

双叶枇杷颗粒水提工艺优化

毛小文¹, 顾志荣^{2*}, 王园园¹, 葛 斌^{2*}

(1. 甘肃中医药大学药学院, 甘肃 兰州 730000; 2. 甘肃省人民医院药剂科, 甘肃 兰州 730000)

摘要: **目的** 优化双叶枇杷颗粒水提工艺。**方法** 在单因素试验基础上, 以浸泡时间、加水量、提取时间和提取次数为影响因素, 芦丁、黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、丹皮酚、毛蕊花糖苷、柚皮苷、甘草酸单铵盐、总黄酮含量及出膏率为评价指标, 主成分分析和熵权 TOPSIS 计算权重系数, Box-Behnken 响应面法优化水提工艺。**结果** 2 种模型所得综合排序一致。最佳条件为饮片浸泡 1 h 后加 14 倍量水提取 1 h, 共 3 次, 各成分含量及出膏率 RSD 均小于 2.52%。**结论** 该方法稳定、简便、可行, 可为后续相关制剂开发提供参考。

关键词: 双叶枇杷颗粒; 水提工艺; 主成分分析; 熵权 TOPSIS; Box-Behnken 响应面法

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)09-3093-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.09.041

痤疮是一种影响毛囊皮脂腺单位的慢性炎症性疾病, 好发于面部、胸部及背部, 临床表现以粉刺、炎性丘疹、结节囊肿等多形性皮损为特点, 易形成色素沉着和瘢痕遗留^[1], 其中寻常痤疮最困扰青少年类人群, 发病率预计为 9.38%^[2], 并且呈逐年上升趋势, 目前已成为全球第八大流行疾病^[3], 该病在青春期的发病率高, 影响着我国 50%~86% 的青少年^[4]。西医常采用维甲酸、抗生素、糖皮质激素、抗雄性激素等手段治疗痤疮, 虽然疗效显著, 但易产生耐药性和复发^[5]; 中医遵循辨证论治、整体治疗的原则, 常以中药复方联合针刺、拔罐、面膜等进行综合治疗, 疗效稳定, 安全可靠^[6]。

双叶枇杷饮是甘肃省人民医院临床经验方, 由桑叶、枇杷叶、酒黄芩、牡丹皮、地黄、枳壳、甘草 7 味中药组成, 具有清肺泻热、凉血消痤功效, 已在临床使用二十余年, 疗效显著, 安全性好, 但原方存在煎煮时间、服药体积、服用次数可控性差的缺点, 故拟将其开发成颗粒剂以便于临床使用。提取工艺是双叶枇杷颗粒开发的核心环节, 为使该制剂符合传统工艺, 课题组前期结合目前临床应用情况采用水提工艺, 而本实验对其进一步优化, 以期对相关制剂开发提供技术参考。

1 材料

1.1 仪器 LC-16 型高效液相色谱仪, 配置 SPD-16 型紫外可见检测器, 购自日本岛津公司; UV8100A 型紫外可见分光光度计, 购自莱伯泰科仪器(北京)有限公司; BT125D 型电子天平(万分之一), 购自赛多利斯科学仪器(北京)有限公司; DD-5M 型低速离心机, 购自湘仪离心机仪器有限公司。

1.2 药材 桑叶(批号 220301A, 产地广东)、枇杷叶(批号 220101A, 产地四川)、酒黄芩(批号 220101A, 产地山西)、牡丹皮(批号 220501A, 产地安徽)、地黄(批号 220101A, 产地河南)、枳壳(批号 210801A, 产地江西)、甘草(批号 211201A, 产地甘肃)饮片均由冠兰中药饮片(甘肃)有限公司提供, 经甘肃省人民医院药剂科郑修丽主任中药师鉴定为正品, 符合 2020 年版《中国药典》一部相关规定。

1.3 试剂 毛蕊花糖苷(批号 CHB211109)、柚皮苷(批号 CHB201202)、芦丁(批号 CHB201103)、黄芩苷(批号 CHB201101)、丹皮酚(批号 CHB201230)、黄芩素(批号 CHB201102)、汉黄芩素(批号 CHB201227)、甘草酸单铵盐(批号 CHB201106)对照品均购自成都克洛玛生物科技有限公司, 纯度 $\geq 98\%$ 。甲醇、乙腈、磷酸、甲酸均为色谱纯, 购自天津市大茂化学试剂厂; 水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 提取液制备 参考文献[7]报道, 称取桑叶 10 g、枇杷叶 10 g、酒黄芩 10 g、牡丹皮 10 g、地黄 15 g、枳壳 10 g、甘草 5 g, 加入一定量纯化水, 武火加热至沸腾后文火煎煮一定时间, 300 目尼龙筛趁热过滤, 滤液浓缩并定容至 250 mL 量瓶中, 即得浓缩液, 精密吸取 50 mL, 置于恒重 250 mL 干燥蒸发皿中, 水浴蒸干, 在 60℃ 下真空干燥 72 h, 即得。

2.2 指标成分含量测定 采用 HPLC 法。

2.2.1 色谱条件 WondaSil C₁₈-WR 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相甲醇(A)-水(含 0.1% 磷酸, B), 梯度洗脱(8%~75% A, 0~55 min); 体积流量 0.8 mL/

收稿日期: 2023-08-03

基金项目: 甘肃省人民医院研发攻关项目(18GSSY2-3)

作者简介: 毛小文(1995—), 男(回族), 硕士, 研究方向为中药炮制与制药工艺。E-mail: mxw2418@163.com

*通信作者: 顾志荣(1988—), 男, 副主任中药师, 研究方向为中药药效物质及作用机制。E-mail: guzr8817@163.com

葛 斌(1965—), 男, 主任药师, 研究方向为中药制剂开发。E-mail: gjy0630@163.com

min；柱温 30 ℃；检测波长 210 nm；进样量 10 μL。色谱图见图 1。

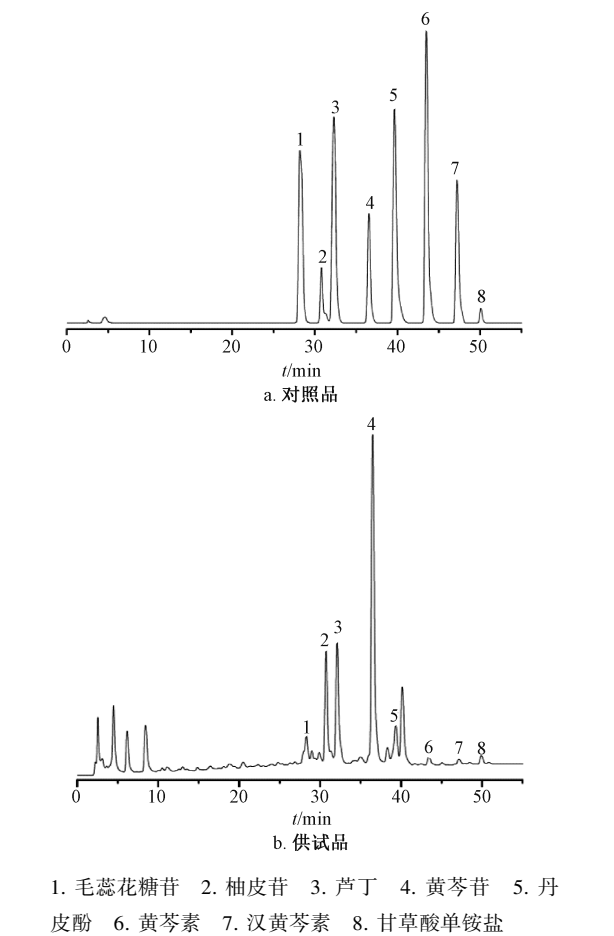


图 1 各成分 HPLC 色谱图

2.2.2 对照品溶液制备 精密称取毛蕊花糖苷、柚皮苷、芦丁、黄芩苷、丹皮酚、黄芩素、汉黄芩素、甘草酸单铵盐对照品适量，甲醇超声溶解并定容至 25 mL 量瓶中，配制质量浓度分别为 0.06、0.15、0.15、0.30、0.02、0.03、0.02、0.01 mg/mL 的溶液，即得。

2.2.3 供试品溶液制备 精密吸取“2.1”项下浓缩液 10 mL，置于具塞锥形瓶中，加入 15 mL 甲醇，密塞，称定质量，超声提取 1 h，放冷，甲醇补足减失的质量，4 000 r/min 离心 10 min，静置，取上清液，过 0.45 μm 微孔滤膜，即得。

2.2.4 方法学考察

2.2.4.1 线性关系考察 精密吸取“2.2.2”项下对照品溶液适量，依次稀释 1、2、5、10、20、30 倍，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定。以对照品峰面积为纵坐标 (Y)，质量浓度为横坐标 (X) 进行回归，结果见表 1，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

2.2.4.2 精密度试验 精密吸取“2.2.2”项下对照品溶液适量，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得毛蕊花糖苷、柚皮苷、芦丁、黄芩苷、丹皮酚、黄芩素、汉黄芩素、甘草酸单铵盐峰面积 RSD 分别为 1.41%、1.27%、

0.79%、1.86%、0.98%、1.34%、1.53%、1.24%，表明仪器精密度良好。

表 1 各成分线性关系

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/ (mg·mL ⁻¹)
毛蕊花糖苷	$Y=2.09\times10^7X-3.93\times10^4$	0.999 8	0.002~0.060
柚皮苷	$Y=2.45\times10^7X-4.63\times10^5$	0.999 7	0.040~0.150
芦丁	$Y=3.45\times10^7X-2.36\times10^3$	0.999 8	0.005~0.150
黄芩苷	$Y=3.63\times10^7X+2.05\times10^5$	0.999 7	0.075~0.300
丹皮酚	$Y=6.77\times10^7X-4.53\times10^5$	0.999 8	0.005~0.020
黄芩素	$Y=9.08\times10^7X-1.87\times10^5$	0.999 7	0.001~0.030
汉黄芩素	$Y=9.02\times10^7X+9.28\times10^3$	0.999 7	0.001~0.020
甘草酸单铵盐	$Y=1.75\times10^7X-1.85\times10^4$	0.999 8	0.005~0.010

2.2.4.3 稳定性试验 精密吸取本品（编号 S25）6 份，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，于 0、2、4、8、12、24 h 在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，测得毛蕊花糖苷、柚皮苷、芦丁、黄芩苷、丹皮酚、黄芩素、汉黄芩素、甘草酸单铵盐峰面积 RSD 分别为 1.95%、2.01%、1.67%、1.93%、1.46%、1.20%、0.97%、1.58%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.4.4 重复性试验 精密吸取本品（编号 S25）6 份，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，测得毛蕊花糖苷、柚皮苷、芦丁、黄芩苷、丹皮酚、黄芩素、汉黄芩素、甘草酸单铵盐峰面积 RSD 分别为 1.55%、1.20%、1.05%、1.36%、1.28%、0.85%、0.93%、1.16%，表明该方法重复性良好。

2.2.4.5 加样回收率试验 精密吸取各成分含量已知的本品（编号 S25）6 份，每份 0.5 mL，加入一定量对照品，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，毛蕊花糖苷、柚皮苷、芦丁、黄芩苷、丹皮酚、黄芩素、汉黄芩素、甘草酸单铵盐平均加样回收率分别为 98.35%、99.82%、99.24%、100.12%、100.31%、99.67%、101.08%、100.45%，RSD 分别为 2.31%、1.90%、1.52%、1.87%、2.52%、2.16%、2.33%、1.86%。

2.3 总黄酮含量测定 采用分光光度法。

2.3.1 对照品溶液制备 精密称定芦丁对照品 5.00 mg，55% 乙醇溶解并定容至 25 mL 量瓶中，即得。

2.3.2 供试品溶液制备 精密吸取水煎液 3.6 mL，置于 50 mL 三角瓶中，沿壁缓缓加入无水乙醇，边加边振摇，沉淀完全后 4 000 r/min 离心 10 min 除杂，取上清液，回收溶剂至干，加纯水溶解，置于 25 mL 量瓶中，纯水定容至刻度，过 0.45 μm 微孔滤膜，即得。

2.3.3 检测波长选择 参考文献 [8] 报道，取“2.3.1”项下对照品溶液、“2.3.2”项下供试品溶液、55% 乙醇（空白对照）各 1 mL，进行全波长扫描，发现在 508 nm 波长处有最大吸收。

2.3.4 线性关系考察 分别精密吸取“2.3.1”项下对照品溶液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 mL，置于 10

mL 量瓶中, 按“2.3.3”项下方法测定吸光度。以对照品质量浓度为横坐标 (X), 吸光度为纵坐标 (A) 进行回归, 得方程为 $A = 12.54X - 0.0069$ ($r = 0.9998$), 可知芦丁在 $0.01 \sim 0.07$ mg/mL 范围内线性关系良好。

2.3.5 方法学考察 取本品 (编号 S25) 适量, 进行精密度、稳定性 (24 h 内)、重复性、加样回收率试验, 测得其 RSD 均小于 2.00%, 平均加样回收率为 100.39%, 表明仪器精密度、方法重复性、溶液稳定性良好。

2.4 水提工艺优化

2.4.1 浸泡时间、吸水率筛选 按处方量称取饮片 70 g, 平行 6 份, 置于相同规格烧杯中, 分别浸泡 30、60、90、120、150、180 min, 计算吸水率, 公式为吸水率 = $[(\text{复方湿重} - \text{复方干重}) / \text{复方干重}] \times 100\%$, 结果见图 2。由此可知, 吸水率在浸泡 90 min 前一直处于上升趋势, 90 min 后趋于稳定。

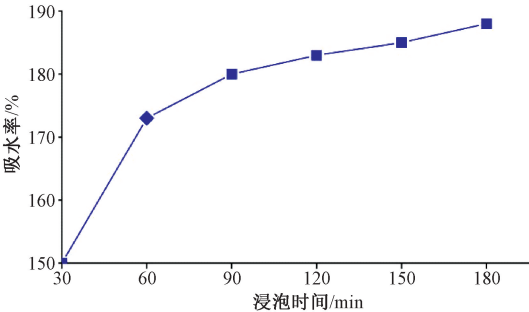


图 2 浸泡时间对吸水率的影响

2.4.2 单因素试验 以总黄酮含量和出膏率为评价指标, 分别对浸泡时间、加水量、提取时间、提取次数进行单因素试验, 结果见图 3~6。

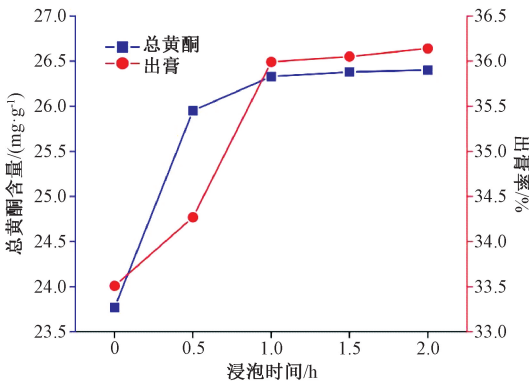


图 3 浸泡时间对总黄酮含量、出膏率的影响

2.4.3 Box-Behnken 响应面法 在单因素试验基础上, 以浸泡时间 (A)、加水量 (B)、提取时间 (C)、提取次数 (D) 为影响因素, 芦丁 (X_1)、黄芩苷 (X_2)、黄芩素 (X_3)、汉黄芩素 (X_4)、丹皮酚 (X_5)、毛蕊花糖苷 (X_6)、柚皮苷 (X_7)、甘草酸单铵盐 (X_8)、总黄酮 (X_9) 含量和出膏率 (X_{10}) 为评价指标, 设计 29 组试验, 结果见表 2。

2.5 优化工艺筛选

2.5.1 主成分分析 参考文献 [9] 报道。

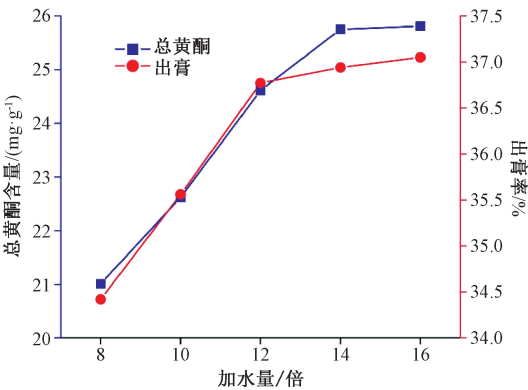


图 4 加水量对总黄酮含量、出膏率的影响

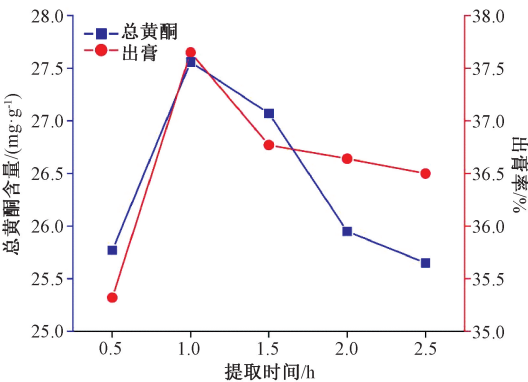


图 5 提取时间对总黄酮含量、出膏率的影响

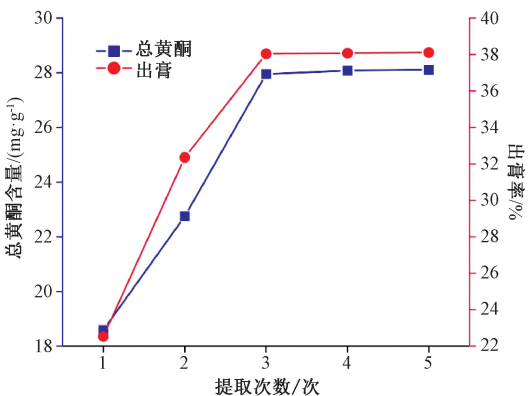


图 6 提取次数对总黄酮含量、出膏率的影响

2.5.1.1 主成分得分计算 A_{ik} 为第 i ($i = 1, 2, \dots, m$) 个指标的第 k ($k = 1, 2, \dots, n$) 个主成分因子载荷, λ_k 为第 k 个主成分的初始特征值, 根据式 (1) 计算主成分 F_{ik} 得分。

$$F_{ik} = \frac{A_{ik}}{\sqrt{\lambda_k}}$$

(1)

2.5.1.2 主成分得分系数计算 S_k 为第 k ($k = 1, 2, \dots, n$) 个提取载荷平方和的方差贡献率, 根据式 (2) 计算得分系数 Y_{ik} 。

$$Y_{ik} = \frac{F_{ik} \times S_k}{\sum_{k=1}^n S_k}$$

(2)

表 2 Box-Behnken 响应面法设计与结果

试验号	A 浸泡 时间/h	B 加水 量/倍	C 提取时 间/h	D 提取次 数/次	含量/(mg·g ⁻¹)									X ₁₀ 出膏率/%
					X ₁ 芦丁	X ₂ 黄芩苷	X ₃ 黄芩素	X ₄ 汉黄 芩素	X ₅ 丹皮酚	X ₆ 毛蕊 花糖苷	X ₇ 柚皮苷	X ₈ 甘草酸 单铵盐	X ₉ 总黄酮	
S1	1.5	14	1.0	2	0.778 5	1.615 8	0.018 6	0.008 9	0.131 2	0.303 3	0.890 4	0.058 1	23.852 0	33.93
S2	0.5	14	0.5	3	0.874 5	1.779 4	0.014 6	0.009 8	0.139 1	0.380 7	0.890 8	0.050 4	23.029 6	33.62
S3	1.0	14	1.5	2	0.368 5	0.891 7	0.009 1	0.004 7	0.071 7	0.168 2	0.405 0	0.028 4	20.637 4	29.65
S4	1.5	14	1.5	3	0.685 5	1.727 4	0.017 0	0.007 1	0.139 7	0.330 8	0.774 6	0.060 9	24.920 3	39.13
S5	1.5	14	1.0	4	0.883 5	2.023 1	0.018 6	0.010 9	0.151 0	0.472 1	0.942 7	0.076 5	27.217 9	43.93
S6	1.0	16	0.5	3	0.869 8	1.975 0	0.018 9	0.011 9	0.157 2	0.369 8	0.919 6	0.066 3	24.063 0	39.69
S7	1.0	12	1.5	3	0.662 8	1.844 1	0.017 2	0.007 8	0.138 0	0.420 3	0.723 2	0.065 8	25.581 5	40.51
S8	1.0	14	0.5	2	0.320 7	1.005 9	0.014 8	0.006 7	0.104 3	0.287 2	0.359 9	0.044 8	19.625 5	29.05
S9	0.5	14	1.0	2	0.721 7	1.591 8	0.015 7	0.007 4	0.125 9	0.139 0	0.790 8	0.048 2	22.762 2	33.32
S10	1.0	14	0.5	4	0.686 5	1.773 2	0.016 5	0.008 0	0.136 3	0.376 0	0.753 3	0.062 3	22.830 3	36.34
S11	0.5	12	1.0	3	0.748 7	1.841 9	0.016 0	0.007 2	0.132 6	0.412 2	0.803 5	0.052 5	24.340 4	38.79
S12	1.0	16	1.5	3	0.750 1	1.847 4	0.019 6	0.009 6	0.148 9	0.425 6	0.847 4	0.069 2	27.153 1	40.59
S13	1.5	16	1.0	3	0.826 5	1.995 7	0.023 0	0.012 7	0.163 5	0.473 9	0.837 6	0.076 0	25.527 2	40.56
S14	1.0	14	1.5	4	0.824 5	2.049 4	0.019 2	0.013 2	0.150 4	0.416 7	0.861 7	0.062 5	24.940 2	41.28
S15	0.5	14	1.5	3	0.587 2	1.491 7	0.008 0	0.006 6	0.099 8	0.278 7	0.615 5	0.023 0	23.162 5	35.90
S16	1.0	14	1.0	3	0.867 3	2.028 2	0.018 8	0.010 7	0.147 0	0.481 6	0.870 1	0.079 1	24.553 1	38.26
S17	1.0	12	0.5	3	0.844 0	1.952 9	0.017 2	0.010 0	0.147 4	0.406 2	0.890 9	0.056 1	24.521 5	36.22
S18	1.0	14	1.0	3	0.859 3	1.994 1	0.020 5	0.007 6	0.141 6	0.478 7	0.873 4	0.074 7	24.800 5	37.60
S19	1.0	14	1.0	3	0.882 7	2.029 3	0.022 3	0.012 6	0.154 3	0.481 2	0.894 3	0.080 5	25.817 7	39.71
S20	1.0	16	1.0	2	0.760 7	1.329 9	0.018 0	0.007 8	0.142 0	0.431 0	0.913 7	0.065 0	22.363 4	36.21
S21	1.0	12	1.0	4	0.851 3	1.923 7	0.013 8	0.010 2	0.065 4	0.417 3	0.607 8	0.054 4	24.157 7	39.84
S22	0.5	14	1.0	4	0.854 2	1.965 0	0.017 9	0.010 1	0.149 4	0.469 7	0.906 8	0.075 8	26.847 4	42.24
S23	1.0	14	1.0	3	0.864 0	2.006 0	0.019 3	0.008 9	0.145 3	0.478 0	0.868 9	0.076 7	26.234 4	38.46
S24	1.0	12	1.0	2	0.751 2	1.367 2	0.018 3	0.004 4	0.152 8	0.289 3	0.803 9	0.063 1	22.114 2	33.16
S25	1.5	14	0.5	3	0.928 4	1.929 6	0.022 8	0.013 1	0.148 6	0.389 5	0.972 4	0.059 7	23.715 8	35.56
S26	0.5	16	1.0	3	0.781 1	1.940 4	0.021 1	0.010 0	0.149 0	0.453 8	0.844 8	0.062 8	25.081 4	39.90
S27	1.0	14	1.0	3	0.871 2	2.022 5	0.021 4	0.011 3	0.150 2	0.482 0	0.886 1	0.081 6	25.709 3	39.06
S28	1.5	12	1.0	3	0.799 2	1.946 2	0.021 5	0.010 2	0.160 1	0.439 0	0.841 4	0.066 1	25.191 1	40.26
S29	1.0	16	1.0	4	0.844 7	1.945 6	0.018 8	0.009 0	0.144 6	0.441 8	0.894 3	0.056 4	26.842 4	41.92

2.5.1.3 综合得分系数计算及归一化 根据式（3）计算综合得分系数 Y'_{ik} ，式（4）进行归一化，即得每个指标变量的权重系数 W'_{ik} 。

$$Y'_{ik} = \sum_{k=1}^n Y_{ik}$$

(3)

$$W'_{ik} = \frac{Y'_{ik}}{\sum_{i=1}^m Y'_{ik}}$$

(4)

2.5.1.4 结果分析 主成分特征值及方差贡献率见表3，初始因子载荷矩阵见表4，权重见表5。以特征值>1 为提取标准，得到 1 个主成分，解释了 70.905% 的方差，表明它在评价体系中占主导作用，故选择其进行分析。

2.5.2 熵权 TOPSIS

2.5.2.1 归一化 将表 2 数据进行归一化后建立 TOPSIS 模型^[10]，根据式（5）计算第 i ($i=1, 2, \cdots, m$) 个样本的第 j ($j=1, 2, \cdots, n$) 个指标下的测量值 X_{ij} 。

$$X'_{ij} = \frac{X_{ij} - X_{\min}}{X_{\max} - X_{\min}}$$

(5)

2.5.2.2 信息熵客观赋权 参考文献 [11] 报道，将原始数据转化为概率矩阵 P ，根据式（6）计算第 j 个指标下第 i

表 3 主成分特征值及方差贡献率

主成分	λ	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	7.090	70.905	70.905
2	0.979	9.791	80.695
3	0.616	6.161	86.856
4	0.529	5.289	92.145
5	0.308	3.082	95.226
6	0.182	1.823	97.049
7	0.105	1.052	98.101
8	0.097	0.970	99.071
9	0.075	0.754	99.825
10	0.018	0.175	100.000

表 4 初始因子载荷矩阵

因子	载荷	因子	载荷
X_1	0.881	X_6	0.846
X_2	0.917	X_7	0.859
X_3	0.831	X_8	0.857
X_4	0.764	X_9	0.846
X_5	0.789	X_{10}	0.819

表 5 各指标权重

评价指标	W'_{ik}	评价指标	W'_{ik}
X_1	0.104 8	X_6	0.100 6
X_2	0.109 0	X_7	0.102 2
X_3	0.098 8	X_8	0.101 9
X_4	0.090 9	X_9	0.100 6
X_5	0.093 8	X_{10}	0.097 4

个样本的概率 P_{ij} 。根据式（7）各指标信息熵 H_j ，其数值越小，指标数据离散程度越高，信息量就越大，结果分别为 0.978 0、0.975 6、0.974 5、0.959 6、0.976 2、0.973 7、0.977 1、0.974 2、0.972 5、0.966 8。根据式（8）计算权重系数，结果见表 6。

$$P_{ij} = X_{ij} / \sum_{i=1}^m X_{ij}$$

(6)

$$H_j = -k \sum_{i=1}^m P_{ij} \ln P_{ij}, k = 1/\ln m$$

(7)

$$W_j = (1 - H_j) / \sum_{j=1}^n (1 - H_j)$$

(8)

表 6 各指标权重系数

评价指标	W_j	评价指标	W_j
X_1	0.080 9	X_6	0.096 6
X_2	0.089 9	X_7	0.084 4
X_3	0.093 6	X_8	0.095 0
X_4	0.148 5	X_9	0.101 2
X_5	0.087 6	X_{10}	0.122 3

2.5.2.3 加权决策矩阵构建 根据式（9）计算各指标加权决策矩阵。

$$R_{ij} = X'_{ij} \times W_j$$

(9)

2.5.2.4 最优、最劣方案确定 根据加权决策矩阵，得到最优方案 $Z^+ = \max (R_{1j}, R_{2j}, \cdots, R_{nj})$ 和最劣方案 $Z^- = \min (R_{1j}, R_{2j}, \cdots, R_{nj})$ 。

2.5.2.5 贴近度计算及评价 分别根据式（10）和（11）计算正理想解距离 D_i^+ 和负理想解距离 D_i^- ，再根据式（12）计算最优解欧氏贴近度 C_i ，最终进行排序，结果见表 7。由此可知，主成分分析、熵权 TOPSIS 所得排序基本一致，表明两者均可用于工艺优化；最优工艺均为 S19，即饮片浸泡 1 h 后加 14 倍量水提取 1 h，共 3 次。

$$D_i^+ = \sqrt{\sum_{i=1}^j (R_{ij} - Z^+)^2}$$

(10)

表 8 验证试验结果 (n=5)

试验号	含量/(mg·g ⁻¹)									出膏率/%
	芦丁	黄芩苷	黄芩素	汉黄芩素	丹皮酚	毛蕊花糖苷	柚皮苷	甘草酸单铵盐	总黄酮	
YZ1	0.878 2	1.996 7	0.022 6	0.012 5	0.154 3	0.478 3	0.893 9	0.081 4	25.757 5	41.03
YZ2	0.885 7	2.018 3	0.023 6	0.012 4	0.162 0	0.486 1	0.881 7	0.080 6	25.827 7	40.76
YZ3	0.866 7	2.029 8	0.023 3	0.012 2	0.159 8	0.473 5	0.892 2	0.079 1	25.932 3	40.17
YZ4	0.864 5	2.017 5	0.022 9	0.012 7	0.163 7	0.476 6	0.899 5	0.078 8	25.700 3	40.62
YZ5	0.883 9	2.025 2	0.023 6	0.012 1	0.156 7	0.483 8	0.883 1	0.076 2	25.211 6	39.53
RSD/%	1.11	0.63	1.90	1.93	2.40	1.08	0.85	2.52	1.09	1.45

3 讨论

双叶枇杷颗粒药味复杂，成分多样，理化性质各异，

表 7 各样品排序结果

排序	主成分分析		熵权 TOPSIS	
	样品	综合评分	样品	C_i
1	S19	0.909 3	S19	0.869 8
2	S5	0.908 4	S13	0.866 7
3	S13	0.893 2	S5	0.852 1
4	S27	0.878 5	S27	0.824 1
5	S22	0.859 6	S14	0.816 3
6	S14	0.826 2	S22	0.802 4
7	S16	0.824 3	S28	0.770 6
8	S23	0.822 8	S6	0.769 7
9	S28	0.811 6	S16	0.763 6
10	S25	0.805 7	S12	0.752 3
11	S29	0.799 9	S26	0.748 9
12	S6	0.798 5	S25	0.735 0
13	S12	0.795 0	S29	0.732 8
14	S26	0.788 0	S23	0.731 5
15	S18	0.784 7	S17	0.671 1
16	S17	0.723 3	S18	0.670 8
17	S7	0.685 3	S7	0.638 9
18	S11	0.640 8	S21	0.588 7
19	S2	0.630 9	S11	0.582 7
20	S4	0.627 3	S2	0.580 8
21	S20	0.625 6	S4	0.577 8
22	S1	0.612 0	S20	0.566 8
23	S10	0.600 7	S1	0.565 4
24	S21	0.595 0	S10	0.558 5
25	S24	0.518 2	S24	0.440 9
26	S9	0.459 9	S9	0.428 2
27	S15	0.333 4	S15	0.344 7
28	S8	0.197 8	S8	0.248 4
29	S3	0.067 4	S3	0.866 7

2.6 验证试验 取饮片适量，按“2.1”项下方法制备提取液，“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，根据“2.5.2.5”项下优化工艺进行 5 批验证试验，结果见表 8。由此可知，该工艺稳定可靠，重复性良好。

是多组分物质共同发挥作用的结果。方中桑叶、枇杷叶轻清入肺，疏散肺热，为君药；黄芩入肺与大肠经，清热泻

火，助桑叶、枇杷叶之力，为臣药；牡丹皮、地黄滋阴凉血散瘀，枳壳行气散滞，共为佐药；甘草既解毒，又调和诸药，为使药。本实验在选取评价指标时，从活性成分与质量控制成分 2 个方面综合考虑。芦丁是君药桑叶的活性物质及指标成分，黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素是臣药黄芩的活性物质及指标成分，丹皮酚、柚皮苷、甘草酸分别是牡丹皮、枳壳、甘草的活性物质及指标成分，并且芦丁、黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、丹皮酚、毛蕊花糖苷、柚皮苷、甘草酸等具有抗菌、消炎、抗氧化等药理作用^[12-15]，丹皮酚具有解热作用^[16]，毛蕊花糖苷具有缓解特应性皮炎的作用^[17]，甘草酸具有增强免疫力的作用^[18]。故本实验选择芦丁、黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、丹皮酚、毛蕊花糖苷、柚皮苷、甘草酸单铵盐含量及出膏率作为评价指标，并且上述 8 种成分中有 6 种为黄酮类，故将总黄酮也纳入评价指标。

同时，本实验考察了不同流动相（乙腈-0.1% 磷酸、甲醇-0.1% 磷酸、甲醇-0.2% 磷酸、乙腈-0.1% 甲酸、甲醇-0.1% 甲酸）及紫外吸收波长（210、254、280、330 nm）对分离效果的影响。结果，以甲醇-0.1% 磷酸洗脱时出峰数量、峰形和分离度最优，在 210 nm 波长处检测效果最佳。

参考文献：

[1] 鞠 强. 中国痤疮治疗指南（2019 修订版）[J]. 临床皮肤科杂志, 2019, 48(9): 583-588.

[2] Mohsin N, Hernandez L E, Martin M R, *et al.* Acne treatment review and future perspectives [J]. *Dermatol Ther*, 2022, 35 (9): e15719.

[3] Swallow M A, Fan R, Cohen J M, *et al.* Antibiotic resistance risk with oral tetracycline treatment of acne vulgaris [J]. *Antibiotics (Basel)*, 2022, 11(8): 1032.

[4] 郑玉梅, 孟若琳, 彭海悦, 等. 青少年痤疮面部皮肤微生物群落结构变化 [J]. 微生物学通报, 2019, 46 (12): 3414-3423.

[5] Koizumi J, Nakase K, Hayashi N, *et al.* Multidrug-resistant *Cutibacterium avidum* isolated from patients with acne vulgaris and other infections [J]. *J Glob Antimicrob Resist*, 2022, 28:

151-157.

[6] 王庆芬, 杨育儒, 沈秋莲, 等. 枞苓颗粒剂体外抑制金黄色葡萄球菌和痤疮丙酸杆菌的作用 [J]. 中国现代应用药学, 2015, 32(12): 1457-1460.

[7] 赵玥瑛, 王昌海, 张泽康, 等. Box-Behnken 设计-响应面法结合基准关联度和 AHP-熵权法优化经典名方小承气汤的提取工艺 [J]. 中草药, 2022, 53(20): 6472-6480.

[8] 马天翔, 顾志荣, 许爱霞, 等. 基于 OPLS 结合熵权 TOPSIS 法对不同产地锁阳的鉴别与综合质量评价 [J]. 中草药, 2020, 51(12): 3284-3291.

[9] 石 岩, 魏 锋, 马双成. 关于主成分分析在中药和天然药物分析研究中应用的探讨 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43 (14): 3031-3035.

[10] 李 运, 张 霁, 徐福荣, 等. 多指标决策分析 TOPSIS 对三七的质量评价研究 [J]. 中草药, 2017, 48(22): 4764-4771.

[11] 涂正伟, 刘洪斌, 韩忠耀, 等. 基于信息熵赋权法的正交试验优化番石榴叶总黄酮提取工艺 [J]. 中草药, 2019, 50 (21): 5260-5265.

[12] 杨诗宇, 宋基正, 杨山景, 等. 芦丁药理作用与新剂型的研究进展 [J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(10): 1360-1370.

[13] 王同慧, 凌保东. 抗菌生物被膜感染中药的研究进展 [J]. 中药药理与临床, 2021, 37(1): 260-264.

[14] 杨新荣, 窦 霞, 李国峰, 等. 柚皮苷药理作用及机制的研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(10): 3226-3240.

[15] Cui X D, Zhang J K, Sun Y W, *et al.* Synergistic antibacterial activity of baicalin and EDTA in combination with colistin against colistin-resistant *Salmonella* [J]. *Poult Sci*, 2022, 102 (2): 102346.

[16] 张树蓉, 赵宏苏, 佟沫儒, 等. 牡丹皮化学成分、药理作用及其质量标志物（Q-Marker）的预测分析 [J]. 中草药, 2022, 53(16): 5215-5224.

[17] Li Y X, Yu H Y, Jin Y, *et al.* Verbascoside alleviates atopic dermatitis-like symptoms in mice *via* its potent anti-inflammatory effect [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2018, 175(4): 220-230.

[18] 邓桃妹, 彭 灿, 彭代银, 等. 甘草化学成分和药理作用研究进展及质量标志物的探讨 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46 (11): 2660-2676.