

• 药剂与工艺 •

基于层次分析-熵权法的经典名方黄连解毒汤提取工艺优化及其抗炎活性研究

朱 月^{1,2}, 陈 燕³, 钟芙蓉¹, 徐曼如¹, 伍文彬^{1*}

1. 成都中医药大学附属医院, 四川 成都 610072

2. 成都中医药大学眼科实验室, 四川 成都 610075

3. 甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730099

摘要: 目的 应用正交试验设计, 结合层次分析法(analytic hierarchy process, AHP)-熵权法, 优化经典名方黄连解毒汤(Huanglian Jiedu Decoction, HJD)的提取工艺, 并通过细胞实验验证其抗炎效果, 为 HJD 的合理化提取提供参考依据。方法 以 HJD 中代表成分小檗碱、黄芩苷、栀子苷和绿原酸的含量以及上清液和自沉淀干膏率为考察指标; 以加水量、提取时间和提取次数为关键工艺参数; 采用正交试验结合 AHP-熵权法确定各指标的权重系数, 计算综合评分。通过脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的小鼠小胶质 BV2 细胞炎症模型, 探讨 HJD 提取工艺综合评分与其抗炎活性的相关性, 并验证优选的提取工艺的抗炎稳定性。结果 HJD 优化提取工艺为 10 倍水量、提取 30 min、提取 3 次。取综合评分为 7.67、9.82 和 12.05 的提取工艺制备 HJD, 分别命名为 H1、H2、H3, 进行药效学验证。结果显示, 与对照组相比, LPS 诱导 BV2 细胞分泌 NO、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6); 与 LPS 组相比, H1、H2、H3 均能降低各组的炎症因子水平, 且相关性分析表明, 评分较高的提取工艺制备的 HJD 可能具有更好的抗炎潜力。进一步对 H3 进行抗炎活性验证, 结果显示 H3 在 100、200、400 $\mu\text{g/mL}$ 剂量下均能降低 LPS 诱导的炎症因子水平, 并呈现良好的剂量效应关系。结论 正交试验结合 AHP-熵权法筛选的 HJD 提取工艺准确可靠, 且稳定可行, 研究结果可为 HJD 后续开发和应用提供科学依据。

关键词: 黄连解毒汤; 工艺优化; 经典名方; AHP-熵权法; 正交试验; 抗炎; 小檗碱; 黄芩苷; 栀子苷; 绿原酸; 自沉淀; 干膏率

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2025)07-2291-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.07.006

Optimization of extraction process of classical prescription Huanglian Jiedu Decoction based on analytic hierarchy process-entropy weight method and its anti-inflammatory activity study

ZHU Yue^{1,2}, CHEN Yan³, ZHONG Furong¹, XU Manru¹, WU Wenbin¹

1. Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, China

2. Key Laboratory of Visual Function and Ophthalmopathy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China

3. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730099, China

Abstract: Objective To optimize the extraction process of the classical herbal formula Huanglian Jiedu Decoction (HJD, 黄连解毒汤) by orthogonal experimental design combined with analytic hierarchy process (AHP) and entropy weight method (EWM),

收稿日期: 2024-10-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82174358); 四川省中医药管理局资助项目(2023MS481)

作者简介: 朱 月(1998—), 女(汉族), 博士研究生, 研究方向为中医药防治呼吸与老年病。E-mail: cathyzhuyue@163.com

*通信作者: 伍文彬(1981—), 男(汉族), 教授, 博士生导师, 研究方向为中医药防治呼吸与老年病。

Tel: (028)87783579 E-mail: wwbl201@vip.sina.com

and validate its anti-inflammatory effects through cellular assays, so as to provide a reference for the rational extraction of HJD.

Methods The contents of representative components in HJD, including berberine, baicalin, geniposide, and chlorogenic acid, as well as the mass of the supernatant and precipitated dry extract rate, were used as indicators. Key extraction parameters, such as the amount of water added, extraction time, and number of extractions, were selected. An orthogonal experiment combined with AHP-EWM was used to determine the comprehensive weight coefficients for each indicator, and a total score was calculated. The correlation between the comprehensive score of the extraction process of HJD and its anti-inflammatory activity was explored using the LPS-induced BV2 microglial cell inflammation model, and the anti-inflammatory stability of the optimized extraction process was verified. **Results** The optimized extraction process for HJD was determined to be 10 times the amount of water, with an extraction time of 30 min and three extractions. Extraction processes with comprehensive scores of 7.67, 9.82, and 12.05 were used to prepare HJD, named H1, H2, and H3, respectively, for pharmacological validation. The results showed that, compared to the blank control group, LPS-induced BV2 cells secreted NO, tumor necrosis factor- α (TNF- α), and interleukin-6 (IL-6). Compared to the LPS group, H1, H2, and H3 all reduced the levels of inflammatory cytokines. Furthermore, correlation analysis revealed that HJD with higher extraction process scores exhibited stronger anti-inflammatory effects. Anti-inflammatory activity was further validated for H3, and the results demonstrated that H3, at three doses (100, 200, 400 $\mu\text{g/mL}$), significantly reduced LPS-induced inflammatory cytokine levels, demonstrating a good dose-response relationship. **Conclusion** The extraction process of HJD optimized by the orthogonal experiment combined with AHP-EWM is accurate, reliable, stable, and feasible. The research results can provide reference for subsequent studies on development and application of HJD.

Key words: Huanglian Jiedu Decoction; process optimization; classic recipe; AHP-EWM; orthogonal experiment; anti-inflammation; berberine; baicalin; geniposide; chlorogenic acid; autprecipitation; dry paste rate

黄连解毒汤 (Huanglian Jiedu Decoction, HJD) 是中医清热泻火解毒的经典名方, 首载于晋·葛洪《肘后方》卷二。现代临床应用中的 HJD 由黄连、黄芩、黄柏、栀子 4 味中药以 3:2:2:3 的比例配伍组成, 其功效为泻火解毒, 主治三焦火毒热盛证^[1]。现代化学成分研究显示, HJD 含有多种有效成分, 包括生物碱类、黄酮类、环烯醚萜类和苯丙素类等化合物^[2-3], 具有抗炎、抗氧化、抗细胞凋亡、调节肠道菌群、保护心血管、降血糖、免疫调节和抗动脉粥样硬化等作用, 可广泛应用于临床, 如关节炎、阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD)、糖尿病、肛周脓肿等各科疾病的治疗^[4-14]。

HJD 在提取过程中会产生絮状物或自沉淀现象^[15], 其原因可能为在热力作用下, 活性成分、脂质、蛋白和多糖等代谢产物析出, 且受到物理作用和化学反应的影响, 上述成分相互作用、相互组装所形成的超分子聚集体^[16]。前期研究表明 HJD 自沉淀中黄芩苷和小檗碱的含量高于上清液, 说明自沉淀含有有效成分^[3,17], 且其具有较好的神经保护活性^[18]。此外, 陈桂荣等^[19]的研究显示, HJD 水煎提取物及采用大孔树脂经水-50%乙醇系统洗脱的 HJD 上清液和自沉淀均具有抗炎效果, 并发现 HJD 中生物碱和黄酮类成分相互作用, 协同环烯醚萜类成分后具有增效减毒的作用。

复方中药的稳定疗效源于其提取工艺的优化

与稳定性。临床中药多混煎, 加水量、提取时间、提取次数以及过滤时的温度等因素均可能影响药物的疗效。HJD 成分复杂, 各成分之间易相互作用, 难以阐明其有效成分。目前药理实验或临床研究暂无从 HJD 产生自沉淀的角度优化其提取工艺^[20-22]。故本研究以 HJD 生物碱类、黄酮类、环烯醚萜类和苯丙素类 4 类代表成分以及上清和自沉淀干膏得率为考察指标, 采用单因素分析和正交试验方法, 以小檗碱、黄芩苷、栀子苷和绿原酸的含量和上清液、自沉淀干膏率为考察指标, 结合层次分析法 (analytic hierarchy process, AHP)-熵权法对上述指标赋权, 确定不同工艺的综合评分, 优选 HJD 的提取工艺。AHP-熵权法将主观和客观相结合, 通过数学运算量化, 并结合 HJD 的抗炎活性对优化工艺进行验证, 确保提取工艺稳定可靠, 为 HJD 的后续研究开发提供参考依据。

1 仪器与材料

安捷伦 1260 型高效液相色谱仪, 美国安捷伦公司; HX1002T 型电子天平, 慈溪市天东衡器厂; 98-1-C 型数字控温电热套, 天津市泰斯特仪器有限公司; RE-5210A 型旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; 80-2 型离心自沉淀器, 金坛市医疗器械厂。

黄芩 (批号 2111090)、黄柏 (批号 2110118)、栀子 (批号 2103050) 饮片均购自于四川新荷花中药饮片股份有限公司, 黄连 (批号 22030) 饮片购

自于四川洪雅县瓦屋山药业有限公司,所有药材均经成都中医药大学附属医院药剂科王玲主管药师鉴定,符合《中国药典》2020 年版相关要求,黄芩为唇形科黄芩属植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根,黄柏为芸香科黄檗属植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid. 的干燥树皮,栀子为茜草科栀子属植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实,黄连为毛茛科黄连属植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. 的干燥根茎。

对照品小檗碱(批号 wkq20183001)、黄芩苷(批号 wkq20183001)、栀子苷(批号 wkq20183001)、绿原酸(批号 wkq20140904)均购自四川省维克奇生物科技有限公司,质量分数均 $\geq 98\%$;乙腈、甲醇,色谱纯,美国 Fisher 公司;冰醋酸,分析纯,成都市科龙化工试剂厂;水,饮用纯净水,杭州娃哈哈集团有限公司;小鼠小胶质 BV2 细胞,货号 CTCC-003-0003,购自浙江美森细胞科技有限公司;CDDO 甲酯(CDDO methyl ester, CDDO-ME)(货号 S8078,批号 S807806)购自 MCE 公司;一氧化氮(NO)检测试剂盒(编号 S0021S)购自碧云天生物技术有限公司;TNF- α 试剂盒(货号 ER0183,批号 FN20240418R)、IL-6 试剂盒(货号 ER01121,批号 FN20240418R)均购自武汉菲恩生物科技有限公司;DMEM 培养基(批号 6124560)购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司;二甲基亚砜(DMSO,细胞培养级,批号 3230821002)购自北京索莱宝科技有限公司。

2 方法与结果

2.1 指标成分的定量测定

2.1.1 供试品溶液的制备 取处方量 HJD: 黄连 9 g、黄芩 6 g、黄柏 6 g 和栀子 9 g。取上述饮片,加水浸泡 30 min,加热回流提取,趁热滤过,合并提取的滤液,加热浓缩后定容至 100 mL,吸取 1 mL,甲醇定容至 25 mL,得 HJD 供试品溶液。

剩余 HJD 提取浓缩液存于 4 °C 冰箱中,备用。

2.1.2 单一对照品溶液的制备 分别精密称取对照品小檗碱 2.64 mg、黄芩苷 5.28 mg、栀子苷 4.32 mg、绿原酸 4.00 mg 置于 10 mL 量瓶中,加甲醇使溶解,分别稀释成质量浓度为 26.40、52.80、86.40、40.00 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液,备用。

2.1.3 混合对照品溶液的制备 精密吸取“2.1.2”项下对照品溶液小檗碱 1.6 mL、黄芩苷 2.2 mL、栀子苷 0.8 mL、绿原酸 1.5 mL 置于 10 mL 量瓶中,

甲醇定容至刻度,即得混合对照品溶液,备用。

2.1.4 色谱条件 色谱柱为 Ultimate C₁₈ (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm) 柱;流动相为乙腈-0.1%冰醋酸水溶液,0~20.0 min,4.0%~15.0%乙腈;20.0~35.0 min,15.0%~20.0%乙腈;35.0~43.0 min,20.0%~22.7%乙腈;43.0~48.8 min,22.7%~25.2%乙腈;48.8~59.0 min,25.2%~29.0%乙腈;59.0~90.0 min,29.0%~45.0%乙腈;90.0~120.0 min,45.0%~58.0%乙腈;120.0~120.1 min,58.0%~4.0%乙腈;120.1~135.0 min,4.0%乙腈;体积流量 0.8 mL/min;进样量 6 μL ;柱温 35 °C;检测波长 254 nm。典型色谱图见图 1。

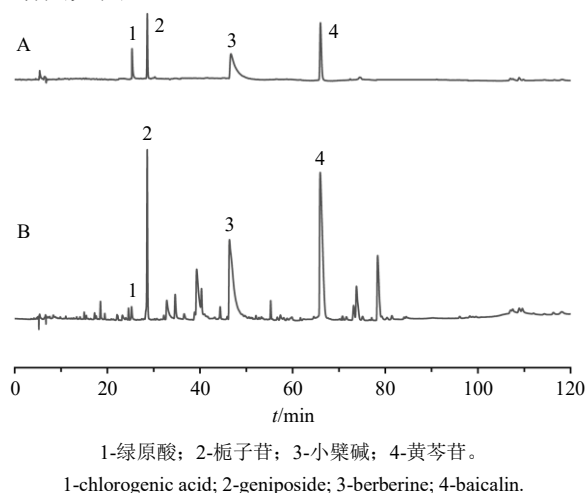


图 1 混合对照品 (A) 及 HJD 样品 (B) 的 HPLC 图
Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A) and HJD sample (B)

2.1.5 线性关系考察 小檗碱对照品溶液,用甲醇稀释定容至 26.40、21.12、15.84、10.56、5.28 $\mu\text{g/mL}$;黄芩苷对照品溶液,用甲醇稀释定容至 52.80、42.24、31.68、21.12、10.56 $\mu\text{g/mL}$;栀子苷对照品溶液,用甲醇稀释定容至 86.40、72.00、57.60、43.20、28.80 $\mu\text{g/mL}$;绿原酸对照品溶液,用甲醇稀释定容至 40.00、31.00、22.00、13.00、4.00 $\mu\text{g/mL}$ 。

精密吸取适量上述对照品溶液,0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液至样品瓶中,在“2.1.4”项色谱条件下进样测定,以峰面积对质量浓度进行线性回归并得到线性范围,结果分别为小檗碱 $Y=286.770 X-12.965$, $R^2=1.000$,线性范围 5.28~26.40 $\mu\text{g/mL}$;黄芩苷 $Y=130.770 X-78.212$, $R^2=1.000$,线性范围 10.56~52.80 $\mu\text{g/mL}$;栀子苷 $Y=25.093 X-0.504$, $R^2=1.000$,线性范围 28.80~86.40 $\mu\text{g/mL}$;绿原酸 $Y=12.696 X+1.630$, $R^2=1.000$,线

性范围 4.00~40.00 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.1.6 精密度考察 取“2.1.3”项下制备的混合对照品溶液,按照“2.1.4”项下色谱条件,分别在 0、4、8、12、16、24 h 时进样测定,计算小檗碱、黄芩苷、栀子苷和绿原酸 4 种成分峰面积的 RSD 分别为 2.24%、1.54%、1.81%、1.46%,表明该仪器精密度良好。

2.1.7 稳定性考察 取 1 份 HJD 供试品溶液,按照“2.1.4”项色谱条件下,分别在制备后 0、4、8、12、16、24 h 进样测定,小檗碱、黄芩苷、栀子苷和绿原酸 4 种成分峰面积的 RSD 分别为 0.72%、0.67%、1.74%、1.41%,结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.8 重复性考察 取 6 份处方量的 HJD 饮片,按照“2.1.1”项下方法平行制备 6 份 HJD 供试品溶液,在“2.1.4”项下色谱条件进样检测,小檗碱、黄芩苷、栀子苷和绿原酸 4 种成分质量分数的 RSD 分别为 0.93%、1.41%、1.04%、1.24%,表明该方法重复性良好。

2.1.9 加样回收率试验 取处方量的 HJD 饮片,浸泡 30 min,加 10 倍水,煎煮 30 min,煎煮 2 次,合并滤液,并测定其指标成分的含量。取上述已测知 4 种成分含量的 HJD 提取液 6 份,每份与“2.1.2”项中相应成分对照品均以含量为 1:1 的比例加入,制备供试品溶液。按照“2.1.4”项下色谱条件进样测定,小檗碱、黄芩苷、栀子苷、绿原酸的平均加样回收率分别为 100.78%、100.25%、95.64%、94.77%,RSD 分别为 1.45%、2.49%、2.54%、2.67%。

2.1.10 样品测定 按“2.1.1”“2.1.2”和“2.1.3”项下方法制备供试品溶液、单一对照品溶液及混合对照品溶液,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液至样品瓶中,采用高效液相色谱法在“2.1.4”项色谱条件下分别测定各指标成分含量。

2.2 干膏率的测定

将“2.1.1”项下备用的 HJD 提取液,置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,静置 24 h,3 500 r/min 离心(相对离心力 $2\,325\times g$) 15 min,分别将上清液和自沉淀置已干燥恒定质量的蒸发皿中,水浴浓缩成浸膏后,将其置于 100 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中烘干 5 h,再取出置于干燥器中冷却 30 min,迅速取出称定质量,记录质量,分别计算干膏率(Y)。

$$Y=m/M$$

m 为 HJD 上清液或自沉淀干膏粉的质量, M 为全方饮片质量

2.3 单因素考察 HJD 提取工艺

2.3.1 加水量考察 取处方量的 HJD 饮片,加水浸泡 30 min,按照“2.1.1”项下方法,分别加入 6、8、10、12 倍处方量的去离子水进行提取,提取 30 min,提取 2 次。结果(表 1)显示,随着加水量的增加,小檗碱、黄芩苷、栀子苷和绿原酸提取量呈先上升后下降趋势,超过 10 倍量水时各指标成分提取量下降。

表 1 加水量对 HJD 中小檗碱、黄芩苷、栀子苷和绿原酸提取量的影响 ($n=3$)

Table 1 Effects of water addition on content of berberine, baicalin, geniposide, and chlorogenic acid in HJD ($n=3$)

加水量/ 倍	提取量/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)			
	小檗碱	黄芩苷	栀子苷	绿原酸
6	0.929	1.858	3.161	0.786
8	0.953	2.095	3.598	0.853
10	1.099	2.310	3.898	1.196
12	0.881	2.167	3.834	0.885

2.3.2 提取时间考察 取处方量的 HJD 饮片,加水浸泡 30 min,按照“2.1.1”项下方法,加入 10 倍处方量的去离子水进行提取,分别提取 15、30、45、60 min,提取 2 次。结果(表 2)显示,随着提取时间的增加,小檗碱、黄芩苷、栀子苷和绿原酸提取量呈上升趋势,超过 30 min 后,除绿原酸外各指标成分提取量下降。

表 2 提取时间对 HJD 中小檗碱、黄芩苷、栀子苷和绿原酸提取量的影响 ($n=3$)

Table 2 Effects of extraction time on content of berberine, baicalin, geniposide, and chlorogenic acid in HJD ($n=3$)

提取时间/ min	提取量/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)			
	小檗碱	黄芩苷	栀子苷	绿原酸
15	0.991	2.357	4.101	0.776
30	1.144	2.613	4.167	1.102
45	1.024	2.201	3.931	1.112
60	1.082	2.471	4.142	0.942

2.3.3 提取次数考察 取处方量的 HJD 饮片,加水浸泡 30 min,按照“2.1.1”项下方法,加入 10 倍处方量的去离子水进行提取,提取 30 min,分别提取 1、2、3、4 次。结果(表 3)显示,随着提取次数的增加,小檗碱、黄芩苷、栀子苷和绿原酸提取量呈先上升后下降趋势,超过 2 次后,除小檗碱、栀子苷外其余指标成分提取量下降。

2.4 正交试验优化 HJD 提取工艺

结合单因素实验结果,以 10 倍加水量、30 min

表 3 提取次数对 HJD 中小檗碱、黄芩苷、栀子苷和绿原酸提取量的影响 ($n=3$)

Table 3 Effects of extraction times on extraction quantity of berberine, baicalin, geniposide, and chlorogenic acid in HJD ($n=3$)

提取次数/ 次	提取量/(mg·g ⁻¹)			
	小檗碱	黄芩苷	栀子苷	绿原酸
1	0.108	2.698	4.494	1.335
2	0.151	3.322	5.304	1.735
3	0.160	3.051	5.610	1.730
4	0.140	3.038	5.744	1.615

表 4 HJD 提取工艺 L₉(3⁴)正交试验设计与结果 ($n=3$)

Table 4 Analysis of L₉(3⁴) orthogonal test results of decocting process of HJD ($n=3$)

实验号	A/倍	B/min	C/次	D (误差)	质量分数/(mg·g ⁻¹)				Y ₁ /%	Y ₂ /%	G
					小檗碱	黄芩苷	栀子苷	绿原酸			
1	8 (1)	15 (1)	1 (1)	(1)	0.882	2.293	3.764	0.815	4.287	0.929	7.672
2	8 (1)	30 (2)	2 (2)	(2)	1.390	2.368	4.825	2.000	5.288	2.472	10.372
3	8 (1)	45 (3)	3 (3)	(3)	1.896	3.444	6.223	1.618	4.746	4.082	10.991
4	10 (2)	15 (1)	2 (2)	(3)	1.249	2.327	4.606	1.107	4.978	2.432	9.822
5	10 (2)	30 (2)	3 (3)	(1)	1.820	3.677	5.237	1.812	6.059	2.901	12.051
6	10 (2)	45 (3)	1 (1)	(2)	1.241	2.416	4.652	1.143	4.803	1.481	8.939
7	12 (3)	15 (1)	3 (3)	(2)	1.830	3.447	5.777	1.917	5.095	2.941	10.691
8	12 (3)	30 (2)	1 (1)	(3)	1.200	2.854	4.059	1.375	4.047	1.980	8.195
9	12 (3)	45 (3)	2 (2)	(1)	1.898	3.347	5.745	1.640	4.695	3.569	10.512
K ₁	29.035	28.185	24.806	30.235							
K ₂	30.812	30.618	30.706	30.002							
K ₃	29.398	30.442	33.733	29.008							
R	1.777	2.433	8.927	1.227							

算方法为 $G_i = H_{ji} \times (\text{绿原酸}_i + \text{栀子苷}_i + \text{小檗碱}_i + \text{黄芩苷}_i + Y_{1i} + Y_{2i})$ (H_j 为 AHP-EWM 综合权重系数, i 为正交试验序号), 正交试验结果见表 4。

2.5 评价指标综合赋权

2.5.1 AHP 法主观分析 按照 HJD 中提取的成分提取量对 6 个考察指标 (小檗碱、黄芩苷、栀子苷、绿原酸的含量和上清液、自沉淀干膏率为考察指标) 进行评分, 并构建各指标成对比较的判断优先矩阵, 进行 AHP 权重计算, 结果见表 5。

最大特征根 ($\lambda_{\max}$) = 6.228, 之后对判断优先矩阵进行一致性检验, 得出 $CI=0.046$, 本实验指标成分有 6 个, 随机一致性指标 (RI) 为 1.26, 最终得出一致性比例 (CR) = $0.036 < 0.1$, 通过一致性检验。HJD 全方中小檗碱、黄芩苷、栀子苷、绿原酸及 Y_1 、 Y_2 的 AHP 权重系数分别为 0.085、0.083、0.092、0.047、0.453、0.240。

2.5.2 熵权法客观分析 熵权法通过将数据标准化,

提取时间、提取 2 次为 3 个因素的中等水平, 设计正交试验方案, 结果见表 4。正交试验采用 3 因素 3 水平进行 9 组试验, 选用 L₉(3⁴)正交设计表, 以 HJD 全方中小檗碱、黄芩苷、栀子苷、绿原酸的提取量和上清液、自沉淀干膏率 (Y_1 、 Y_2) 为考察指标, 考察加水量 (A)、提取时间 (B) 和提取次数 (C) 对 HJD 提取量的影响, 同时设置空白列 (D), 因素水平和试验设计见表 4。

取处方量的 HJD 饮片, 加水浸泡 30 min, 依次按照正交试验设计表进行提取。综合权重 (G) 的计

表 5 HJD 指标成分成对比较的判断优先矩阵评分情况

Table 5 Scoring of judgment priority matrix for comparative analysis of indicator components in HJD

成分	绿原酸	栀子苷	小檗碱	黄芩苷	Y ₁	Y ₂
绿原酸	1.000	0.333	0.500	0.500	0.167	0.222
栀子苷	3.000	1.000	1.000	1.000	0.200	0.250
小檗碱	2.000	1.000	1.000	1.000	0.200	0.333
黄芩苷	2.000	1.000	1.000	1.000	0.200	0.250
Y ₁	6.000	5.000	5.000	5.000	1.000	4.000
Y ₂	4.500	4.000	3.000	4.000	0.250	1.000

计算其信息熵, 通过信息熵计算权重。HJD 全方中小檗碱、黄芩苷、栀子苷、绿原酸及 Y_1 、 Y_2 的熵权法权重系数分别为 0.136、0.292、0.155、0.132、0.151、0.133。

2.5.3 AHP-熵权法计算复合评分 按下列公式, 计算 AHP-熵权法综合权重系数 (H_j), 其中 w_j 、 r_j 为熵权法、层次分析法所得权重系数。

$$H_j = w_j r_j / \sum_{j=1}^n w_j r_j$$

HJD 全方中小檗碱、黄芩苷、栀子苷、绿原酸及 Y_1 、 Y_2 的 AHP-熵权法综合权重系数分别为 0.074、0.154、0.091、0.040、0.437、0.204。AHP-熵权法复合评分法^[23-24]和正交试验设计考察加水量、提取时间和提取次数对 HJD 提取工艺的影响, 结果见表 4、6。由表 4 中 R 值可知, 3 种考察因素对 HJD 提取工艺的影响作用为 $C > B > A$, 这表明提取次数的影响最大, 提取时间次之, 加水量最小。表 4 中 K 值显示最佳提取条件为 $A_2B_2C_3$, AHP-熵权法综合评分显示, 正交试验中 $A_2B_2C_3$ 为最高评分 12.051。结合表 6 方差分析结果, 综合单因素分析、正交试验以及 AHP-熵权法综合评分结果, HJD 的最佳提取工艺为 10 倍量水、提取 30 min、提取 3 次。

表 7 HJD 最佳提取工艺验证试验

Table 7 Test results of optimal decocting process of HJD

序号	质量分数/(mg·g ⁻¹)				Y_1 /%	Y_2 /%	G
	绿原酸	栀子苷	小檗碱	黄芩苷			
1	1.805	5.230	1.819	3.679	20.200	9.670	12.051
2	1.814	5.304	1.821	3.703	20.230	9.646	12.071
3	1.835	5.211	1.820	3.676	20.183	9.668	12.043
$\bar{x} \pm s$	1.818±0.012	5.249±0.040	1.820±0.001	3.686±0.012	20.204±0.019	9.661±0.011	12.055±0.012

2.7 HJD 提取工艺的细胞水平抗炎活性验证

2.7.1 药物的制备 为验证正交设计中不同提取工艺的 HJD 抗炎活性是否与提取工艺综合评分的分值高低相关, 选择综合评分最低分 7.672、评分适中 9.822 和最高分 12.051 对应的 HJD 提取工艺进行药物制备, 标号分别为 H1、H2、H3。上述 3 组 HJD 以 DMSO 和 DMEM 培养基配制为生药质量浓度为 0.1 g/mL 的药液, 备用。

2.7.2 细胞培养和分组给药 将 BV2 细胞以 2×10^5 个/孔接种于 24 孔板中, 待细胞过夜贴壁后, 除对照组外, 每孔采用终质量浓度为 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 的脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 干预, 建立 BV2 细胞炎症模型。给药组应于 LPS 干预前 1 h 分别加入 HJD 和阳性药进行预处理。依据预实验结果, 细胞实验中 HJD 的干预药物终质量浓度 100~400 $\mu\text{g/mL}$ 为安全给药范围, 阳性药物 CDDO-ME (C) 的干预药物质量浓度为 0.25 $\mu\text{mol/L}$ 。

探究不同提取工艺的 HJD 抗炎活性与综合评分关系的细胞实验: 分组为对照组、LPS 组、LPS+H1-400 $\mu\text{g/mL}$ 组、LPS+H2-400 $\mu\text{g/mL}$ 组、LPS+H3-400 $\mu\text{g/mL}$ 组和 LPS+C 组。为进一步探讨 HJD

2.6 HJD 提取工艺的验证试验

依据正交试验结果, 选择 HJD 最优提取工艺进行验证试验。取 3 份处方量的 HJD 饮片, 按照最优的提取工艺进行提取, 按上述方法进行评估, 综合权重的 $\bar{x} \pm s$ 为 12.055 ± 0.012 , 表明优选的提取工艺稳定可行, 结果见表 7。

表 6 HJD 提取工艺 $L_9(3^4)$ 正交试验方差分析

Table 6 Variance analysis table of $L_9(3^4)$ orthogonal test of decocting process of HJD

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
A	0.587 7	2.000	0.293 8	2.075 8	0.325	
B	1.227 2	2.000	0.613 6	4.334 8	0.187	
C	13.740 5	2.000	6.870 2	48.536 6	0.020	$P < 0.05$
D (空白)	0.283 1	2.000	0.141 5			

提取工艺优化效果与抗炎活性的关联性, 本研究以 7.672、9.822 和 12.051 的 HJD 工艺评分, 分别对各评分下 NO、IL-6 和 TNF- α 的浓度进行线性回归, 并进行 Pearson 相关性分析。

探究最优提取工艺的 HJD 抗炎活性的细胞实验: 分组为对照组、LPS 组、LPS+H3-100 $\mu\text{g/mL}$ 组、LPS+H3-200 $\mu\text{g/mL}$ 组、LPS+H3-400 $\mu\text{g/mL}$ 组和 LPS+C 组。

2.7.3 ELISA 法检测 BV2 细胞上清中 IL-6 和 TNF- α 含量变化

(1) 探究不同提取工艺的 HJD 抗炎活性与综合评分关系的细胞实验: 与对照组比较, LPS 组诱导了 BV2 细胞分泌炎症因子 NO、IL-6、TNF- α ($P < 0.001$); 与 LPS 组比较, LPS+H1 组、LPS+H2 组、LPS+H3 组和 LPS+C 组均能降低炎症因子浓度 ($P < 0.001$), 但 LPS+H3 组炎症因子浓度较 H1 和 H2 组低 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 结果见表 8; 以 HJD 提取工艺评分对各评分下炎症因子浓度进行 Pearson 相关性分析, 结果显示, NO、IL-6、TNF- α (Y) 与 HJD 提取工艺评分 (X) 的 Pearson 相关性回归方程分别为 $Y = -0.503 4 X + 8.804 0$, $r =$

表 8 不同评分提取工艺的 HJD 对 LPS 诱导的 NO、TNF- α 、IL-6 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 8 Comparison of anti-inflammatory activity of HJD with different scoring extraction processes ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	剂量/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	NO/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	TNF- α /($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)	IL-6/($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)
对照	—	1.90 $\pm$ 0.12	7.07 $\pm$ 5.83	16.93 $\pm$ 3.94
LPS	1.0	9.46 $\pm$ 0.43 ^{###}	550.28 $\pm$ 2.95 ^{###}	153.74 $\pm$ 4.96 ^{###}
LPS+H1-400	1.0+400	5.08 $\pm$ 0.54 ^{***$\Delta\Delta\Delta$}	454.24 $\pm$ 1.43 ^{***$\Delta\Delta\Delta$}	117.00 $\pm$ 5.12 ^{***$\Delta\Delta\Delta$}
LPS+H2-400	1.0+400	3.59 $\pm$ 0.05 ^{***Δ}	365.70 $\pm$ 2.40 ^{***$\Delta\Delta\Delta$}	106.41 $\pm$ 4.51 ^{***$\Delta\Delta$}
LPS+H3-400	1.0+400	2.87 $\pm$ 0.09 ^{***}	313.65 $\pm$ 4.74 ^{***}	94.25 $\pm$ 4.66 ^{***}
LPS+C	1.0+0.25 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	1.86 $\pm$ 0.11 ^{***}	212.15 $\pm$ 5.59 ^{***}	37.71 $\pm$ 4.94 ^{***}

与对照组比较: ^{###} $P < 0.001$; 与 LPS 组比较: ^{***} $P < 0.001$; 与 LPS+H3 组比较: ^{Δ} $P < 0.05$ ^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$ ^{$\Delta\Delta\Delta$} $P < 0.001$ 。

^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{***} $P < 0.001$ vs LPS group; ^{Δ} $P < 0.05$ ^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$ ^{$\Delta\Delta\Delta$} $P < 0.001$ vs LPS + H3 group.

-0.941 4, $P < 0.000 2$; $Y = -5.195 X + 157.000$, $r = -0.921 8$, $P < 0.000 4$; $Y = -32.040 X + 693.400$, $r = -0.986 4$, $P < 0.000 1$ 。上述结果表明, HJD 提取工艺评分与 NO、IL-6 和 TNF- α 浓度之间存在显著的负相关关系 ($P < 0.001$ 、0.000 1), 说明评分较高的提取工艺制备的 HJD 可能具有更好的抗炎潜力。

(2)探究最优提取工艺的 HJD 抗炎活性的细胞

实验: 与 LPS 组比较, LPS+H3-100 组、LPS+H3-200 组和 LPS+H3-400 组均能降低炎症因子浓度 ($P < 0.01$ 、0.001), 但 LPS+H3-400 组炎症因子浓度较 LPS+H3-100 组、LPS+H3-200 组低 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 结果表明, 在本研究的 HJD 质量浓度范围内, 最优提取工艺制备的 HJD 具有良好的抗炎活性, 且呈良好的量效关系, 结果见表 9。

表 9 最优提取工艺的 HJD 对 LPS 诱导的 NO、TNF- α 、IL-6 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 9 Effects of optimal extraction process of HJD on inflammatory factors of NO, TNF- α and IL-6 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	剂量/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	NO/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	TNF- α /($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)	IL-6/($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)
对照	—	1.77 $\pm$ 0.08	7.69 $\pm$ 3.69	17.37 $\pm$ 1.36
LPS	1.0	9.06 $\pm$ 0.38 ^{##}	557.35 $\pm$ 13.85 ^{###}	169.05 $\pm$ 3.21 ^{###}
LPS+H3-100	1.0+100	5.59 $\pm$ 0.22 ^{**$\Delta\Delta$}	450.03 $\pm$ 23.61 ^{***$\Delta\Delta\Delta$}	121.55 $\pm$ 8.01 ^{***$\Delta\Delta\Delta$}
LPS+H3-200	1.0+200	3.73 $\pm$ 0.18 ^{**Δ}	374.74 $\pm$ 10.64 ^{***$\Delta\Delta\Delta$}	115.43 $\pm$ 3.79 ^{***Δ}
LPS+H3-400	1.0+400	2.82 $\pm$ 0.11 ^{**}	294.67 $\pm$ 4.85 ^{***}	106.12 $\pm$ 7.50 ^{***}
LPS+C	1.0+0.25 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	1.82 $\pm$ 0.02 ^{**}	173.54 $\pm$ 19.54 ^{***}	40.51 $\pm$ 3.46 ^{***}

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$; 与 LPS 组比较: ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$; 与 LPS+H3-400 组比较: ^{Δ} $P < 0.05$ ^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$ ^{$\Delta\Delta\Delta$} $P < 0.001$ 。

^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs LPS group; ^{Δ} $P < 0.05$ ^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$ ^{$\Delta\Delta\Delta$} $P < 0.001$ vs LPS + H3-400 group.

2.8 数据统计

提取工艺研究, 每组实验重复 3 次, 结果取平均值; 细胞抗炎活性研究, 实验各组样本数量 $n = 3$, 使用 IBM SPSS Statistics 22.0 软件对实验结果进行统计分析, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 描述, 组间比较采用单因素方差分析, 符合正态性且方差齐时进行 LSD 检验, 若方差不齐则进行 Dunnett's T_3 检验。以 Graph Pad Prism 9.5 对统计结果进行分析, 同时对炎症因子浓度与 HJD 提取工艺的综合评分进行了相关性分析。

3 讨论

由于 HJD 是清热解毒复方, 且易产生自沉淀, 为全面分析并确定其最佳提取工艺, 本研究选择了 4 种代表成分小檗碱、黄芩苷、栀子苷、绿原酸以及上清液、自沉淀的干膏率为指标, 通过正交试验

与 AHP-熵权法对各提取工艺综合评分进行优选, 并通过细胞实验以抗炎活性对工艺优选的 HJD 进行验证。

本研究优选的提取工艺参数既完成预期设定的目标, 尽量达到药效成分的最大化提取效果, 又考虑了中药复方的完整性, 保留自沉淀。本实验弥补了目前 HJD 提取工艺优化研究的不足^[1,20], 为加水量、提取时间和提取次数提供了可行的优化方案, 并通过工艺验证和药效学验证, 为 HJD 的药理研究和临床应用提供了实验依据。

3.1 评价指标的选择

在 HJD 水提取工艺中, 优化其提取工艺参数需要选择合适的评价指标。HJD 的主要活性成分包括生物碱类、黄酮类、环烯醚萜类和苯丙素类等, 故本研究选择其代表成分小檗碱、黄芩苷、栀子苷、

绿原酸为代表性的测量指标^[25-26]。

此外, HJD 成分复杂, 水煎煮提取过程中不仅将水溶性有效成分提取出来, 在皂苷、多糖、蛋白等具有表面活性的助溶下, 脂溶性成分也可以被提取出来, 这些成分相互作用, 可以形成胶体或者自沉淀, 即自组装现象^[27-29]。其形成原因较多, 以复方中酸碱性成分络合形成大分子复合物, 溶解性降低而自沉淀的假说为主^[30-32]。研究表明, HJD 自沉淀中黄芩苷和小檗碱的含量高于上清液, 说明自沉淀含有有效成分^[3,17]。因此对提取液中的化学成分进行测定无法准确反应该工艺下的提取效果, 必须要考虑到自沉淀中成分的含量。同时多项研究结果显示, 中药汤剂中的自沉淀微粒具有增强药物疗效、减少毒性和良好的神经保护作用^[15,33-35]。基于此, 本研究将 HJD 全方分为上清液和自沉淀 2 部分, 分别测定干膏率并赋权评分, 以便全面评估提取工艺的提取效果。

3.2 AHP-熵权法优选最佳提取工艺

AHP 法是主观赋权方法, 可以对多种指标进行系统化、层次化分析, 适合中药中多成分多指标的权重计算, 但是 AHP 受评估者的主观经验影响较重^[36-37]。熵权法是一种客观赋权的方法, 根据指标变异性的大小来确定客观权重, 对数据依赖大, 但是熵权法未考虑指标间的相关性, 易出现权重分配失衡, 导致权重失真^[38-39]。将 AHP 和熵权法结合能够考虑到 HJD 不同指标之间的相互影响和权重的重要性, 综合考虑中药质量评价中各指标的重要性和优劣势, 全面、客观地反映实验结果的真实性和准确性^[23,40-42]。

提取工艺是中药制剂生产过程中的关键环节之一, 其优劣直接影响到制剂临床疗效。加水量是影响中药煎煮过程中有效成分浸出的关键因素, 提取时间是影响有效成分提取率的重要因素, 而提取次数可以保证有效成分充分析出的同时, 又能节省能耗并提高工艺效率, 故本研究选择加水量、提取时间和提取次数为 HJD 提取工艺的关键工艺参数。本研究首先通过单因素实验直观地获得每个参数的最优区间, 即 10 倍量水, 提取 30 min, 提取 3 次, 并以此为基础通过正交试验设计系统全面分析多因素的共同作用。

将正交试验设计与 AHP-熵权法评分结合优选最佳工艺, 能够在高效筛选、科学评价、全面优化的基础上, 兼顾多指标、多目标的平衡, 显著提升

工艺优化的科学性和实际应用价值。

3.3 工艺验证及细胞抗炎活性探究

本研究优选的 HJD 提取工艺是 10 倍量水, 提取 30 min, 提取 3 次。工艺验证试验中小檗碱、黄芩苷、栀子苷、绿原酸提取量和上清液、自沉淀的干膏率波动范围不大, 表明优化的工艺稳定可行。

HJD 是治疗 AD 的有效方剂, 且本团队的前期研究表明, HJD 对于神经炎症具有较好的抑制作用^[43-45], 故本研究采用 LPS 诱导的小鼠小胶质 BV2 细胞炎症模型考察不同工艺以及最优工艺的不同浓度的 HJD 的抗炎活性。结果表明, 优化提取工艺的 HJD 具有较好的抗炎活性, 原因可能是优化的 HJD 有效成分的析出较多, 细胞抗炎活性从疗效上验证了优化的提取工艺的合理性。此外, 本研究考虑了 HJD 自沉淀的产生, 推测其可能是提取过程中活性成分、脂质、蛋白质和多糖等代谢产物在热力学作用下通过物理和化学反应而形成。有研究表明中药自组装聚集体活性与疗效更优^[17,46], 未来会进一步探索 HJD 的自沉淀是否会进一步影响 HJD 的疗效。

本实验基于正交试验结合 AHP-熵权法优化 HJD 的提取工艺, 量化了 HJD 提取工艺的参数, 并进行药效实验验证, 使研究更加准确、客观。未来将在此研究基础上进一步探索 HJD 自沉淀的物质基础及作用, 阐明其化学成分构成、药理活性以及药效, 揭示中药复方水煎自沉淀是否可以作为新型有效部分加以开发利用, 进一步优化其提取工艺。作为临床最广泛使用的传统中药剂型, 中药汤剂具有独特的优势, 在传统煎药工艺的基础上, 结合 HJD 的现代化药理学和临床研究成果, 本研究对其提取工艺进行了深入探索, 为后续研究、临床应用和工业化生产提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李军鸽, 王永春, 孟珈同, 等. 黄连解毒汤古法煎煮与现代煎煮的差异研究 [J]. 中国民族民间医药, 2022, 31(14): 65-70.
- [2] 李军鸽, 赵莹, 王永春, 等. 黄连解毒汤物质基准量值传递分析 [J]. 中草药, 2022, 53(11): 3348-3356.
- [3] Chen M, Wang P L, Li T, *et al.* Comprehensive analysis of Huanglian Jiedu decoction: Revealing the presence of a self-assembled phytochemical complex in its naturally-occurring precipitate [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2021, 195: 113820.

- [4] 刘建鑫, 揭珊珊, 陈冰, 等. 基于 NLRP3 炎症小体和 TLR4/NF- κ B 信号通路探讨黄连解毒汤治疗急性痛风性关节炎的作用机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(23): 1-7.
- [5] 刘海林, 霍娟勇, 燕垚旬. 黄连解毒汤联合白虎汤加減对脓毒血症 (热毒壅滞型) 患者 CAT、TNF- α 、D-D、CHE 及脏器功能的影响 [J]. 中药药理与临床, 2024, 40(1): 76-80.
- [6] 李建椽, 陈春玲, 李芳艳, 等. 黄连解毒汤调节 Akt/mTOR 及 Beclin-1 自噬信号通路改善 SHR 主动脉损伤作用机制的研究 [J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(12): 41-44.
- [7] 符绩军, 刘志勇, 胡敏, 等. 黄连解毒汤联合低热量饮食对新诊断肥胖 2 型糖尿病血糖及胰岛素分泌影响的研究 [J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(12): 143-145.
- [8] 何文娇, 胡甜, 石晶晶, 等. 基于 16S rDNA 技术研究黄连解毒汤对 db/db 糖尿病小鼠肠道菌群的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(8): 5024-5028.
- [9] 揭珊珊, 孙慧娟, 刘建鑫, 等. 黄连解毒汤调控炎症免疫抗类风湿性关节炎机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(13): 28-33.
- [10] 孙亦轩, 王俊力, 刘欣, 等. 基于 Nrf2 信号通路探讨黄连解毒汤对阿尔茨海默病小鼠学习记忆的改善作用 [J]. 中成药, 2024, 46(7): 2371-2375.
- [11] 李建椽, 马晓聪, 李芳艳, 等. 黄连解毒汤调控 IRE1 α -XBP1-CHOP 内质网应激信号通路改善 SHR 主动脉损伤 [J]. 中国中西医结合杂志, 2023, 43(5): 585-590.
- [12] 方元华, 陈义. 黄连解毒汤合五味消毒饮加味外敷联合西医治疗竹叶青蛇咬伤火毒证 31 例 [J]. 浙江中医杂志, 2023, 58(6): 428-429.
- [13] 何金涛, 轩弘源, 罗舒文, 等. 黄连解毒汤通过抑制 ApoE^{-/-}小鼠巨噬细胞极化和炎症减轻高脂饮食诱导的动脉粥样硬化 [J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(6): 1399-1404.
- [14] 刘婷, 于红红, 王文佳, 等. 基于 PPAR γ /LXR α /ABCG1 通路探讨黄连解毒汤对泡沫细胞脂质蓄积的干预作用 [J]. 时珍国医国药, 2023, 34(4): 838-842.
- [15] 韦玉芳, 窦志英, 金传山, 等. 中药汤剂中的微粒研究进展 [J]. 药科学报, 2023, 58(2): 339-350.
- [16] 魏吉昌, 林晓钰, 张景怡, 等. 基于相态变化探讨煎煮方式对黄芩-黄连超分子物质基础及配伍“和合”机制的影响 [J]. 中草药, 2024, 55(24): 8366-8378.
- [17] 王琪, 郭小萌, 倪乾坤, 等. 中药水煎液自组装聚集体研究面临的问题初探 [J]. 药科学报, 2024, 59(1): 94-104.
- [18] 房康, 吴高荣, 王辉, 等. 黄连解毒汤自沉淀化学成分及其抗 PC12 细胞损伤研究 [J]. 中草药, 2017, 48(18): 3714-3719.
- [19] 陈桂荣, 李明玉, 解世全, 等. 黄连解毒汤及其各部位群抗炎物质基础 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(1): 98-102.
- [20] 徐玉玲, 谭小君, 徐腾达, 等. 黄连解毒汤最佳提取工艺研究 [J]. 成都大学学报: 自然科学版, 2016, 35(1): 19-22.
- [21] 沈嫣婧, 齐艳, 楼正青. 黄连解毒汤对腹透患者感染病原菌的作用研究 [J]. 浙江中医杂志, 2017, 52(3): 165-166.
- [22] 王琳娜, 顾欣如, 司南, 等. 基于非靶向代谢组学的 APP/PS1 小鼠与认知功能障碍相关的生物标志物发现及黄连解毒汤干预机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(22): 6117-6126.
- [23] 王梦珂, 王梦伟, 李蒙恩, 等. 基于 AHP-熵权法的白附子有效成分与颜色值的相关性研究 [J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(12): 125-131.
- [24] 李娟, 李保安, 方晗, 等. 基于 AHP-熵权法的发明专利价值评估: 以丰田开放专利为例 [J]. 情报杂志, 2020, 39(5): 59-63.
- [25] 黄涛阳, 王晖, 翁燕君, 等. 电喷雾电离-串联质谱快速分析黄连解毒汤的化学成分 [J]. 中药材, 2017, 40(1): 119-121.
- [26] 杨丽宏, 袁子文, 纪鹏, 等. 黄连解毒汤中 13 种活性成分的 HPLC 检测及其有效部位的筛选 [J]. 中草药, 2019, 50(16): 3794-3801.
- [27] 胡静雯, 贾国香, 董亚倩, 等. 从中药全过程视角探析纳米颗粒自组装行为及应用 [J]. 中草药, 2022, 53(22): 7307-7316.
- [28] Li T, Wang P L, Guo W B, *et al.* Natural berberine-based Chinese herb medicine assembled nanostructures with modified antibacterial application [J]. *ACS Nano*, 2019, 13(6): 6770-6781.
- [29] 管庆霞, 周小影, 吕邵娃, 等. 中药复方汤剂多成分自组装纳米相态的形成原理及现状探析 [J]. 海南医学院学报, 2023, 29(11): 872-880.
- [30] 陈燕, 李倩, 杨新荣, 等. 黄连解毒汤及其自沉淀研究进展及前景 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2023, 25(7): 214-220.
- [31] 李桐, 王辉, 张昊, 等. 基于分子热力学特征探讨黄连解毒汤水煎自沉淀形成机制 [J]. 中草药, 2017, 48(17): 3505-3510.
- [32] 田学浩, 张昊, 李桐, 等. 中药配伍理论科学内涵的外在表象: 复方水煎自沉淀 [J]. 中草药, 2017, 48(22): 4778-4783.
- [33] Wang H, Li T, Xiang H J, *et al.* Origin and formation mechanism investigation of compound precipitation from the traditional Chinese prescription Huang-Lian-Jie-du-Tang by isothermal titration calorimetry [J]. *Molecules*,

- 2017, 22(9): 1456.
- [34] 赖长江生, 陈泽炎, 邱子栋, 等. 中药煎煮的化学反应机制研究现状 [J]. 中国中药杂志, 2023, 48(4): 890-899.
- [35] 王艳宏, 赵曙宇, 张利那, 等. 中药成分自组装的机制及应用价值综述 [J]. 中国药房, 2021, 32(22): 2803-2806.
- [36] 随家宁, 陈海燕, 冯婷, 等. 基于层次分析法多指标优选三方益子方的水提工艺 [J]. 中南药学, 2021, 19(11): 2341-2347.
- [37] 魏娟, 骆霞, 祝宇, 等. 多指标层次分析法结合 Box-Behnken 响应面法优化连翘提取工艺 [J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(11): 1109-1113.
- [38] 张仕瑾, 兰杨, 王娅俐, 等. 基于信息熵理论的黄芪三七复方提取工艺优选 [J]. 中国现代中药, 2021, 23(5): 854-860.
- [39] 蒲立立, 徐伟, 范润勇, 等. 基于熵权法结合 Box-Behnken 响应面法优化大黄牡丹颗粒提取工艺 [J]. 中国现代中药, 2023, 25(2): 375-381.
- [40] 代珊, 李帅, 张爱军, 等. 基于基准关联度和 AHP-熵权法综合评价经典名方小续命汤古今提取工艺 [J]. 中草药, 2022, 53(3): 726-734.
- [41] 冯利梅, 陈艳琰, 乐世俊, 等. 基于层次分析-熵权法的中药质量标志物量化辨识方法研究: 以芍药甘草汤为例 [J]. 药学学报, 2021, 56(1): 296-305.
- [42] 王晓丽, 沈哲苑, 李丽萍, 等. 基于正交试验结合基准关联度和 AHP-熵权法优化经典名方黄连汤提取工艺 [J]. 中草药, 2023, 54(15): 4804-4811.
- [43] 陈崇利, 陈金鑫, 朱月, 等. 黄连解毒汤含药脑脊液对 $A\beta_{1-42}$ 诱导 BV2 细胞炎症和 $\alpha 7nAChR$ 水平的影响 [J]. 中药药理与临床, 2022, 38(5): 7-11.
- [44] 董秤均, 曹鑫馨, 屈艳秦, 等. 黄连解毒汤对阿尔茨海默病大鼠海马 NLRP3 炎症通路的影响 [J]. 中药药理与临床, 2021, 37(6): 7-13.
- [45] 曹鑫馨, 董秤均, 杨燕, 等. 黄连解毒汤对 $A\beta_{1-42}$ 诱导 AD 大鼠学习记忆能力及胆碱能系统的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(10): 23-30.
- [46] 蒋庆佳, 徐杨, 杜叶, 等. 黄芩苷与盐酸小檗碱自沉淀理化性质及抑菌作用机制研究 [J]. 中国抗生素杂志, 2024, 49(2): 232-241.

[责任编辑 郑礼胜]