

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

刘 畅¹, 王 潇¹, 刘 芳^{1*}, 刘绍瑛¹, 胡慧玲¹, 傅超美^{1*}, 邓 彬²

1. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137

2. 成都地奥制药集团有限公司, 四川 成都 610000

摘 要: 目的 基于厚朴“发汗”前后多指标质量差异关键属性优化厚朴“发汗”工艺。方法 采用 HPLC 法同时测定“发汗”厚朴中紫丁香苷、木兰花碱、厚朴苷 A、和厚朴酚及厚朴酚含量, 采用 CRITIC-层次分析法 (CRITIC-AHP) 复合加权法计算权重系数, 多指标综合评分, 结合 Box-Behnken 响应面法考察水煮时间、堆积天数、干燥温度及干燥时间对“发汗”厚朴质量的影响, 优选厚朴“发汗”工艺。结果 厚朴较佳发汗工艺为取厚朴药材, 沸水水煮 2 min, 堆积发汗 1 d, 晾晒 7 d 后于 45 °C 烘箱内干燥 36 h。结论 采用多指标含量测定、CRITIC-AHP 复合加权法结合响应面法优化厚朴“发汗”工艺, 为厚朴产地加工“发汗”工艺考察提供参考。

关键词: 厚朴; 发汗; 多指标测定; CRITIC-AHP 法; Box-Behnken 设计-响应面法; 紫丁香苷; 木兰花碱; 厚朴苷 A; 和厚朴酚; 厚朴酚; 质量差异; 关键属性

中图分类号: R283.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670 (2021) 03-0677-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.03.009

Optimization of “sweating” process in producing area for *Magnoliae Officinalis Cortex* based on multi-index determinant attributes of quality difference

LIU Chang¹, WANG Xiao¹, LIU Fang¹, LIU Shao-yang¹, HU Hui-ling¹, FU Chao-mei¹, DENG Bin²

1. School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. Chengdu Dior Pharmaceutical Group Co., Ltd., Chengdu 610000, China

Abstract: Objective To optimize the “sweating” process in producing area for *Magnoliae Officinalis Cortex* (MOC) based on multi-index determinant attributes of quality difference caused by “sweating”. **Methods** A comprehensive multi-index evaluation of the quality of MOC after “sweating” was made. The contents of syringoside, magnolflorine, magloside A, honokiol, and magnolol in “sweating” MOC were determined by HPLC, the weight coefficients were calculated by CRITIC-AHP composite weighting method. The effects of boiling time, stacking days, drying temperature and time on the quality were investigated by the method of Box-Behnken response surface, and then the optimization was selected. **Results** The optimal sweating process of MOC was as following: Boil MOC with boiling water for 2 min; Heap them for “sweating” for 1 d; Air-dry them for 7 d and then oven dry them in 45 °C for 36 h. **Conclusion** This study has optimized the process of “sweating” process of MOC based on multi-index determination, CRITIC-AHP composite weight calculation and Box-Behnken response surface methodology, which provides the references for the “sweating” process in producing area of MOC.

Key words: *Magnoliae Officinalis Cortex*; sweating; multi-index determination; CRITIC-AHP method; Box-Behnken design response surface method; syringoside; magnolflorine; magloside A; honokiol; magnolol; quality differences; key attributes

厚朴为木兰科植物厚朴 *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^[1], 具有下气除满、燥湿消痰的功效, 常用于

收稿日期: 2020-09-11

基金项目: 国家自然科学基金项目青年基金项目 (81603300); 中国博士后科学基金面上项目“西部地区博士后人才资助计划” (2020M673569 XB); 四川省科技厅项目 (2020YJ0370); 国家药品监督管理局中药材质量监测评价重点实验室开放课题 (2020NMPA-CDDC03)

作者简介: 刘 畅 (1997—), 女, 硕士生, 主要从事中药炮制与中药制剂研究。Tel: 18780012627 E-mail: Liuchang2548@126.com

*通信作者: 刘 芳 (1986—), 女, 博士, 高级实验师, 主要从事中药炮制与中药制剂研究。Tel: 18980649295 E-mail: bittercafe1@126.com
傅超美 (1961—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事中药新制剂和新剂型研究。Tel: 13981855638 E-mail: chaomeifu@126.com

治疗痰饮喘咳、食积气滞、脘痞吐泻及腹胀便秘等。厚朴的生理活性成分包括木脂素类、苷类、生物碱类及挥发油等^[2-3]。现代药理研究表明,厚朴具有抗炎、抗菌、抗氧化及调节胃肠运动等作用^[4-5]。

为了确保厚朴饮片的品质及疗效,传统认为厚朴干皮须进行“发汗”处理,以内表面变紫褐色或棕褐色为佳。“发汗”是保障厚朴道地性及药效的关键环节之一,厚朴经过“发汗”处理后,其外观、内在成分含量、药效均发生改变^[6-7],但部分产地厚朴存在未“发汗”处理或“发汗”工艺错乱不一的现象^[7],而《中国药典》2020 年版所记载的厚朴“发汗”工艺(干皮置沸水中微煮后,堆积“发汗”后干燥)也没有可以客观量化的具体参数,不利于厚朴“发汗”质量控制。课题组前期研究发现,厚朴“发汗”后有效成分含量发生变化^[5-8],与药效有关的差异成分^[9-12]主要为厚朴酚、和厚朴酚、木兰花碱、紫丁香苷及厚朴苷 A。本实验以此 5 个质量差异关键标志物为指标,拟对厚朴“发汗”过程中的关键过程即水煮时间、堆积天数、干燥温度、干燥时间 4 项因素加以考察,并采用 CRITIC-层次分析法(CRITIC-AHP)复合加权法计算厚朴饮片中紫丁香苷、木兰花碱、厚朴苷 A、和厚朴酚及厚朴酚的相关权重,结合 Box-Behnken 设计-响应面法(BBD-RSM),优选厚朴“发汗”工艺,为规范厚朴“发汗”工艺提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

HTP-312 万分之一电子天平,上海花潮电器有限公司;CPA225D 十万分之一天平,赛多利斯科学仪器北京有限公司;101-2AB 电热鼓风干燥箱,成都中兴伟业仪器有限公司;UPK-I-107 优普系列超纯水器,四川优普超纯科技有限公司;Ultimate3000 高效液相色谱仪,德国赛默飞公司。

1.2 材料

对照品紫丁香苷(批号 19041510,质量分数>98%)、木兰花碱(批号 19031409,质量分数>98%)、和厚朴酚(批号 19022708,质量分数>98%)、厚朴酚(批号 19022605,质量分数>98%),成都益顺达有限公司;对照品厚朴苷 A(批号 DST191110-243,质量分数≥96%),成都德思特生物技术有限公司。乙腈、甲醇均为色谱纯,成都科隆化学品有限公司;水为超纯水;其他制剂均为分析纯。

厚朴干皮收采于四川省绵阳市平武县(2020 年 7 月 1 日),经成都中医药大学标本中心实验师连艳鉴定为木兰科木兰属植物厚朴 *M. officinalis* Rehd. et Wils. 的干燥干皮。

2 方法与结果

2.1 厚朴“发汗”工艺考察设计方法

《中国药典》2020 年版记载的厚朴“发汗”工艺^[1]为干皮置沸水中微煮后,堆置阴湿处,“发汗”至内表面变紫褐色或棕褐色时,蒸软,取出,卷成筒状,干燥。本实验在预实验的基础上,考察水煮时间(A)、堆积天数(B)、干燥温度(C)、干燥时间(D)4 项因素。具体“发汗”工艺过程为将新鲜厚朴置沸水中微煮一定时间,阴凉通风处堆积一定时间,取出在阴凉通风处晾晒 7 d 后,放入设定温度的烘箱中干燥一定时间。具体工艺参数见表 1。

表 1 厚朴“发汗”工艺考察因素水平表

Table 1 Investigation factor level table of “sweating” process of *Magnoliae Officinalis* Cortex

参数	A/min	B/d	C/℃	D/h
1	2	1	40	12
2	5	4	60	24
3	8	7	80	36

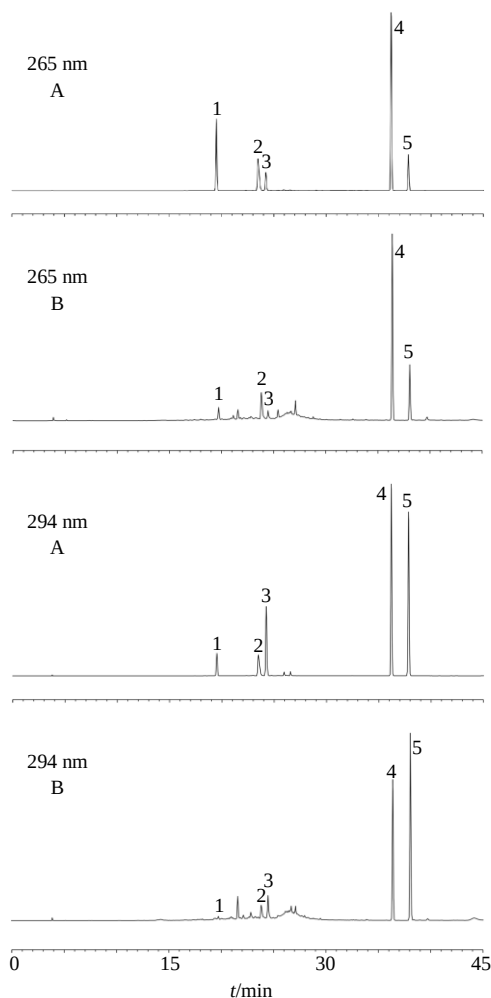
2.2 厚朴“发汗”工艺考察指标

本实验基于对厚朴“发汗”前后有效成分的含量变化^[4-5,7,9]、网络药理学预测^[11]及药理活性^[10,12-14],筛选确定厚朴酚、和厚朴酚、紫丁香苷、厚朴苷 A、木兰花碱 5 个成分为厚朴饮片“发汗”前后质量差异关键标志物,并作为本实验的“发汗”工艺考察指标。采用 HPLC 法测定 5 个成分的含量。

2.2.1 HPLC 含量测定方法的建立

(1)色谱条件:色谱柱为 Acclaim120 C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液,梯度洗脱 0~5 min, 5%乙腈;5~20 min, 5%~20%乙腈;20~30 min, 20%~70%乙腈;30~35 min, 70%~80%乙腈;35~40 min, 80%乙腈;40~45 min, 80%~5%乙腈;体积流量 0.8 mL/min;柱温 35 ℃;进样量 10 μL;检测波长为 265 nm(紫丁香苷、木兰花碱)、294 nm(厚朴苷 A、厚朴酚、和厚朴酚)。对照品、供试品 HPLC 色谱图见图 1。

(2)对照品溶液的制备:精密称取对照品厚朴酚、和厚朴酚、紫丁香苷、厚朴苷 A、木兰花碱适量,加 70%甲醇配制成含厚朴酚 0.935 mg/mL、和



1-紫丁香苷 2-木兰花碱 3-厚朴苷 A 4-和厚朴酚 5-厚朴酚
1-syringin 2-magnoflorine 3-magnolide A 4-honokiol 5-magnolol
图 1 混合对照品 (A) 和“发汗”厚朴样品 (B) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC determination of control mixture (A) and sweated *Magnoliae Officinalis Cortex* (B)

厚朴酚 0.700 mg/mL、紫丁香苷 0.390 mg/mL、厚朴苷 A 0.738 mg/mL、木兰花碱 0.460 mg/mL 的混合对照品溶液。

(3) 供试品溶液的制备: 精密称取厚朴粉末(过三号筛) 0.5 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 20 mL, 称定质量, 密封, 超声辅助提取 40 min, 放冷, 称定质量, 加 70% 甲醇补足缺失的质量, 摇匀, 滤过, 滤液经 0.22 μm 滤膜滤过, 即得。

(4) 线性关系考察: 精密移取“2.2.1 (2)”项下混合对照品溶液 5 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 依次稀释对照品质量浓度, 即得系列不同质量浓度的对照品溶液。精密吸取系列不同质量浓度对照品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 记录峰面积。以各对照品质量浓度为

横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 进行回归分析, 得到各指标成分的回归方程、相关系数 (r) 及线性范围分别为厚朴酚 $Y=298.66 X+3.019 1$, 14.609~935.000 μg/mL, $r=0.999 8$; 和厚朴酚 $Y=341.13 X+1.742 1$, 10.938~700.000 μg/mL, $r=0.999 6$; 紫丁香苷 $Y=519.53 X-0.589 8$, 12.188~390.000 μg/mL, $r=0.999 9$; 厚朴苷 A $Y=206.36 X-0.103 8$, 23.047~736.000 μg/mL, $r=1.000 0$; 木兰花碱 $Y=329.35 X+0.072 5$, 14.375~460.000 mg/mL, $r=1.000 0$ 。

(5) 精密度试验: 取“2.2.1 (2)”项下混合对照品溶液, 按“2.2.1 (1)”项下色谱条件进样检测, 连续进样 6 次。计算厚朴酚、和厚朴酚、紫丁香苷、木兰花碱及厚朴苷 A 峰面积的 RSD 分别为 0.17%、0.09%、1.82%、1.04%、1.24%, 结果表明仪器精密度良好。

(6) 重复性试验: 取同一批供试品粉末 (5 号样品), 平行 6 份。按“2.2.1 (3)”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2.1 (1)”项下色谱条件依次进样检测。计算厚朴酚、和厚朴酚、紫丁香苷、木兰花碱及厚朴苷 A 峰面积的 RSD 分别为 0.09%、0.03%、1.691%、0.78%、1.26%, 表明本实验重复性良好。

(7) 稳定性试验: 精密吸取同一供试品溶液 (5 号样品), 按“2.2.1 (1)”项下色谱条件在 0、2、4、8、16、24 h 分别进样测定。计算厚朴酚、和厚朴酚、紫丁香苷、木兰花碱及厚朴苷 A 峰面积的 RSD 分别为 0.10%、0.04%、1.76%、0.82%、1.23%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

(8) 加样回收率试验: 取已知各指标成分含量的厚朴供试品 (5 号样品) 适量, 共 6 份, 每份 0.25 g, 精密称定, 分别加入等量的厚朴酚、和厚朴酚、紫丁香苷、木兰花碱及厚朴苷 A 对照品, 按“2.2.1 (3)”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2.1 (1)”项下色谱条件测定, 计算得到紫丁香苷、木兰花碱、厚朴苷 A、和厚朴酚、厚朴酚的平均加样回收率分别为 98.96%、99.28%、99.56%、98.88%、99.79%, RSD 分别为 0.53%、1.58%、0.87%、0.21%、0.29%。

2.2.2 指标成分的含量测定 精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 记录峰面积。通过标准曲线回归方程计算各指标成分含量。

2.3 “发汗”厚朴评价指标权重的建立

2.3.1 CRITIC 法计算权重 CRITIC 法是基于评价指标的对比强度和冲突性来综合衡量指标客观权重

的计算方法^[15-16]。将各成分测定的含量数据由公式 [评价指标值=(实测值-最小值)/(最大值-最小值)] 进行处理, 根据 SPSSAU 20.0 软件处理数据得到相关系数矩阵, 由综合权重 (C_j) 计算公式和客观权重 (W_j), 计算公式得到紫丁香苷、木兰花碱、厚朴苷 A、和厚朴酚及厚朴酚 5 项指标的权重系数分别为 0.069、0.042、0.384、0.211、0.294。式中 r_{ij} 表示指标 i ($i=1, 2, 3, n$) 和 j 之间的相关系数, δ_j 为标准化后列向量的标准差。

$$C_j = \delta_j \sum_{i=1}^n (1 - r_{ij})$$

$$W_j = C_j / \sum_{j=1}^n C_j$$

2.3.2 AHP 法计算权重 AHP 层次分析法是一种需要人为判断各指标的优选顺序的主观权重计算方法^[16-17]。根据厚朴“发汗”前后各指标成分的含量变化, 将各指标成分含量作为权重指标予以量化, 即 5 项指标 3 个层次, 确定各指标的优先顺序为厚朴酚=和厚朴酚>紫丁香苷=厚朴苷 A>木兰花碱, 构建优先判断矩阵并确定各项指标的相对评分。根据评分结果, 紫丁香苷、木兰花碱、厚朴苷 A、和厚朴酚及厚朴酚 5 项指标的 AHP 权重系数分别为 0.087、0.054、0.087、0.386、0.386, 一致性比例因子 (CR)=0.009<0.1, 表明指标优先比较判断矩阵一致性较好, 权重系数有效, 结果见表 2。

2.3.3 CRITIC-AHP 复合加权法计算权重 通过 CRITIC 和 AHP 分别得到各项指标的相关权重, 采用复合权重公式 $\omega_{\text{复合}ij} = \omega_{\text{AHP}}\omega_{\text{CRITIC}} / \sum \omega_{\text{AHP}}\omega_{\text{CRITIC}}$ 计算^[18]得到紫丁香苷、木兰花碱、厚朴苷 A、和厚朴酚及厚朴酚 5 项指标的复合权重分别为 0.025、

表 2 指标成对比较的判断优先矩阵

Table 2 Priority matrix for comparison on index pairs

指标成分	厚朴酚	和厚朴酚	紫丁香苷	木兰花碱	厚朴苷 A
厚朴酚	1	1	5	6	5
和厚朴酚	1	1	5	6	5
紫丁香苷	1/5	1/5	1	2	1
木兰花碱	1/6	1/6	1/2	1	1/2
厚朴苷 A	1/5	1/5	1	2	1

0.010、0.141、0.344、0.480。式中 ω_{CRITIC} 表示 CRITIC 计算的权重系数, ω_{AHP} 表示 AHP 计算的权重系数。**2.3.4 综合评分结果比较** 分别采用 CRITIC 法、AHP 法及 CRITIC-AHP 复合加权法所得权重系数对试验结果进行评分, 结果见表 3。通过相关系数分析, CRITIC 法与 AHP 法的相关系数为 0.865, CRITIC 法与复合加权法的相关系数为 0.998, AHP 法与复合加权法的相关系数为 0.892, 其中 CRITIC 法与复合加权法的相关性显著 ($P<0.05$)。从权重系数分析, CRITIC 法与 AHP 法的相关系数为 0.369, 相关性不显著 ($P>0.05$), 说明二者所反应的信息不具有叠加性。综合考虑采用 CRITIC-AHP 复合加权法。

2.4 BBD-RSM 优选厚朴饮片“发汗”工艺参数

2.4.1 指标成分含量测定结果 以水煮时间 (A)、堆积天数 (B)、干燥温度 (C)、干燥时间 (D) 为自变量, 厚朴“发汗”前后的 5 个质量差异关键标志物质量分数的综合评分为因变量, BBD 试验设计及结果见表 4。根据“2.3.3”项下得到的各指标权重系数, 计算综合评分。

$$\text{综合评分} = 0.025 \times \text{紫丁香苷质量分数} + 0.010 \times \text{木兰花}$$

表 3 3 种赋权法综合评分结果

Table 3 Synthetical scores of three weighted coefficient methods

实验号	CRITIC	AHP	CRITIC-AHP 复合法	实验号	CRITIC	AHP	CRITIC-AHP 复合法	实验号	CRITIC	AHP	CRITIC-AHP 复合法
1	22.47	20.62	23.50	10	16.75	18.33	20.56	19	17.36	21.03	23.47
2	15.15	16.95	18.91	11	16.07	18.23	20.35	20	20.62	20.78	23.53
3	14.86	16.47	18.57	12	17.31	17.93	20.17	21	16.25	17.52	19.67
4	19.89	22.89	25.60	13	13.99	13.65	15.38	22	11.79	13.92	15.52
5	12.33	14.46	16.13	14	18.75	17.52	19.99	23	12.21	14.42	16.07
6	15.62	19.05	21.22	15	14.38	16.09	18.11	24	13.58	17.81	19.64
7	22.59	22.23	25.28	16	16.09	18.69	20.80	25	17.18	19.26	21.68
8	16.83	19.67	22.04	17	21.23	19.92	22.66	26	14.88	17.50	19.48
9	14.82	18.52	20.57	18	18.57	19.22	21.74	27	16.49	18.29	20.49

表 4 BBD 试验设计与结果
Table 4 Test design and results of BBD

实验号	A/min	B/d	C/℃	D/h	质量分数/(mg·g ⁻¹)					综合评分
					紫丁香苷	木兰花碱	厚朴苷 A	和厚朴酚	厚朴酚	
1	5	1	60	12	3.86	4.43	25.87	17.71	28.38	23.50
2	5	7	40	24	1.59	4.23	11.19	15.96	24.49	18.91
3	5	7	60	12	1.10	4.21	10.98	14.29	25.08	18.57
4	2	4	60	36	1.26	4.53	13.33	21.63	33.76	25.60
5	5	4	60	24	0.95	4.56	7.50	12.94	21.98	16.13
6	5	7	60	36	0.52	3.81	8.23	18.23	28.62	21.22
7	5	1	60	36	2.35	4.89	22.82	19.36	31.87	25.28
8	8	4	40	24	1.09	3.89	10.52	18.02	29.78	22.04
9	8	7	60	24	0.56	3.86	6.88	17.81	27.96	20.57
10	5	4	80	12	1.56	4.44	13.14	16.85	26.71	20.56
11	5	4	40	36	1.13	4.56	11.35	17.17	26.60	20.35
12	2	4	80	24	2.34	4.72	15.64	15.93	25.80	20.17
13	5	1	80	24	2.20	3.82	14.49	12.23	18.83	15.38
14	5	1	40	24	2.62	4.38	20.85	14.75	24.73	19.99
15	5	7	80	24	0.93	4.22	10.36	14.11	24.44	18.11
16	5	4	80	36	0.88	4.48	10.56	18.09	27.13	20.80
17	8	1	60	24	2.86	4.80	23.57	17.41	27.57	22.66
18	2	4	40	24	2.56	4.06	16.68	16.63	28.26	21.74
19	2	4	60	12	1.17	3.74	9.36	19.66	31.92	23.47
20	2	1	60	24	2.54	3.83	19.93	18.62	29.61	23.53
21	5	4	40	12	2.22	3.92	13.22	15.80	25.57	19.67
22	5	4	60	24	0.88	4.40	6.97	12.43	21.24	15.52
23	5	4	60	24	0.97	4.57	7.21	12.93	21.94	16.07
24	2	7	60	24	0.78	3.73	4.59	17.49	26.92	19.64
25	8	4	60	12	1.78	4.60	12.23	16.66	29.44	21.68
26	8	4	80	24	0.83	4.54	9.21	16.56	25.86	19.48
27	8	4	60	36	1.59	4.55	12.40	16.69	26.89	20.49

碱质量分数+0.141×厚朴苷 A 质量分数+0.344×和厚朴酚质量分数+0.480×厚朴酚质量分数

2.4.2 数据处理与分析 采用 Design-Expert 8.0.6 软件对表 4 中的数据进行分析,得到水煮时间、堆积天数、干燥温度、干燥时间与综合评分之间的二次多元回归模型方程: $Y=15.90-0.60A-1.87B-0.35C+0.52D+0.45AB-0.83AD+0.95BC+0.22BD+3.71A^2+1.99B^2+0.72C^2+3.72D^2-1.00B^2C+2.28BC^2$, $P=0.0006$, $F=7.56$, 表明模型差异有统计学意义;失拟项 $P=0.0567$, 失拟项不显著,说明该模型拟合度和可信度均达标,实验误差较小,可以用此模型对厚朴“发汗”工艺进分

析和预测。方差分析结果见表 5。此回归方程也可以较好的反应出水煮时间、堆积天数、干燥温度、干燥时间与综合评分之间的关系,各因素对综合评分的影响顺序为堆积天数(B)>水煮时间(A)>干燥时间(D)>干燥温度(C)。依据 Design-Expert 8.0.6 软件得到二次回归方程模型及响应面图评价试验因素之间的交互强度,确定最佳炮制工艺参数,结果见图 2。

根据模型拟合结果,预测厚朴饮片最优“发汗”工艺为最佳发汗工艺为水煮 2 min,堆积 1 d,晾晒 7 d 后于 45.46℃的烘箱中干燥 35.97 h,综合评分为 30.161 5。

2.5 “发汗”工艺验证

取厚朴药材3份,按优选的“发汗”工艺进行发汗处理,考虑实际操作,将“发汗”工艺调整为水煮2 min,堆积1 d,晾晒7 d后45℃干燥36 h。按此工艺条件重复3次,实验结果见6。紫丁香苷

平均质量分数为1.43 mg/g,木兰花碱平均质量分数为4.58 mg/g,厚朴苷A平均质量分数为13.15 mg/g,和厚朴酚平均质量分数为25.08 mg/g,厚朴酚平均质量分数为38.91 mg/g,综合评分平均值为29.244,与预测值(30.161 5)的偏差为3.04%。

表5 方差分析结果

Table 5 Analysis of variance

方差来源	平均和	自由度	均方	F值	P值	显著性	方差来源	平均和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	171.48	14	12.25	7.56	0.000 6	极显著	B ²	21.19	1	21.19	13.08	0.003 5	极显著
A	4.37	1	4.37	2.7	0.126 3	不显著	C ²	2.78	1	2.78	1.72	0.214 4	不显著
B	28.02	1	28.02	17.3	0.001 3	极显著	D ²	73.78	1	73.78	45.55	<0.000 1	极显著
C	0.98	1	0.98	0.61	0.451 6	不显著	B ² C	2.68	1	2.68	1.65	0.222 7	不显著
D	3.3	1	3.3	2.04	0.178 8	不显著	BC ²	13.88	1	13.88	8.57	0.012 7	显著
AB	0.81	1	0.81	0.5	0.493 7	不显著	残差	19.44	12	1.62			
AD	2.76	1	2.76	1.7	0.216 2	不显著	失拟项	19.21	10	1.92	17.03	0.056 7	不显著
BC	3.65	1	3.65	2.25	0.159 3	不显著	纯误差	0.23	2	0.11			
BD	0.19	1	0.19	0.12	0.739 3	不显著	校正总和	190.92	26				
A ²	73.28	1	73.28	45.24	<0.000 1	极显著							

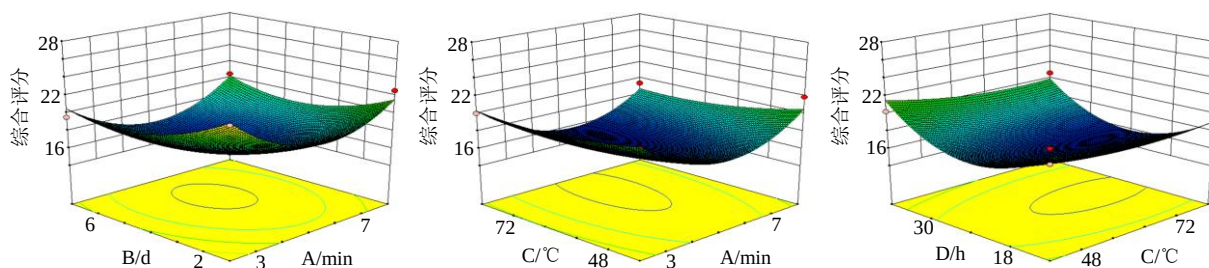


图2 A、B、C、D对综合评分的响应面图

Fig. 2 Response surface figure of A, B, C and D to comprehensive score

表6 工艺验证结果

Table 6 Process validation results

编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)					综合评分
	紫丁香苷	木兰花碱	厚朴苷 A	和厚朴酚	厚朴酚	
1	1.43	4.57	13.20	25.05	38.87	29.22
2	1.43	4.59	13.15	25.12	38.96	29.28
3	1.43	4.58	13.12	25.07	38.91	29.23

3 讨论

3.1 厚朴“发汗”前后多指标质量差异成分的确定

“发汗”作为确保厚朴的质量的关键一环,历版《中国药典》及民间传统生产都将其作为提升厚朴质量的方法。厚朴“发汗”后其外观和内在成分都发生显著变化^[3],本实验基于此现象进行“发汗”工艺优化。尽管采用不同的工艺参数进行“发汗”,厚朴在“发汗”后内表面都会逐渐变至紫黑发亮

(图3),因此没有将厚朴“发汗”后的外观性状变化纳入本实验的考察指标。

为了使厚朴“发汗”工艺考察指标选择更为合理,本实验基于对有效成分变化^[4-5,7,9]、网络药理学



未“发汗”厚朴

“发汗”厚朴

图3 厚朴“发汗”前后性状变化

Fig. 3 Character changes of Magnoliae Officinalis Cortex before and after “sweating”

预测^[11]及药理活性研究^[10,12-14]等多个角度的厚朴“发汗”质量变化研究,最终确定厚朴酚、和厚朴酚、紫丁香苷、厚朴苷 A、木兰花碱 5 个质量差异关键标志物作为“发汗”工艺考察指标。其中厚朴酚与和厚朴酚为木脂素类成分,是厚朴主要活性成分,发挥抗炎、抗菌、抗氧化、调节胃肠运动的作用^[9,12];紫丁香苷和厚朴苷 A 为苷类成分,具有抗炎镇痛,保护胃黏膜损失的作用^[19-20];木兰花碱作为厚朴中生物碱的代表成分之一,既是厚朴的潜在毒性成分,也是厚朴发挥抗溃疡作用的内在成分之一^[9,11]。

3.2 CRITIC-AHP 复合加权法结合 Box-Behnken 响应面法优化厚朴“发汗”工艺

实验在前期预试验的基础上,考察了水煮时间、堆积天数、干燥温度、干燥时间对“发汗”厚朴质量的影响,并筛选相应因素水平。传统上厚朴“发汗”后是采用晒干的方法,然而晒干的方法药材水分含量差异大,容易回潮,不利于控制厚朴“发汗”质量,且现代干燥技术广泛运用于药材烘干及干燥过程^[21-22],效果与效率明显优于传统的自然晾晒,因此,本实验加入干燥温度及干燥时间 2 项因素^[23]。权重系数的设定是厚朴“发汗”工艺优化中需重点考虑的问题,本实验采用主观-客观结合的方式,即采用 CRITIC-AHP 复合加权法,吸取 2 种类型赋权法的优点,使得到的数据信息更为全面可靠。实验采用复合加权法确定厚朴“发汗”工艺中各评价指标的权重系数,优选后的“发汗”工艺稳定可行,可为厚朴质量控制提供参考和数据支持。

3.3 厚朴“发汗”过程中成分发生转变的途径

文献研究发现^[6,8-9],堆积时间越久,厚朴主成分厚朴酚、和厚朴酚的含量越高。但本实验结果发现,厚朴酚及和厚朴酚的含量增加与堆积天数并没有直接的联系,两者的增加是 4 项因素交叉作用的结果,且根据灰色关联度法分析结果,干燥时间及水煮时间对两者含量的影响更大,推测原因为厚朴“发汗”过程中许多苷类成分水解为糖苷及酚类化合物,长时间在一定温度下通过桂皮酸途径^[9,24]转化为木脂素类(厚朴酚、和厚朴酚)。

另有文献研究表明^[8-9,12],厚朴苷 A 的含量在“发汗”后显著下降。而本实验发现,堆积天数对厚朴苷 A 含量的影响显著。在堆积 1 d 的条件下,厚朴苷 A 的含量最高可达到翻倍,即从 13.24 mg/g 增长至 25.87 mg/g,而当堆积 4 d 时,厚朴苷 A 的含量与“发汗”前接近,堆积 7 d 后,其含量明显

下降,最低仅有 4.59 mg/g,推测原因为厚朴苷 A 是含有酯键、不饱和双键及多元酚羟基的不稳定结构,极易容易被水解和暂时性合成,在堆积发汗的前几天,厚朴中其他苷类成分水解得到的苯酚类化合物在相关酶的作用下暂时组合合成厚朴苷 A,随着堆积时间的增加,这种不稳定结构也一并被水解反应^[5,19,24]。本实验运用多指标质量差异关键标志物、现代分析技术及响应面法相结合的方式优厚朴“发汗”工艺,量化“发汗”工艺参数,以期对厚朴质量标准的建立提供数据支持。

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: 263.
- [2] 荆文光, 杜杰, 王继永, 等. 厚朴化学成分研究进展 [J]. 中国现代中药, 2018, 20(6): 764-774.
- [3] 周莉江, 刘芳, 季宁平, 等. “发汗”与川产道地药材质量的思考 [J]. 中药与临床, 2015, 6(3): 4-6.
- [4] Luo H Y, Wu H W, Yu X K, et al. A review of the phytochemistry and pharmacological activities of *Magnoliae Officinalis Cortex* [J]. *J Ethnopharm*, 2019, 236: 412-442.
- [5] 刘红亮. 从药材性状及化学成分的角度诠释产地初加工“发汗”对厚朴质量的影响 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2013.
- [6] 董佳悦, 任波, 张梅. 厚朴种质资源研究进展 [J]. 中药与临床, 2016, 7(4): 38-41.
- [7] 刘芳, 卫莹芳, 胡慧玲. 厚朴“发汗”的研究现状与思考 [J]. 实用医院临床杂志, 2013, 10(3): 191-192.
- [8] 姚杰. 中药厚朴活性成分的荧光分析法研究 [D]. 石家庄: 河北师范大学, 2011.
- [9] 余盛贤, 张春霞, 陈承瑜, 等. “发汗”对厚朴质量的影响 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(14): 1831-1835.
- [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(6): 1170-1178.
- [11] 郑义蕾, 王潇, 刘芳, 等. 基于网络药理学的厚朴“发汗”科学内涵探究 [J]. 中草药, 2019, 50(8): 1857-1862.
- [12] 胡慧玲, 卫莹芳. “发汗”对厚朴化学成分及药代动力学影响的研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2012.
- [13] 尹爱武, 田润, 黄国文, 等. 厚朴“发汗”对大鼠胃动力和抗溃疡作用研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(16): 212-215.
- [14] 李玲. 厚朴的化学成分及生物活性研究 [D]. 济南: 济南大学, 2017.
- [15] 黄潇, 刘婧, 付小梅, 等. 基于 CRITIC 法计算权重系数的 Box-Behnken 响应面法优化栀子炭微波炮制工艺

- 研究 [J]. 中草药, 2017, 48(6): 1133-1138.
- [16] 李潮, 于欢, 温柔, 等. 基于 AHP-CRITIC 混合加权法和响应面法的盐车前子炮制工艺优选及其利尿作用考察 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(20): 124-131.
- [17] 吴建雄, 龚千锋, 于欢, 等. 变异系数法-AHP 综合加权结合正交试验设计优选陈皮炮制工艺 [J]. 中药材, 2020, 43(5): 1107-1112.
- [18] 张琳, 周欣, 闫丹, 等. 基于 CRITIC-AHP 权重分析法结合 Box-Behnken 设计-响应面法优选陈皮饮片炮制工艺 [J]. 中草药, 2018, 49(16): 3829-3834.
- [19] 薛珍珍. 厚朴水溶性化学成分及其活性筛选 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2015.
- [20] 周高, 张文慧, 莫启贵, 等. 厚朴中 6 种苯丙素类化合物的含量及其功效 [J]. 武汉大学学报: 理学版, 2019, 65(4): 340-346.
- [21] 刘勇, 徐娜, 陈骏飞, 等. 不同干燥方法对三七药材外观性状与内在结构及其品质的影响 [J]. 中草药, 2019, 50(23): 5714-5723.
- [22] 张黄琴, 刘培, 钱大玮, 等. 基于多元功效成分的瓜蒌皮药材产地现代干燥加工方法研究 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 950-964.
- [23] 朱林峰, 张媛, 冯紫薇, 等. “发汗”对厚朴药材质量影响的研究及其工艺的建立 [J]. 中国现代中药, 2019, 21(11): 1551-1556.
- [24] 陈茹, 陈成, 杨兴鑫, 等. 中药“发汗”炮制法的现代研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(2): 489-493.

[责任编辑 郑礼胜]