

罗马洋甘菊挥发油脂质体凝胶对特应性皮炎的治疗作用研究

程军^{1#}, 张大存^{2#}, 汪春风², 胡晗璐¹, 钱雪¹, 陈斌^{1*}, 陈国庆^{2*}

(1. 中华全国供销合作总社南京野生植物综合利用研究所, 江苏南京, 211111;

2. 山东九鑫生物工程有限公司, 山东泰安, 271500)

DOI:10.61369/CDCST.2026010015

摘要: 本研究旨在制备白及多糖包裹的罗马洋甘菊挥发油脂质体凝胶 (CNVO-LG), 探究其对小鼠 AD 的治疗效果。结果表明, 罗马洋甘菊挥发油脂质体平均粒径 145.6 nm, 多分散系数为 0.195, 大小均一; 脂质体凝胶呈疏松多孔网络结构。小鼠 AD 模型试验表明, CNVO-LG 可显著改善 AD 小鼠的皮肤损状态, 同时有效抑制 AD 小鼠皮肤和血清中 IgG、TNF α 、IL-4 以及 IFN γ 等细胞因子水平。综上, 罗马洋甘菊挥发油脂质体凝胶在治疗 AD 方面展现出较大应用潜力, 为 AD 治疗提供了潜在方案。

关键词: 罗马洋甘菊; 挥发油; 脂质体凝胶; 特应性皮炎

作者简介: 张大存, 教授, 硕士研究生导师, 广州华瑞智汇生物技术有限公司董事长, 满婷品牌研发负责人。

E-mail: 1440731211@qq.com。

张大存



特应性皮炎 (Atopic dermatitis, AD) 是一种慢性炎症性皮肤病, 以干燥、湿疹样皮损及剧烈瘙痒为特征, 严重影响患者身心健康^[1, 2]。近年来, 我国 AD 发病率呈明显上升趋势^[3]。AD 的病理生理机制极为复杂, 涉及免疫、遗传、环境等多种因素, 这些因素共同推动了疾病发生发展^[4, 5]。目前, AD 的治疗药物种类较多, 其中外用糖皮质激素如地塞米松是最常见的治疗方案, 但激素治疗会导致皮肤萎缩、色素沉积等副作用^[6, 7]。因此, 迫切需要开发安全有效的辅助治疗手段。罗马洋甘菊 (*Chamaemelum nobile* (L.) All., 异名 *Anthemis nobilis* L.) 是菊科 (Asteraceae) 果香菊属 (*Chamaemelum*) 植物。罗马洋甘菊挥发油 (*Chamaemelum nobile* volatile oil, CNVO) 含有反式-松香芹醇、 α -蒎烯、异丁酸异丁酯、莰烯等, 具有抗炎、镇痛和抑菌的功效, 因此被广泛用于治疗皮肤炎症和各种细菌性皮肤感染^[8, 9]。白及 (*Bletilla striata* (Thunb.) Reichb.f.) 为兰科白及属植物, 其干燥的块茎为我国传统中药材^[10]。白及多糖 (*Bletilla striata* polysaccharide, BSP) 具有良好的保湿作用, 生物相容性高且无毒, 同时, BSP 还具有抗炎、增强免疫活性等生物活性, 被广泛应用于食品、化妆品等行业^[11-13]。

本研究首先根据 CNVO 易挥发的特点设计制备了 CNVO 脂质体 (CNVO liposome, CNVO-L), 从而增强了 CNVO 的水溶性和稳定性, 同时采用 BSP 作为辅料包裹 CNVO-L 制备得到罗马洋甘菊挥发油脂质体凝胶 (CNVO-LG), 降低了脂质体的流动性并进一步提高其稳定性。随

后, 使用 DNFB 诱导建立 AD 小鼠模型, 随后外用 CNVO-LGs 进行治疗; 通过观察小鼠皮肤恢复情况、检测血清及皮肤皮损中总 IgE、肿瘤坏死因子 α (TNF α)、干扰素 γ (IFN γ) 和白细胞介素 4 (IL-4) 水平, 探究罗马洋甘菊挥发油脂质体凝胶对 AD 小鼠的治疗作用。

1. 实验材料与设备

罗马洋甘菊挥发油由中华全国供销合作总社南京野生植物综合利用研究所提供; 白及多糖 (上海源业生物技术有限公司); 蛋黄磷脂、胆固醇、甲醇、无水乙醇和甘油 (国药化学试剂有限公司); 吐温 Tween-80 (南京古田化工有限公司); 2,4-二硝基氟苯 (DNFB) 和橄榄油 (上海麦克林生化有限公司); TNF α 、IFN γ 和 IL-4 ELISA 试剂盒 (杭州联科生物技术有限公司); IgE ELISA 试剂盒 (深圳市鑫博生生物科技有限公司); BALB/c 小鼠 (扬州大学)。

SpectraMax M2 多功能酶标仪 (Molecular Devices); JP-040S 超声波清洗机 (深圳市洁盟清洗设备有限公司); Zetasizer Nano ZS90 激光粒度仪 (英国 Malvern 公司); Tecnai 12 透射电子显微镜 (荷兰 Philips 公司); S-4800 II 场发射扫描电镜 FESEM (日本日立); BTP-8ZL0VX-1 冷冻干燥机 (美国 SP Scientific); 5180 R 高速离心机 (Eppendorf); VORTEX GENIUS 3 涡混匀器 (德国 IKA); XMTD203 恒温水浴锅 (江苏科析仪器有限公司);

Axio observer A 1 倒置荧光显微镜（德国 Carl Zeiss 公司）；GIS54DWS 立式自动压力蒸汽灭菌锅（致微（厦门）仪器有限公司）。

2. 实验方法

2.1 CNVO-L 和 CNVO-LG 制备

将一定比例的胆固醇、罗马洋甘菊挥发油、吐温 -80 和蛋黄磷脂溶于 5 mL 乙醇溶液中，缓慢将上述混合液逐滴加入到 20 mL 磷酸盐缓冲液中，期间不断搅拌，彻底混匀后，利用旋转蒸发仪减压蒸发除去乙醇。接着，在 240 W、40 kHz 条件下超声 30 min 即可制备得到 CNVO-L。向 CNVO-L 溶液中加入终浓度 8% 的白及多糖和 5% 的甘油，搅拌均匀使白及多糖得到充分溶胀，即可得 CNVO-LG。

2.2 CNVO-L 和 CNVO-LG 理化性质测试

利用肉眼观察 CNVO-L 和 CNVO-LG 外观性状；利用激光粒度仪测量 CNVO-L 粒径分布、多分散性系数及 Zeta 电位；将 CNVO-L 滴加到铜网上，充分吸附后用 2% 磷钨酸溶液负染，自然干燥后用 TEM 观察 CNVO-L 颗粒形态。

采用离心（3000 r/min、30 min）、低温静置（-20°C、24 h）、高温静置（60°C、6 h）等方法评估 CNVO-LG 稳定性；利用扫描电镜观察 CNVO-LG 内部结构。简要流程为：将 CNVO-LG 置于离心管中，放入 -80°C 冷冻 24 h，移入冷冻干燥机中冻干 24 h，随后将冻干后的凝胶掰断，截面喷金后即可用于扫描电镜观察。

2.3 实验动物模型及给药处理

BALB/c 小鼠 25 只，雄性，7 周龄，体重 24~28 g。分组前，小鼠在 SPF 级动物房饲养 1 周；采用 SPF 级无菌小鼠饲料和蒸馏水喂养，饮食、饮水自由；动物房环境温度 23~25°C，室内相对湿度 40%~60%；12 小时昼夜循环。将小鼠分成 5 组，每组 5 只，分别为空白对照组（Normal）、模型组（DNFB）、CNVO 组（ 2.5×10^4 mg/[kg · d]）、CNVO-LG 组（ 2.5×10^4 mg/[kg · d]）、阳性对照组（Dexamethasone, DXMS）（ 4.0×10^4 mg/[kg · d]）。

小鼠 AD 模型造模及各组药物处理过程如下：在造模的前一天（第 0 天），剔除小鼠大约 4 cm² 的背部毛发；24 h 后（第 1 天）在小鼠背部脱毛区域涂抹 200 μL 0.5% DNFB 溶液（溶解于丙酮和橄榄油中，丙酮：橄榄油 = 3:1），使小鼠致敏；3 天后（第 4 天），用 200 μL 0.2% DNFB 溶液继续涂抹小鼠背部，此后，每 3 天涂抹 1 次 0.2% DNFB 溶液，到实验第 16 天停止，造模结束。造模过程中，空白对照组小鼠仅涂抹生理盐水。造模结束 24 h 后，

空白对照组继续涂抹生理盐水，模型组涂抹生理盐水，其余组按设计用相应药物处理，每 24 h 处理 1 次，4 天后（第 21 天）处死全部小鼠。试验结束后取血，血液常温静置 2 h 后，12000 r/min 离心 15 min，取上清，-80°C 保存；取背部全层皮肤，用液氮保存。

2.3.1 小鼠皮肤恢复情况及评分

观察小鼠皮肤的恢复情况并拍照记录。使用 SCORAD 指数评估小鼠皮炎症状的严重程度^[14]。该指数主要指标为出血/红斑、抓痕/糜烂、水肿、鳞屑/干燥。每个症状的评分为 0（无）、1（轻度）、2（中度）或 3（严重），若症状分值介于两者之间，则可记 0.5 分，所有指标的评分总和即为 SCORAD 得分。

2.3.2 小鼠血清及皮肤中 IgE、TNF-α、IFN-γ 和 IL-4 含量测定

按照 ELISA 试剂盒说明书中的步骤处理小鼠血液和皮肤，对每组小鼠血清和背部皮肤中 IgE、TNF-α、IFN-γ 和 IL-4 的含量进行测定。

2.4 统计分析

使用 GraphPad Prism 9.0 分析数据统计结果，统计的表示方式为平均值 ± 标准误差（Mean ± SEM）。两两比较采用双尾非配对 t 检验进行显著性差异分析。

3. 实验结果

3.1 CNVO-L 和 CNVO-LG 理化性质

按上述方法制备 CNVO-L 并对其理化性质进行观察和表征，结果发现 CNVO-L 溶液呈淡蓝色，流动性好，摇晃静置后无肉眼可见分层、无析出、无絮凝，均匀且稳定，pH 为 6.92 ± 0.05 ，平均粒径为 (145.6 ± 2.1) nm，多分散系数为 0.195 ± 0.06 ，Zeta 电位为 (-13.15 ± 1.98) mV（图 1）。用透射电镜观察 CNVO-L，发现其形态为大小基本均匀的圆形或椭圆形，外层和内层区分明显，外层结构完整（图 2A）。

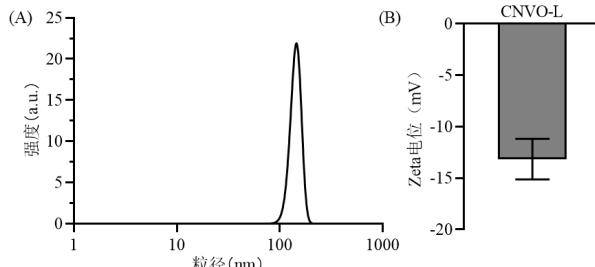
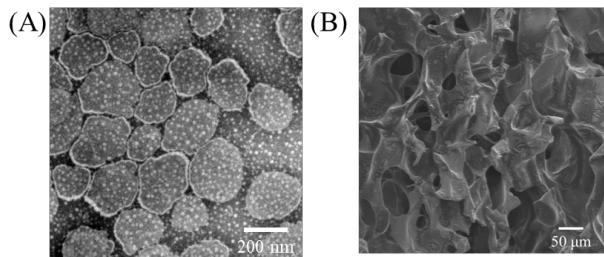


图 1 CNVO-L 粒径分布及 Zeta 电位图

将 CNVO-L 与一定比例白及多糖和甘油混合后制备得

到白色、均一的CNVO-LG，在离心（3000 r/min、30 min）、低温静置（-20℃、24 h）、高温静置（60℃、6 h）条件下均未观察到分层现象，表明CNVO-LG具有较好的稳定性。扫描电镜观察显示，CNVO-LG内部为疏松多孔的网络结构（图2B）。

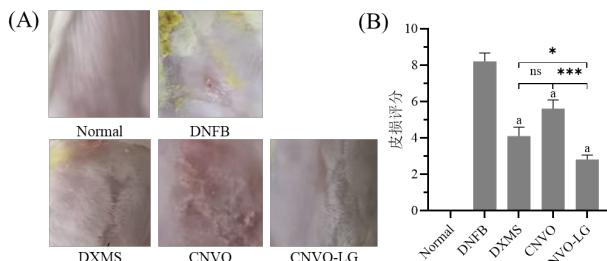


注：(A) CNVO-L透射电镜图；(B) CNVO-LG扫描电镜图。

图2 CNVO-L及CNVO-LG形态结构图

3.2 CNVO-LG对小鼠AD的治疗效果

为研究CNVO-LG对AD的治疗效果，本文利用DNFB涂抹BALB/c小鼠背部皮肤诱导构建AD模型，并利用SCORAD指数对试验结束时小鼠皮损状态进行评估。小鼠皮损张狂及评分统计结果如图3所示，CNVO-LG能够显著改善AD小鼠皮损状态；评分结果显示，模型组得分显著高于空白对照组，表示造模成功；CNVO组及CNVO-LG组均显著低于模型组，而CNVO-LG组得分显著低于CNVO组和阳性对照组(DXMS)。上述结果表明，CNVO-LG具有良好的治疗小鼠AD的效果。



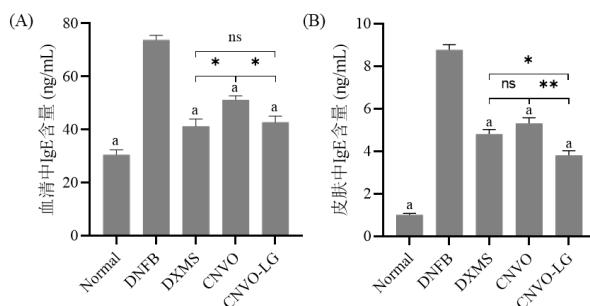
注：(A) 各组小鼠皮肤损伤状况；(B) 各组小鼠皮肤损伤SCORAD评分统计。图中a表示相应组别与DNFB组相比存在显著性差异(p -value < 0.0001)。

图3 AD小鼠皮肤状况及SCORAD评分

3.3 CNVO-LG抑制AD小鼠分泌IgE

特应性皮炎患者常伴有严重的免疫反应，涉及多种免疫细胞分泌的多种促炎细胞因子，如AD患者体内免疫球蛋白E(IgE)水平会显著升高。IgE能够诱导肥大细胞脱颗粒，释放组胺、前列腺素等细胞因子，增强免疫反应。因此，本文采用ELISA法检测AD小鼠血清和皮肤中IgE表达水平。如图4A所示，与空白对照组相比，DNFB诱

导的模型组血清中IgE水平显著升高；经CNVO、CNVO-LG和地塞米松治疗后，血清中IgE水平均有明显降低。此外，CNVO-LG组IgE水平显著低于CNVO组，达到和地塞米松治疗的阳性对照组相似水平。在小鼠背部皮肤皮损处观察到了类似结果，且CNVO-LG组治疗效果优于地塞米松组（图4B）。上述结果表明，CNVO具有良好的抗炎效果，并且脂质体凝胶CNVO-LG进一步增强了其抗炎作用，凸显了CNVO-LG在治疗AD上的潜力。

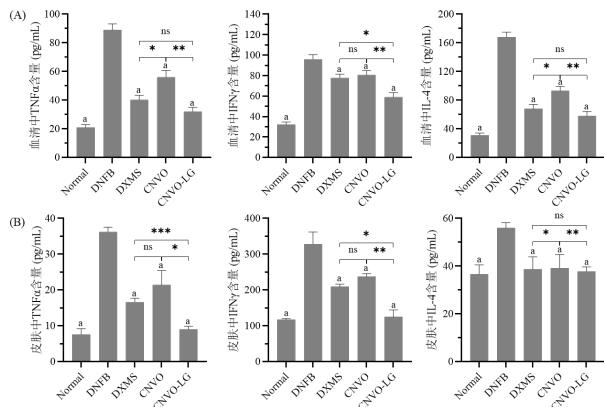


注：(A) 小鼠血清中的IgE水平；(B) 小鼠皮肤损伤处IgE水平。图中Normal表示空白对照组；DNFB表示模型组；DXMS为阳性对照组，表示DNFB造模后用地塞米松处理；CNVO和CNVO-LG为实验组，表示DNFB造模后分别用CNVO和CNVO-LG处理。图中a表示相应组别与DNFB组相比存在显著性差异(p -value < 0.0001)。

图4 AD小鼠血清及皮肤中IgE水平

3.4 CNVO-LG抑制AD小鼠表达TNF α 、IFN γ 及IL-4

除IgE外，特应性皮炎患者在疾病的不同阶段会激活不同的免疫细胞，如辅助性T细胞1(Th1)、辅助性T细胞2(Th2)及辅助性T细胞17(Th17)等，这些辅助T细胞会产生不同的细胞因子如肿瘤坏死因子 α (TNF α)、白介素-4(IL-4)、干扰素 γ (IFN γ)等。为进一步阐明CNVO-LG缓解AD的作用机制，本研究采用ELISA法检测了AD小鼠经CNVO-LG治疗后血清和皮损皮肤中细胞因子TNF α 、IFN γ 及IL-4的表达水平。如图5所示，与空白对照即正常组相比，模型组小鼠血清和皮肤中细胞因子TNF α 、IFN γ 及IL-4的表达水平显著升高；经过地塞米松、CNVO及CNVO-LG治疗后，血清和皮肤中这些炎症因子含量均有不同程度降低；与IgE水平类似，CNVO-LG处理后，小鼠血清中TNF α 、IFN γ 和IL-4的含量能够达到和地塞米松相似甚至由于地塞米松和CNVO组的效果。上述结果进一步证明罗马洋甘菊脂质体凝胶能够有效缓解AD小鼠症状，表现出优秀的抗炎效果，推测CNVO-LG能够通过调节Th1等辅助性T细胞的免疫功能，降低IL-4、TNF α 等促炎因子的表达，从而缓解特应性皮炎的症状。



注: (A) 各组小鼠血清中 TNF α 、IFN γ 及 IL-4 水平; (B) 各组小鼠皮肤损伤处 TNF α 、IFN γ 及 IL-4 表达水平。图中 Normal 表示空白对照组; DNFB 表示模型组; DXMS 为阳性对照组, 表示 DNFB 造模后用地塞米松处理; CNVO 和 CNVO-LG 为实验组, 表示 DNFB 造模后分别用 CNVO 和 CNVO-LG 处理。图中 a 表示相应组别与 DNFB 组相比存在显著性差异 (p -value < 0.0001)。

图 5 AD 小鼠血清及皮肤中 TNF α 、IFN γ 及 IL-4 水平

4. 总结与展望

本研究利用白及多糖包裹由罗马洋甘菊挥发油制备成脂质体, 得到罗马洋甘菊挥发油脂质体凝胶 (CNVO-LG), 并探究其对特应性皮炎的治疗作用。结果表明, CNVO-LG 组成均一且稳定性良好, 内部为疏松多孔的网状结构; CNVO-LG 能有效缓解 AD 小鼠背部皮肤炎症状况, 且效果优于单纯的罗马洋甘菊挥发油, 推测可能与 CNVO-LG 增强洋甘菊挥发油稳定性, 延长作用时间有关。此外, CNVO-LG 能够显著降低小鼠血清中 IgE、TNF α 、IFN γ 、IL-4 等炎症因子, 由于这些炎症因子与 Th1、Th2 等免疫细胞的活化存在密切关系, 推测 CNVO-LG 可能是通过调节特应性皮炎患者体内免疫反应, 抑制炎症发生发展, 从而发挥缓解特应性皮炎的作用。未来, 还需要对 CNVO-LG 的载药量、流变学性能等物理性质, 以及 CNVO-LG 具体的作用机制做进一步研究, 探索其在治疗特应性皮炎中的临床应用潜力。

致谢: 本文得到国家重点研发计划 (2024YFD1600800)、江苏省市场监督管理局科技计划项目 (KJ2025008) 及中华全国供销合作总社科技创新项目 (GXKJ-2024-003) 支持, 特此致谢。

参考文献

- [1] LYONS J J, MILNER J D, STONE K D. Atopic dermatitis in children: clinical features, pathophysiology, and treatment [J]. *Immunol Allergy Clin North Am*, 2015, 35(1): 161–183.
- [2] NAKAHARA T, KIDO-NAKAHARA M, TSUJI G, et al. Basics and recent advances in the pathophysiology of atopic dermatitis [J]. *J Dermatol*, 2021, 48(2): 130–139.
- [3] GUO Y, ZHANG H, LIU Q, et al. Phenotypic analysis of atopic dermatitis in children aged 1–12 months: elaboration of novel diagnostic criteria for infants in China and estimation of prevalence [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2019, 33(8): 1569–1576.
- [4] DAVID BOOTHE W, TARBOX J A, TARBOX M B. Atopic Dermatitis: Pathophysiology [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 1027: 21–37.
- [5] SOLOMON I, ILIE M A, DRAGHICI C, et al. The impact of life-style factors on evolution of atopic dermatitis: An alternative approach [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(2): 1078–1084.
- [6] THYSSEN J P, VESTERGAARD C, DELEURAN M, et al. European Task Force on Atopic Dermatitis (ETFAD): treatment targets and treatable traits in atopic dermatitis [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2020, 34(12): e839–e842.
- [7] BARNES L, KAYA G, ROLLASON V. Topical corticosteroid-induced skin atrophy: a comprehensive review [J]. *Drug Saf*, 2015, 38(5): 493–509.
- [8] 付春雪. 黑龙江罗马洋甘菊挥发油和纯露成分分析及抑菌实验研究 [D]. 佳木斯大学, 2019.
- [9] GALVÀO L C, FURLETTI V F, BERSAN S M, et al. Antimicrobial Activity of Essential Oils against *Streptococcus mutans* and their Anti-proliferative Effects [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012: 751435.
- [10] CHEN Z, CHENG L, HE Y, et al. Extraction, characterization, utilization as wound dressing and drug delivery of *Bletilla striata* polysaccharide: A review [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 120(Pt B): 2076–2085.
- [11] HE X, WANG X, FANG J, et al. *Bletilla striata*: Medicinal uses, phytochemistry and pharmacological activities [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 195: 20–38.
- [12] 马世宏, 金玲, 揭邃, 等. 白芨-丹皮酚化合物在化妆品中的应用研究 [J]. 日用化学品科学, 2009, 32(06): 30–33.
- [13] 庞素秋, 王国权, 吴双, 等. 白及多糖对大鼠深 II 度烫伤创面的保护作用 [J]. 中药材, 2013, 36(11): 1819–1823.
- [14] Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis [J]. *Dermatology*, 1993, 186(1): 23–31.

Study on the Therapeutic Effects of *Chamaemelum Nobile* Volatile Oil Nanoemulsion Gel on Atopic Dermatitis

Cheng Jun^{1#}, Zhang Da-cun^{2#}, Wang Chun-feng², Hu Han-lu¹, Qian Xue¹, Chen Bin^{1*}, Chen Guo-qing^{2*}

(1.Nanjing Research Institute for Comprehensive Utilization of Wild Plants, Nanjing, Jiangsu 211111;

2.Shandong Jiuxin Bioengineering Co., Ltd., Tai'an, Shandong 271500)

Abstract : This study aimed to prepare a polysaccharide-wrapped *Chamaemelum nobile* volatile oil liposome gels (CNVO-LG) and investigate its therapeutic effects on AD in mice. The results showed that the *Chamaemelum nobile* volatile oil liposomes had an average particle size of 145.6 nm with a polydispersity index of 0.195, indicating uniform size distribution. A loose, porous network structure was observed for CNVO-LG via TEM. In vivo studies demonstrated that CNVO-LG significantly reduced skin damage, and effectively suppressed the expression levels of cytokines such as IgG, TNF- α , IL-4, and IFN- γ in AD mice. In conclusion, *Chamaemelum nobile* volatile oil liposome gels show considerable potential for the treatment of AD.

Keywords : *chamaemelum nobile*; volatile oil; nanoemulsion gel; atopic dermatitis

