdu Pidu District People's Hospital, Chengdu, Sichuan, China 611700; 2. School of Pharmacy · Key Laboratory of Sichuan Province for Specific Structure of Small Molecule Drugs, Chengdu Medical College, Chengdu, Sichuan, China 610500; 3. Chengdu Tianyou Jingchuang Technology Co., Ltd., Chengdu, Sichuan, China 610000; 4. Ningbo Fragrant Wharf Biotechnology Co., Ltd., Ningbo, Zhejiang, China 315000)

Abstract: Objective To establish the prepare process of film spraying agent of lavender essential oil, and to evaluate its pharmaceutical. **Methods** With extraction time, ethanol volume fraction, and ethanol dosage as investigation factors, and with dry paste rate, free total anthraquinone content, and resveratrol content as evaluation indicators, the $L_9(3^3)$ orthogonal test was used to optimize the extraction process of Rhei Radix et Rhizoma and Angelicae Dahuricae Radix. The extract was mixed and then spray dried. The film - forming material of the spray agent, ethanol volume fraction, and the dissolving mode of the medicinal power were screened through the single factor test to prepare the film spraying agent of lavender essential oil. The *in vitro* antibacterial test of the prepared film spraying agent of lavender essential oil was conducted. The mouse burn model was established to evaluate its pharmacodynamics. **Results** The optimal extraction process of Rhei Radix et Rhizoma and Angelicae Dahuricae Radix was to extract with 10 times of 60% ethanol twice, each time for 2 h, and spray - dry the extract at 120 ℃ after mixing. The results of the single factor test showed that 3% hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC) was selected as film - forming material, 80% ethanol was selected as solvent. The powder, lavender essential oil and four - needle zinc oxide whisker compound were directly added to the swollen film material, and then the solvent was supplemented to form the film spraying agent. The results of antibacterial experiment showed that the bacteriostatic circle of the film spraying agent of lavender essential oil on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* was 8 - 12 mm, with a good antibacterial effect. The results of the pharmaceutical evaluation showed that film spraying agent of lavender essential oil could accelerate the healing of burns. **Conclusion** Film spraying agent of lavender essential oil with a good antibacterial effect and promoting the repair of scalded skin was successfully prepared.

Key words: lavender essential oil; film spray; four - needles zinc oxide whisker complex; $L_9(3^3)$ orthogonal test; antibacterial effect; pharmacodynamics

烫伤是指由火焰、炽热金属、高温气体、化学物质、放射线等所致皮肤组织损伤[1]，烫伤后人体皮肤失去正常的屏障保护作用，创面裸露剧痛，体液外渗，极易引起继发感染[2]。西医常用抗菌药物治疗烫伤，但易发生耐药性，降低疗效[3]。中医药治疗烫伤历史悠久，《千金方》《外科正宗》等中医古籍中对烧烫伤治疗均有记载。目前市售中药制剂多以膏剂为主，具有较好的消炎、生肌作用，但存在透气性差、引发瘢痕增生等缺点[4]，故需开发新剂型，促进中药在烫伤治疗中的应用。薰衣草为唇形花科薰衣草属植物，含挥发油、黄酮、苯丙素等成分[5]。薰衣草精油具有良好的抗菌作用，对金黄色葡萄球菌、革兰阴性菌等具有较强的抑菌作用[6]，对局部烫伤的治疗效果良好[7]。但薰衣草精油脂溶性强、易挥发[8]，直接使用易导致刺激或过敏反应[9]，急需开发适宜剂型，以保证薰衣草精油的良好疗效。喷膜剂由溶剂、成膜材料等组成，以溶液状态存在，使用时以雾状喷出，溶剂挥干后在皮肤表面形成药膜[10]。由于喷膜剂透气性好，给药方便，患者依从性高，用于损伤皮肤表面较其他剂型更有优势[11]。四针氧化锌晶须是针须家族中唯一具有三维结构的晶须，其尖端部分的纳米活性成分[12]能高效灭杀、清除细菌和残骸，具有显著的抑菌效果。但单体四针氧化锌晶须溶解性差，且较少用于医药领域。本研究中拟开发结合使针氧化锌晶须的薰衣草精油喷膜剂，以提升其抑菌活性，更好地发挥薰衣草精油治疗烫伤的作用。现报道如下。

1 仪器、试药、细菌与动物

1.1 仪器

MH - 1000型电热套（北京科伟永兴仪器有限公司）；LC - 203 - 3D型高效液相色谱仪（日本Shimadzu公司）；B290型喷雾干燥仪（瑞士Buchi公司）；SW - CJ - 2FD型超净工作台（上海博讯医疗生物仪器股份有限公司）；UPH - 11 - 10T型纯水仪（四川优普超纯科技有限公司）；DL91150型数显游标卡尺（宁波得力工具有限公司，精度为0.01 mm）；CPA225D型电子天平（德国Sartorius公司，精度为十万分之一）；FA2204B型电子天平（上海越平科学仪器有限公司，精度为万分之一）。

1.2 试药

京万红软膏（天津达仁堂京万红药业有限公司，批号为Z12020440）；琼脂（德国BioFrox公司，批号为8211GR500）；蛋白粉（英国Oxoid公司，批号为LP0042B）；酵母浸粉（青岛高科技工业园海博生物技术有限公司，批号为20211001）；氯化钠（批号为2021030201），聚乙烯醇1788（批号为2021090301），均购自成都科隆化学品有限公司；羟丙基甲基纤维素（HPMC，上海麦克林生化科技有限公司，批号为C13506780）；大黄（批号为200401），白芷（批号为

200202)，均购自四川菩丰堂药业有限公司；薰衣草精油(山东朱氏药业集团有限公司，批号为21112206)；大黄酸对照品、大黄素对照品、大黄酚对照品、芦荟大黄素对照品、大黄素甲醚对照品、欧前胡素对照品(上海源叶生物科技有限公司，批号分别为B20245，B20240，B20238，B20772，B20242，B20929，芦荟大黄素对照品含量不低于97%，其余对照品含量均不低于98%)；甲醇为色谱纯，其余试剂均为分析纯，水为超纯水。

1.3 细菌

金黄色葡萄球菌(ATCC29213)，大肠杆菌(ATCC25922)，均购自上海复祥生物科技有限公司。

1.4 动物

雄性SPF级昆明小鼠25只，6周龄，体质量18～22 g，购于成都达硕实验动物有限公司，实验动物生产许可证号SCXK(川)2020－030。实验方案经石河子大学医学院第一附属医院实验动物伦理委员会批准(批件号：A2018－173－01)。动物饲养在12 h / 12 h明 / 暗循环环境，提供充足的水和饲料。

2 方法与结果

2.1 大黄提取

2.1.1 色谱条件

色谱柱：SVEA^{TM} C_{18} Gold柱(250 mm × 4.6 mm，5 μm)；流动相：甲醇－0.1%磷酸水溶液(80∶20，V / V)；流速：1 mL / min；检测波长：254 nm；柱温：30 ℃；进样量：10 μL。

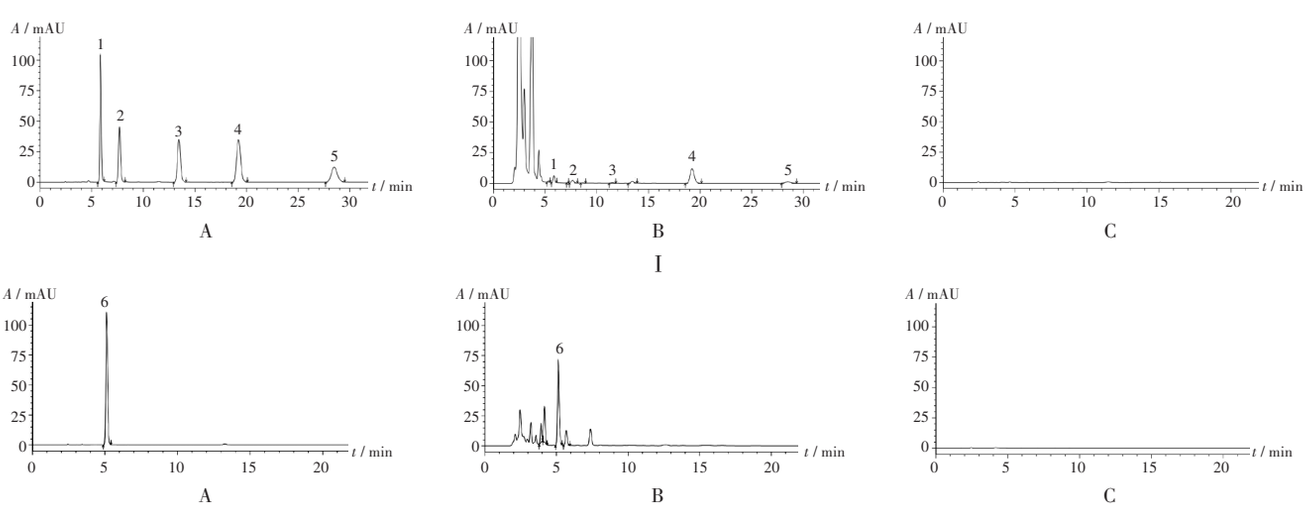
2.1.2 溶液制备

取芦荟大黄素对照品、大黄酸对照品、大黄素对照品、大黄酚对照品、大黄素甲醚对照品各适量，精密称定，加甲醇溶解并定容至10 mL，制成质量浓度分别为2.24，2.07，2.18，2.33，1.95 mg / mL的对照品贮备液；精密吸取对照品贮备液各1.00 mL，置10 mL容量瓶中，加甲醇定容，即得混合对照品溶液。取大黄10 g，加100 mL 60%乙醇回流提取2次，每次2 h，收集提取液，置250 mL容量瓶中，加60%乙醇定容，取2 mL，置10 mL容量瓶中，加甲醇定容，作为供试品溶液。按大黄提取工艺制备缺芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的阴性样品，按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.1.3 方法学考察

专属性试验：精密吸取2.1.2项下混合对照品溶液、供试品溶液及阴性对照品溶液各10 μL，按2.1.1项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果供试品溶液色谱中，在与混合对照品溶液色谱相同保留时间处有相应色谱峰，且阴性对照无干扰，理论板数按大黄素峰计不低于3 000，各峰分离度均大于1.5，表明方法专属性良好。色谱图见图1Ⅰ。

线性关系考察：精密吸取2.1.2项下混合对照品溶液0.062，0.125，0.250，0.500，1.000 mL，置10 mL容量瓶中，加甲醇定容，混匀，按2.1.1项下色谱条件进样，记录峰面积，分别以待测成分质量浓度(X，μg / mL)为



1. 芦荟大黄素 2. 大黄酸 3. 大黄素 4. 大黄酚 5. 大黄素甲醚 6. 欧前胡素
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液
Ⅰ. 大黄提取 Ⅱ. 白芷提取

图1 高效液相色谱图

1. Aloe emodin 2. Rhein 3. Rheum emodin 4. Chrysophanol 5. Physcion 6. Imperatorin
A. Mixed reference solution B. Test solution C. Negative reference solution
Ⅰ. Extract of Rhei Radix et Rhizoma Ⅱ. Extract of Angelicae Dahuricae Radix

Fig. 1 HPLC chromatograms

表1 含量测定方法学考察结果

Tab. 1 Results of the methodological investigation of the content determination

成分	线性关系考察			检测限	定量限	精密度试验*RSD*	稳定性试验*RSD*	重复性试验*RSD*	加样回收试验(%)	
	回归方程	*r*	线性范围(μg/mL)	(μg/mL)	(μg/mL)	(%, *n* = 15)	(%, *n* = 45)	(%, *n* = 30)	平均回收率	*RSD*
芦荟大黄素	*Y* = 3 298 *X* + 183.6	1.000	1.389~22.400	0.034 9	0.107 2	0.46	0.41	0.60	93.27	4.38
大黄酸	*Y* = 1 874 *X* − 238.1	0.998	1.283~20.700	0.028 7	0.101 5	1.10	0.42	0.92	92.86	4.71
大黄素	*Y* = 4 008 *X* − 133.8	0.999	1.352~21.800	0.046 5	0.094 7	0.37	0.30	0.99	93.57	3.31
大黄酚	*Y* = 2 947 *X* − 57.29	1.000	1.445~23.300	0.062 2	0.124 7	0.53	0.33	0.73	93.60	3.99
大黄素甲醚	*Y* = 3 645 *X* + 54.63	0.999 9	1.209~19.500	0.032 8	0.135 9	0.80	0.36	1.23	91.76	3.92
欧前胡素	*Y* = 48 708 *X* − 465.5	1.000	3.026~48.500	0.049 8	0.135 9	1.04	0.19	0.82	95.30	2.33

横坐标、峰面积(*Y*)为纵坐标进行线性回归。结果见表1。

检测限(LOD)和定量限(LOQ)确定：将芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚的对照品溶液稀释，分别以信噪比(*S* / *N*)为3倍和10倍时的质量浓度为LOD和LOQ。结果见表1。

精密度试验：分别精密吸取2.1.2项下混合对照品溶液0.500，0.250，0.125 mL，置10 mL容量瓶中，加甲醇定容，混匀，按2.1.1项下色谱条件进样测定5次，记录峰面积。结果见表1，表明仪器精密度良好。

稳定性试验：精密吸取2.1.2项下供试品溶液1 mL，室温下分别于0，1，2，4，8，12，24，36，48 h时按2.1.1项下色谱条件进样测定5次，记录峰面积。结果见表1，表明供试品溶液在室温下放置48 h内稳定性良好。

重复性试验：取样品粗粉6份，按2.1.2项下方法制备供试品溶液，按2.1.1项下色谱条件进样测定5次，记录峰面积。结果见表1，表明方法重复性良好。

加样回收试验：取已知含量的大黄样品(批号为200401)粗粉6份，每份约10 g，精密称定，分别加入近100%的芦荟大黄素对照品、大黄酸对照品、大黄素对照品、大黄酚对照品、大黄素甲醚对照品，按2.1.2项下方法制备供试品溶液，按2.1.1项下色谱条件进样测定，记录峰面积，并计算回收率。结果见表1。

耐用性试验：取同一份供试品溶液适量，分别在色谱条件一定波动范围[流速(1.0 ± 0.2) mL / min，检测波长(248 ± 2) nm，柱温(30 ± 5)℃]内进样测定，记录峰面积，并计算含量。结果芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚含量的*RSD*均小于2.0%，表明色谱条件小范围变化时此方法仍能满足试验要求，耐用性良好。

2.1.4 含量测定

取大黄样品(批号为200401)粗粉适量，按2.1.2项下方法制备供试品溶液，按2.1.1项下色谱条件进样测定5次，按外标法计算各成分含量，以游离总蒽醌含量为各成分含量之和。

2.1.5 干膏率测定

取收集液10 g，置蒸发皿中，水浴蒸干，105 ℃烘干3 h，冷却，称定质量，计算干膏率。干膏率(%) = (蒸发皿与干膏质量 − 蒸发皿质量) / 样品质量 × 100%。

2.2 白芷提取

2.2.1 色谱条件

检测波长：248 nm；其余色谱条件同2.1.1项下。

2.2.2 溶液制备

取欧前胡素对照品适量，精密称定，加甲醇溶解并定容至10 mL，制成质量浓度为0.194 mg / mL的对照品贮备液；精密吸取对照品贮备液1.000 mL，置10 mL容量瓶中，加甲醇定容，混匀，即得对照品溶液。取白芷10 g，加100 mL 60%乙醇回流提取2次，每次2 h，收集提取液，置250 mL容量瓶中，加60%乙醇定容，取1 mL，置10 mL容量瓶中，加甲醇定容，作为供试品溶液。按白芷提取工艺制备缺欧前胡素的阴性样品，按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

专属性试验：取2.2.2项下混合对照品溶液、供试品溶液及阴性对照品溶液各10 μL，按2.2.1项下色谱条件进样测定。结果供试品溶液色谱中，在与对照品溶液色谱相同保留时间处有相应色谱峰，且阴性对照无干扰，理论板数按欧前胡素峰计不低于3 000，分离度均大于1.5，表明方法专属性良好。详见图1Ⅱ。

线性关系考察：分别精密吸取2.2.2项下对照品贮备液0.156，0.313，0.625，1.250，2.500 mL，置10 mL容量瓶中，加甲醇定容，混匀，按2.2.1项下色谱条件进样测定，记录峰面积，分别以待测成分质量浓度(*X*，μg / mL)为横坐标、峰面积(*Y*)为纵坐标进行线性回归，。结果见表1。

LOD和LOQ确定：取2.2.2项下欧前胡素对照品溶液，逐级稀释，按2.2.1项下色谱条件进样测定，分别以*S* / *N*为3倍和10倍时的质量浓度为LOD和LOQ。结果见表1。

精密度试验：精密吸取2.2.2项下对照品溶液3.00，1.50，0.75 mL，置10 mL容量瓶中，加甲醇定容，混匀，按2.2.1项下色谱条件进样测定5次，记录峰面

积。结果见表1，表明仪器精密度良好。

稳定性试验：精密吸取2.2.2项下供试品溶液1 mL，室温下分别于0，1，2，4，8，12，24，36，48 h时按2.2.1项下色谱条件进样测定5次，记录峰面积。结果见表1，表明供试品溶液在室温下放置48 h内稳定性良好。

重复性试验：取白芷样品（批号为200202）粗粉6份，按2.2.2项下方法制备供试品溶液，按2.2.1项下色谱条件进样测定5次，记录峰面积。结果见表1，表明方法重复性良好。

加样回收试验：取已知含量的白芷样品（批号为200202）粗粉6份，每份约1 g，精密称定，分别加入欧前胡素对照品约1.8 mg，按2.2.2项下方法制备供试品溶液，按2.2.1项下色谱条件进样测定，记录峰面积，并计算回收率。结果见表1。

耐用性试验：取同一份供试品溶液适量，分别在色谱条件一定波动范围[流速（1.0 ± 0.2）mL / min，检测波长（248 ± 2）nm，柱温（30 ± 5）℃]内进样测定，记录峰面积，并计算含量。结果欧前胡素含量的*RSD*均小于2.0 %，表明色谱条件小范围变化时此方法仍能满足试验要求，耐用性良好。

2.2.4 含量测定

取2.2.2项下对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各10 μL，按2.2.1项下色谱条件进样测定5次，按外标法计算欧前胡素含量。

2.2.5 干膏率测定

同2.1.5项下方法。

2.3 大黄与白芷提取工艺优选

以提取时间（因素A）、乙醇体积分数（因素B）、乙醇用量（因素C）为考察因素，以干膏率、游离总蒽醌含量和欧前胡素含量为综合评价指标，采用$L_9(3^3)$正交试验法优选大黄和白芷的提取工艺。因素与水平见表2，试验设计与结果见表3。可见，3个因素对游离总蒽醌含量的影响顺序为乙醇用量（因素C）> 乙醇体积分数（因素B）> 提取时间（因素A），对欧前胡素含量的影响顺序为乙醇体积分数（因素B）> 提取时间（因素A）> 乙醇用量（因素C）。

表2 因素与水平

Tab. 2 Factors and levels

水平	因素A（h）	因素B（%）	因素C（倍）
1	1.0	60	8
2	1.5	80	10
3	2.0	95	12

由方差分析结果可见，提取时间和乙醇体积分数对白芷中的欧前胡素提取效果的影响较大，为重要因素；乙醇用量对白芷中的欧前胡素提取效果的影响较小。详见表4。结合表3分析结果确定白芷提取工艺为加10倍量60%乙醇提取2次，每次2.0 h。3个因素对大黄提取效果的影响均较小，从实际生产与资源利用考虑，确定大黄提取工艺为加10倍量60%乙醇提取2次，每次2.0 h。

表3 $L_9(3^3)$正交试验设计与结果

Tab. 3 Design and results of the $L_9(3)^3$ orthogonal test

序号		因素A（h）	因素B（%）	因素C（倍）	大黄		白芷	
					干膏率（%）	游离总蒽醌含量（mg）	干膏率（%）	欧前胡素含量（mg）
1		1	1	1	22.28	4.40	12.16	13.83
2		1	2	2	20.47	3.07	8.77	14.17
3		1	3	3	13.24	3.18	3.19	11.31
4		2	1	2	32.88	5.37	13.48	15.79
5		2	2	3	11.54	3.29	8.02	16.64
6		2	3	1	24.06	3.47	1.46	14.17
7		3	1	3	19.67	3.15	15.07	18.09
8		3	2	1	39.51	2.37	8.20	17.91
9		3	3	2	14.00	6.77	3.34	21.71
游离总蒽醌含量	K_1	49.83	63.38	61.40				
	K_2	58.76	51.68	68.85				
	K_3	61.14	54.68	42.45				
	R	11.31	11.70	23.40				
欧前胡素含量	K_1'	56.92	81.66	59.43				
	K_2'	61.27	65.06	68.06				
	K_3'	73.67	45.13	64.36				
	R'	16.75	36.54	8.63				

表4 方差分析结果

Tab. 4 Results of the analysis of variance

成分	因素	离差平方和	自由度	均方	F值	P
游离总蒽醌	因素A	213.46	2	106.73	0.96	> 0.05
	因素B	221.62	2	110.81	1.00	> 0.05
	因素C	927.91	2	463.96	4.19	> 0.05
欧前胡素	因素A	453.25	2	226.62	19.46	< 0.05
	因素B	2 007.94	2	1 003.97	86.30	< 0.05
	因素C	112.40	2	56.20	4.83	> 0.05

2.4 提取液干燥温度筛选

将大黄提取液与白芷提取液混合，使用循环水真空泵，将提取液减压浓缩至无醇味，放冷，通过喷雾干燥法对提取液进行干燥，固定蠕动泵转速、风机频率、压缩空气工作压力等参数，筛选喷雾干燥温度（100，110，120，130，140 ℃），以含水量和得粉率作为评价指标。取药粉约0.2 g，精密称定，置称重瓶中，105 ℃干燥3.0 h，冷却后称定质量，按公式（1）计算含水量。取药液约20 g，精密称定，105 ℃干燥3.0 h，冷却后称定质量，按公式（2）和公式（3）计算固含量和得粉率。由图2可

知，随着喷雾干燥温度的升高，得粉率逐渐升高，含水量先降低，后升高，又再降低，温度为120 ℃时的得粉率最高，含水量最低。故喷雾干燥温度选择120 ℃。

含水量(%)=(干燥前药粉和称重瓶总质量－干燥后药粉和称重瓶总质量)/干燥前药粉质量×100% (1)

固含量(g/g)=(干燥后总质量－干燥前蒸发皿质量)/药液称定质量 (2)

得粉率(%)=实际收集药粉量/(药液质量×固含量)×100% (3)

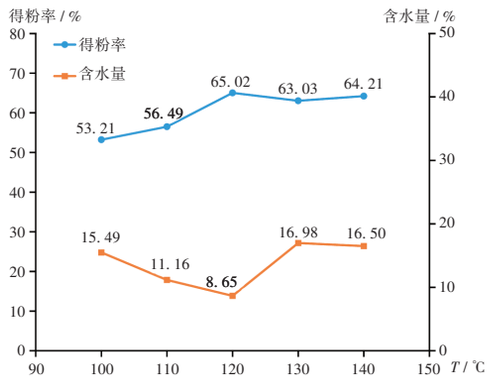


图2 喷雾干燥温度筛选结果

Fig. 2 Screening results of the spray drying temperature

2.5 喷膜剂制备工艺考察

成膜材料与浓度：以溶液状态、喷雾状态、成膜状态、成膜时间为评价指标，取适量成膜材料(2%，3%，4%，6% HPMC和聚乙烯醇1788)或药粉，加4 mL水充分溶胀，加16 mL乙醇溶解，观察有无沉淀、分层等现象；将定容后的溶液转移至25 mL喷瓶中，摇匀，连续按压，观察喷雾状态；用移液器取0.1 mL，置干净载玻片上，室温观察成膜情况，并记录成膜时间。由表5可知，当HPMC浓度为3%时，溶液黏度适中，呈细雾状喷雾，有利于药液均匀涂布在皮肤上，同时干燥后形成的药膜可完整揭下。故成膜材料选择3% HPMC。

表5 成膜材料与浓度筛选结果

Tab. 5 Screening results of the film－forming materials and concentrations

成膜材料	浓度	溶液状态	喷雾状态	成膜性能
HPMC	6%	++	略呈细雾状	成膜，可完整揭下
	4%	++	细雾状	成膜，可完整揭下
	3%	+	细雾状	成膜，可完整揭下
	2%	－	细雾状	成膜，膜易碎
聚乙烯醇1788	6%	++	水线状	成膜，可全部揭下
	4%	+	略呈喷雾状	成膜，可全部揭下
	3%	－	喷雾状	成膜，膜易碎
	2%	－	喷雾状	成膜，膜易碎

注：++指溶液较黏稠，+指溶液一般黏稠，－指溶液不黏稠。

Note：++ refers to the solution that is relatively viscous，+ refers to the solution that is generally viscous，and － refers to the solution that is not viscous.

乙醇体积分数：不同体积分数乙醇对喷膜剂成膜时间的影响较大，低体积分数乙醇的喷膜剂成膜时间较长，高体积分数乙醇会对皮肤造成刺激，故有必要对乙醇体积分数进行筛选，以成膜时间为指标进行考察。称取0.6 g HPMC，加2 mL水充分溶胀，分别加乙醇10，12，14，16，18 mL，加水定容至20 mL，即得乙醇体积分数分别为50%，60%，70%，80%，90%的溶液。由表6可知，当乙醇体积分数为80%和90%时的成膜时间无明显差异，故乙醇体积分数选择80%。

表6 乙醇体积分数筛选结果(min)

Tab. 6 Screening results of the ethanol volume fraction (min)

乙醇体积分数	成膜时间	乙醇体积分数	成膜时间
50%	39	80%	16
60%	29	90%	15
70%	19		

药粉溶解方式：喷雾干燥后的药粉加入溶胀的成膜材料中时，不同加入方式会对溶液状态产生一定影响。药粉直接加入成膜材料中或用乙醇溶解后加入，混合后的溶液较浑浊，透明度较差；用水溶解药粉时，溶液中会出现水不溶性沉淀，黏性较强，怀疑为多糖类成分，考虑白芷多糖类物质也有一定疗效[13]，故直接将药粉用水溶解后加入成膜材料中。取0.6 g HPMC，精密称定，加2 mL水溶解，取药粉约0.2 g，精密称定，加水或乙醇溶解，或直接加入成膜材料中，加乙醇定容至20 mL。

喷膜剂处方：取HPMC，加2 mL水充分溶胀，将大黄、白芷药粉倒入喷膜剂基质中，搅拌均匀，加入冰片，用适量乙醇溶解四针氧化锌晶须复合物、薰衣草精油，并加乙醇至20 mL，搅拌均匀，即得。处方及用量见表7。

表7 薰衣草精油喷膜剂处方与用量(g)

Tab. 7 Prescription and dosage of the film spraying agent of lavender essential oil (g)

处方	HPMC	四针氧化锌晶须复合物	薰衣草精油	药粉	冰片
喷膜剂1	0.6	0.1	0.6	0.8	0.1
喷膜剂2	0.6	0.2	0.8	1.2	0.1
喷膜剂3	0.6	0.3	1.0	1.6	0.1

2.6 体外抑菌实验

培养基制备：取氯化钠2.01 g，酵母提取物1.00 g，琼脂粉0.81 g，蛋白胨2.01 g，用适量水溶解，用5 mol/L氢氧化钠调pH至7.4，加水至200 mL，使用高压灭菌锅于121 ℃条件下灭菌15 min，冷却，即得。

菌液制备：将金黄色葡萄球菌和大肠杆菌分别接种于培养基中，37 ℃恒温培养箱培养24.0 h，挑取单个菌落置灭菌生理盐水中，通过比浊法调整菌液浓度为1.5×10^8 cfu/mL。

含药滤纸片制备：用打孔器将滤纸片裁剪为8 mm

的纸片，121 ℃高压灭菌后将滤纸片浸泡于 200 μL 药液中（空白喷膜剂、喷膜剂 1，喷膜剂 2，喷膜剂 3）30 min，取出，减压低温（压力为 0.08 MPa，温度为 50 ℃）干燥。

抑菌圈实验：取活化好的细菌 100 μL，涂布于培养基上，在预先标记好的位置放置含药滤纸片，置培养箱培养过夜，通过游标卡尺测量抑菌圈直径，以判断抑菌强度。由表 8 可知，制备的薰衣草精油喷膜剂对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌均有较高的抑菌强度，有助于烫伤伤口的愈合。

表 8　体外抑菌实验结果

Tab. 8　Results of the *in vitro* antibacterial test

菌株	空白喷膜剂		喷膜剂 1		喷膜剂 2		喷膜剂 3	
	抑菌圈直径(mm)	敏感性	抑菌圈直径(mm)	敏感性	抑菌圈直径(mm)	敏感性	抑菌圈直径(mm)	敏感性
大肠杆菌	0	-	8~10	+ +	10~12	+ + +	10~12	+ + +
金黄色葡萄球菌	0	-	8~10	+ +	8~10	+ +	8~10	+ +

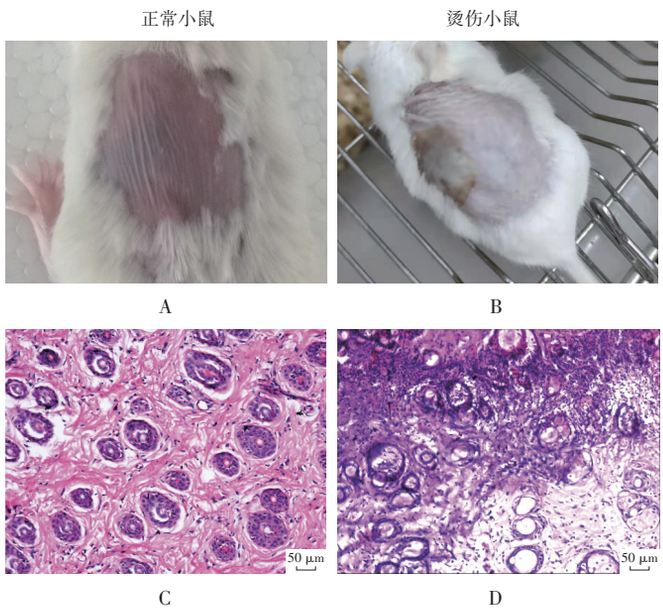
注：+ + + 为高度敏感，+ + 为中度敏感，- 为不敏感。

Note：+ + + refers to high sensitivity，+ + refers to moderate sensitivity，and - refers to insensitivity.

2.7　药效评价

烫伤模型构建：实验前 1 d，采用 10% 水合氯醛麻醉小鼠，用电推剪剪短小鼠背部毛发，用脱毛膏除去小鼠细小绒毛，剔除皮肤受损小鼠。使用砝码进行造模[14-15]，将 20 g 砝码置沸水中 2 min，1 人轻压小鼠，另 1 人将砝码置小鼠脱毛区域 15 s，砝码与皮肤间应无间隙，15 s 后立即移开砝码，使用吹风机（冷风）吹干后放回鼠笼，密切观察小鼠的状态。

分组与给药：随机将小鼠分为模型组、阳性药物组、喷膜剂 1 组、喷膜剂 2 组、喷膜剂 3 组，各 5 只。模型组小鼠予空白喷膜剂 0.1 mL；阳性药物组小鼠予京万红软膏 0.1 g，喷膜剂 1 组、喷膜剂 2 组、喷膜剂 3 组分别予喷膜剂 1、喷膜剂 2、喷膜剂 3 各 0.1 mL，早晚各给药 1 次，给药后用吹风机将药液吹干，连续给药 7 d，记录创伤愈合时间。烫伤后，小鼠背部烫伤部位出现白色分泌物（图 3 A），第 2 天出现黄色溃疡面（图 3 B）。苏木精 - 伊红（HE）病理切片染色结果显示，烫伤部位炎性细胞浸润明显，显示出炎性症状（图 3 C、图 3 D），符合烫伤创面表现[16]。随着给药时间的增加，烫伤部位皮肤逐渐变硬、增厚、整块脱落，故采用创伤皮肤愈合时间（痂块掉落、皮肤修复完整）评价喷膜剂的疗效。采用 GraphPad Prism 19.0 软件对数据进行处理和统计学分析，组间比较行单因素方差分析，$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。由图 4 可见，喷膜剂 2 组和喷膜剂 3 组可明显缩短烫伤愈合时间，效果与阳性药物组相似，表明薰衣草精油喷膜剂具有良好的促烫伤愈合作用。由图 5 可见，Masson 染色结果喷膜剂 3 组小鼠真皮层中胶原纤维呈网状结构排列，具有良好的皮肤组织结构，表明给药后促进了烫伤皮肤的修复。

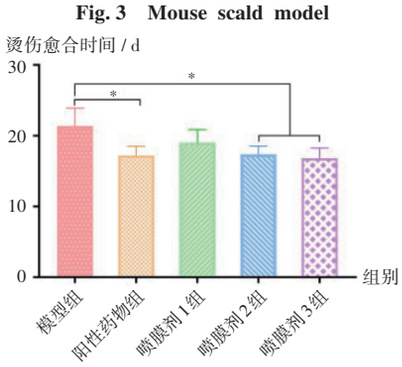


A - B. 皮毛形态　C - D. HE 染色病理切片（× 20）

图 3　小鼠烫伤模型

A - B. Fur morphology　C - D. HE staining pathological section (× 20)

Fig. 3　Mouse scald model



注：与模型组比较，*$P < 0.01$。

图 4　烫伤皮肤愈合时间比较

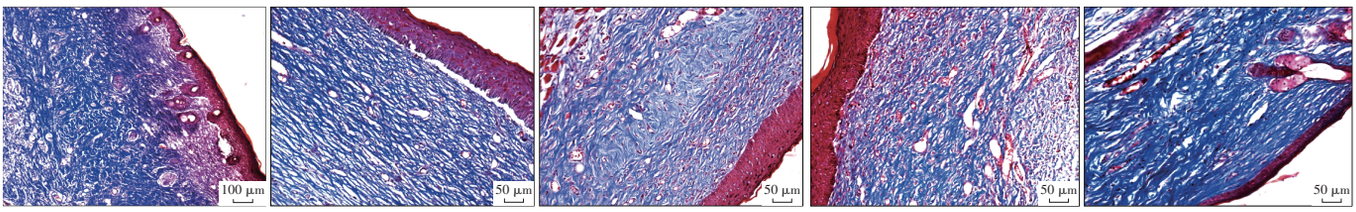
Note：Compared with those in the model group，*$P < 0.01$.

Fig. 4　Comparison of the healing time of scald skin

3　讨论

查阅相关文献发现，回流提取法、微波提取法、超声提取法[17]对大黄、白芷均有较好的提取效果。其中，回流提取法的提取率较高，微波提取法的提取率最高，超声提取法的提取率介于二者之间。根据前期预试验结果，选择加热回流提取法。在制备薰衣草精油喷膜剂时，考虑到操作简单等因素，选择正交试验法[18]优选大黄、白芷的提取工艺，综合比较各因素对提取效果的影响，并分析各因素的影响主次及相互作用，从而确定最优提取工艺条件。

目前，喷膜剂常用溶剂有乙醇、异丙醇等。乙醇毒性较低，能溶解大部分成膜材料，且挥发时间适中，故选择乙醇作为喷膜剂的溶剂[19]。四针氧化锌晶须的抑



A. 模型组 B. 阳性药物组 C. 喷膜剂1组 D. 喷膜剂2组 E. 喷膜剂3组

图5 Masson三原色染色病理切片（×20）

A. Model group B. Positive drug group C. Spray film group 1 D. Spray film group 2 E. Spray film group 3

Fig. 5 Pathological section of the Masson trichrome staining (× 20)

菌浓度为1%～4%[12,20]，且溶解性较差。通过试验可知，4%四针氧化锌晶须在水中和乙醇中皆呈乳白色混悬液，搅拌后玻璃棒上可见细小的白色颗粒，放置一段时间后出现沉淀；将四针氧化锌晶须加入喷膜剂后，喷膜剂呈乳白色，加入越多，颜色越白，放置一段时间后亦出现沉降现象。考察含量为1%，2%，4%四针氧化锌晶须喷膜剂的成膜效果发现，4%喷膜剂形成的膜较脆，不能完整地揭下，1%喷膜剂的膜可完整揭下；2%喷膜剂的膜也能较好地揭下。综合考虑，在动物实验中，喷膜剂2和喷膜剂3中分别加入0.2，0.3 g四针氧化锌晶须。

薰衣草精油是从薰衣草花序中提取精制而来，具有抗惊厥、镇静、抗脂质过氧化、利胆、健胃、发汗、止痛作用，可促进细胞再生，加速伤口愈合，对烧烫灼晒伤有效果，可抑制细菌生长[21]。有研究表明，薰衣草精油可能通过增加表皮生长因子（EGF）和成纤维生长因子－2（FGF－2）含量而有效修复创面[22]，薰衣草精油治疗后产生更薄的表皮层，更接近正常皮肤，并形成更好的真皮和表皮的结构组织[23]。对烫伤愈合的小鼠皮肤进行病理切片染色，Masson染色结果显示，喷膜剂组小鼠真皮层胶原纤维排列整齐，呈网状结构，与阳性药物组相似，表明该喷膜剂能促进烫伤皮肤的修复。同时，观察到喷膜剂3组中小鼠表皮层厚度较其他组更小，猜测制备的喷膜剂可能具有修复瘢痕的作用，但现有研究还不足以支撑该结论，后续需进一步研究。

综上所述，优选大黄、白芷的提取工艺为加10倍量60%乙醇提取2次，每次2.0 h，提取液混合后于120 ℃下进行喷雾干燥。单因素试验结果显示，成膜材料选择3%HPMC，溶剂选择80%乙醇，药粉、薰衣草精油、四针氧化锌晶须复合物直接加入溶胀的膜材中，补足溶剂，即成薰衣草精油喷膜剂。抑菌实验结果显示，薰衣草精油喷膜剂对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌的抑菌圈为8～12 mm，抑菌效果良好。药效评价结果显示，薰衣草精油喷膜剂能加快烫伤的愈合。

参考文献

[1] 沈颖昕，张荣榕，张红印，等. 多指标综合评分优化玉红膏提取工艺及其初步药效研究[J]. 沈阳药科大学学报，2022，39(10)：1272－1279.
[2] YOON D，CHO YS，JOO SY，et al. A clinical trial with a novel collagen dermal substitute for wound healing in burn patients[J]. Biomater Sci，2020，8(3)：823－829.
[3] 边海旭，伍晓晓，李 伟，等. 五谷虫提取物凝胶对大鼠深Ⅱ度烫伤创面愈合的影响[J]. 中国医院药学杂志，2017，37(4)：363－367.
[4] 吴 峥. 薰衣草精油涂膜剂治疗手部Ⅱ度烫伤疗效分析[J]. 中国烧伤创疡杂志，2021，33(2)：115－117.
[5] 陈 萍，刘 兵，符继红. 新疆薰衣草精油抗氧化活性成分的组效关系研究[J]. 中国药房，2021，32(12)：1460－1465.
[6] 韩翔鹏，何美珊，吴金松，等. 薰衣草精油对不同温度下形成的副溶血弧菌成熟生物被膜的清除作用[J]. 食品与发酵工业，2022，48(14)：68－74.
[7] MIASTKOWSKA M，KANTYKA T，BIELECKA E，et al. Enhanced Biological Activity of a Novel Preparation of Lavandula angustifolia Essential Oil[J]. Molecules，2021，26(9)：2458.
[8] DANILA A，MURESAN EI，IBANESCU SA，et al. Preparation，characterization，and application of polysaccharide－based emulsions incorporated with lavender essential oil for skin－friendly cellulosic support[J]. Int J Biol Macromol，2021，191：405－413.
[9] CORAZZA M，AMENDOLAGINE G，BORGHI A，et al. Aromatherapy and occupational allergic contact dermatitis：Two further cases caused by lavender oil and other essential oils[J]. Contact Dermatitis，2019，81(5)：378－379.
[10] 鞠 博，唐 华，唐 倩，等. 一种消毒喷膜剂的制备工艺研究[J]. 中国药业，2020，29(19)：36－39.
[11] 李松洋，邓 妍，杨 放，等. 秦艽喷膜剂的制备工艺研究及其质量标准建立[J]. 中草药，2022，53(20)：6462－6471.
[12] 陈 晰，简璐璐，张锐明. 四针状氧化锌晶须/天然橡胶抗菌医用复合材料的制备[J]. 复合材料学报，2021，38(8)：2694－2705.
[13] 周 鑫，舒晓燕，李鑫奎，等. 白芷粗多糖的提取工艺优化及辐照对其含量和活性的影响[J]. 食品安全质量检测学报，2021，12(21)：8508－8516.
[14] XU X，CHE L，XU L，et al. Green preparation of anti－inflam-