感冒清热颗粒挥发油包合工艺的优化Δ

张东阁[1,2*]，王凤霞[2]，杨宇杰[1#]，王春民[2]，陈宝鑫[2]，吴鑫宇[2]（1.承德医学院中药研究所，河北 承德 067000；2.颈复康药业集团有限公司河北省中药新辅料工程技术创新中心，河北 承德 067000）

中图分类号 R944.2；R284.2　　**文献标志码** A　　**文章编号** 1001-0408（2021）14-1734-07
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.14.12

摘　要　目的：优化感冒清热颗粒挥发油包合工艺。方法：以“质量源于设计”理念为指导，以挥发油包合率、包合物收得率为关键质量属性，两者加权后的综合评分为响应值，包合温度、包合时间、β-环糊精（β-CD）与挥发油比例为关键工艺参数，采用Box-Burman响应曲面设计建立关键工艺参数与关键质量属性的设计空间，通过95%置信区间优化设计空间并进行验证；同时初步考察了包合物的稳定性。结果：所得最优设计空间即最优工艺参数范围为包合温度35～40 ℃，包合时间1.8～2.0 h，β-CD与挥发油比例9.5∶1～10∶1（g/mL）。3次验证实验结果显示，挥发油包合率均大于62%，包合物收得率均大于75%，综合得分均大于80分。初步稳定性结果显示，挥发油包合率、包合物收得率以及综合评分均未发生明显变化，7 d之内各项指标差异均在5%以内。结论：所得最优包合工艺可行，所得包合物稳定性良好。

关键词　质量源于设计理念；感冒清热颗粒；挥发油；包合工艺；Box-Burman响应曲面法；设计空间；稳定性

Optimization of Inclusion Technology of Volatile Oil from Ganmao Qingre Granules

ZHANG Dongge[1,2], WANG Fengxia[2], YANG Yujie[1], WANG Chunmin[2], CHEN Baoxin[2], WU Xinyu[2] (1. Institute of TCM, Chengde Medical College, Hebei Chengde 067000, China; 2. Hebei Technology Innovation Center of TCM New Excipient Engineering, Jingfukang Pharmaceutical Group Co., Ltd., Hebei Chengde 067000, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE: To optimize the inclusion technology of volatile oil from Ganmao qingre granules. METHODS: Guided by the concept of "quality by design", taking volatile oil inclusion rate and inclusion complex yield as key quality attribute, comprehensive score of above two indexes after weighting as response value, inclusion temperature, inclusion time, the ratio of β-CD to volatile oil as key technology parameters, Box-Burman response surface design was adopted to establish the design space of key technology parameters and key quality attributes. The design space was optimized and verified by 95% confidence interval. The stability of inclusion complex was investigated preliminarily. RESULTS: The optimal design space, i. e. the optimal technology parameters rang, included inclusion temperature 35-40 ℃, inclusion time 1.8-2.0 h, the ratio of β-CD to volatile oil 9.5∶1-10∶1 (g/mL). The results of 3 validation tests showed that the volatile oil inclusion rates were all over 62%, the yields of inclusion complex were all over 75%, and the comprehensive scores were all over 80 point. The results of preliminary stability showed that the inclusion rate of volatile oil, the yield of inclusion complex and the comprehensive score did not change significantly. The difference in evaluation indicators within 7 days was within 5%. CONCLUSIONS: The optimized inclusion technology is feasible, and the obtained inclusion complex is stable.

KEYWORDS　Quality by design; Ganmao qingre granules; Volatile oil; Inclusion technology; Box-Burman response surface methodology; Design space; Stability

感冒清热颗粒是国家基本药物，具有疏风散寒、解表清热之功效[1-2]。该药由荆芥穗、薄荷、防风、柴胡、紫苏叶、葛根、苦杏仁、桔梗、白芷、苦地丁、芦根等11味药材组成，主治风寒感冒、头痛发热、咳嗽咽干等症[3]。感冒清热颗粒的化学成分复杂且种类较多，主要包括挥发油、苷元及水溶性成分[4]。其中，挥发油成分来源于荆芥穗、薄荷、紫苏叶等3味药材，相关研究结果表明，挥发油是感冒清热颗粒的主要药效部位，如荆芥穗挥发油可抑制或直接杀灭病毒，薄荷挥发油具有抗炎、镇痛、解热等药理活性，紫苏叶挥发油具有抑菌、提高免疫力等作用[5-8]。然而，在感冒清热颗粒的制粒过程中，挥发油是直接喷洒在其颗粒表面上的，这势必导致在制剂制备或贮运过程中挥发油散失，从而使全方药效降低[2]。有研究认为，β-环糊精（β-CD）包合挥发油可使后者与外界隔离，提高挥发油的稳定性，从而增强药效[9]，为此本研究以β-CD为包合材料对感冒清热颗粒挥发油进行包合。

为得到均一、稳定的产品，提高工艺水平是优质产品研发的重要方法之一[10]。2001年，质量源于设计（quality by design，QbD）理念被美国FDA引入制药行业。QbD是一种系统的研发方法，以预先设定目标为起

Δ 基金项目：河北省创新能力提升计划项目（No.199676241H）

＊中级工程师，硕士。研究方向：中药新药研究与开发。电话：0314-2292311。E-mail：13722131091@163.com

＃通信作者：教授，硕士生导师，硕士。研究方向：中药新药研究与开发。电话：0314-2291187。E-mail：847272204@qq.com

始，基于可靠的科学与质量风险管理措施，强化对产品和生产过程的理解以及对工艺的控制[11－12]。Box-Burman响应曲面设计能够评估各影响因素在整个实验区域内对指标的效应，从而弥补以往通过正交设计无法评估在所选水平之外的参数对指标的影响这一缺陷[10]。基于此，本研究基于QbD理念，通过分析包合过程中的风险因素，筛选关键工艺参数，并根据包合工艺特点确定关键质量属性，建立包合工艺设计空间；同时，在单因素实验的基础上，结合相关文献[13－15]，采用Box-Burman响应曲面设计优化感冒清热颗粒挥发油包合工艺，建立包合工艺设计空间并对结果进行验证，旨在为优化感冒清热颗粒生产工艺并稳定其疗效提供参考。

1　材料

1.1　主要仪器

本研究所用主要仪器有OA2000型数显定时搅拌仪（上海欧河机械设备有限公司）、DZKW-C型水浴锅（北京中兴伟业有限公司）、ZDHW型调温电热套（北京中兴伟业有限公司）、SHB-Ⅲ型循环水式多用真空泵（郑州长城科工贸有限公司）、KQ-700DE型数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司，功率700 W）、Laboncee-430CSD型药品稳定性试验箱（北京兰贝石恒温技术有限公司）、202-3-B8型电热恒温干燥箱（上海跃进医疗器械有限公司）等。

1.2　主要药品与试剂

荆芥穗药材（批号20200316）、薄荷药材（批号20200122）均购自安徽国奥中药饮片公司，紫苏叶药材（批号20200419）购自河北安国荷花池药材有限公司；上述药材由颈复康药业集团有限公司王春民主任中药师鉴定，分别为唇形科植物荆芥 *Schizonepeta tenusfolia* Briq.的干燥花穗、唇形科植物薄荷 *Mentha haplocalyx* Briq.的干燥地上部分、唇形科植物紫苏 *Perilla frutescens*（L.）Britt.的干燥叶；β-CD（批号200106）购自曲阜市天利药用辅料有限公司；无水乙醇（分析纯）购自天津欧博凯化工有限公司；水为纯化水。

2　方法与结果

2.1　挥发油的提取

按10倍处方量分别称取荆芥穗药材1 600 g、薄荷药材480 g、紫苏叶药材480 g，采用水蒸气蒸馏法提取挥发油[3]。结果，得挥发油质量为27.14 g，体积29.50 mL，得油率（按质量计）为1.06%。

2.2　挥发油密度的测定

精密吸取“2.1”项下挥发油2 mL，置于已称定质量的量瓶中，称定两者总质量，计算挥发油密度：挥发油密度＝（挥发油与量瓶总质重－量瓶质量）/2。实验重复5次。结果，挥发油的平均密度为0.929 8 g/mL，RSD为0.50%（n＝4）。

2.3　挥发油空白回收率的测定

精密吸取“2.1”项下挥发油0.50、1.00、1.50 mL，分别置于500 mL烧瓶中，加水300 mL，加入适量玻璃珠，连接挥发油提取器，用调温电热套缓缓加热至沸[16]，提取3 h后静置30 min，计算挥发油空白回收率：挥发油空白回收率＝挥发油回收量/挥发油加入量×100%。结果，平均空白回收率为96.00%，表明挥发油体积对回收率无影响，详见表1。

表1　挥发油空白回收率测定结果

Tab 1　Results of blank recovery of volatile oil

挥发油加入量，mL	挥发油回收量，mL	空白回收率，%	平均空白回收率，%	RSD，%
0.50	0.48	96.00	96.00	0.65
0.50	0.48	96.00		
1.00	0.96	96.00	96.00	0.65
1.00	0.96	96.00		
1.50	1.42	95.00	96.00	0.65
1.50	1.45	97.00		

2.4　β-CD对挥发油空白回收率的影响

精密吸取“2.1”项下挥发油1.00 mL，共4份，分别置于500 mL烧瓶中，加水300 mL，其中两份加入β-CD 10.00 g，剩余两份不加β-CD，其余按“2.3”项下“加入适量玻璃珠……提取3 h后静置30 min”操作，并同法计算挥发油空白回收率。结果，平均空白回收率为96.00%，表明β-CD的加入对挥发油空白回收率无影响，详见表2。

表2　β-CD对挥发油空白回收率的影响

Tab 2　Effects of β-CD on blank recovery of volatile oil

挥发油加入量，mL	β-CD加入量，g	挥发油回收量，mL	空白回收率，%	平均空白回收率，%	RSD，%
1.00	0	0.96	96.00	96.00	0.65
1.00	0	0.96	96.00		
1.00	10.00	0.96	96.00		
1.00	10.00	0.96	96.00		

2.5　不同包合方法对挥发油包合率的影响

挥发油包合方法主要有研磨法、超声法、饱和水溶液法[17－18]。本研究以挥发油包合率为指标，评价不同包合方法对挥发油包合效果的影响。挥发油包合率＝（包合物提取的挥发油体积×包合物总质量）/（空白回收率×挥发油加入总体积×包合物取样量）×100%[19－20]。

2.5.1　研磨法　取β-CD约10 g，精密称定，共4份，加水100 mL，用调温电热套加热搅拌使溶解，待温度降至25 ℃时，将其置于研钵中，用注射器缓慢加入挥发油无水乙醇溶液（取挥发油1 mL，加入无水乙醇1 mL，混合，即得，下同）2 mL，研磨2 h，得包合溶液，于4 ℃冷藏24 h，放至室温，抽滤，残渣用无水乙醇洗涤3次，每次15 mL，将沉淀物置于40 ℃电热恒温干燥箱中干燥4 h，即得包合物（称定并记录其总质量）。取上述包合物5.0 g，精密称定，置于500 mL烧瓶中，按“2.3”项下“加入适量玻璃珠……提取3 h后静置30 min”操作，并按前述方法

计算挥发油包合率，结果见表3。

表3　不同包合方法对挥发油包合率的影响

Tab 3　Effects of different inclusion methods on inclusion rate of volatile oil

包合方式	挥发油包合率,%	平均挥发油包合率,%	RSD,%
研磨法	68.23	66.77	2.52
	68.23		
	65.31		
	65.31		
超声法	34.85	34.96	0.36
	35.07		
	34.85		
	35.07		
饱和水溶液法	72.54	71.52	1.48
	71.34		
	70.11		
	72.08		

2.5.2　超声法　取β-CD约10 g，精密称定，共4份，加水100 mL，用调温电热套加热搅拌使溶解，待温度降至40 ℃时，置于超声仪中，用注射器缓慢加入挥发油无水乙醇溶液2 mL，设置包合温度40 ℃、频率40 kHz、包合时间2 h，即得包合溶液，再按“2.5.1”项下“于4 ℃冷藏24 h……提取3 h后静置30 min”操作，并按前述方法计算挥发油包合率，结果见表3。

2.5.3　饱和水溶液法　取β-CD约10 g，精密称定，共4份，加水100 mL，用调温电热套加热搅拌使溶解，待温度降至40 ℃时，置于40 ℃恒温水浴锅中，连接数显定时搅拌仪，用注射器缓慢加入挥发油无水乙醇溶液2 mL，设置包合温度40 ℃、转速200 r/min、包合时间2 h，即得包合溶液，再按“2.5.1”项下“于4 ℃冷藏24 h……提取3 h后静置30 min”操作，并按前述方法计算挥发油包合率，结果见表3。

2.5.4　包合方法的确定　因饱和水溶液法的包合率最高，且RSD小于2%（n=4），故采用饱和水溶液法进行包合。

2.6　关键工艺参数的辨识

2.6.1　鱼骨图的绘制　采用鱼骨图辨识感冒清热颗粒挥发油饱和水溶液法包合工艺的潜在工艺参数（pCPPs）[21]。结果，人员、环境、包合物底物、设备、工艺因素均为pCPPs，详见图1。

2.6.2　单因素考察　根据前期生产经验，对鱼骨图中pCPPs赋予分值。挥发油包合率为主要的关键质量属性，包合率越高，表明包合效果越好，故将挥发油包合率权重系数定为0.7；在挥发油加入量固定的情况下，包合物收得率越高，亦表明包合效果越好，故将包合物收得率作为次要关键质量属性，将其权重系数定为0.3[2,22]。相关公式包括：包合物收得率（%）＝包合物总质量/（β-CD加入量+挥发油密度×挥发油加入体积）×100%；综合评分＝（挥发油包合率/最大包合率）×0.7×100+（包合物收得率/最大收得率）×0.3×100[22－23]。综合评分越高，表示包合效果越好[23－25]。

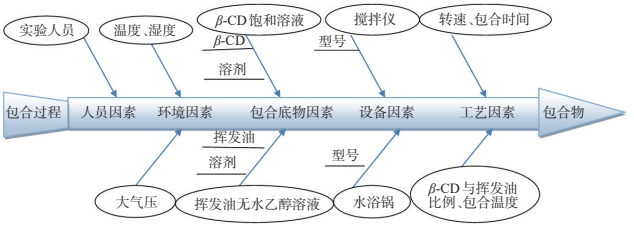


图1　感冒清热颗粒挥发油包合pCPPs辨识的鱼骨图

Fig 1　Fishbone diagram of pCPPs identification of the inclusion of volatile oil of Ganmao qingre granules

（1）包合时间：取β-CD约10 g，精密称定，共5份，加水100 mL，按“2.5.3”项下“用调温电热套加热搅拌使溶解……提取3 h后静置30 min”操作，考察不同包合时间（0.5、1、2、3、4 h）对包合效果的影响。结果，当包合时间为0.5～2 h时，挥发油包合率、包合物收得率、综合评分均呈上升趋势；包合时间为2～4 h时，上述参数均达到稳定，故选择包合时间0.5～2 h，详见表4。

表4　不同包合时间对感冒清热颗粒挥发油包合效果的影响

Tab 4　Effects of different inclusion time on the inclusion of volatile oil of Ganmao qingre granules

包合时间,h	挥发油包合率,%	包合物收得率,%	综合评分,分
0.5	47.77	77.11	75.51
1	53.06	77.66	80.85
2	72.18	78.92	99.87
3	71.62	78.68	99.23
4	72.17	79.26	99.99

（2）包合温度：取β-CD约10 g，精密称定，共5份，加水100 mL，按“2.5.3”项下“用调温电热套加热搅拌使溶解……提取3 h后静置30 min”操作，考察不同包合温度（20、30、40、50、60 ℃）对包合效果的影响。结果，随着包合温度的升高，挥发油包合率、综合评分均呈先升高后降低趋势，包合物收得率呈持续升高的趋势；当包后温度为30 ℃时，包合效果最好，故选择包合温度为30～60 ℃，详见表5。

表5　不同包合温度对感冒清热颗粒挥发油包合效果的影响

Tab 5　Effects of different inclusion temperature on the inclusion of volatile oil of Ganmao qingre granules

包合温度,℃	挥发油包合率,%	包合物收得率,%	综合评分,分
20	68.35	80.25	95.94
30	71.41	78.12	98.17
40	67.80	78.46	94.75
50	53.53	79.78	80.49
60	39.26	83.18	68.48

（3）包合转速：取β-CD约10 g，精密称定，共4份，加水100 mL，按“2.5.3”项下“用调温电热套加热搅拌使溶解……提取3 h后静置30 min（设置包合温度30 ℃）”，考察不同包合转速（200、300、400、500 r/min）对包合效果的影响。结果，不同转速对挥发油包合效果无显著影响，表明转速可能不是挥发油包合工艺的主要影响因素，故从实际出发，选择包合转速为200 r/min，详见表6。

表6　不同包合转速对感冒清热颗粒挥发油包合效果的影响

Tab 6　Effects of inclusion rotational speed on the inclusion of volatile oil of Ganmao qingre granules

转速，r/min	挥发油包合率，%	包合物收得率，%	综合评分，分
200	71.86	79.95	99.81
300	71.93	79.02	99.54
400	71.56	79.85	99.48
500	72.03	79.99	100.00

（4）β-CD与挥发油比例　取β-CD 6、8、10、12、14 g，加水100 mL，按“2.5.3”项下“用调温电热套加热搅拌使溶解……提取3 h后静置30 min（设置包合温度30 ℃）”，考察不同β-CD与挥发油比例（6∶1、8∶1、10∶1、12∶1、14∶1，g/mL）对包合效果的影响。结果，随着β-CD与挥发油比例的增加，挥发油包合率、综合评分呈先升高后降低趋势，包合物收得率呈总体升高趋势；当β-CD与挥发油比例为10∶1时，挥发油包合效果最好，故选择β-CD与挥发油比例为6∶1～10∶1，详见表7。

表7　不同β-CD与挥发油比例对感冒清热颗粒挥发油包合效果的影响

Tab 7　Effects of different ratio of β-CD to volatile oil on the inclusion of volatile oil of Ganmao qingre granules

β-CD与挥发油比例，g/mL	挥发油包合率，%	包合物收得率，%	综合评分，分
6∶1	59.20	78.30	85.46
8∶1	61.24	77.05	87.00
10∶1	71.94	79.02	98.12
12∶1	67.04	83.01	94.77
14∶1	61.97	84.31	90.30

2.6.3　工艺参数的筛选　在上述各单因素实验的基础上，利用效应分析（FMEA）法对挥发油包合工艺有影响的工艺参数进行风险评估，采用失效模式及效应分析对鱼骨图中的pCPPs进行评估并计算风险优先数（RPN）：RPN＝S×O×D。式中，S表示严重度，指失效事件发生的影响程度；O表示事件发生故障概率，指失效事件发生的可能性；D表示失效事件被监测的能力[26－27]；RPN＞10，被定义为高风险[27]。结果，转速、β-CD与挥发油比例、包合时间、包合温度的RPN分别为8、16、12、12，其中β-CD与挥发油比例、包合时间、包合温度的RPN均大于10，为高风险参数（表8）。同时，结合单因素考察结果，本研究最终选择包合时间、包合温度、β-CD与挥发油比例进行Box-Burman响应曲面设计。

表8　工艺参数的筛选结果

Tab 8　Screening results of process parameters

因素	S	O	D	RPN	备注
转速	4	2	1	8	不同转速（100、200、300、400、500 r/min）的影响不明显
β-CD与挥发油比例	4	2	2	16	不同β-CD与挥发油比例（6∶1、8∶1、10∶1、12∶1、14∶1）的影响明显
包合时间	4	3	1	12	不同包合时间（0.5、1、2、3、4 h）的影响明显
包合温度	4	3	1	12	不同包合温度（20、30、40、50、60 ℃）的影响明显

2.7　Box-Burman响应曲面设计优化包合工艺

基于QbD理念，通过分析包合过程中的风险因素，筛选关键工艺参数，并根据包合工艺特点确定关键质量属性；同时，在单因素实验的基础上，结合相关文献[13－15]，采用Box-Burman响应曲面设计优化感冒清热颗粒挥发油包合工艺，建立包合工艺设计空间。

2.7.1　Box-Burman设计　以包合温度（*A*）、β-CD与挥发油比例（*B*）、包合时间（*C*）为因素，综合得分（*Y*）为响应值，采用Design-Expert 8.0软件进行3因素3水平设计。感冒清热颗粒挥发油包合工艺的因素与水平见表9，实验设计方案与结果见表10。

表9　感冒清热颗粒挥发油包合工艺的因素与水平

Tab 9　Factors and levels of volatile oil inclusion technology of Ganmao qingre granules

水平	*A*，℃	*B*，g/mL	*C*，h
－1	30	6∶1	0.50
0	45	8∶1	1.25
1	60	10∶1	2.00

表10　感冒清热颗粒挥发油包合工艺Box-Burman设计方案与结果

Tab 10　Box-Burman design plan and results of volatile oil inclusion technology of Ganmao qingre granules

试验号	*A*，℃	*B*，g/mL	*C*，h	综合评分，分
1	－1	－1	0	73.27
2	1	－1	0	56.32
3	－1	1	0	81.10
4	1	1	0	66.84
5	－1	0	－1	69.69
6	1	0	－1	59.07
7	－1	0	1	82.68
8	1	0	1	58.15
9	0	－1	－1	65.03
10	0	1	－1	75.69
11	0	－1	1	68.98
12	0	1	1	98.82
13	0	0	0	76.86
14	0	0	0	73.10
15	0	0	0	71.16
16	0	0	0	76.77
17	0	0	0	77.50

2.7.2　模型拟合与方差分析　采用Design-Expert 8.0软件建立回归方程，并采用逐步回归法消除各因素相互交互的影响。结果，得二次多元方程为 $Y=9.47+2.873A-0.318B-5.138C-0.309AC+3.197BC-0.034A^2$，对其进行方差分析，结果见表11。由表11可见，该模型显著性检验的 P 值小于0.000 1，失拟误差项的 P 值为0.212 3（>0.05），表示失拟误差不显著，回归方程在整个回归区域内拟合情况良好，即模型可接受；此外，该模型的校正系数（R^2）为91.68%，修正相关系数（R_{adj}^2）为89.90%，提示模型的数学拟合程度较高，可以用该结果来评价响应值与因素之间的相关性。因素 A、因素 B 的 P 值小于0.001，同时因素 A^2、因素 C 的 P 值小于0.01，表明包合温度、β-CD与挥发油比例以及包合时间对挥发油包合的效果均显著；因素 AC 的 P 值大于0.05，表明包合温度与包合时间的交互作用对包合效果影响较小；因素 BC 的 P 值小于0.05，表明β-CD与挥发油比例、包合时间对包合效果有一定的交互影响。

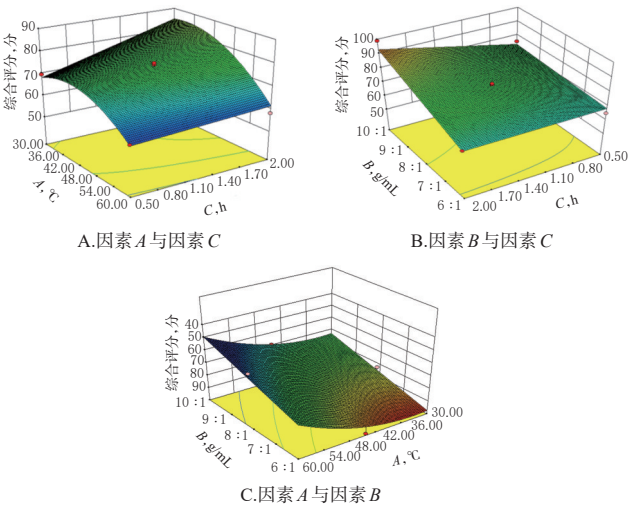
表11　感冒清热颗粒挥发油包合工艺的方差分析结果

Tab 11　Results of variance analysis of volatile oil inclusion technology of Ganmao qingre granules

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	1 559.93	6	259.99	18.35	<0.000 1
A	550.46	1	550.46	38.86	<0.000 1
B	432.92	1	432.92	30.56	<0.001
C	191.59	1	191.59	13.53	<0.01
AC	48.37	1	48.37	3.42	0.094 4
BC	91.97	1	91.97	6.49	0.029 0
A^2	244.63	1	244.63	17.27	<0.01
残差	141.65	10	14.16		
失拟误差	110.48	6	18.41	2.36	0.212 3
总和	1 701.58	16			

2.7.3　响应曲面分析　采用Design-Expert 8.0软件绘制三维响应面图，结果见图2。由图2可见，包合温度、β-CD与挥发油比例以及包合时间两两交互对应的曲面较陡，表明三者对感冒清热颗粒挥发油包合效果的影响显著：随着包合温度增高，包合效果越好，当到达一定温度后再增加温度，包合效果较差；随着β-CD与挥发油比例增加，挥发油包合效果逐渐变好至最优；随着包合时间增加，包合效果越好至最优[图A中固定β-CD与挥发油比例为8∶1（g/mL），图B中固定包合温度为45 ℃，图C中固定时间为1.25 h]。

2.7.4　设计空间的优化　在设定的参数范围内，寻找响应值>80分的因素构成设计空间，然而由于模型的预测性与真实值存在误差，从而导致设计空间的边界具有一定风险性[28-29]。因此为减小误差，本研究采用Design-Expert 8.0软件，在确定设计空间内加入95%置信区间进行优化，结果见图3。由图3A可见，该设计空间为

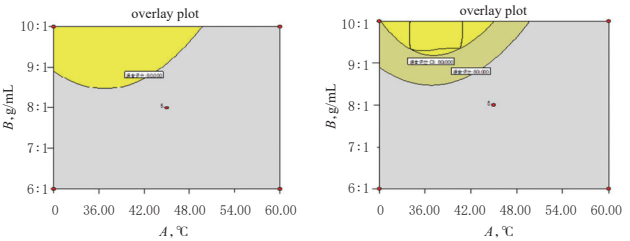


A.因素 A 与因素 C　B.因素 B 与因素 C　C.因素 A 与因素 B

图2　各影响因素交互作用对感冒清热颗粒挥发油包合效果的响应面图

Fig 2　Response surface charts of influential factor interaction on the inclusion of volatile oil of Ganmao qingre granules

包合温度30～48 ℃，β-CD与挥发油比例9∶1～10∶1（g/mL），包合时间1.5～2 h，其边界具有一定的风险性，边界参数下的响应值可能不能满足响应值要求（>80分）[10,30]。由图3B可知，经加入95%置信区间优化后的设计空间（即亮黄色部分）具有不规则性，为实际方便操作，在设计空间内勾画出矩形以方便操作，最终得到操作空间为包合温度35～40 ℃，包合时间1.8～2 h，β-CD与挥发油比例9.5∶1～10∶1（g/mL），此操作空间内全部实验点均符合响应值>80分的要求[10,30]。



A.未加入95%置信区间　B.加入95%置信区间

图3　感冒清热颗粒挥发油包合工艺的设计空间图

Fig 3　Design space charts of volatile oil inclusion technology of Ganmao qingre granules

2.7.5　验证实验　在“2.7.4”项下最终得到的操作空间内任意选取3个实验点，按“2.5.3”项下饱和水溶液法制备感冒清热颗粒挥发油包合物，每个实验点平行操作3次，取平均值。结果，挥发油包合率均大于62%，包合物收得率均大于75%，综合得分均大于80分，提示所得操作空间即为最优工艺参数范围，详见表12。

2.8　包合物的初步稳定性考察

在上述最优工艺参数范围内任意选取2个实验点，分别按“2.5.3”项下饱和水溶液法制备感冒清热颗粒挥

表12　感冒清热颗粒挥发油包合最优工艺参数的验证实验结果

Tab 12　Results of validation tests for the optimal inclusion technology parameters of volatile oil of Ganmao qingre granules

序号	A,℃	B,g/mL	C,h	挥发油包合率,%	包合物收得率,%	综合得分,分
1	35	9.5∶1	1.8	62.25	75.75	89.1
2	37	9.8∶1	1.9	65.54	76.21	92.6
3	40	10∶1	2	70.02	79.43	98.2

发油包合物，共5份，置于广口瓶中，放入温度60 ℃、湿度75%的稳定性试验箱中，分别于第0、1、3、5、7天取上述包合物5.0 g，精密称定，置于500 mL烧瓶中，按“2.3”项下“加入适量玻璃珠……提取3 h后静置30 min”操作，并按前述方法计算挥发油包合率、包合物收得率以及综合评分。结果，第0～7天，各样品的挥发油包合率、包合物收得率以及综合评分均无明显变化，7 d之内上述各项指标差异均在5%以内，表明在此工艺条件下，所得感冒清热颗粒挥发油包合物的初步稳定性良好，详见表13。

表13　感冒清热颗粒挥发油包合物的初步稳定性试验结果

Tab 13　Preliminary stability test results of volatile oil inclusion complex of Ganmao qingre granules

指标	实验点1					实验点2				
	37 ℃,9.8∶1(g/mL),1.9 h					40 ℃,10∶1(g/mL),2 h				
	第0天	第1天	第3天	第5天	第7天	第0天	第1天	第3天	第5天	第7天
挥发油包合率,%	66.3	66.0	65.4	65.1	64.2	71.2	70.7	70.2	69.5	69.2
包合物收得率,%	75.9	75.4	75.3	75.0	74.7	79.3	79.0	78.4	78.0	77.5
综合评分,分	93.3	92.7	92.1	91.7	90.7	99.3	98.7	98.0	97.1	96.5

3　讨论

随着管理学科的发展，药品质量管理理念不断变化、提升，经历了从质量源于检验（QbT）至质量源于生产过程（QbP）再到QbD的阶段[31]。关键质量属性的确认是保证产品质量均一、稳定的基本条件[10]。目前，我国中成药生产过程中工艺参数的控制不尽合理，如关键工艺参数的波动对关键质量属性的影响，以及关键工艺参数可接受波动范围的确认。针对这一问题，学者提出了设计空间，并证明其可用于确定目标产品质量关键工艺参数多维度的组合和交互作用的范围[32]。在设计空间内，认为关键工艺参数的变化并不显著影响产品的关键质量属性，在生产监管上可不视为工艺变更。因此，本研究基于感冒清热颗粒挥发油关键质量属性开展关键工艺参数的设计空间研究具有重要的科学意义，对中药生产过程中的质量控制具有实用价值。

单因素实验结果显示，包合转速对感冒清热颗粒挥发油包合工艺无明显影响；随着包合温度升高，挥发油包合率、综合评分呈先升高后降低趋势，其原因可能为挥发油具有易挥发、不稳定等理化性质，当温度较高时，挥发油在未完全被包合进β-CD前会有部分挥发[32]。虽然20 ℃与30 ℃的包合效果接近，但由于20 ℃常温状态较难控制，需要较长时间才能到达，故选择包合温度为30～60 ℃。随着β-CD与挥发油比例增加，挥发油包合率呈先升高后降低趋势，当β-CD与挥发油比例为10∶1（g/mL）时，挥发油包合率及综合评分最高，虽然包合物收得率不是最高，但与最高值相差不大，同时考虑到挥发油包合率的权重系数为0.7，大于包合物收得率的权重系数0.3，故选择β-CD与挥发油比例为6∶1～10∶1（g/mL）。随着包合时间的增加，挥发油包合率、包合物收得率、综合评分逐渐增加，当到达2 h时不再增加，故选择包合时间为0.5～2 h。

本研究采用Box-Burman响应曲面法对感冒清热颗粒挥发油包合工艺进行优化，结果显示，包合温度、β-CD与挥发油比例、包合时间等3个因素的独立效应对综合评分影响显著；方差分析结果显示，包合时间、β-CD与挥发油比例对综合评分具有交互影响。在参考相关文献[10,24]的基础上，结合生产经验将目标范围设置为响应值＞80分，建立设计空间并在此基础上加入95%置信区间进行优化，得到最优工艺参数范围为包合温度35～40 ℃，β-CD与挥发油比例9.5∶1～10∶1（g/mL），包合时间1.8～2 h。经3次实验验证，所得挥发油包合率均大于62%，包合物收得率均大于75%，综合得分均大于80分，表明所得工艺可行。

初步稳定性结果显示，第0～7天，各样品的包合物收得率、挥发油包合率及综合评分均无明显变化，7 d之内上述各项指标差异均在5%以内，表明所得挥发油包合物的稳定性良好。但由于时间限制，故未能进行加速及长期稳定性实验，有待后续完善。

综上所述，所得最优包合工艺可行，所得包合物稳定性良好。

参考文献

[1] 姚梅悦，马奇，周长征，等.感冒清热颗粒体外抗病毒有效成分研究[J].药学研究，2013，32(1)：1-3.

[2] 王艳艳，刘长河，葛文静，等.感冒清热颗粒中挥发油的β-环糊精包合工艺比较及稳定性研究[J].上海医药，2020，41(17)：65-70.

[3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典：一部[S]. 2020年版.北京：中国医药科技出版社，2020：1796.

[4] 田菁.感冒清热颗粒质量控制方法和活性研究[D].沈阳：沈阳药科大学，2001.

[5] 宋磊. JG喷雾剂的药学研究[D].南京：南京中医药大学，2007.

[6] 林瑞民，田菁，李发美. GC-MS鉴别感冒清热颗粒中荆

芥穗和薄荷[J].沈阳药科大学学报,2002,19(3):186-188.
[7] 杨敏.川薄油的部分药效学及机理研究[D].成都:成都中医药大学,2006.
[8] 魏长玲,郭宝林.紫苏叶挥发油的不同化学类型及研究进展[J].中国中药杂志,2015,40(15):2937-2944.
[9] 尹娴,范亚,吴丽,等.鼻渊灵颗粒中挥发油提取及包合工艺优选[J].中国医院药学杂志,2017,37(11):1043-1046.
[10] 张磊.基于质量源于设计的丹参提取和醇沉工艺优化及控制方法研究[D].杭州:浙江大学,2013.
[11] 徐冰,史新元,吴志生,等.论中药质量源于设计[J].中国中药杂志,2017,42(6):1105-1106.
[12] 戴胜冰,徐冰,林兆洲,等.中药质量源于设计方法和应用:产品和工艺设计[J].世界中医药,2018,13(3):550.
[13] 杨丽,黄兴国,路志正,等. QbD 理念的国医大师路志正名方研究:美颜舒气方提取工艺及颗粒成型工艺优化研究[J].中国中药杂志,2019,44(20): 4336-4341.
[14] 黄兴国,张静,杜文慧,等. QbD 理念的经典名方研究:四物汤加减方的提取工艺优化研究[J].中国中药杂志,2019,44(20):4329-4335.
[15] 罗赣,徐冰,孙飞,等.基于QbD 理念的微晶纤维素高速剪切湿法制粒过程实验研究[J].药学学报,2015,50(3):355-359.
[16] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S]. 2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020: 233.
[17] 相聪坤,张静宜,李佳佳,等.白术、桂枝挥发油β-环糊精包合工艺研究及其包合物评价[J].天然产物研究与开发,2017(29):46-51.
[18] 王美玲,倪健,郭琳,等.川芎、当归双提法提取工艺及挥发油包合工艺研究[J].中国中医药信息杂志,2018,25(11):68-72.
[19] 王光函,姜鸿,刘晶,等.基于多指标综合评分法优选化胃舒颗粒挥发油包合工艺[J].中草药,2020,51(6):1537-1541.
[20] 郝晶晶,李海亮,龚慕辛.挥发油环糊精包合技术的研究进展及存在问题分析[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(2):352-356.
[21] 丁瑞雪,何燕,田香,等.基于质量源于设计理念的地格达-4 味汤提取工艺研究[J].中国中药杂志,2019,44(13):2799-2805.
[22] 程建峰,刘琳娜,唐永红,等.正交实验法优选感冒清热颗粒的制备工艺[J].西北药学杂志,2011,26(6):451-457.
[23] 王琪,胡佳亮,张金良,等.薄荷-荆芥穗挥发油羟丙基-β-环糊精包合物的制备[J].中成药,2020,42(12):3122-3128.
[24] 李双双,李希,邓谦,等.椒香温中止痛方挥发油β-环糊精包合工艺优化及其包合物表征[J].中成药,2020,42(12):3128-3134.
[25] 韩天燕,付亭亭,费文玲,等.基于质量源于设计理念的仙曲片薄膜包衣工艺研究[J].中草药,2018,49(11):2564-2570.
[26] 徐玉玲,谢敏,梁悦,等.基于 QbD 理念优选川明参口含片的制备工艺[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(17):14-19.
[27] 王星星,张艳军,朱秀辉,等.基于质量源于设计理念优化参蒲益炎颗粒喷雾干燥工艺[J].中草药,2019,50(6):1334-1340.
[28] 吴志生,石涵芬,曾敬其,等. QBD理念的名医名方创研:脱敏定喘颗粒工艺优化研究[J].中国中药杂志,2019,44(20):4322-4328.
[29] 吕素方,龚明,罗晓健,等.基于QbD理念的青钱柳复方提取液喷雾干燥工艺的优化实验[J].中国新药杂志,2018,27(12):1410-1416.
[30] 陈柽,李冰韶,王永洁,等.设计空间法优化红花温浸提取工艺[J].中草药,2018,49(19):4544-4551.
[31] 龚行楚,陈藤,瞿海斌.基于质量源于设计理念的中成药二次开发研究进展[J].中国中药杂志,2017,42(6):1031-1036.
[32] 阳长明,王建新.论中药复方制剂质量源于设计[J].中国医药工业杂志,2016,47(9):1211-1215.

(收稿日期:2021-02-03 修回日期:2021-05-28)
(编辑:陈 宏)

《中国药房》杂志——中国科技论文统计源期刊,欢迎投稿、订阅