

• 药剂与工艺 •

基于 AHP-CRITIC 法结合 Box-Behnken 设计-响应面法优选盐麸泽泻炮制工艺及药效研究

刘绍姜, 钟凌云*, 张弘毅, 孙伟, 张琬琰, 秦月

江西中医药大学, 江西 南昌 330004

摘要: 目的 优选盐麸泽泻 *Alismatis Rhizoma* 的炮制工艺, 并探究其对脂多糖诱导的小鼠小肠炎症的改善作用及其机制。方法 以外观性状、醇溶性浸出物含量、23-乙酰泽泻醇 B、23-乙酰泽泻醇 C、24-乙酰泽泻醇 A 和泽泻醇 B 作为评价指标, 对炮制过程中盐水量、麦麸用量、炒制时间和炒制温度进行考察, 通过层次分析 (analytic hierarchy process, AHP)-CRITIC (criteria importance though intercriteria correlation) 复合加权法确定各评价指标的权重系数, 联合单因素实验与 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface method, BBD-RSM) 确定盐麸泽泻炮制工艺的最佳参数。基于优选工艺制备样品后, 通过 ip 脂多糖建立小鼠小肠炎症模型, 系统评价盐麸泽泻对小鼠的行为学特征与体质量动态变化、血液指标的影响、小肠组织病理学改变、回肠组织中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6 的释放水平以及组织中磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)、磷酸化蛋白激酶 B (phosphorylated protein kinase B, p-Akt)、磷酸化核因子 κ B 抑制蛋白 (phosphorylated inhibitor of nuclear factor kappa-B, p-I κ B) 和核因子 κ B p65 亚基 (nuclear factor kappa-B p65 subunit, NF- κ B p65) 蛋白质的表达水平。结果 盐麸泽泻最佳炮制工艺参数: 每 100 克泽泻饮片用 15% 盐水溶液闷润, 晾干后与 50 g 麦麸在 160 °C 炒制 3 min。药效实验结果表明, 盐麸泽泻水煎液可显著减轻脂多糖 ip 引起的小鼠体质量下降, 血液指标的异常, 回肠组织的损伤、炎症因子 (TNF- α 、IL-6、IL-1 β) 浓度升高以及组织中 PI3K、p-Akt/Akt、p-Akt、p-I κ B 和 NF- κ B p65 蛋白的表达水平上升。结论 优选出的盐麸泽泻工艺操作简便, 稳定可行, 按照此工艺制备的盐麸泽泻, 可有效改善脂多糖诱导的小鼠小肠炎症, 其作用机制可能与 PI3K-Akt/NF- κ B 通路有关。

关键词: 盐麸泽泻; 炮制工艺; AHP-CRITIC 复合加权法; 响应面; 脂多糖; 小肠炎

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)08-2773-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.08.014

Study on optimization of processing technique and pharmacological effects of *Alismatis Rhizoma* with salt bran, bran using AHP-CRITIC method combined with response surface methodology

LIU Shaojiang, ZHONG Lingyun, ZHANG Hongtao, SUN Wei, ZHANG Wanlong, QIN Yue

Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

Abstract: Objective To optimize the processing technology of Zexie (*Alismatis Rhizoma*, AR) with salt bran, and to explore its improvement effect and mechanism on lipopolysaccharide (LPS)-induced intestinal inflammation in mice. **Methods** The appearance traits, alcohol-soluble extract content, 23-acetyl alisol B, 23-acetyl alisol C, 24-acetyl alisol A and alisol B were used as evaluation indexes to investigate the amount of salt water, the amount of wheat bran, the frying time and the frying temperature during the

收稿日期: 2024-12-07

基金项目: 国家重点研发计划“中医药现代化研究”重点专项 (2023YFC3504205); 国家自然科学基金资助项目 (82360771); 特色炮制技术规律发掘——麸制 (GZY-KJS-2022-051); 江西省“双千人才”计划项目 [赣才办字(2019)9 号]; 江西省中医药产业科技创新联合体产业链协同攻关项目 (20224BBG72001); 江西省自然科学基金项目 (20224ACB206048); 中药炮制技术传承创新团队 (CXTD22003); 中药炮制传承创新与转化江西省重点实验室 (2024SSY07091); “樟帮”特色中药饮片炮制规范标准研究 (20223AAG02021)

作者简介: 刘绍姜, 硕士研究生, 从事中药炮制机制及其药效研究。E-mail: 278776345@qq.com

***通信作者:** 钟凌云, 博士生导师, 教授, 从事中药炮制机制及其药效研究。E-mail: ly1638163@163.com

processing. The weight coefficient of each evaluation index was determined by analytic hierarchy process (AHP)-criteria importance through intercriteria correlation (CRITIC) comprehensive weighting method, and the optimal parameters of the processing technology of salt bran *Alismatis Rhizoma* were determined by single factor experiment and response surface method. After the samples were prepared based on the optimal process, the intestinal inflammation model of mice was established by intraperitoneal injection of LPS. The effects of salt bran *Alismatis Rhizoma* on behavioral characteristics, dynamic changes of body weight, blood indexes, histopathological changes of small intestine, release levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β) and IL-6 in ileum tissues, and protein expression levels of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), protein kinase B (Akt), phosphorylated protein kinase B (p-Akt), phosphorylated inhibitor of nuclear factor kappa-B (p-I κ B) and nuclear factor kappa-B p65 subunit (NF- κ B p65) in tissues were systematically evaluated. **Results** The optimum processing parameters of *Alismatis Rhizoma* with salt bran were as follows: per 100 g of *Alismatis Rhizoma* decoction pieces were moistened with 15% salt water solution dried and stir-fried with 50 g wheat bran at 160 °C for 3 min. The results of pharmacodynamic experiments showed that the water decoction of *Alismatis Rhizoma* with salt bran could significantly reduce the weight loss of mice caused by intraperitoneal injection of LPS, the abnormality of blood indexes, the damage of ileum tissue, the increase of inflammatory factors (TNF- α , IL-6, IL-1 β) and the expression of PI3K, p-Akt/Akt, p-Akt, p-I κ B and NF- κ B p65 protein in tissues. **Conclusion** The optimized salt bran *Alismatis Rhizoma* process is simple, stable and feasible. The salt bran *Alismatis Rhizoma* prepared according to this process can effectively improve LPS-induced intestinal inflammation in mice, and its mechanism may be related to the PI3K-Akt/NF- κ B pathway.

Key words: *Alismatis Rhizoma* with salt bran; processing technology; AHP-CRITIC composite weighting method; response surface methodology; lipopolysaccharide; intestinal inflammation

泽泻 *Alismatis Rhizoma* (AR) 始载于《神农本草经》，为泽泻科泽泻属植物东方泽泻 *Alisma orientale* (Sam.) Juzep. 或泽泻 *A. plantago-aquatica* Linn. 的干燥块茎，其性寒味甘淡，归肾、膀胱经，具有利尿消肿、清热解毒、渗湿、化浊降脂等功效，可用于治疗水肿、湿热淋证、高血脂等病症^[1]。

根据中医理论，泽泻经炒制后寒性减弱，麸炒可进一步缓和药性，增强健脾和胃之效；盐制泽泻可引药下行，增强其滋阴泄热、利水渗湿的功效^[2]。泽泻化学成分主要包括三萜类、倍半萜类、多糖及挥发油等，其中三萜类化合物为其主要药效成分^[3]，炮制过程中，高温可促使三萜类成分含量发生变化，如 23-乙酰泽泻醇 B 转化为 24-乙酰泽泻醇 A 及泽泻醇 B^[4]。

现代药理学研究表明，这类成分不仅具有利尿作用^[5-6]，还可以通过调节脂质代谢通路发挥降血脂、抗炎及降血糖等作用^[7-9]。高脂血症、糖尿病等代谢性疾病的发病机制与炎症密切相关^[10-11]。有研究表明泽泻的醇提取物、水提液以及萜类单体成分均有抗炎活性^[12-13]。就醇提物而言，95%乙醇提取物可下调白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6 等炎症因子的表达^[14]，80%乙醇提取物可通过抑制核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路、激活 Nrf2 抗氧化通路等机制减轻炎症反应^[15]，而甲醇提取物对 I、II、III、IV 型炎症反应具有一定的抑制作用^[16]。然而，炮制引起的泽泻成分变化可

能影响其抗炎活性，需进一步探究其炮制品提取物的作用机制^[17]。

盐麸泽泻是江西省特色炮制饮片，其特色炮制技术“盐润麸炒法”，通过盐水浸润引药下行，辅以麦麸缓性中和寒凉之性，兼具补脾益气和滋阴泄热之效。其工艺参数的规范化与质量控制是提升其药效稳定性的关键。因此，本研究以层次分析 (analytic hierarchy process, AHP)-CRITIC 法结合 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface method, BBD-RSM) 优化泽泻炮制工艺，选取外观性状、醇溶性浸出物及泽泻醇 B、23-乙酰泽泻醇 B、23-乙酰泽泻醇 C 以及 24-乙酰泽泻醇 A 的含量为评价指标，并基于脂多糖诱导的小鼠小肠炎症模型，探讨盐麸泽泻提取物的抗炎机制，以期为其临床应用提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪，美国 Agilent 公司；AE 240 型分析天平，梅特勒-托利多仪器有限公司；KQ-5200B 型超声波清洗器，昆山市超声仪器有限公司；AR320 型红外线测温仪，希玛集团有限公司；101-1A 型鼓风干燥箱，沪粤科学仪器有限公司；Sysmex poc H-100iv 型全自动血液分析仪，希森美康医用电子（上海）有限公司；ZN-02 型粉碎机，利和科技发展有限公司；MF43 型显微镜、MC50 型成像测量分析系统，明美光电技术有限公

司；瑞士 Sunrise F50 型全自动酶标仪，北京莱博瑞杰科技有限公司；TGL-16M 型高速冷冻离心机，卢湘仪有限公司；JY300HC 型电泳仪、JY-SCZ2 型电泳槽，君意华鑫科技有限公司。

1.2 材料

一等泽泻饮片（批号 2023030101），验证试验 3 批泽泻饮片批号分别是 2023030102、2023030103、2023030104，盐泽泻成品饮片（批号 2023080101），所用泽泻饮片和盐泽泻饮片均由江西省鸿邦中药饮片有限公司提供；麦麸，由江西省建昌帮药业有限公司提供；经江西中医药大学中药资源教研室葛菲教授鉴定，泽泻为泽泻科泽泻属植物东方泽泻 *A. orientale* (Sam.) Juzep. 的干燥块茎，麦麸为禾本科小麦属植物小麦 *Triticum aestivum* L. 麦粒中的外种皮。食用盐，湖北长舟盐业有限公司。

对照品 23-乙酰泽泻醇 C（批号 CHB201127）、24-乙酰泽泻醇 A（批号 CHB201128）、23-乙酰泽泻醇 B（批号 CHB201109）、泽泻醇 B（批号 CHB201108），HPLC 质量分数均 $\geq 98\%$ ，均购自成都克洛玛生物有限公司；乙腈（批号 164353）、甲醇（批号 165259），均购自美国赛默飞世尔科技公司；水为娃哈哈纯净水。

苏木素伊红染色液（批号 DH0106），国药集团化学试剂有限公司；小鼠 IL-1 β 试剂盒（批号 240529090M）、小鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 试剂盒（批号 240529094M）、小鼠 IL-6 试剂盒（批号 240529097M），均购自睿信生物科技有限公司；磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)、磷酸化蛋白激酶 B (phosphorylated protein kinase B, p-Akt)、核因子 κ B p65 亚基 (nuclear factor kappa-B p65 subunit, NF- κ B p65) 抗体，批号分别为 #4257、#4791、#13038、#8442，均购自美国 CST 公司；HRP-标记羊抗兔免疫球蛋白 (H+L, 批号 S004F)、HRP-标记羊抗鼠免疫球蛋白 (H+L, 批号 S001F)，均购自天德悦生物科技有限责任公司；磷酸化核因子 κ B 抑制蛋白 (phosphorylated inhibitor of nuclear factor kappa-B, p-I κ B) 抗体，批号 Bsm-52169R，博奥森生物技术有限公司；甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 抗体，批号 T0004，江苏亲科生物研究中心有限公司；聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene difluoride, PVDF) 转印膜（批

号 IPV0010）、ECL 化学发光试剂盒（批号 WBLS0050），购自默克密理博有限公司；BCA 蛋白定量试剂盒（批号 PC0020）、脂多糖（批号 000287008），购自 Sigma-Aldrich（上海）贸易有限公司；地塞米松，批号 L2318361，阿拉丁生化科技股份有限公司。

1.3 动物

80 只 SPF 级 KM 小鼠（雄性），5 周龄，体重 15 g 左右，购自斯贝福（北京）生物技术有限公司，动物许可证号 SCXK（京）2024-0001，适应性喂养 3 d 后进行试验。动物实验经过南昌医学院实验动物伦理委员会批准，批准号 NYLLSC2024091103。

2 方法与结果

2.1 盐麸泽泻炮制方法

取泽泻饮片后，先用盐水将其充分喷洒拌匀，随后进行闷润处理，直至水尽药透。将闷润后的泽泻取出晾干。接着，将麦麸均匀撒入预先用武火加热至红热状态的锅中，借助锅铲不断翻炒，直至锅中冒出青烟。此时，使用红外线测温仪测量锅底 1 cm 处的温度。当温度达到炮制所需标准时，迅速加入泽泻饮片，并持续翻炒，直至饮片表面呈现出金黄色或黄褐色，取出，堆闷片刻，最后筛去麦麸，待其自然冷却。泽泻盐麸炮制前后对比图见图 1。

2.2 HPLC 法测定指标成分

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Xterra C₁₈（250 mm \times 4.6 mm，5 μ m）柱；流动相为乙腈-水，按照规定的

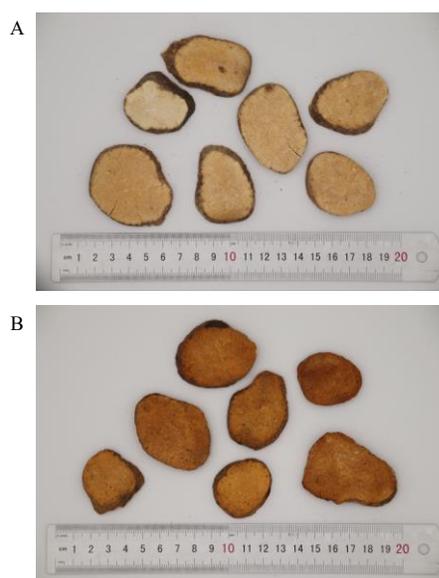
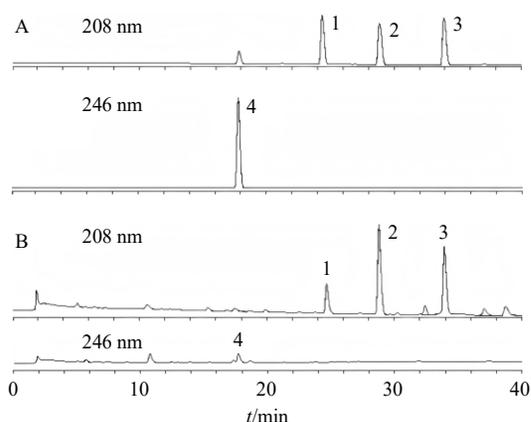


图 1 泽泻生品 (A) 和盐麸泽泻 (B) 外观对比图
Fig. 1 Comparison of crude AR (A) and salt bran AR (B)

条件进行梯度洗脱: 0~5 min, 45%乙腈; 5~30 min, 45%~84%乙腈; 30~40 min, 84%乙腈; 检测波长 208 nm (泽泻醇 B、23-乙酰泽泻醇 B、24-乙酰泽泻醇 A)、246 nm (23-乙酰泽泻醇 C); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 进样量 20 μ L。盐麸泽泻样品及混合对照品的 HPLC 图见图 2。



1-24-乙酰泽泻醇 A; 2-泽泻醇 B; 3-23-乙酰泽泻醇 B; 4-23-乙酰泽泻醇 C。

1-24-acetyl alisol A; 2-alisol B; 3-23-acetyl alisol B; 4-23-acetyl alisol C。

图 2 检测波长 208、246 nm 下混合对照品 (A) 和盐麸泽泻样品 (B) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of mixed reference substances and salt bran *Alismatis Rhizoma* test solution at detection wavelengths 208 nm and 246 nm

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称量适量的 23-乙酰泽泻醇 B、23-乙酰泽泻醇 C、24-乙酰泽泻醇 A 和泽泻醇 B 对照品, 置于 25 mL 量瓶中, 加入乙腈至刻度线, 摇晃均匀, 制备质量浓度分别为 198.0、191.2、192.0、167.2 μ g/mL 的混合对照品溶液, 放置在 4 °C 冰箱中进行保存。

2.2.3 供试品溶液的制备 取各工艺样品, 粉碎后过五号筛, 称取粉末约 0.50 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 25 mL 乙腈后, 精密称定质量, 静置 5 min 后超声处理 30 min, 取出, 待完全冷却后, 再次精密称定质量, 用乙腈补足超声过程中缺失的质量, 摇匀, 滤过, 滤液再经过 0.22 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取“2.2.2”项下混合对照品溶液 0.1、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加乙腈至刻度线, 按照“2.2.1”项下色谱条件进行检测。以峰面积为纵坐标 (Y), 质量浓度为横坐标 (X) 进行线性回归, 得回归方程分别为 23-乙酰泽泻醇 C $Y=1\,422.9X+0.7162$, $R^2=$

0.9996, 线性范围 1.91~191.20 μ g/mL; 24-乙酰泽泻醇 A $Y=843.94X+2.7872$, $R^2=0.9996$, 线性范围 1.92~192.00 μ g/mL; 泽泻醇 B $Y=891.45X+0.202$, $R^2=0.9996$, 线性范围 1.67~167.20 μ g/mL; 23-乙酰泽泻醇 B $Y=865.6X+1.371$, $R^2=0.9995$, 线性范围 1.98~198.00 μ g/mL。

2.2.5 精密度试验 取混合对照品溶液, 按照“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次, 记录峰面积。结果显示, 23-乙酰泽泻醇 C、24-乙酰泽泻醇 A、泽泻醇 B、23-乙酰泽泻醇 B 峰面积的 RSD 分别为 0.13%、0.25%、0.12%、0.11%, 结果表明该仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 精密量取盐麸泽泻粉末, 按照“2.2.3”项下制备供试品溶液, 分别于制备后 0、2、4、8、12、24 h, 按照“2.2.1”项下色谱条件进行进样, 记录峰面积。结果显示, 23-乙酰泽泻醇 C、24-乙酰泽泻醇 A、泽泻醇 B 和 23-乙酰泽泻醇 B 峰面积的 RSD 分别为 0.53%、0.98%、0.25%、0.29%, 结果表明供试品溶液在制备后 24 h 内稳定性良好。

2.2.7 重复性试验 精密称取同一批盐麸泽泻粉末 6 份, 按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.2.1”项下色谱条件进行进样, 记录峰面积并计算含量, 得 23-乙酰泽泻醇 C、24-乙酰泽泻醇 A、泽泻醇 B 和 23-乙酰泽泻醇 B 质量分数的 RSD 分别为 0.59%、0.87%、0.34%、1.08%, 结果表明该方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取同一批盐麸泽泻粉末 6 份, 每份约 0.25 g, 再分别精密加入已知含量的混合对照品溶液, 按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 计算得到 23-乙酰泽泻醇 C、24-乙酰泽泻醇 A、泽泻醇 B 和 23-乙酰泽泻醇 B 的平均加样回收率分别为 98.97%、94.48%、98.78%、97.32%, RSD 分别为 0.72%、3.15%、2.06%、3.76%, 结果表明该方法的加样回收率良好, 符合定量测定要求。

2.2.9 样品测定 精密称取泽泻或盐麸泽泻粉末, 按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 分别根据标准曲线计算供试品溶液中 4 种成分的含量, 并计算各饮片中 4 种成分的含量。

2.3 盐麸泽泻外观评价

参照《中国药典》2020 年版、《江西省中药饮片炮制规范》2008 年版以及“樟帮”“建昌帮”的

炮制规范中对盐泽泻和盐麸泽泻性状描述及相关文献评分标准^[18-19],对泽泻盐麸麸炒前、后的样品,分别从色泽、质地、气味3个维度进行外观性状评价,具体评分标准见表1。

表1 盐麸泽泻外观性状评分标准

Table 1 Evaluation criteria of appearance traits of salt bran *Alismatis Rhizoma*

评分	色泽	质地	气味
0	浅黄白色	质软,无焦斑	焦麸香气、味偏咸
1	黄白色	质较柔软,无焦斑	略有焦麸香气、味咸
3	浅黄色	质较坚实,偶见焦斑	淡麸香气、味微咸
4	深黄色	质坚实,大量焦斑	麸香气、味咸
5	金黄色或浅黄褐色	质坚实,偶见焦斑	麸香气、味微咸

2.4 醇溶性浸出物测定

用稀乙醇作为溶剂,参照《中国药典》2020年版中醇溶性浸出物测定法(通则2201)项下的热浸法进行盐麸泽泻醇溶性浸出物测定。

2.5 盐麸泽泻工艺评价指标权重的建立

2.5.1 AHP法确定各指标成分主观权重系数(ω_{AHPi})

基于《中国药典》2020年版对泽泻饮片

的质量控制要求,结合其成分的药理活性研究,选取6个关键指标构建盐麸泽泻炮制工艺评价体系:23-乙酰泽泻醇C、23-乙酰泽泻醇B、24-乙酰泽泻醇A、泽泻醇B、醇溶性浸出物及外观性状。23-乙酰泽泻醇B和23-乙酰泽泻醇C是《中国药典》2020年版规定的泽泻质量控制成分,且在炮制过程中,23-乙酰泽泻醇B易受热转化为24-乙酰泽泻醇A与泽泻醇B,此类化合物也是泽泻的主要有效成分^[4]。此外,饮片色泽、质地等外观特征是消费者选择与市场流通的重要依据,而醇溶性浸出物则是反映炮制品中可溶性成分总量,是《中国药典》2020年版饮片的常规检测项目。

因此,本实验将6个评价指标按照重要程度分为4个层次,构造判断矩阵并进行一致性检验。结果由表2计算得出各指标成分的 ω_{AHPi} 依次为23-乙酰泽泻醇C 0.287 1、23-乙酰泽泻醇B 0.287 1、外观性状 0.169 8、24-乙酰泽泻醇A 0.098 3、泽泻醇B 0.098 3、醇溶性浸出物 0.059 5。一致性比率(consistency ratio, CR)为0.007(小于0.1),结果表明该权重分配合理可信。

表2 盐麸泽泻评价指标判断矩阵

Table 2 Judgment matrix of evaluation index of salt bran *Alismatis Rhizoma*

考察指标	判断矩阵						ω_i	CR
	23-乙酰泽泻醇C	23-乙酰泽泻醇B	外观性状	24-乙酰泽泻醇A	泽泻醇B	醇溶性浸出物		
23-乙酰泽泻醇C	1.000	1.000	2.000	3.000	3.000	4.000	0.287 1	0.007
23-乙酰泽泻醇B	1.000	1.000	2.000	3.000	3.000	4.000	0.287 1	
外观性状	0.500	0.500	1.000	2.000	2.000	3.000	0.169 8	
24-乙酰泽泻醇A	0.333	0.333	0.500	1.000	1.000	2.000	0.098 3	
泽泻醇B	0.333	0.333	0.500	1.000	1.000	2.000	0.098 3	
醇溶性浸出物	0.250	0.250	0.333	0.500	0.500	1.000	0.059 5	

2.5.2 CRITIC(criteria importance though intercriteria correlation)法确定客观权重系数($\omega_{CRITICi}$)

将原始实验数据导入SPSS 27.0软件并进行归一化处理后,对数据进行CRITIC分析,计算得出23-乙酰泽泻醇C、23-乙酰泽泻醇B、外观性状、24-乙酰泽泻醇A、泽泻醇B、醇溶性浸出物的 $\omega_{CRITICi}$ 分别为0.268 9、0.112 2、0.213 0、0.188 3、0.141 6、0.076 0。

2.5.3 AHP-CRITIC复合加权法确定复合权重系数($\omega_{AHP-CRITICi}$)

AHP在计算权重系数时主观性较强,而CRITIC则能够更为客观地评估各指标的权重。将这2种方法相结合,能够更科学、合理地评估响应面法实验中各指标成分的综合权重^[20]。AHP-CRITIC复合加权法 $\omega_{AHP-CRITICi}$ 的计算公式为 ω_{AHP} 、

$CRITIC_{ij} = \omega_{AHPij} \times \omega_{CRITICij} / \sum(\omega_{AHPij} \times \omega_{CRITICij})$,式中, i, j 分别表示指标*i*和指标*j*。经计算23-乙酰泽泻醇C、23-乙酰泽泻醇B、外观性状、24-乙酰泽泻醇A、泽泻醇B、醇溶性浸出物的 $\omega_{AHP-CRITICi}$ 分别为0.423 0、0.176 4、0.198 2、0.101 4、0.076 3、0.024 7。

2.5.4 综合评分计算

公式为综合评分 = $(\omega_1 Y_1 / Y_{1max} + \omega_2 Y_2 / Y_{2max} + \dots + \omega_6 Y_6 / Y_{6max}) \times 100$,式中, ω_i 为各指标权重系数, Y_i 为各指标测定结果, Y_{imax} 为各测定结果中最大值。

2.6 盐麸泽泻的单因素考察

2.6.1 盐水用量考察

取泽泻饮片5份,每份约100g,分别加入2g的食盐与不同比例纯净水配制的盐水溶液(盐水用量为泽泻饮片质量的11%、13%、

15%、17%、19%)，充分拌匀后闷润，晾干备用。将铁锅武火加热至 160 °C 后，均匀撒入 50 g 麦麸，快速翻炒至冒青烟，立即加入闷润后的泽泻饮片，保持 160 °C 炒制 2 min，迅速出锅，堆闷片刻，筛去麦麸，自然冷却。将冷却后的饮片进行外观性状评分，随后粉碎过筛（五号），按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，测定对应评价指标，并根据 AHP-CRITIC 法计算综合评分。结果如表 3 所示，随着盐水用量增加，综合评分呈先升后降趋势，在 15% 盐水用量时达峰值（综合评分 98.57）。据此，选择 13%、15%、17% 3 个梯度进行后续响应面实验，以精准优化工艺参数。

2.6.2 麦麸用量考察 取泽泻饮片 5 份，每份约 100

g，加入 15% 的盐水溶液，充分拌匀后闷润，晾干备用。将铁锅武火加热至 160 °C 后，分别均匀撒入 10、30、50、70、90 g 的麦麸，快速翻炒至冒青烟，立即加入闷润后的泽泻饮片，保持 160 °C 炒制 2 min，迅速出锅，堆闷片刻，筛去麦麸，自然冷却。将冷却后的饮片进行外观性状评分，随后粉碎过筛（五号），按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，测定对应评价指标，并根据 AHP-CRITIC 法计算综合评分。结果如表 4 所示，随着炮制过程中麦麸用量的增多，盐麸泽泻的综合评分呈现出先上升后降低趋势，在加入 50 g 麦麸炒制时达峰值（综合评分 96.59）。据此，选择 30、50、70 g 3 个水平的麦麸进行后续响应面实验。

表 3 盐水用量对综合评分的影响

Table 3 Effects of salt water dosages on comprehensive scores

盐水用量/%	质量分数/(mg·g ⁻¹)				醇溶性浸出物/%	外观性状评分	综合评分
	23-乙酰泽泻醇C	24-乙酰泽泻醇A	泽泻醇B	23-乙酰泽泻醇B			
11	0.141	1.484	4.213	2.850	16.381	13	89.79
13	0.146	1.490	4.201	3.306	16.424	13	94.77
15	0.163	1.486	4.181	3.234	17.535	14	98.57
17	0.157	1.502	4.188	2.754	17.379	13	92.22
19	0.148	1.589	4.219	2.830	17.803	12	90.92

表 4 麦麸用量对综合评分的影响

Table 4 Effects of wheat bran dosage on comprehensive scores

麦麸用量/g	质量分数/(mg·g ⁻¹)				醇溶性浸出物/%	外观性状评分	综合评分
	23-乙酰泽泻醇C	24-乙酰泽泻醇A	泽泻醇B	23-乙酰泽泻醇B			
10	0.144	1.740	4.575	3.081	20.040	12	86.72
30	0.154	1.901	5.057	3.483	19.514	13	94.36
50	0.180	1.697	4.747	3.283	19.912	14	96.59
70	0.165	1.516	4.852	3.110	20.259	13	90.96
90	0.150	1.559	4.062	2.796	19.761	12	83.24

2.6.3 炒制温度考察 取泽泻饮片 5 份，每份约 100 g，加入 15% 的盐水溶液，充分拌匀后闷润，晾干备用。将铁锅用武火分别加热至 120、140、160、180、200 °C 后，均匀撒入 50 g 的麦麸，快速翻炒至冒青烟，立即加入闷润后的泽泻饮片，保持温度炒制 2 min，迅速出锅，堆闷片刻，筛去麦麸，自然冷却。将冷却后的饮片进行外观性状评分，随后粉碎过筛（五号），按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，测定对应评价指标，并根据 AHP-CRITIC 法计算综合评分。结果如表 5 所示，综合评分呈先升后降趋势，在炒制温度为 160 °C 时达到峰值（综合评分 89.92），虽然炒制温度在 200 °C 时有上升趋势，但

此时外观性状已出现大量焦斑，故选取 140、160、180 °C 3 个炒制温度进行进一步工艺优化研究。

2.6.4 炒制时间考察 取泽泻饮片 5 份，每份约 100 g，加入 5% 的盐水溶液，充分拌匀后闷润，晾干备用。将铁锅武火加热至 160 °C 后，均匀撒入 50 g 的麦麸，快速翻炒至冒青烟，立即加入闷润后的泽泻饮片，在 160 °C 温度下分别炒制 1、2、3、4、5 min，迅速出锅，堆闷片刻，筛去麦麸，自然冷却。将冷却后的饮片进行外观性状评分，随后粉碎过筛（五号），按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，测定对应评价指标，并根据 AHP-CRITIC 法计算综合评分。结果如表 6 所示，在炒制时间为 3 min 时，盐

表5 炒制温度对综合评分的影响

Table 5 Effects of stir-frying temperature on comprehensive scores

炒制温度/℃	质量分数/(mg·g ⁻¹)				醇溶性浸出物%	外观性状评分	综合评分
	23-乙酰泽泻醇C	24-乙酰泽泻醇A	泽泻醇B	23-乙酰泽泻醇B			
120	0.158	1.615	3.727	3.326	20.338	10	84.59
140	0.164	1.473	4.116	2.910	21.925	13	85.79
160	0.191	1.581	4.113	2.774	21.666	14	89.92
180	0.193	1.499	4.317	2.650	21.357	9	82.91
200	0.219	1.604	4.725	2.556	22.209	7	84.79

表6 炒制时间对综合评分的影响

Table 6 Effects of stir-frying time on comprehensive scores

炒制时间/min	质量分数/(mg·g ⁻¹)				醇溶性浸出物%	外观性状评分	综合评分
	23-乙酰泽泻醇C	24-乙酰泽泻醇A	泽泻醇B	23-乙酰泽泻醇B			
1	0.144	1.713	4.028	2.787	20.820	10	78.98
2	0.164	1.440	4.149	2.866	19.594	13	83.71
3	0.201	1.465	4.196	2.530	20.394	14	86.28
4	0.245	1.592	4.316	2.371	19.192	10	84.22
5	0.292	1.589	4.392	2.234	19.503	8	85.31

麸泽泻的综合评分达到峰值(综合评分 86.28),同时外观性状最优。虽然炒制时间在 5 min 时,综合评分有升高的趋向,但炒制时间在 4 min 时,外观评分就已明显下降,市场接受度不高。因此,选取炒制时间 2、3、4 min 这 3 个水平进行后续响应面实验。

2.7 响应面法优选盐麸泽泻炮制工艺

2.7.1 BBD-RSM 实验设计 基于盐麸泽泻单因素实验结果,采用 BBD-RSM 设计方法,运用 Design-Expert 13 软件,对盐麸泽泻炮制过程中的盐水用量(X_1)、麦麸用量(X_2)、炒制时间(X_3)及炒制温度(X_4)进行 4 因素 3 水平的响应面优化。实验设计方案及结果见表 7。

2.7.2 数据处理与分析 利用 Design-Expert 13.0 软件对盐麸泽泻盐水用量 X_1 、麦麸用量 X_2 、炒制时间 X_3 、炒制温度 X_4 与各评价指标的综合评分进行二项式拟合,得到拟合方程为综合评分 = $90.210 + 0.847 X_1 + 1.470 X_2 - 1.120 X_3 - 1.410 X_4 - 0.151 X_1 X_2 - 0.832 X_1 X_3 - 1.720 X_1 X_4 + 0.841 X_2 X_3 + 4.650 X_2 X_4 - 5.310 X_3 X_4 - 2.160 X_1^2 - 3.330 X_2^2 - 4.830 X_3^2 - 5.140 X_4^2$, $R^2 = 0.9356$; 方差分析结果见表 8。

拟合模型的 $P < 0.0001$, 表明该模型拟合结果良好;拟合方程的失拟项检验结果显示,差异无统计学意义 ($P = 0.3307 > 0.05$),这表示不确定因素对实验结果的影响较小,并未对该模型的构建产生

显著影响。上述拟合方程较为有效地描述了盐麸泽泻炮制过程中的盐水用量、麦麸用量、炒制温度及炒制时间与综合评分之间的关系。其中,各因素对综合评分的影响顺序为麦麸用量 (X_2) > 炒制温度 (X_4) > 炒制时间 (X_3) > 盐水用量 (X_1)。

为进一步探讨各因素之间的交互作用对综合评分的影响,本研究采用 Design-Expert 13.0 软件绘制了响应面图,结果见图 3。经 Design-Expert 13.0 软件对盐麸泽泻的最佳炮制工艺进行预测得到:盐水用量为 15.456%、麦麸用量为 53.352 g、炒制时间为 2.907 min、炒制温度为 158.985 °C,综合评分为 90.522。鉴于实际操作的便利性与确保最终成果的精确无误,故将优选出的盐麸泽泻炮制工艺参数调整如下:盐水用量 15%、麦麸用量 50 g、炒制时间 3 min、炒制温度 160 °C。

2.7.3 最佳工艺验证 取泽泻饮片,按调整后的最佳炮制工艺进行 3 次验证试验,结果显示,3 次平行样品综合评分平均值为 91.540, RSD 为 0.976%。展现出了极高的稳定性和一致性。工艺验证所得的综合评分与响应面法预测的值极为接近,这一结果有力地证明了所构建的模型具备良好的预测精度。并且工艺过程稳定且可行,具有参考价值 and 可操作性,具体结果见表 9。

2.8 盐麸泽泻干预脂多糖诱导小鼠小肠炎症的作用机制分析

2.8.1 实验分组及处理 将 80 只小鼠随机分为 8 组,

表7 BBD-RSM设计与结果
Table 7 Design and results of BBD-RSM

序号	X ₁ /%	X ₂ /g	X ₃ /min	X ₄ /°C	质量分数/(mg·g ⁻¹)				醇溶性浸出物%	外观性状评分	综合评分
					23-乙酰泽泻醇C	24-乙酰泽泻醇A	泽泻醇B	23-乙酰泽泻醇B			
1	13 (-1)	50 (0)	3 (0)	140 (-1)	0.162	1.320	3.610	2.419	18.07	12	80.09
2	15 (0)	70 (+1)	4 (+1)	160 (0)	0.163	1.430	3.791	2.727	18.23	11	81.44
3	13	70	3	160	0.175	1.283	3.849	2.646	18.57	13	85.75
4	15	50	3	160	0.188	1.248	3.740	2.825	20.03	13	89.35
5	15	50	3	160	0.182	1.452	4.249	2.703	19.24	14	90.67
6	15	70	2 (-1)	160	0.158	1.546	4.306	2.861	20.45	11	82.64
7	15	30 (-1)	3	140	0.167	1.415	3.943	2.568	19.23	13	84.59
8	15	50	2	180 (+1)	0.154	1.454	3.828	2.754	19.50	14	84.23
9	15	50	3	160	0.193	1.231	3.697	2.823	20.85	14	91.76
10	13	50	2	160	0.152	1.636	4.403	2.841	18.67	13	84.43
11	17 (+1)	50	2	160	0.163	1.558	4.136	2.927	18.68	12	85.09
12	15	50	4	140	0.188	1.149	3.725	2.686	18.67	13	87.87
13	17	50	3	140	0.160	1.669	4.673	2.982	18.49	13	87.46
14	15	50	3	160	0.191	1.267	3.802	2.961	19.34	13	91.02
15	17	70	3	160	0.158	1.636	4.329	2.929	19.31	14	87.61
16	15	30	4	160	0.162	1.266	3.899	2.423	17.22	11	78.71
17	15	70	3	180	0.193	1.341	4.109	2.544	17.31	12	88.27
18	17	30	3	160	0.153	1.488	4.348	3.015	19.56	13	84.97
19	15	50	4	180	0.132	1.267	4.678	2.776	20.36	9	72.77
20	15	50	2	140	0.119	1.916	4.869	3.334	19.25	10	78.08
21	17	50	3	180	0.161	1.432	4.184	2.647	18.29	11	81.23
22	13	50	4	160	0.178	1.246	4.128	2.778	18.74	10	83.10
23	15	50	3	160	0.176	1.457	4.185	2.757	20.16	13	88.26
24	17	50	4	160	0.162	1.409	4.350	2.443	18.30	11	80.43
25	13	30	3	160	0.148	1.606	4.467	2.624	20.01	13	82.51
26	13	50	3	180	0.163	1.496	4.516	2.610	18.70	10	80.74
27	15	30	2	160	0.150	1.514	4.120	2.888	18.43	13	83.28
28	15	70	3	140	0.142	1.453	4.096	2.697	17.96	13	80.12
29	15	30	3	180	0.129	1.352	4.227	2.991	18.25	10	74.13

表8 回归模型方差分析
Table 8 Regression model analysis of variance

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	F值	P值	方差来源	偏差平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	583.62	14	41.69	14.53	<0.000 1	X ₃ X ₄	112.88	1	112.88	39.34	<0.000 1
X ₁	8.61	1	8.61	3.00	0.105 2	X ₁ ²	30.26	1	30.26	10.55	0.005 8
X ₂	25.94	1	25.94	9.04	0.009 4	X ₂ ²	72.12	1	72.12	25.14	0.000 2
X ₃	15.08	1	15.08	5.26	0.037 9	X ₃ ²	151.27	1	151.27	52.72	<0.000 1
X ₄	23.70	1	23.70	8.26	0.012 2	X ₄ ²	171.41	1	171.41	59.74	<0.000 1
X ₁ X ₂	0.09	1	0.09	0.03	0.861 0	残差	40.17	14	2.87		
X ₁ X ₃	2.77	1	2.77	0.97	0.342 5	失拟项	32.36	10	3.24	1.66	0.330 7
X ₁ X ₄	11.84	1	11.84	4.13	0.061 6	误差	7.81	4	1.95		
X ₂ X ₃	2.83	1	2.83	0.99	0.337 2	总离差	623.78	28			
X ₂ X ₄	86.51	1	86.51	30.15	<0.000 1						

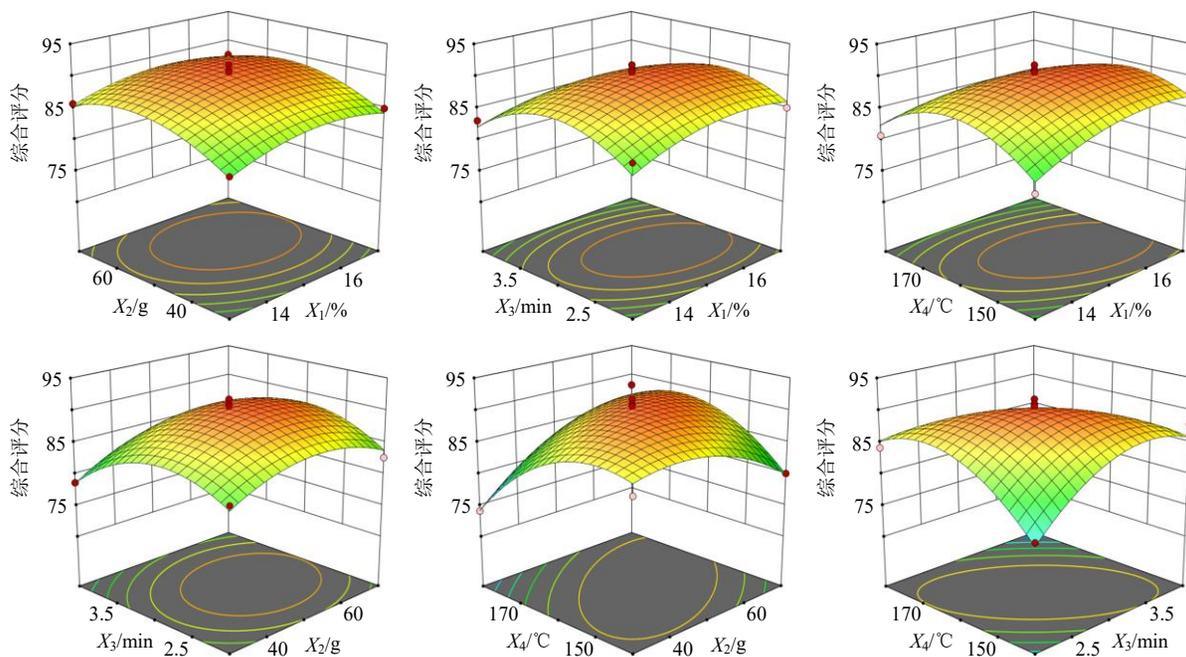


图 3 各因素对综合评分的影响

Fig. 3 Effect of various factors on comprehensive score

表 9 验证试验结果

Table 9 Results of validation tests

序号	质量分数/(mg·g ⁻¹)				醇溶性浸出物%	外观性状评分	综合评分	平均值	RSD/%
	23-乙酰泽泻醇C	24-乙酰泽泻醇A	泽泻醇B	23-乙酰泽泻醇B					
1	0.189	1.279	4.049	2.676	17.880	14	90.567	91.540	0.976
2	0.189	1.438	4.417	3.020	17.452	13	92.324		
3	0.167	1.683	4.769	3.172	18.389	14	91.727		

分别为对照组，模型组，地塞米松（1.0 mg/kg）组，盐麸泽泻低、中、高剂量（1.0、2.0、4.0 g/kg）组，盐泽泻（2.0 g/kg）组和泽泻生品（2.0 g/kg）组，每组 8 只，于环境温度 22~25 °C 的安静环境中适应性饲养 3 d，给予自由饮食饮水。3 d 后参考脂多糖诱导小鼠小肠炎症模型的造模方法，对模型组和给药组的小鼠按体质量 ip 10 mg/kg 的脂多糖悬浊液；随后对照组和模型组小鼠给予等量生理盐水，药物组小鼠分别 ig 相应药物，1 次/d，连用 7 d。每天观察小鼠整体状态^[21]。

2.8.2 小鼠的行为学特征与体质量动态变化 正常组小鼠皮毛、活动量、摄食量和排便习惯正常。2 h 后发现注射过脂多糖的小鼠精神萎靡，但没有腹泻情况。脂多糖处理 6 h 后，除对照组外，各组小鼠均出现不同程度的饱胀症状，皮毛凌乱，腹泻，2~4 只。在注射脂多糖后的前 3 d，模型组小鼠表现出不同程度的腹泻、食欲不振和皮毛凌乱，而给药组表现良好，在前 2 d 在药物治疗下逐渐恢复活力。大

便正常，便血量减少。由表 10 可知，ip 脂多糖前，各组小鼠体质量无显著性差异 ($P>0.05$)。脂多糖处理 24 h 后，对照组小鼠体质量正常增加，其余各组小鼠体质量均下降。从实验的第 2 天开始，这些体质量开始逐渐增加，但是直到实验结束时，这些小鼠体质量都没有达到对照组小鼠体质量的记录值。其中，盐麸泽泻中剂量组的最终体质量增幅最大，为初始体质量的 115.94%。脂多糖组小鼠的体质量在 6 d 后也略有增加，达到初始体质量的 107.21%。

2.8.3 对小鼠血液指标的影响 给药结束后，小鼠采用眼眶取血，取 0.5 mL 血液置于含抗凝剂的离心管中，用全自动三分类血液分析仪测定白细胞数 (white blood cell counts, WBC)、红细胞体积 (mean corpuscular volume, MCV)、血小板总数 (platelet total counts, PLT)、红细胞数 (red blood cell count, RBC)、血红蛋白浓度 (haemoglobin concentration, HGB) 和血小板体积 (mean platelet volume, MPV)，每组 3 个样本。

表 10 不同组别小鼠体质量动态变化 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 10 Dynamic changes of body weight in different groups of mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	造模时体 质量/g	造模后的体质量变化率/%						
			第1天	第2天	第3天	第4天	第5天	第6天	第7天
对照	-	24.10±0.61	110.27±3.71	113.94±4.56	114.30±4.43	117.89±5.42	117.38±5.98	122.59±6.4	125.04±8.11
模型	-	25.13±0.91	85.13±1.43	85.64±2.62	92.60±2.08	95.92±4.40	97.49±4.02	104.07±4.8	107.21±4.88
地塞米松	0.001 0	23.27±0.60	88.04±2.13	89.04±3.01	94.88±3.16	96.32±4.77	100.26±4.89	102.26±5.68	109.10±5.13
泽泻生品	2.0	24.64±1.67	85.50±1.62	88.49±3.11	93.12±4.06	100.13±4.27	101.66±4.19	106.26±3.81	110.25±3.84
盐泽泻	2.0	24.14±0.49	86.93±0.85	88.41±2.07	97.64±3.38	100.83±2.29	105.57±2.50	109.90±2.9	114.15±2.08
盐麸泽泻	1.0	23.77±1.00	85.79±1.25	88.22±3.45	95.38±4.68	99.14±5.41	105.98±4.83	109.22±5.02	113.26±4.41
	2.0	24.46±1.08	89.91±5.58	93.27±9.38	99.78±8.86	103.15±7.16	109.23±6.24	111.55±4.99	115.94±3.78
	4.0	24.20±1.12	87.78±2.43	91.34±2.55	100.42±2.02	105.28±2.36	108.79±2.45	113.29±3.23	115.73±2.97

与对照组相比,模型组中 WBC、RBC、HGB 显著下降 ($P < 0.05$);与模型组相比,地塞米松组及盐麸泽泻中、高剂量组在 WBC、MCV、RBC 和 HGB 指标上均显著升高 ($P < 0.05、0.01$),生品组在 RBC、HGB 指标上显著上升 ($P < 0.05$),盐泽泻组的

MCV、RBC、HGB 显著上升 ($P < 0.05、0.01$),盐麸泽泻低剂量组不存在显著性差异 ($P > 0.05$);各组间 PLT、MPV 均不存在显著性差异 ($P > 0.05$)。具体结果见表 11。

2.8.4 对脂多糖诱导肠炎小鼠回肠形态影响 将4%

表 11 不同处理组小鼠的血液指标 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 11 Blood indexes of mice in different treatment groups ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	WBC ($\times 10^9 L^{-1}$)	MCV ($\times 10^{15} L^{-1}$)	PLT ($\times 10^9 L^{-1}$)	RBC ($\times 10^{12} L^{-1}$)	HGB/ (g·L ⁻¹)	MPV ($\times 10^{15} L^{-1}$)
对照	-	2.85±0.07	54.90±1.15	766.67±156.18	8.18±0.79	151.67±12.90	5.83±0.21
模型	-	1.70±0.96*	53.73±1.57	739.00±297.72	6.12±2.52*	111.33±38.55*	5.63±0.31
地塞米松	0.001 0	3.00±1.36#	57.58±1.33##	677.25±120.57	8.92±0.93##	172.25±18.71##	5.92±0.15
泽泻生品	2.0	2.13±0.49	55.30±0.70	835.00±144.38	8.68±0.58#	148.33±32.88#	5.77±0.15
盐泽泻	2.0	2.21±0.53	56.80±1.83##	990.33±43.73	8.43±0.27#	159.33±4.51#	5.80±0.10
盐麸泽泻	1.0	2.09±0.20	54.70±1.20	569.33±147.31	7.01±0.60	130.00±8.89	5.80±0.17
	2.0	2.72±0.81#	58.30±0.56##	942.67±210.86	8.14±0.90#	159.33±14.98#	5.70±0.10
	4.0	3.24±0.49#	57.13±1.46#	1 115.33±163.93	8.95±0.39##	166.67±10.02##	5.90±0.17

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$;与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$;表 12 同。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group; same as table 12.

多聚甲醛固定后的回肠组织包埋、切片、HE 染色,显微镜下观察组织病理学变化。每组 3 个样本,拍照并进行分析。结果如图 4 所示,对照组小鼠回肠组织肠壁完整,结构清晰,绒毛排列整齐,未见炎性细胞浸润。而模型组部分肠绒毛脱落,部分隐窝结构消失,可见大量炎性细胞浸润。盐麸泽泻中、高剂量组和地塞米松组小鼠回肠组织基本恢复正常,肠壁健康,结构清晰,绒毛排列整齐,炎性细胞消失。在同剂量组别中生品和盐泽泻也有一定的治疗效果,其中盐泽泻组效果更好,但仍能观察到一些炎性细胞。这表明泽泻经过炮制后对炎症反应的改善作用增强,且盐麸泽泻改善作用强于盐泽泻强于泽泻生品。

2.8.5 对小鼠回肠组织中炎症因子水平影响 按照 ELISA 试剂盒的操作指南,收集各组小鼠的回肠组织,并测定其中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的含量。根据表 12 所示,与对照组相比,模型组小鼠的炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平显著上升 ($P < 0.01$);与模型组相比,地塞米松组、泽泻生品组、盐泽泻组以及盐麸泽泻低、中、高剂量组的小鼠回肠组织中, TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的水平显著下降 ($P < 0.01$);盐麸炮制品呈现剂量相关性,剂量越高对促炎因子的抑制效果更强;不同炮制品在相同剂量情况下,盐麸泽泻对促炎因子的抑制效果最强,其次为盐泽泻。

2.8.6 小鼠回肠组织中 PI3K、Akt、p-Akt、p-IkB、

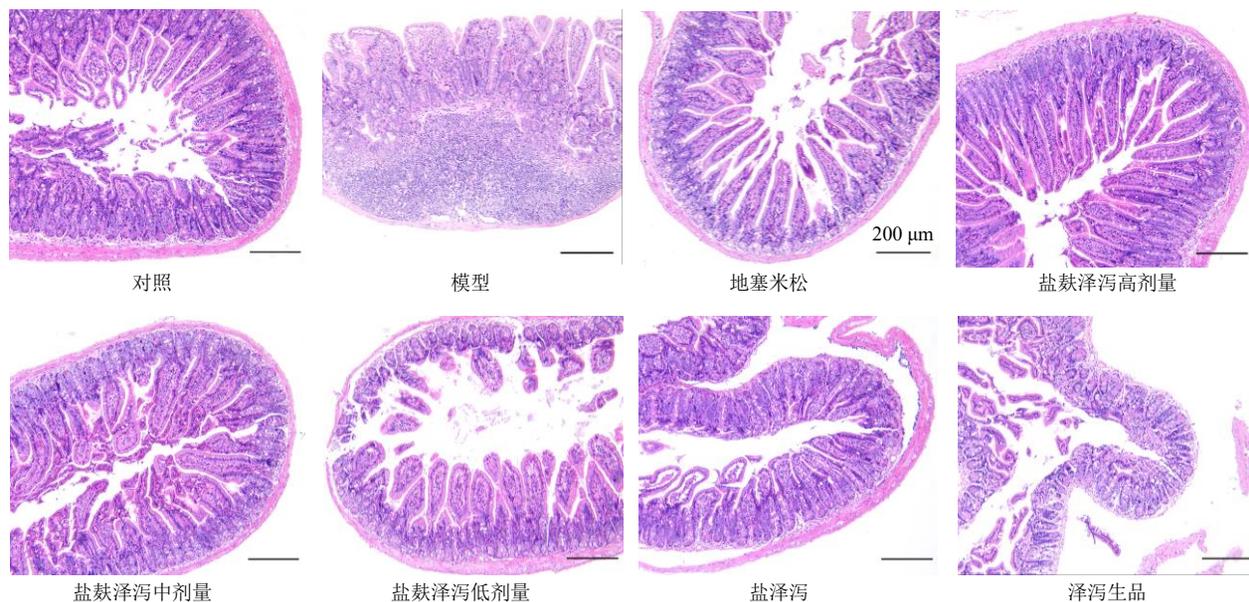


图 4 小鼠回肠切片 HE 染色结果 (×100)

Fig. 4 HE staining results of mouse ileum sections (× 100)

表 12 小鼠回肠组织中炎症因子 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平和 PI3K、p-Akt/Akt、p-Akt、p-IκB、NF-κB p65 蛋白表达的影响 (x̄ ± s, n = 3)

Table 12 Effects of inflammatory factors IL-1β, IL-6, TNF-α levels and PI3K, p-Akt/Akt, p-Akt, p-IκB, NF-κB p65 protein expression in ileum tissue of mice (x̄ ± s, n = 3)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	IL-1β/ (pg·mL ⁻¹)	IL-6/ (pg·mL ⁻¹)	TNF-α/ (pg·mL ⁻¹)	NF-κB p65/ GAPDH	p-Akt/ GAPDH	PI3K/ GAPDH	p-IκB/ GAPDH	p-Akt/Akt/ GAPDH
对照	-	63.75 ± 8.80	49.67 ± 5.34	327.50 ± 35.17	1.00 ± 0.12	1.00 ± 0.07	1.00 ± 0.03	1.00 ± 0.07	1.00 ± 0.05
模型	-	236.42 ± 5.91**	227.79 ± 6.86**	1 007.24 ± 33.27**	2.89 ± 0.15**	2.14 ± 0.17**	2.92 ± 0.30**	2.08 ± 0.18**	2.04 ± 0.32**
地塞米松	0.001 0	93.37 ± 3.13##	88.20 ± 5.48##	391.60 ± 32.10##	1.23 ± 0.32##	1.38 ± 0.30##	1.66 ± 0.20##	1.14 ± 0.10##	1.33 ± 0.22#
泽泻生品	2.0	156.44 ± 7.66##	161.01 ± 5.40##	750.16 ± 45.09##	1.85 ± 0.38##	1.88 ± 0.11	2.54 ± 0.42	1.73 ± 0.17	1.78 ± 0.07
盐泽泻	2.0	150.07 ± 5.05##	144.28 ± 5.30##	676.61 ± 25.37##	1.63 ± 0.37##	1.73 ± 0.12	2.41 ± 0.38	1.47 ± 0.18#	1.64 ± 0.17
盐麸泽泻	1.0	143.56 ± 4.12##	138.23 ± 5.79##	621.36 ± 31.60##	1.72 ± 0.28##	1.73 ± 0.17	2.33 ± 0.20	1.54 ± 0.28	1.59 ± 0.12
	2.0	118.60 ± 7.73##	133.07 ± 8.71##	526.07 ± 34.45##	1.39 ± 0.21##	1.51 ± 0.02##	1.91 ± 0.28##	1.31 ± 0.34##	1.50 ± 0.25
	4.0	107.13 ± 8.74##	117.77 ± 4.28##	460.87 ± 30.27##	1.30 ± 0.32##	1.32 ± 0.14##	1.66 ± 0.07##	1.13 ± 0.11##	1.34 ± 0.26#

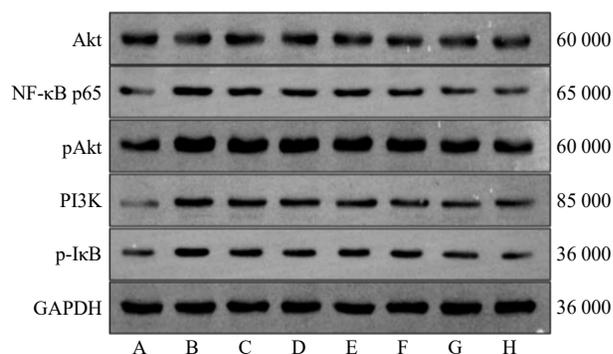
NF-κB p65 蛋白表达情况 与对照组相比, 模型组小鼠回肠组织中 PI3K、p-Akt/Akt、p-Akt、p-IκB、NF-κB p65 的蛋白表达水平均显著上升 (P < 0.01); 与模型组相比, 各给药组在 NF-κB p65 的蛋白表达水平均显著降低 (P < 0.01), 地塞米松组和盐麸泽泻的高、中剂量组在 p-Akt、PI3K、p-IκB 的蛋白表达水平显著降低 (P < 0.01)。结果见表 12 和图 5。

3 讨论

本研究采用了 AHP-CRITIC 复合加权法结合 BBD-RSM 优化盐麸泽泻炮制工艺。该方法通过整合主观赋值法和客观赋值法相结合的组合权重赋值法, 平衡了盐麸泽泻工艺参数筛选的科学性与客观性。验证实验显示, 最优工艺条件为每 100 g 的

泽泻饮片用 2% 盐与纯净水配制浓度为 15% 的盐水溶液闷润, 晾干后与 50 g 麦麸在 160 °C 炒制 3 min。所得炮制品的综合评分均值为 91.540, 与模型的理论预测值基本一致。这证明了模型的准确性, 同时也表明制备的盐麸泽泻质量稳定可靠。因此, 该模型能够合理地应用于盐麸泽泻炮制工艺的优化选择, 为制定盐麸泽泻的质量标准和规范饮片生产提供了有价值的参考。

脂多糖是革兰阴性菌细胞壁特征成分, 可通过激活 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4)、NF-κB 等信号通路, 诱导全身性炎症反应, 广泛应用于急性肺炎、肠炎等研究^[22-23]。有研究指出, ip 脂多糖后, 通过破坏肠道上皮屏障功能, 促使促炎因子



A-对照组; B-模型组; C-地塞米松组; D-盐麸泽泻高剂量组; E-盐麸泽泻中剂量组; F-盐麸泽泻低剂量组; G-盐泽泻组; H-生品组。
A-control group; B-model group; C-dexamethasone group; D-salt bran *Alismatis Rhizoma* high dose group; E-salt bran *Alismatis Rhizoma* middle dose group; F-salt bran *Alismatis Rhizoma* low dose group; G-salt *Alismatis Rhizoma* group; H-raw product group.

图 5 对小鼠回肠组织中 PI3K、Akt、p-Akt、p-IκB、NF-κB p65 蛋白表达的影响

Fig. 5 Effects of PI3K, Akt, p-Akt, p-IκB and NF-κB p65 protein expression in ileum tissue of mice

TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 释放, 并显著上调组织炎症相关蛋白表达, 其中的回肠组织最为明显^[24-25]。本研究发现, 模型组回肠组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 含量明显上升, 给药之后, 各组别回肠组织中炎症因子含量显著下降 ($P < 0.01$)。病理组织学检查结果表明, 模型组部分肠绒毛脱落, 部分隐窝结构消失, 可见大量炎性细胞浸润, 而盐麸泽泻中、高剂量组和地塞米松组小鼠回肠组织基本恢复正常, 肠壁健康, 结构清晰, 绒毛排列整齐, 炎性细胞消失。这表明盐麸泽泻能够明显改善脂多糖诱导小鼠小肠炎症症状和炎症因子的释放。

传统中药泽泻在炎症调控中显示出独特价值, 网络药理分析揭示其抗炎作用机制与抑制细胞凋亡密切相关, 具体涉及到 PI3K-Akt 信号通路^[26]。有研究指出, 炎症能激活 PI3K, 进而驱动 Akt 介导的细胞生存途径, 发挥抗凋亡作用^[27]。活化的 PI3K/Akt 通路不仅能下调炎症因子表达, 还可通过调控下游 NF- κ B 通路影响细胞命运^[28]。作为关键下游分子, NF- κ B 参与调控炎症、免疫及细胞存活等重要生理过程^[29]。p-Akt 能够调节抑制蛋白 I κ B 激酶的活性, 导致 I κ B 磷酸化并降解, 使 I κ B 与 NF- κ B 二聚体解离。随后, NF- κ B 进入细胞核, 与靶基因启动子区域的 NF- κ B 结合位点结合, 启动靶基因的转录, 释放炎症介质, 从而介导免疫炎症反应^[30]。

本实验结果显示, 模型组回肠组织中 PI3K、p-Akt/Akt、p-Akt、p-I κ B、NF- κ B p65 蛋白显著上升。

相对于模型组, 各给药组回肠组织中蛋白显著下降 ($P < 0.01$), 这表明小鼠小肠炎症与 PI3K、Akt、NF- κ B 信号通路密切相关。

从本实验模型组小鼠的行为特征与体重变化、血液指标的异常、病理切片的观察以及炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和相关蛋白相对表达量明显升高, 可判定脂多糖诱导小鼠小肠炎症模型成功。各给药组回肠组织中炎症因子和蛋白表达与模型组的差异显著 ($P < 0.01$), 推测泽泻提取液对 PI3K-Akt/NF- κ B 信号通路可能有抑制作用。其中盐麸泽泻的效果优于盐泽泻, 表明盐麸炒制对比盐炒具有一定优势。

综上所述, 泽泻提取液对脂多糖诱导的小鼠小肠炎症有明显的改善作用, 且经盐麸炒后能增强疗效。其作用机制可能与 PI3K-Akt/NF- κ B 通路有关, 通过下调蛋白表达并降低促炎因子的分泌, 从而减轻炎症反应的发生和对小肠黏膜的损坏。本实验初步阐释了盐麸泽泻提取液对脂多糖诱导的小鼠小肠炎症的干预作用机制, 为小肠炎的临床治疗提供了新的思路。鉴于泽泻于小肠炎症疾病治疗领域的研究尚处匮乏状态, 后续可深入探究盐麸泽泻对小肠炎症疾病的潜在治疗效能, 涵盖体外细胞实验、体内动物模型研究以及临床试验等层面。亟待更多科学研究以发掘其潜在药理作用与临床应用价值。

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: 239.
- [2] 戴小欢. 泽泻炮制工艺及作用研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2009.
- [3] 戴梦翔, 金姝娜, 宋成武, 等. 泽泻及其炮制品化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(5): 1620-1635.
- [4] 郑云枫, 朱玉岚, 彭国平. 泽泻炮制过程中 23-乙酰泽泻醇 B 的转化 [J]. 中草药, 2006, 37(10): 1479-1482.
- [5] 唐莹莹, 贾夏丽, 王金圆, 等. 23-乙酰泽泻醇 B 对千里光碱致急性肝损伤小鼠水液失衡的影响 [J]. 药学报, 2024, 59(7): 1982-1992.
- [6] 严桂杰, 蓝梦柳, 丘建芳, 等. 泽泻炮制前后化学成分及其利尿作用研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2020, 27(4): 59-65.
- [7] Shu Z H, Pu J, Chen L, et al. *Alisma orientale*: Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine [J]. *Am J Chin Med*, 2016, 44(2): 227-251.

- [8] Zhang J, Luan Z L, Huo X K, *et al.* Direct targeting of sEH with alisol B alleviated the apoptosis, inflammation, and oxidative stress in cisplatin-induced acute kidney injury [J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(1): 294-310.
- [9] Jang E, Lee J H. Promising anticancer activities of *Alismatis rhizome* and its triterpenes via p38 and PI3K/Akt/mTOR signaling pathways [J]. *Nutrients*, 2021, 13(7): 2455.
- [10] 张匣, 邵欣欣, 刘青芝, 等. 泽泻-白术药对及其活性成分防治动脉粥样硬化研究进展 [J]. *中草药*, 2024, 55(16): 5735-5746.
- [11] Choi S, Jung J E, Yang Y R, *et al.* Novel phosphorylation of PPAR γ ameliorates obesity-induced adipose tissue inflammation and improves insulin sensitivity [J]. *Cell Signal*, 2015, 27(12): 2488-2495.
- [12] Zhu H C, Jia X K, Fan Y, *et al.* Alisol B₂₃-acetate ameliorates azoxymethane/dextran sodium sulfate-induced male murine colitis-associated colorectal cancer via modulating the composition of gut microbiota and improving intestinal barrier [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 640225.
- [13] Liu S S, Sheng W L, Li Y, *et al.* Chemical constituents from *Alismatis Rhizoma* and their anti-inflammatory activities *in vitro* and *in vivo* [J]. *Bioorg Chem*, 2019, 92: 103226.
- [14] 谢治深, 黄小虹, 袁永, 等. 泽泻抑制脂多糖诱导的RAW_{264.7}炎症及作用机制 [J]. *时珍国医国药*, 2020, 31(7): 1586-1590.
- [15] Han C W, Kwun M J, Kim K H, *et al.* Ethanol extract of *Alismatis Rhizoma* reduces acute lung inflammation by suppressing NF- κ B and activating Nrf2 [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 146(1): 402-410.
- [16] Kubo M, Matsuda H, Tomohiro N, *et al.* Studies on *Alismatis Rhizoma*. I. Anti-allergic effects of methanol extract and six terpene components from *Alismatis Rhizoma* (dried rhizome of *Alisma orientale*) [J]. *Biol Pharm Bull*, 1997, 20(5): 511-516.
- [17] 向茜, 赵文燕, 王蝉, 等. 基于UHPLC-MS/MS探究不同炮制方法对泽泻化学成分的影响 [J]. *时珍国医国* 药, 2022, 33(9): 2154-2157.
- [18] 邵艳妮, 樊李明, 陈秀霞, 等. 正交试验优选盐泽泻的炮制生产工艺 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(23): 37-45.
- [19] 钟凌云, 龚千锋, 段启, 等. 多指标正交试验法优选泽泻盐炙炮制工艺 [J]. *中成药*, 2006, 28(1): 45-47.
- [20] 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.
- [21] 胡宇声. 苦参露对脂多糖诱导大鼠小肠炎症的保护作用及其机制研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2017.
- [22] 唐思璇, 肖芳. 脂多糖诱导肺炎动物模型的研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(6): 864-869.
- [23] 董晓蒙. 槲皮素对脂多糖诱导肠炎抗炎效果研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2022.
- [24] 谭娅, 甘麦邻, 范源, 等. 金荞麦对脂多糖诱导小鼠小肠炎症的保护作用 [J]. *中国畜牧兽医*, 2020, 47(2): 597-604.
- [25] 雒利蓉, 崔东安, 王慧, 等. 仔泻康口服液对脂多糖诱导的大鼠小肠炎症的改善作用及机制分析 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2020(2): 113-117.
- [26] 缪晓冬, 李才堂. 基于网络药理学-分子对接技术探讨泽泻抗炎作用的分子机制 [J]. *实用中西医结合临床*, 2023, 23(16): 1-5.
- [27] Forsberg L A, Rasi C, Malmqvist N, *et al.* Mosaic loss of chromosome Y in peripheral blood is associated with shorter survival and higher risk of cancer [J]. *Nat Genet*, 2014, 46(6): 624-628.
- [28] Sun T, Cheng Y T, Yan L X, *et al.* LncRNA MALAT1 knockdown alleviates myocardial apoptosis in rats with myocardial ischemia-reperfusion through activating PI3K/AKT signaling pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(23): 10523-10531.
- [29] Barnabei L, Laplantine E, Mbongo W, *et al.* NF- κ B: At the borders of autoimmunity and inflammation [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 716469.
- [30] 王冉冉, 孙政勤, 刘江月. 梓醇通过PPAR γ /NF- κ B信号通路减轻2型糖尿病大鼠肝脏损伤 [J]. *中国病理生理杂志*, 2021, 37(12): 2189-2196.

[责任编辑 郑礼胜]