

基于理气关键药效成分的厚朴药材质量的近红外快速评价

王江涛¹, 王雯爽¹, 翟珊珊¹, 张 曼¹, 侯小涛², 侯媛媛¹, 白 钢^{1,2*}, 邓家刚²

1. 南开大学 药学院, 药物化学生物学全国重点实验室, 天津 300353

2. 广西中医药大学, 广西中药药效研究重点实验室, 广西 南宁 530200

摘 要: **目的** 基于厚朴中具有 Ca^{2+} 拮抗作用的关键药效成分以及《中国药典》2020 年版规定的质控指标, 建立一种快速分析厚朴药材品质与等级的方法。**方法** 采用 HPLC 技术结合瞬时受体电位 V4 (TRPV4)- Ca^{2+} 双荧光素酶报告基因实验对厚朴中的活性成分进行筛选, 确定厚朴中的潜在生物标志物。采用《中国药典》2020 年版方法对厚朴药材中厚朴酚、和厚朴酚、灰分、酸不溶性灰分和水分的 5 项指标进行测定。利用近红外光谱技术 (NIRS) 构建上述检测指标与光谱之间的拟合模型, 确定综合评价指数 (F_q) 用于厚朴药材检测及分级评定, 并采用 TRPV4- Ca^{2+} 拮抗活性检测实验对上述评价系统进行验证。**结果** 23 批次厚朴的 HPLC 图谱中共检测出 16 个共有成分, 经活性筛选确定其中的关键药效成分为厚朴酚与和厚朴酚。经对 60 批次厚朴样品的检测, 建立了上述 5 项检测指标的近红外光谱预测模型。经各指标的偏离度计算及权重分配优化, 最终确定厚朴药材 F_q 的计算公式。经验证厚朴样品的 F_q 值呈高斯分布, 依据正态分布概率将其划分为 5 个等级, 经实际测试及活性验证检测, 证实本研究所构建的等级评价方法效果良好。**结论** 该方法基于现行的《中国药典》监管体系, 实现了对厚朴药材品质的快速综合评价与等级区分, 为中药材的科学监管提供了新的解决方案。

关键词: 厚朴; Ca^{2+} 拮抗; 瞬时受体电位 V4 (TRPV4); 近红外光谱技术 (NIRS); 质量评价; 综合评价指数; 厚朴酚; 和厚朴酚; 灰分; 酸不溶性灰分; 水分

中图分类号: R282.5

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2025)04-0899-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.04.011

Near-infrared rapid evaluation of key pharmacodynamic components of *Magnolia Officinalis Cortex* based on quality markers

WANG Jiangtao¹, WANG Wenshuang¹, ZHAI Shanshan¹, ZHANG Man¹, HOU Xiaotao², HOU Yuanyuan¹, BAI Gang^{1,2}, DENG Jiagang²

1. School of Pharmacy, State Key Laboratory of Medicinal Chemical Biology, Nankai University, Tianjin 300353, China

2. Guangxi University of Chinese Medicine, Guangxi Key Laboratory of Efficacy Study on Chinese Materia Medica, Nanning 530200, China

Abstract: Objective To establish a method for rapid analysis of the quality and grade of *Magnolia Officinalis Cortex* (MOC) based on the key pharmacodynamic components with Ca^{2+} antagonism and the quality control indexes specified in the 2020 edition of *Chinese Pharmacopoeia*. **Methods** HPLC combined with TRPV4- Ca^{2+} dependent double luciferase reporter gene system was used to screen the active components in MOC to determine its potential biomarkers. The *Chinese Pharmacopoeia* (2020 Edition) was used to determine five indexes of magnolol, honokiol, ash, acid insoluble ash and moisture in MOC. Near-infrared spectroscopy (NIRS) was used to construct a fitting model between the above detection indexes and spectra. A comprehensive evaluation formula (F_q) was built to detect and grade herb drug samples. Evaluation test of TRPV4- Ca^{2+} antagonistic activity was used to verify the above evaluation system. **Results** A total of 16 common components were detected in the HPLC patterns of 23 batches of MOC samples and the key pharmacodynamic ingredients were identified to be magnolol and honokiol. The NIRS prediction model was built based on 60 batches of MOC samples and incorporated the five detection indices. After calculating the deviation of each indicator and optimizing the weight distribution coefficients, the final F_q calculation method for MOC was established. The F_q values detection curve was found to follow

收稿日期: 2024-10-16

基金项目: “带土移植”人才引育计划项目 (桂科 AA23026008)

作者简介: 王江涛, 男, 硕士研究生, 研究方向为中药质量控制。E-mail: 18332887497@163.com

*通信作者: 白 钢, 男, 教授, 研究方向为中药系统生物学与化学生物学。E-mail: gangbai@nankai.edu.cn

a Gaussian distribution. Based on this normal distribution, the samples were classified into five categories according to their probability density. Empirical testing and activity validation confirmed the effectiveness of the grading evaluation method established. **Conclusion** Based on the current regulatory system of the *Chinese Pharmacopeia*, the method realizes the rapid comprehensive evaluation and grade differentiation of the quality of MOC. It provides a new solution for the scientific supervision of Chinese herbal medicines.

Key words: *Magnolia officinalis* Cortex; Ca^{2+} antagonism; TRPV4; NIRS; quality evaluation; comprehensive evaluation index; magnolol; honokiol; ash; acid insoluble ash; moisture

厚朴来源于木兰科植物厚朴 *Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. 或凹叶厚朴 *M. officinalis* Rehd. et Wils. var. *biloba* Rehd. et Wils. 的干燥干皮、根皮及枝皮。收载于《中国药典》2020 年版一部，始载于《神农本草经》，列为中品，具有燥湿消痰、下气除满的功效^[1]。现代药理学研究表明，厚朴对消化、神经、心血管与呼吸系统等均具有明显的药理活性，临床常与半夏、大黄、枳实、麻黄等配伍使用，治疗便秘、胃溃疡、胃食管反流、咳嗽、变异性哮喘以及慢性支气管炎等病症^[2-6]。化学成分研究表明，厚朴主要包括酚类、挥发油及生物碱类等^[7]，《中国药典》2020 年版中将厚朴酚与和厚朴酚作为厚朴含量测定指标。

现有厚朴的检测方法包括传统的性状鉴别和显微鉴别，光谱技术中的红外光谱、紫外光谱和荧光光谱，色谱鉴别技术中的气相色谱 (GC)、薄层色谱 (TLC) 和高效液相色谱 (HPLC) 以及 DNA 序列分析等多种技术。然而上述检测方法耗时较长、程序较多、且检测项较为单一，难以全面评估药材的整体质量。因此，如何建立一种简便、快速、全面的质量评价方法，为中药厚朴的质量提供有力保障，是厚朴质量控制中亟待解决的问题。在众多质量检测技术中，近红外光谱技术 (NIRS) 作为一种简单、快速、低成本、环保、不损伤样品、可实现全过程自动检测的集成分析技术，近年来被广泛应用于制药、农业、食品、工业化工等各个领域^[8-13]。

瞬时受体电位 V4 (TRPV4) 是 TRP 家族中的阳离子通道之一，具有高度的 Ca^{2+} 渗透性^[13]，本课题组前期研究发现厚朴可通过靶向抑制 TRPV4 有效控制由乙酰胆碱刺激 M 受体触发的膜电位变化，降低电压门控通道的开放，从而减少外钙内流，抑制小肠平滑肌收缩，缓解胃肠道炎症及肠道刺激，发挥理气功效^[14]。故本研究基于厚朴的理气作用，采用拮抗 TRPV4- Ca^{2+} 活性的双荧光报告基因检测系统对厚朴中的相关质量标志物 (Q-Marker) 进行筛选确证，通过整合基于 Q-Marker 的近红外快检

手段以及建立综合评价指数 (F_q) 体系，实现对厚朴品质的快速评价，为实现厚朴品质智能分级管理提供新的思路和方法^[15-17]。

1 仪器与材料

1.1 仪器

LC-20AT 型高效液相色谱仪、SPD-20A 检测器，日本岛津公司；Master10D 型傅里叶变换近红外光谱仪，中国荧飒光学公司；TENSOR 37 型近红外光谱仪，德国 Brucker 公司；Spark 型多功能酶标仪，上海 TECAN 公司；HU3120B 超声仪，天津恒奥科技公司；DZKW-4 型电热恒温水浴锅，北京永光明医疗仪器公司。

1.2 药材

60 批厚朴样品分别购自洪雅县瓦屋山药业有限公司维康大药房旗舰店 (S1~S10)，产地四川，批号 231001~231010；安国市安兴中药饮片有限公司安顺宜唐医药旗舰店 (S11~S20)，产地四川，批号 C183230102~C183230111；四川五盛药业集团有限责任公司聚上阁大药房旗舰店 (S21~S30)，产地四川，批号 230701-230710；康美药业股份有限公司康美官方旗舰店 (S31~S40)，产地湖南，批号 230950381~230950390；浙江胡庆余唐本草药物有限公司胡庆余唐大药房 (S41~S50)，产地四川，批号 23090601-23090610；河北楚风中药饮片有限公司上元唐大药房旗舰店 (S51~S60)，产地四川，批号 CJ0119230901~CJ0119230910。另外，10 批评价用凹叶厚朴样本，批号 (P1~P10)，由广西中医药大学提供。所有供试样品均由广西中医药大学郝二伟教授鉴定。

1.3 试剂

质粒 PGL4.30 (货号 E1910) 和 Renilla (货号 E2910)，美国 Promega 公司；PEI (货号 HY-K2014) 转染试剂，美国 protein 公司；双荧光素酶报告基因试剂盒 (货号 E2940)，美国 Promega 公司；厚朴酚 (批号 M111378-5g，质量分数 >98%)，上海阿拉丁生物科技有限公司；TRPV4 cDNA 质粒 (HG30078)，

北京义翘神州科技股份有限公司；和厚朴酚（批号 XP20230116，质量分数>95%），上海 3AChem 公司；GSK219387、GSK1016790A，美国 MCE 公司。其他均采用市售分析纯试剂。

1.4 细胞

人体肾脏细胞系 HEK293T，购于北京博奥派克生物科技有限公司。

2 方法与结果

2.1 厚朴理气药效成分筛选

2.1.1 厚朴指纹图谱的构建

（1）色谱条件：Cosmosil HPLC[®]C₁₈ 型色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为 0.1% 甲酸水溶液（A）-乙腈（B），梯度洗脱：0~6 min，5%~10% B；6~60 min，10%~25% B；60~65 min，25%~30% B；65~70 min，30%~50% B；70~80 min，50%~90% B；80~100 min，90%~100% B；柱温 33 ℃；进样量 10 μL；体积流量 1.0 mL·min⁻¹，检测波长 240 nm^[18-19]。

（2）对照品溶液的制备：取厚朴酚对照品、和厚朴酚对照品适量，精密称定，加甲醇制成质量浓度分别为厚朴酚 40 μg·mL⁻¹、和厚朴酚 24 μg·mL⁻¹ 的混合对照品溶液。

（3）供试品溶液的制备：取本品粉末（过三号筛）约 1 g，置具塞锥形瓶中，加水 20 mL，加热回流 30 min，放冷，离心 10 min（转速 10 000 r·min⁻¹，离心半径 10 cm），取上清液 1 mL，蒸干，加甲醇 25 mL，超声处理 30 min（功率 250 W、频率 40 kHz）

放冷，摇匀，0.22 μm 滤过，即得供试品溶液。

（4）精密密度考察：取 S1 样品粉末，按“2.1.1（3）”项下方法制备供试品溶液，按照“2.1.1（1）”项下方法连续进样 6 次，计算相应色谱图中共有峰峰面积。结果显示其相对标准偏差（RSD）≤0.68%，提示该设备精密密度良好。

（5）重复性考察：取 S1 样品粉末，按“2.1.1（3）”项下方法平行制备供试品溶液 6 份，按照“2.1.1（1）”项下方法进行测定。结果显示共有峰峰面积 RSD≤1.3%，提示该方法重复性良好。

（6）稳定性考察：按“2.1.1（3）”项下方法制备供试品溶液，分别于制备后 0、120、240、360 min 进行测定。结果显示共有峰峰面积 RSD≤0.47%，说明样品在 360 min 内稳定性良好。

（7）指纹图谱的建立及相似度评价：取编号 S1~S23 的厚朴样品，按“2.1.1（1）”项下色谱条件测定，记录各批次样品的色谱图，并采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》（2012 版）以 S1 图谱作为参照图谱进行多点校正，平均数法（时间窗 0.1 min）生成对照图谱 R，以 7 号峰为参照峰，计算各共有峰的相对保留时间。图 1 结果显示 23 批厚朴样品的指纹图谱与对照指纹图谱相似度在 0.909~0.985，其中 16 个共有峰相对保留时间的 RSD≤1.9%，表明相似性较好，各批次样本间成分组成差异较小。

2.1.2 TRPV4-Ca²⁺拮抗谱效筛选 实验设置对照组（空白培养基）、模型组（GSK101，1 nmol·L⁻¹）、

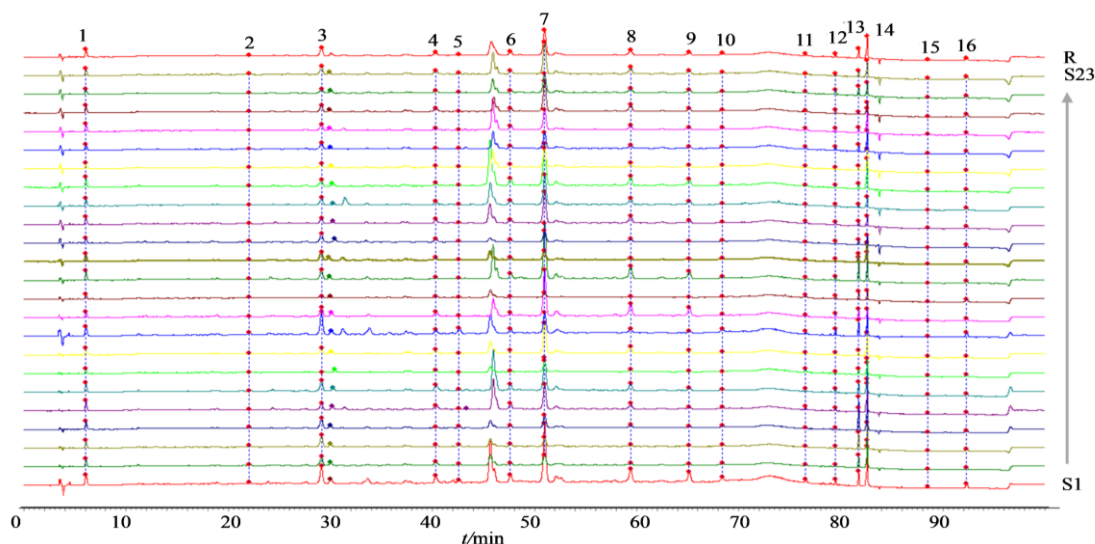


图 1 23 批厚朴的 HPLC 指纹图谱

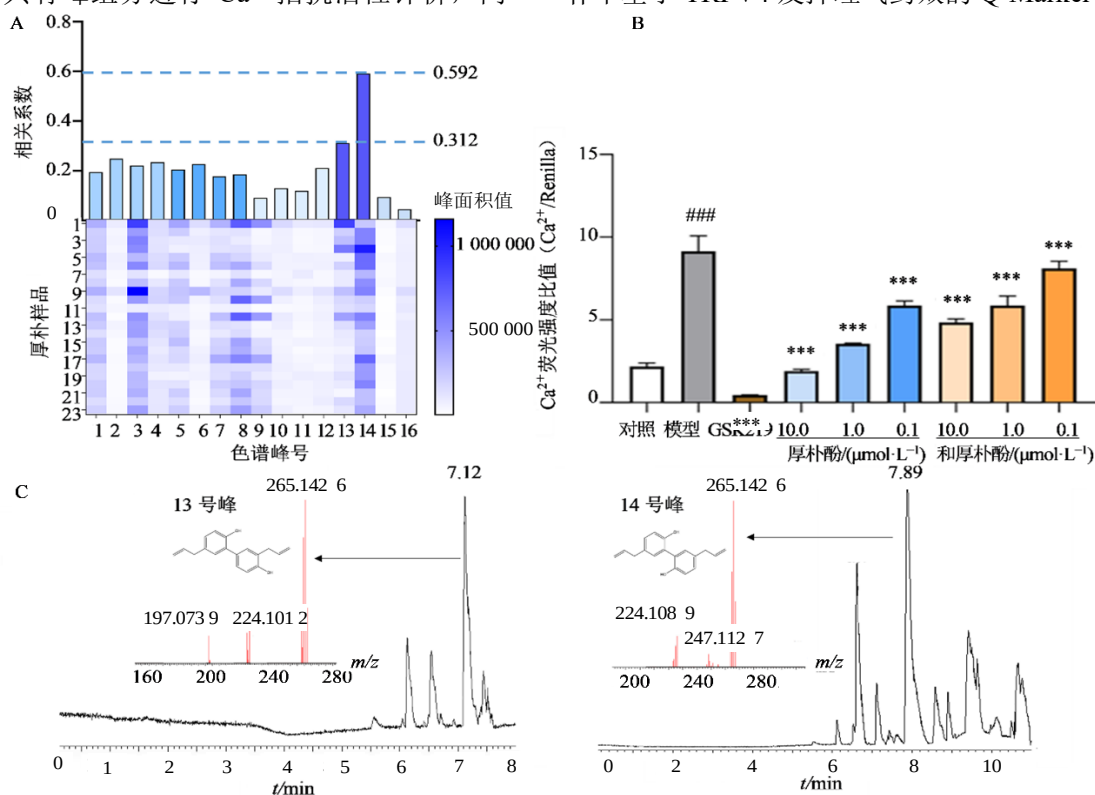
Fig. 1 HPLC fingerprint pattern of 23 batches of *Magnolia Officinalis Cortex*

阳性药组 (GSK219, $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 23 批 (S1~S23) 厚朴提取物组[生药量 $0.5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 按照“2.1.1 (3)”项下方法制备供试品溶液, 蒸干甲醇, 溶于 1 mL DMSO 中, 给药前取 $100 \mu\text{L}$ 的 DMSO 溶液稀释于 10 mL 空白 DMEM 培养基中]^[20]。将 HEK293T 细胞以每孔 5×10^3 个细胞的密度铺于 96 孔板进行培养, 孔内细胞融合度达到 $50\% \sim 70\%$ 时, 向每孔中加入 PGL4.30 质粒 100 ng 、荧光素酶内参质粒 Renilla 10 ng 与 TRPV4 质粒 50 ng , 混合后共同转染 HEK293T 细胞, 每孔加入 $100 \mu\text{L}$ DMEM 培养基, 置于 37°C 、 $5\% \text{ CO}_2$ 培养箱中培养 24 h , 除对照组以外, 各组分别给予 $1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 GSK101 进行造模, 阳性药组给予 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 GSK219 作为阳性对照, 提取物组加入生药量 $0.5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的厚朴提取物。给药 6 h 后收集细胞, 参照试剂盒说明书进行报告基因检测, 依据相对荧光强度比值 ($\text{Ca}^{2+}/\text{Renilla}$) 计算 Ca^{2+} 相对抑制活性。

使用双荧光报告系统分别对指纹图谱所确定的 16 个共有峰组分进行 Ca^{2+} 拮抗活性评价, 同

时利用 SPSS 27.0.1 软件通过双变量相关性分析方法考察 23 批次药材中各组分含量的差异与 Ca^{2+} 拮抗活性的相关性。结果显示 (图 2-A), 13、14 号峰的 Ca^{2+} 拮抗相关性系数最高, 分别为 0.312 、 0.592 , 提示其可能为厚朴中的主要活性成分。富集后经 UPLC/Q-TOF 分析以及与对照品比对, 最终确认为和厚朴酚 (m/z $265.1426 [\text{M}-\text{H}]^-$) 与厚朴酚 (m/z $265.1426 [\text{M}-\text{H}]^-$)^[20], 液质分析结果见图 2-C。

基于药效成分筛选结果, 采用对照品进行活性验证分析, 并与 TRPV4 激动剂 GSK101 以及抑制剂 GSK219 进行比较, 以证明其作用效果。实验按“2.1.2”项下方法进行, 设置对照组 (空白培养基)、模型组 (GSK101, $1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、阳性药组 (GSK219, $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、厚朴酚组 (10.0 、 1.0 、 $0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、和厚朴酚组 (10.0 、 1.0 、 $0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。结果表明, 厚朴酚与和厚朴酚均能较好抑制胞内 Ca^{2+} 浓度的升高 (图 2-B)。因此, 确认厚朴酚与和厚朴酚为厚朴中基于 TRPV4 发挥理气药效的 Q-Marker。



A-峰面积与 Ca^{2+} 拮抗活性的相关性分析结果; B-厚朴酚与和厚朴酚的 TRPV4- Ca^{2+} 拮抗活性评价 ($n=6$); C-峰 13、14 的液质分析结果; 与对照组比较: $###P<0.001$; 与模型组比较: $***P<0.001$ 。

A-correlation analysis results between peak area and Ca^{2+} antagonistic activity; B-evaluation of the TRPV4- Ca^{2+} antagonistic activity of magnolol and honokiol ($n=6$); C-LC-MS identification of peak 13, 14; $###P<0.001$ vs control group; $***P<0.001$ vs model group vs model group.

图 2 厚朴 Ca^{2+} 拮抗活性成分的谱效筛选结果

Fig. 2 Spectral screening results of Ca^{2+} antagonistic active ingredient in *Magnolia officinalis* Cortex

2.2 厚朴 NIRS 定量模型的构建

2.2.1 建模方法及评价指标的选取 本研究利用 NIRS 构建厚朴药效成分及药典规定质控成分的含量与光谱之间的拟合模型,以偏最小二乘法(PLS)进行成分定量模型的构建,选取最佳主因子数,对光谱的不同预处理方法及建模波段进行筛选,以校正集相关系数(R^2_{cal})、验证集相关系数(R^2_{pre})、校正均方根偏差(RMSEC)、预测均方根偏差(RMSEP)、交叉验证均方根误差(RMSECV)、性能偏差比(RPD)、预测相对偏差(RSEP)为指标评价模型优劣^[21]。其中 R^2_{cal} 、 R^2_{pre} 表示样品实测值与模型预测值的拟合程度,数值越大说明模型的准确度越高;RMSECV、RMSEC、RMSEP、RSEP 通常用来判断模型的预测误差,这些指标值越低代表模型的稳定性越好。

2.2.2 厚朴药效成分及药典规定质控成分测定 厚朴酚、和厚朴酚、水分、灰分及酸不溶性灰分等 5 项指控成分分别按照《中国药典》2020 年版规定方法测定^[1]。

2.2.3 NIRS 光谱采集

(1) 厚朴样品光谱采集:取厚朴药材适量,放于粉碎机中进行粉碎,粉碎 2 min 后,过二号筛,即得。Master 10D 傅里叶变换近红外光谱仪开机稳定 30 min 后采集背景光谱,背景采集完毕后,将大约 1 g 的供试品粉末均匀地倒入直径 2 cm 的石英杯中,铺平,在漫反射模式下,扫描并采集 NIRS 光谱信号。设定光谱采集范围为 12 000~4 000 cm^{-1} ,分辨率为 8 cm^{-1} ,每个光谱扫描 64 次。每个批次样品平行测定 3 次,取平均光谱进行后续分析。

(2) 厚朴酚与和厚朴酚对照品光谱采集:厚朴酚与和厚朴酚对照品分别配制成 1、5、10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的氘代 DMSO 溶液。使用布鲁克 Tensor 37 型号的傅里叶变换近红外光谱仪,采用 2 mm 光程的玻璃杯应用透射检测元件、铟镓砷检测器进行光谱采集,具体采集光谱方法同上。

2.2.4 校正集与验证集样品的选择 运用 Matlab 的 randperm 函数在厚朴样品中随机选取 10 批样本作为验证集,剩余 50 批样品作为校正集。按照《中国药典》2020 年版中规定方法对厚朴样品的 5 项指标进行测定。结果显示,校正集的各个质控成分含量范围均大于验证集,表明校正集和验证集是合理分布的。

2.2.5 NIRS 预处理方法、波数范围及主因子数的选择

(1) 预处理方法的选择:厚朴样品的颗粒度、颜色及仪器响应等因素对光谱的影响,会导致其近红外光谱和基线产生漂移,为排除仪器无关信息及噪声干扰,对原始光谱信号进行预处理^[21]。分别采用一阶导数(FD)、消除常数偏移量(ECO)、多元散射校正(MSC)、最大最小归一化(MMN)、正态变量校正(SNV)等方法,及 FD+MSC 和 FD+SNV 等组合方法,对光谱进行预处理,结合波数范围选取最佳预处理方法。

(2) 波数范围的选择:为提高模型的专属性,本研究通过对比厚朴样品与厚朴酚及和厚朴酚标品光谱中的特征吸收峰,进行最佳建模波段筛选。比较厚朴酚与和厚朴酚对照品溶液的近红外光谱图可知,二者在 4 056~4 395、4 585~5 000、5 017~5 341、5 814~6 250、6 872~7 326 cm^{-1} 出现相似的吸收峰。厚朴药材样品的光谱在上述范围中也有相似的吸收峰出现(图 3)。其中,波数范围 4 056~4 395 cm^{-1} 为芳环上的甲基 C-H 弯曲振动基频二级倍频谱带;4 585~5 000 cm^{-1} 为芳环 C-H 伸缩振动,弯曲振动和变形振动的组合频;5 017~5 341 cm^{-1} 为 O-H 伸缩振动,弯曲振动的组合频;5 814~6 250 cm^{-1} 为芳环 C-H 及与芳环相连的甲基 C-H 伸缩振动一级倍频谱带;6 872~7 326 cm^{-1} 为 O-H 伸缩振动基频的一级倍频谱带;以上信息可以部分体现厚朴酚与和厚朴酚的结构特征。

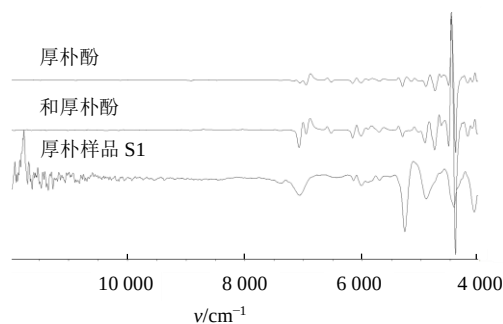


图 3 NIRS 波数范围分析结果

Fig. 3 Analysis results of NIRS wavenumber range

(3) 主因子数的选取:主因子数的合理选择对模型性能和预测精度至关重要。因子数过少可能导致关键信息丢失,引发“欠拟合”,降低模型泛化能力;过多则可能引入噪声,导致“过拟合”,增加预测误差^[22]。本研究采用交叉验证法以 RMSECV 作为核心指标进行优化。运用 OPUS 7.5 软件的波数

区间优化功能对 5 项指标的最佳建模区间、波数范围及主因子数进行筛选, 结合模型 R^2_{cal} 、 R^2_{pre} 、RMSECV、RMSEP、RSEP、RMSEC、RPD 的检测结果确定了建模的最佳光谱预处理方法。其中厚朴

酚、和厚朴酚、水分、总灰分、酸不溶性灰分的光谱预处理方法分别为 ECO、FD+SNV、SSL、FD、MMN, 其光谱预处理方法、波数区段范围及主因子数具体见表 1 及图 4。

表 1 不同预处理方法、波数范围及主因子数对模型的影响

Table 1 Effects of different spectra pretreatments, spectral section and principal factor on models

指标	预处理方法	波数范围/cm ⁻¹	主因子数	校正集				验证集		
				R^2_{cal}	RMSECV	RPD	RMSEC	R^2_{pre}	RMSEP	RSEP
厚朴酚	ECO	7 101.6~6 969.4、6 185.6~5 976.5、5 343.3~5 014.4	10	94.61	0.161	4.32	0.095 6	85.46	0.146	0.075 4
	SD	6 901.8~6 828.0、4 919.1~4 719.3	3	94.51	0.162	4.27	0.038 7	85.32	0.148	0.095 4
	MMN	6 901.8~6 828.0、4 919.1~4 519.5	6	94.51	0.162	4.27	0.120 0	85.39	0.188	0.119 0
	SNV	7 101.6~6 969.4、6 901.8~6 828.0、4 919.1~4 519.5	3	94.23	0.166	4.16	0.097 2	84.66	0.202	0.108 0
	FD+SNV	6 901.8~6 828.0、4 919.1~4 519.5	4	93.05	0.183	3.79	0.142 0	84.21	0.197	0.128 0
和厚朴酚	FD+SNV	6 185.6~6 081.0、5 343.3~5 014.4、4 919.1~4 519.5	10	87.04	0.144	2.78	0.075 6	86.94	0.143	0.202 0
	FD	6 901.8~6 828.0、6 185.6~5 976.5、5 343.3~5 014.4、4 919.1~4 519.5	10	83.56	0.162	2.47	0.079 0	82.11	0.179	0.264 0
	SD	7 101.6~6 969.4、6 901.8~6 828.0、6 185.6~5 976.5、5 343.3~5 014.4	8	81.98	0.170	2.36	0.067 2	84.36	0.216	0.291 0
	FD+MSC	6 185.6~5 976.5、5 343.3~5 014.4、4 919.1~4 519.5	9	72.70	0.209	1.91	0.112 0	69.54	0.434	0.653 0
	MMN	6 901.8~6 828.0、5 343.3~5 014.4、4 919.1~4 519.5	9	68.16	0.226	1.78	0.138 0	66.35	0.491	0.669 0
水分	SSL	6 007.3~5 742.9、5 257.2~4 719.3	8	86.12	0.214	2.53	0.146 0	85.81	0.180	0.026 8
	ECO	7 046.3~7 018.6、6 268.6~5 742.9、5 257.2~4 719.3	10	81.76	0.245	2.34	0.193 0	81.30	0.171	0.029 5
	MSC	6 268.6~5 742.9、5 257.2~4 719.3	9	80.89	0.251	2.29	0.237 0	80.59	0.213	0.032 2
	FD+SSL	6 268.6~5 742.9、5 257.2~4 719.3	8	79.60	0.259	2.21	0.261 0	79.3	0.266	0.033 6
	FD+SNV	7 046.3~7 018.6、6 268.6~5 742.9、5 257.2~4 719.3	8	78.63	0.265	2.17	0.250 0	78.35	0.260	0.034 5
灰分	FD	8 595.5~7 624.2、7 329.1~6 911.0、5 497.0~4 928.3	8	85.12	0.207	2.6	0.144 0	88.38	0.205	0.055 0
	FD	8 109.8~7 624.2、7 329.1~6 911.0、5 497.0~4 928.3	7	70.88	0.290	1.85	0.173 0	73.60	0.246	0.065 2
	FD	8 109.8~7 624.2、7 329.1~6 911.0、5 497.0~4 928.3	6	78.94	0.246	2.18	0.156 0	81.99	0.221	0.059 3
	FD+MSC	8 595.5~7 624.2、7 329.1~6 493、6 320.8~5 629.2、5 497~4 928.3	7	73.12	0.278	1.93	0.168 0	75.93	0.239	0.064 0
	FD+SSL	8 595.5~7 624.2、7 329.1~6 493.0、5 497.0~4 928.3	7	71.79	0.285	1.88	0.171 0	74.55	0.243	0.065 2
酸不溶性灰分	MMN	7 501.2~6 099.5、5 450.9~4 599.4	10	86.91	0.191	2.77	0.160 0	91.26	0.142	0.081 0
	MMN	7 501.2~6 099.5、5 450.9~4 599.4	9	85.32	0.203	2.62	0.163 0	85.86	0.145	0.083 5
	MSC	7 501.2~6 099.5、5 450.9~4 599.4	9	84.49	0.208	2.54	0.166 0	83.02	0.146	0.084 3
	MSC	7 501.2~6 099.5、5 450.9~4 599.4	8	79.03	0.242	2.17	0.208 0	79.53	0.178	0.105 0
	SSL	7 501.2~6 099.5、5 450.9~4 599.4	10	78.84	0.243	2.17	0.281 0	76.35	0.199	0.126 0

2.2.6 定量模型的建立及验证 按照《中国药典》2020 年版中规定方法对 60 批厚朴样品的 5 项指标进行测定, 其中不合格品共有 7 个, 占比为 11.67% (图 5)。利用实测数据以及上述最佳光谱预处理方法和波数区间建立定量分析模型, 分别得到 5 项检测指标的近红外预测模型 (图 6), 其总灰分、酸不溶性灰分、水分、厚朴酚、和厚朴酚预测的 R^2_{cal} 分

别为 0.851、0.869、0.861、0.864、0.946、0.870, 均>0.85; RMSECV 分别为 0.207、0.191、0.214、0.161、0.144, 均为各自模型随变量变化的最小值。利用上述模型对 10 个验证集样品进行检验, 结果显示 5 项指标的预测值与实测值之间的 R^2_{pre} 分别为 0.855、0.869、0.884、0.912 和 0.858 (均>0.85), 表明模型预测结果准确可靠。

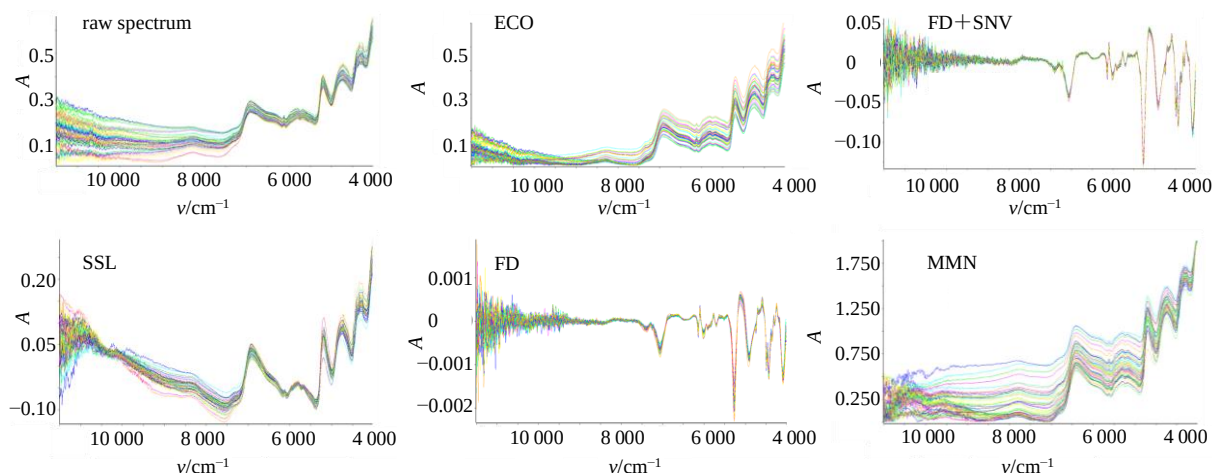
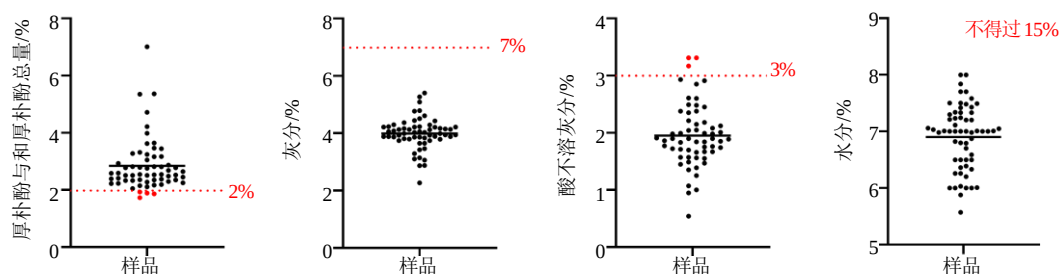


图 4 NIRS 模型预处理方法及波数范围结果

Fig. 4 NIRS model preprocessing method and wavenumber range results



黑点表示合格样品, 红点表示不合格样品, 黑色实线为检测均值, 红色虚线为检测限量。

Black dots represent qualified samples, red dots represent rejected samples, the black solid line is the mean value, the red dotted line is the detection limit.

图 5 《中国药典》2020 年版规定厚朴 5 项检测指标含量测定

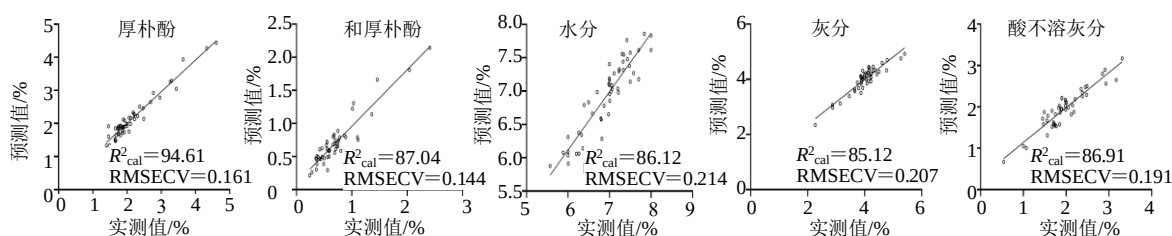
Fig. 5 Five indicator contents that pharmacopoeia specified in *Magnolia officinalis cortex*

图 6 厚朴 5 项检测指标近红外检测模型

Fig. 6 NIRS assay of five indicator contents in *Magnolia officinalis cortex*

2.3 厚朴品质综合智能评价

2.3.1 样本相对离散度的规定 《中国药典》2020 年版规定了厚朴药材的检查项含量上限, 及其有效成分含量的下限。考虑到检测指标与其品质正负相关性的不同, 将正相关离散度 (K_{in}) 按照公式 (1) 计算, 如厚朴药材中的厚朴酚、和厚朴酚; 负相关离散度 (K'_{in}) 依据公式 (2) 进行处理, 如总灰分、酸不溶性灰分、水分。式中, x_{in} 指第 i 个指标的第 n 个样品含量测定结果; $\bar{x}_i$ 指第 i 个指标含量的平均值; K_{in} 和 K'_{in} 分别表示第 n 个样品中第 i 个指标的

含量与其均值的比例。

$$K_{in} = \frac{x_{in}}{\bar{x}_i} \quad (1)$$

$$K'_{in} = \frac{\bar{x}_i}{x_{in}} \quad (2)$$

2.3.2 权重分配系数 (W_i) 及 F_q 的确定 参照权重分配系数 (W_i) 及综合评价指数 (F_q) 的概念^[23], 采用 $L_{40}(3^5)$ 正交试验设计, 对《中国药典》2020 年版规定项下的 5 个检测指标的权重分配系数 W_i ($W_1 \sim W_5$), 分别在 3 个水平上进行优化, 探究其对

F_q 值 (3) 分布的影响。 F_q 代表综合评价指数得分, W_i 为第 i 个指标的权重分配系数, m 为正相关指标的个数, r 为负相关指标的个数。

$$F_q = \left(\sum_{i=1}^m W_i \times K_{in} + \sum_{i=1}^r W_i \times K'_{in} \right) \times 100 \quad (3)$$

首先设定权重分配系数之和为 100%, 将药效贡献显著的厚朴酚 (W_1) 及和厚朴酚 (W_2) 的权重则在较宽区间内考察 (15%~75%); 而对灰分 (W_3)、酸灰 (W_4) 和水分 (W_5) 等非药效学指标的权重限定在较小范围内 (5%~20%), 结果见表 2。

各因素的水平取值依据 Design Expert 10.0 软件确定。使用不同公式对 60 批样品进行 F_q 值计

算, 依据样本中实际不合格样品的最高 F_q 值, 进一步计算各模型下以 F_q 值为限定条件下的不合格样品数, 比较不同公式下基于 F_q 值的不合格率与真实不合格率相似度, 同时确保低 F_q 值样品为真实不合格样品。

正交试验结果表明, 当 $W_1 \sim W_5$ 的最佳权重依次为 0.319、0.356、0.004、0.122 和 0.163 时, 以 F_q 值计算的不合格率与实际样品不合格率相近且最低 (表 3), 最终确定厚朴药材的 F_q 值计算公式:

$$F_q = \left(0.319 \frac{x_1}{x_1} + 0.356 \frac{x_2}{x_2} + 0.004 \frac{x_3}{x_3} + 0.122 \frac{x_4}{x_4} + 0.163 \frac{x_5}{x_5} \right) \times 100$$

表 2 权重分配系数正交实验因素与水平

Table 2 Orthogonal experimental factors and levels of weight distribution coefficients

水平	因素				
	W_1	W_2	W_3	W_4	W_5
1	0.150	0.150	0.050	0.050	0.050
2	0.450	0.425	0.100	0.100	0.125
3	0.750	0.700	0.150	0.150	0.200

表 3 权重分配系数正交实验优化结果

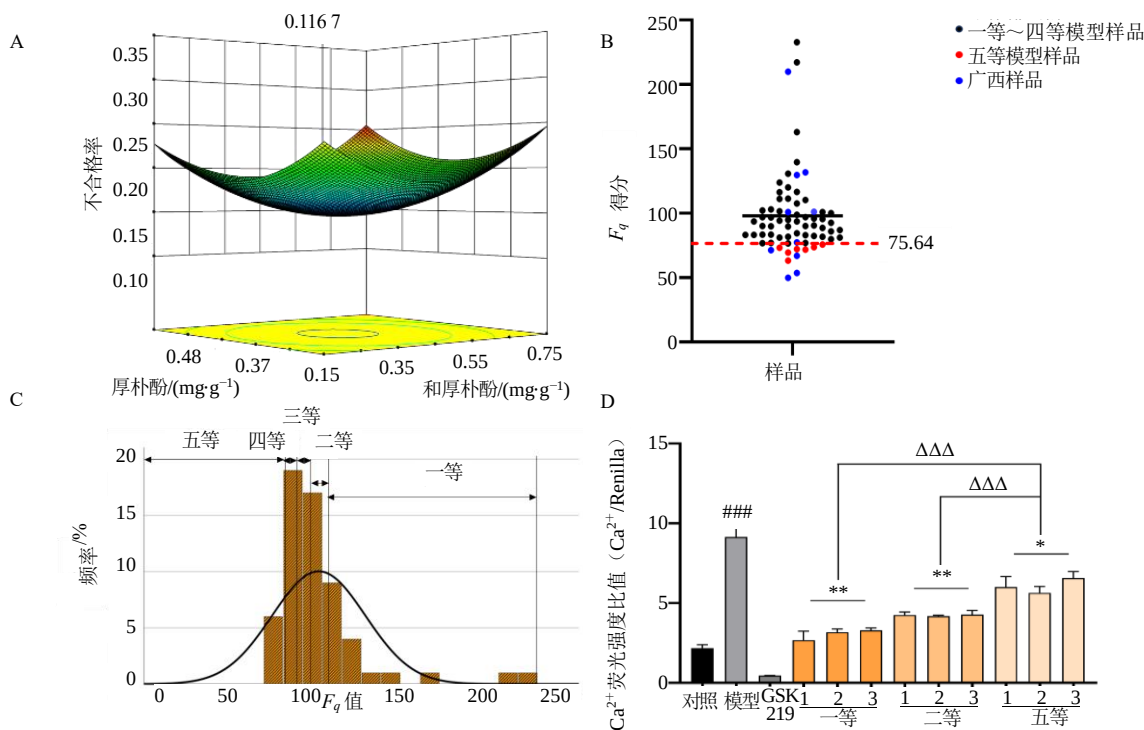
Table 3 Optimization results of orthogonal experiments on weight allocation coefficients

序号	W_1	W_2	W_3	W_4	W_5	不合格率/%	序号	W_1	W_2	W_3	W_4	W_5	不合格率/%
1	0.319	0.356	0.004	0.122	0.163	11.67	21	0.363	0.322	0.050	0.050	0.130	14.13
2	0.318	0.285	0.150	0.050	0.196	12.44	22	0.347	0.333	0.050	0.050	0.143	15.20
3	0.341	0.281	0.149	0.052	0.200	12.50	23	0.422	0.331	0.125	0.050	0.198	15.22
4	0.398	0.278	0.150	0.050	0.146	12.60	24	0.359	0.337	0.050	0.050	0.143	15.22
5	0.422	0.415	0.050	0.145	0.197	12.66	25	0.346	0.342	0.050	0.050	0.145	15.23
6	0.397	0.334	0.146	0.050	0.200	12.69	26	0.414	0.371	0.150	0.113	0.200	15.23
7	0.350	0.423	0.051	0.150	0.200	12.72	27	0.348	0.336	0.050	0.050	0.150	15.27
8	0.422	0.421	0.058	0.150	0.200	12.73	28	0.354	0.338	0.054	0.050	0.137	15.27
9	0.380	0.417	0.050	0.146	0.195	12.75	29	0.356	0.325	0.105	0.050	0.151	15.31
10	0.394	0.397	0.050	0.140	0.200	12.87	30	0.436	0.399	0.137	0.150	0.200	15.40
11	0.293	0.354	0.150	0.050	0.199	12.88	31	0.355	0.319	0.060	0.050	0.140	15.40
12	0.409	0.408	0.050	0.138	0.200	12.96	32	0.344	0.334	0.052	0.050	0.164	15.47
13	0.386	0.333	0.051	0.150	0.200	13.08	33	0.378	0.332	0.050	0.059	0.128	15.53
14	0.437	0.309	0.050	0.150	0.198	13.55	34	0.372	0.373	0.050	0.101	0.190	15.54
15	0.420	0.422	0.059	0.136	0.200	13.57	35	0.357	0.328	0.078	0.050	0.129	15.56
16	0.386	0.349	0.150	0.083	0.200	13.61	36	0.357	0.323	0.082	0.050	0.132	15.57
17	0.418	0.413	0.077	0.150	0.200	13.64	37	0.426	0.401	0.118	0.150	0.198	15.58
18	0.367	0.357	0.137	0.050	0.117	13.69	38	0.359	0.352	0.050	0.062	0.150	15.63
19	0.350	0.331	0.050	0.050	0.111	14.03	39	0.357	0.358	0.050	0.094	0.200	15.65
20	0.361	0.328	0.050	0.050	0.127	14.11	40	0.352	0.326	0.075	0.050	0.169	15.73

2.3.3 厚朴药材品质的综合评价与等级鉴定 将 60 批模型厚朴样本的 5 项指标数据输入 F_q 公式, 得到样本 F_q 值, 如图 7-A、B 所示, 60 批厚朴样

本的 F_q 值呈现正态分布特征 (sig=0.30>0.05)。60 批厚朴 F_q 得分的平均值为 95, 不合格样本的 F_q 值均低于 76。依据 F_q 值正态分布特性, 将其均分

为 5 个等级：一等 >108 ，二等在 $95\sim108$ ，三等在 $86\sim95$ ，四等在 $76\sim86$ ，五等 <76 （图 7-C）。五等样本占比 $<11.67\%$ ，并与实际检测结果相符。进一步采用该 NIRS 模型对来自广西的 10 批厚朴样本进行综合评价及等级鉴定，结果为一等 3 批、二等 2 批、四等 1 批、五等 4 批，与实测值结果保持一致。



A-正交响应面结果分析；B-厚朴样品 F_q 得分散点分布；C-正态分布区域及等级划分；D-系统评价验证结果；与对照组比较：### $P<0.001$ ；与模型组比较： $*P<0.05$ $**P<0.01$ ；与五等组比较： $\Delta\Delta\Delta P<0.001$ 。黑色实线为检测均值，红色虚线为检测限量。

A-Analysis of orthogonal response surface results; B-Distribution of dispersion points of *M. officinalis* samples by F_q ; C-Normal distribution area and hierarchical classification; D-Results of systematic reviews validated; ### $P<0.001$ vs control group; $*P<0.05$ $**P<0.01$ vs model group; $\Delta\Delta\Delta P<0.001$ vs Fifth grade group. Black solid line is the mean value, red dotted line is the detection limit.

图 7 厚朴药材的综合质量评价与等级鉴定

Fig. 7 Comprehensive quality evaluation and grade appraisal of *Magnolia officinalis* Cortex

($P<0.01$)（图 7-D），证明该评价体系可实现不同活性的厚朴等级的划分。

3 讨论

中药成分复杂功能主治多样，如何以活性成分含量来衡量药材质量是目前有待解决的问题，单一或少数指标作为质量评价的基准已逐渐显示出其局限性，难以形成广泛的行业共识^[24]。为保证中药材质量评价的全面性、科学性和有效性，寻求一种多指标综合性评价的方法迫在眉睫。白钢等^[23]首次提出 F_q 概念，尝试通过整合多指标体系，综合评价药材的质量与活性。同时借助近红外光谱技术建立多指标快检模型，结合 F_q 实现了药材质量和等级的

2.4 基于 F_q 的药材活性评价

为了验证上述评价体系的合理性，选取上述评价方法指认的一等、二等、五等不同等级的厚朴样本各 3 批，采用“2.1.2”项下方法进行了 TRPV4- Ca^{2+} 拮抗活性验证。结果表明，与模型组相比，实验样品均呈现一定的药理活性，且一等及二等的厚朴样品其 Ca^{2+} 拮抗活性显著优于五等样品

快速评价。采用该方法完成了 500 批次当归药材的 5 项 Q-Marker 的含量近红外检测，通过其含量变化分别预测出其药理活性，并通过限定 F_q 值的正态分布的置信区间，筛选出功效相对稳定的药材，创建了一种中药材品质快速评价体系^[12]。

本研究通过 HPLC 指纹图谱结合 TRPV4- Ca^{2+} 拮抗活性检测进行谱效筛选，发现具有 Ca^{2+} 拮抗活性的厚朴酚及和厚朴酚关键药效成分，并进一步结合前期研究结果^[14, 25]，确认其为厚朴理气作用的 Q-Marker。进而结合《中国药典》2020 年版厚朴药材中五项指标性成分的检测方法，分别建立了其近红外检测模型，实现了对厚朴药材的综合评价及等级

划分。本研究不仅为基于活性的 Q-Marker 筛选提供了系统化的研究方法, 还通过 NIRS 直接扫描厚朴药材粉末, 实现了对多个指标参数的快速同步测定。此外, 通过引入了 F_q , 结合不同检测指标的离散度分析与权重分配评估, 成功实现了对药材品质的快检和评价, 为我国药材市场的科学监管提供了创新性方法。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020.
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2020.
- [2] 盛永成, 王晶, 张世洋, 等. 厚朴药理研究进展 [J]. 成都中医药大学学报, 2018, 41(2): 109-114.
Sheng Y C, Wang J, Zhang S Y, et al. Pharmacological research progress on Houpo [J]. J Chengdu Univ Tradit Chin Med, 2018, 41(2): 109-114.
- [3] 张淑洁, 钟凌云. 厚朴化学成分及其现代药理研究进展 [J]. 中药材, 2013, 36(5): 838-843.
Zhang S J, Zhong L Y. Research progress on chemical constituents and modern pharmacology of *Magnolia officinalis* [J]. J Chin Med Mater, 2013, 36(5): 838-843.
- [4] 胡阳. 枳实、厚朴联合中药坐浴治疗肛肠术后便秘的临床观察 [J]. 中西医结合研究, 2019, 11(1): 24-25.
Hu Y. Clinical observation on the treatment of constipation after anorectal surgery by hip bath with *Fructus Aurantii Immaturus* and *Cortex Magnolia Officinalis* combined with traditional Chinese medicine [J]. Res Integr Tradit Chin West Med, 2019, 11(1): 24-25.
- [5] 任万新. 半夏厚朴汤治疗胃溃疡的临床效果及安全性 [J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2019, 7(31): 27.
Ren W X. Clinical effect and safety of Banxia houpu decoction in treating gastric ulcer [J]. Cardiovasc Dis Electron J Integr Tradit Chin West Med, 2019, 7(31): 27.
- [6] 蓝海涛, 刘震. 半夏厚朴汤合二术郁灵丹治疗胃食管反流心得 [J]. 国际中医中药杂志, 2020, 42(6): 601-602.
Lan H T, Liu Z. Reatment of gastroesophageal reflux by Banxia Houpu Decoction combined with Er Zhu Yu Ling Dan [J]. Int J Tradit Chin Med, 2020, 42(6): 601-602.
- [7] 徐学英. 半夏厚朴汤合桔梗汤加减治疗咳嗽变异性哮喘临床疗效观察 [J]. 中医临床研究, 2020, 12(19): 121-123.
Xu X Y. Clinical observation on treating cough variant asthma with the Banxia Houpo decoction plus the Jiegeng Decoction [J]. Clin J Chin Med, 2020, 12(19): 121-123.
- [8] 金丹, 张大奎, 王守凯, 等. 我国近红外光谱分析技术的发展 [J]. 广东化工, 2018, 45(3): 118-119.
Jin D, Zhang D K, Wang S K, et al. The research progress of near infrared spectroscopy analytical technology [J]. Guangdong Chem Ind, 2018, 45(3): 118-119.
- [9] 马冬红, 王锡昌, 刘利平, 等. 近红外光谱技术在食品产地溯源中的研究进展 [J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 31(4): 877.
Ma D H, Wang X C, Liu L P, et al. Current progress in food geographical origin traceability by near infrared spectroscopy technology [J]. Spectrosc Spectr Anal, 2011, 31(4): 877.
- [10] 战皓, 柳梦婷, 方婧, 等. 近红外分析技术在中药鉴定和含量测定中的应用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(12): 231-235.
Zhan H, Liu M T, Fang J, et al. Application of near infrared analytical technique in identification and content determination of traditional Chinese medicine [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2015, 21(12): 231-235.
- [11] 修连存, 郑志忠, 俞正奎, 等. 近红外光谱分析技术在蚀变矿物鉴定中的应用 [J]. 地质学报, 2007, 81(11): 1584-1590.
Xiu L C, Zheng Z Z, Yu Z K, et al. Mineral analysis technology application with near infrared spectroscopy in identifying alteration mineral [J]. Acta Geol Sin, 2007, 81(11): 1584-1590.
- [12] 闫孟琳, 丛龙飞, 张子玥, 等. 基于质量标志物的当归抗炎功效近红外快速评价 [J]. 分析测试学报, 2020, 39(11): 1320-1326.
Yan M L, Cong L F, Zhang Z Y, et al. Rapid evaluation of anti-inflammatory efficacy of *Angelica sinensis* (oliv.) Diels by near infrared spectroscopy based on quality markers [J]. J Instrum Anal, 2020, 39(11): 1320-1326.
- [13] 李真, 周立红, 叶正良, 等. 近红外光谱分析技术在药物质量分析中的应用进展 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(4): 686-692.
Li Z, Zhou L H, Ye Z L, et al. Research progress on application of near-infrared reflectance spectroscopy in pharmaceutical analysis [J]. Drug Eval Res, 2016, 39(4): 686-692.
- [14] Niu L, Lu Y J, Zu X W, et al. Magnolol alleviates pulmonary fibrosis in chronic obstructive pulmonary disease by targeting transient receptor potential vanilloid 4-ankyrin repeat domain [J]. Phytother Res, 2023, 37(9): 4282-4297.
- [15] 赵爱香. 厚朴麻黄汤治疗慢性支气管炎的临床对比分析 [J]. 中国医药指南, 2020, 18(18): 199-200.

- Zhao A X. Clinical comparative analysis of houpu Mahuang decoction in the treatment of chronic bronchitis [J]. Guide China Med, 2020, 18(18): 199-200.
- [16] 白钢, 丁国钰, 侯媛媛, 等. 引进近红外技术用于中药材品质的快速评价 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(19): 3501-3505.
- Bai G, Ding G Y, Hou Y Y, et al. Rapid identification and evaluation of Chinese materia medica quality by near infrared spectroscopy [J]. China J Chin Mater Med, 2016, 41(19): 3501-3505.
- [17] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物(Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.
- Liu C X, Chen S L, Xiao X H, et al. A new concept on quality marker of Chinese materia medica: Quality control for Chinese medicinal products [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [18] 李振雨, 陈万发, 王利伟, 等. 不同基原厚朴 UPLC 指纹图谱及化学模式识别研究 [J]. 中草药, 2022, 53(1): 244-249.
- Li Z Y, Chen W F, Wang L W, et al. UPLC fingerprint and chemical pattern recognition of *Magnoliae Officinalis Cortex* from different origins [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(1): 244-249.
- [19] 丁影. 厚朴炮制前后指纹图谱及主要成分含量变化的研究 [J]. 中国药师, 2020, 23(9): 1745-1750.
- Ding Y. Changes of HPLC fingerprint and main contents of *Magnolia officinalis* before and after processing [J]. China Pharm, 2020, 23(9): 1745-1750.
- [20] Niu L, Wang S L, Xu Y Y, et al. Honokiol targeting ankyrin repeat domain of TRPV4 ameliorates endothelial permeability in mice inflammatory bowel disease induced by DSS [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 325: 117825.
- [21] 王彬, 董佳佳, 申柯, 等. 基于近红外光谱分析技术对不同蒸制程度天麻的质量评价研究 [J]. 中草药, 2025, 56(3): 975-986.
- Wang B, Dong J J, Shen K, et al. Research on quality evaluation of *Gastrodiae Rhizoma* with different steaming degrees based on near infrared spectroscopy technology [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2025, 56(3): 975-986.
- [22] 陈露萍, 徐芳芳, 张欣, 等. 基于偏最小二乘法建立大株红景天片素片硬度近红外光谱预测模型 [J]. 中草药, 2023, 54(8): 2446-2452.
- Chen L P, Xu F F, Zhang X, et al. Near infrared prediction model for hardness of *Rhodiola grandiflora* Tablets based on partial least square method [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(8): 2446-2452.
- [23] 白钢, 刘昌孝, 张铁军, 等. 基于质量综合评价指数的药材品质快速评价 [J]. 中草药, 2021, 52(2): 313-320.
- Bai G, Liu C X, Zhang T J, et al. Rapid evaluation of Chinese medicinal materials quality based on quality comprehensive evaluation index factor [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(2): 313-320.
- [24] 雷晓晴, 王秀丽, 李耿, 等. 近红外光谱法快速测定当归中 7 种成分的含量 [J]. 中草药, 2019, 50(16): 3947-3954.
- Lei X Q, Wang X L, Li G, et al. Rapid determination of seven components in *Angelica sinensis* based on near infrared spectroscopy [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2019, 50(16): 3947-3954.
- [25] Niu L, Wang J, Shen F K, et al. Magnolol and honokiol target TRPC4 to regulate extracellular calcium influx and relax intestinal smooth muscle [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 290: 115105.

[责任编辑 孙英杰]