

基于混料设计的经典名方当归补血汤喷雾干燥工艺研究

高武锋¹, 周湘杰¹, 庄欣雅¹, 卞海雯¹, 张佳¹, 张云羽¹, 汤志锋¹, 谢辉¹, 陆兔林¹, 严国俊^{1,2*}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

2. 江苏省中医外用开发与应用工程研究中心, 江苏 南京 210023

摘要: **目的** 采用混料设计的方法, 对当归补血汤 (Danggui Buxue Decoction, DBD) 水提液进行喷雾干燥工艺研究, 重点考察阿魏酸、藁本内酯等热不稳定性成分的保留率, 优化喷雾干燥工艺。**方法** 以 DBD 喷干粉得率、吸湿性、流动性及指标性成分藁本内酯的含量为评价指标, 对辅料进行筛选, 同时基于混料设计对筛选辅料配比进行优化; 在此基础上以喷干粉得率、阿魏酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、藁本内酯含量及保留率, 为指标进一步优化喷雾干燥工艺参数。**结果** 筛选辅料为羟丙基- β -环糊精、微粉硅胶和微晶纤维素, 分别建立喷干粉得率、吸湿率、休止角与筛选辅料配比的回归方程, 并优选辅料配比为干膏-羟丙基- β -环糊精-微粉硅胶-微晶纤维素 0.500 : 0.226 : 0.222 : 0.052; 优选 DBD 喷干工艺参数为进风温度 170 °C, 空气流速 37 m³/h, 雾化压力 0.061 MPa, 此条件下喷干粉得率为 58.92%, 阿魏酸保留率为 50.26%, 毛蕊异黄酮葡萄糖苷保留率为 54.98%, 藁本内酯保留率为 27.74%。**结论** 优选的辅料及其配比能较好提高喷雾干燥产率, 改善喷干粉性质, 优选的工艺条件较好保留阿魏酸、藁本内酯等热不稳定性成分, 可为后续 DBD 制剂研究打下基础, 同时为其他中药复方提取液喷雾干燥研究提供参考。

关键词: 喷雾干燥; 混料设计; 经典名方; 当归补血汤; 热不稳定性成分; 吸湿性; 流动性; 藁本内酯; 阿魏酸; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 休止角

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2023)07-2086-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.07.008

Research on spray drying process of Danggui Buxue Decoction based on mixture design

GAO Wu-feng¹, ZHOU Xiang-jie¹, ZHUANG Xin-ya¹, BIAN Hai-wen¹, ZHANG Jia¹, ZHANG Yun-yu¹, TANG Zhi-feng¹, XIE Hui¹, LU Tu-lin¹, YAN Guo-jun^{1,2}

1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Jiangsu Provincial Engineering Research Center of Traditional Chinese Medicine External Medication Development and Application, Nanjing 210023, China

Abstract: **Objective** To study the spray drying process of the water extract of Danggui Buxue Decoction (当归补血汤, DBD) by using the method of mixture design, and optimize the spray drying process by focusing on the retention rate of ferulic acid, ligustilide and other thermally unstable ingredients. **Methods** The dry powder yield, hygroscopicity, fluidity and the content of index component ligustilide of DBD were used as evaluation indexes to screen the excipients, and the ratio of the screened excipients was optimized based on mixture design. On this basis, the spray drying process parameters were further optimized with the yield of spray dried powder, ferulic acid, calycosin-7-O- β -D-glucoside, ligustilide content and retention rate as indicators. **Results** The screened excipients were hydroxypropyl- β -cyclodextrin, micropowder silica gel and microcrystalline cellulose. The regression equations of spray-drying powder yield, moisture absorption rate, repose angle and the ratio of the screened excipients were established, and the preferred ratio of excipients was 0.500 : 0.226 : 0.222 : 0.052 for dry paste-hydroxypropyl- β -cyclodextrin-micronized silica gel-micronized cellulose. The optimal spray-drying process parameters of DBD were air inlet temperature of 170 °C, air flow rate of

收稿日期: 2022-09-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82074004); 国家自然科学基金资助项目 (81773910); 国家重点研发计划项目 (2019YFC1710603); 2020 年度江苏省高校“青蓝工程”资助项目

作者简介: 高武锋 (1996—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药药剂学。Tel: 13623590034 E-mail: 13623590034@163.com

*通信作者: 严国俊, 教授, 博士生导师, 主要从事中药饮片及制剂品质传递过程及评价方法研究。E-mail: yanguojun@njucm.edu.cn

37 m³/h, and the atomization under the pressure of 0.061 MPa. Under such conditions, the yield of spray-dried powder was 58.92%, the retention rate of ferulic acid was 50.26%, the retention rate of calycosin-7-O- β -D-glucoside was 54.98%, and the retention rate of ligustilide was 27.74%. **Conclusion** The optimized excipients and their proportions in this study can better improve the yield of spray drying, improve the properties of spray-dried powder. The optimized process conditions can better retain the thermally unstable components such as ferulic acid and ligustilide, which can lay the foundation for the subsequent study of DBD preparations, and provide a reference for the study of spray drying of other traditional Chinese medicine compound extracts.

Key words: spray drying; mixture design; traditional Chinese medicine prescriptions; Danggui Buxue Decoction; thermally unstable components; hygroscopicity; mobility; ligustilide; ferulic acid; calycosin-7-O- β -D-glucoside; angle of repose

喷雾干燥技术是干燥领域内研究的热点, 该技术可将中药提取液直接制成粉末或颗粒, 缩短时间, 提高效率, 在制备中药粉体、中药提取物的改性、中药微囊等方面得到了广泛应用^[1]。与真空干燥、微波干燥、冷冻干燥相比, 喷雾干燥所得产品的含水量低、粉末均一性好, 且耗能小, 最为符合工业大生产条件, 是中药提取液的首选干燥方式^[2-4]。中药成分复杂多样, 含有多糖的药材如黄芪, 其浸膏粉具有热熔性^[5-6], 同时含有热不稳定性成分和挥发性成分的药材如当归, 含有阿魏酸和藁本内酯, 受热极易损失。喷雾干燥对于此类复杂中药成分的提取液干燥有着较好的适宜性。

当归补血汤 (Danggui Buxue Decoction, DBD) 出自金代李东垣编撰的《内外伤辨惑论·暑伤胃气论》^[7], 方中黄芪大补脾肺之气, 重在补气活血, 配以当归养血合营, 使阳生阴长, 气旺血生, 气血同治^[8-9], 现代临床主要用于治疗贫血、调节免疫功能、保护心脑血管系统、抗肿瘤等^[10-11]。黄芪的主要化学成分为多糖、皂苷类、黄酮类及氨基酸物质等, 具有抗肿瘤、保护心脑血管、提高免疫功能等功效^[12]。当归中 2 大类主要活性成分为挥发油和有机酸, 具有补血活血、润肠通便、调经止痛的功效, 研究表明, 藁本内酯和阿魏酸是这 2 大类成分中的代表性化合物^[13-17]。但由于含挥发性成分中药复方制剂工业生产中受制备工艺、储存环境等外界因素影响, 工业生产中难以富集, 导致复方制剂中含量较低, 质量标准更加难以监控^[18-19]。

本研究以经典名方 DBD 为研究对象, 采用喷雾干燥技术, 以 DBD 喷干粉得率、吸湿性、流动性为指标对加入辅料进行筛选, 并基于混料设计对筛选辅料配比进行优化; 在此基础上测定喷干粉中阿魏酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、藁本内酯含量, 以喷干粉得率及 3 个指标成分的保留率为指标进一步优化喷雾干燥工艺参数, 以期对中药复方提取液喷雾干燥研究提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters e2695 型高效液相色谱仪, 配备四元泵、柱温箱、自动进样器和 Empower 工作站; Waters e2998 型紫外检测器, 美国 Waters 公司; AIIIEGRAX-30R400Y 型高速冷冻离心机, 北京普华量宇科技有限公司; MZY-U20V 型超纯水机, 南京妙之仪电子科技有限公司; LW-015 小型喷雾干燥机, 上海利闻科学仪器有限公司; FA1004 型分析天平, 舜宇恒平仪器; FA1104N 型电子分析天平, 上海菁海仪器有限公司; PT-124/85S 型电子分析天平, 华志 (福建) 电子科技有限公司; HJ-4A 型数显恒温磁力搅拌器, 江苏金怡仪器科技有限公司; HWS-24 型电热恒温水浴锅, 上海一恒科学仪器有限公司; 调温电热器, 南通市通州申通电热器厂; DHG-9140A 型电热恒温鼓风干燥箱, 南京先欧仪器制造有限公司; X025-13DTD 型超声波清洗机, 南京先欧仪器制造有限公司; HK-168 型台式中药切片机, 广州市旭朗机械设备有限公司。

1.2 试药

对照品阿魏酸 (批号 110773-201614, 质量分数 99.4%)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷 (批号 111920-201606, 质量分数 96.8%) 均购自中国食品药品检定研究院; 对照品藁本内酯 (批号 RFS-G01001909024, 质量分数 HPLC $\geq$ 98%), 成都瑞芬思生物科技有限公司。 β -环糊精 (β -CD, 批号 Z02J12Y136023)、羟丙基- β -环糊精 (HPCD, 批号 Z13N11Y130870)、微粉硅胶 (批号 J20HS174749)、微晶纤维素 (MCC, 批号 A05GS144104)、乳糖 (批号 J25M9R62184)、甘露醇 (批号 J30O11R129404)、糊精 (批号 T02D112133024), 均购自上海源叶生物科技有限公司。冰乙酸 (批号 D2113043, 色谱纯, 质量分数 99.9%), 南通飞宇生物科技有限公司; 甲醇 (批号 21035090)、乙腈 (批号 22045168), 色谱纯, 质量分数 99.9%, 安徽天地高纯溶剂有限公司;

其他试剂均为分析纯；实验用水为双蒸水。

1.3 药材

黄芪和当归药材均购于临洮县新征程农业专业合作社，产自甘肃岷县，经南京中医药大学中药鉴定学教研室周婧副教授鉴定，分别为豆科黄芪属植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根、伞形科当归属植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根，均符合《中国药典》2020 年版一部相关项下规定。黄芪、当归药材来源及批号信息见表 1。

表 1 DBD 制备用药材的来源和批号信息

Table 1 Origin information of DBD

药材	产地	批号
黄芪	甘肃岷县寺沟乡八步村	HQYC-001~HQYC-003
当归	甘肃岷县梅川镇梅川村	DGYC-001~DGYC-003

2 方法与结果

2.1 DBD 喷干粉的制备

根据前期研究建立的饮片炮制方法，黄芪药材去除杂质后，大小分开，洗净，润透，切成 2 mm 左右厚片，干燥，得黄芪饮片；当归药材除去杂质后，用清水润透，切成 1~2 mm 的薄片，置烘箱 45 °C 干燥 3 h，取出放冷后加入黄酒闷润（每 100 千克当归饮片用黄酒 20 kg），于 50 °C 干燥 2 h，得酒洗当归饮片。

称取黄芪饮片 40 g、酒洗当归饮片 8 g，共 48 g，采用水煎煮提取，料液比 1:8，第 1 次煎煮前浸泡 30 min，煎煮 3 次，每次 30 min，滤过去除药渣，合并煎煮液，定容至 2000 mL。精密量取定容后煎煮液 200 mL，以参数为进风温度 160 °C；泵速 30 Hz；雾化压力 0.05 MPa；进料速度 12.5 mL/min 喷干工艺进行喷干，即得喷干粉。

2.2 指标成分含量测定方法的建立

2.2.1 对照品溶液的制备 称取阿魏酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、藜本内酯对照品适量，精密称定，加甲醇制成质量浓度依次为 28.8、45.36、117.16 μg/mL 的混合对照品溶液，即得。

2.2.2 供试品溶液的制备

(1) DBD: 称取黄芪饮片 40 g、酒洗当归饮片 8 g，共 48 g，采用水煎煮提取，料液比 1:8，第 1 次煎煮前浸泡 30 min，煎煮 3 次，每次 30 min，滤过去除药渣，合并煎煮液。吸取 2 mL 水煎液，0.22 μm 微孔滤膜滤过，即得。

(2) DBD 喷干粉: 取“2.1”项下制得的喷干粉约 0.1 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 70% 甲醇 10 mL，密塞，称定质量，超声提取 30 min，放冷，再称定质量，用 70% 甲醇补足减失的质量，摇匀，取上清液经 0.22 μm 的微孔滤膜滤过，即得。

2.2.3 色谱条件 Hadera C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱；流动相乙腈-0.2% 冰乙酸水溶液，梯度洗脱：0~16 min, 15%~23% 乙腈；16~20 min, 23%~28% 乙腈；20~25 min, 28%~30% 乙腈；25~30 min, 30% 乙腈；30~35 min, 30%~65% 乙腈；35~45 min, 65%~95% 乙腈；柱温 30 °C；检测波长 302 nm；体积流量 1.0 mL/min；进样体积 20 μL。结果见图 1。

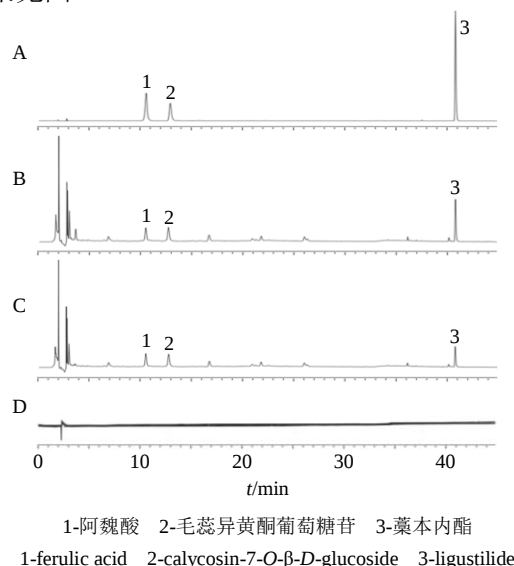


图 1 混合对照品 (A)、DBD 样品 (B)、DBD 喷干粉样品 (C) 和空白试剂 (D) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of reference substances (A), DBD sample (B), DBD spray drying sample (C) and blank reagent (D)

2.2.4 线性关系考察 精密量取按“2.2.1”项下方法制备的各对照品溶液适量，用甲醇稀释成 6 种不同质量浓度的系列对照品溶液。按“2.2.3”项下色谱条件进样分析，记录峰面积。以质量浓度为横坐标 (X)，峰面积为纵坐标 (Y)，进行线性回归，绘制标准曲线，得回归方程分别为阿魏酸 $Y=24\,597X-1\,823.9$, $R^2=0.997\,6$, 线性范围 5.760~28.800 μg/mL；毛蕊异黄酮葡萄糖苷 $Y=122\,841X-23\,017$, $R^2=0.998\,5$, 线性范围 9.072~45.360 μg/mL；藜本内酯 $Y=45\,513X+378\,899$, $R^2=0.997\,4$, 线性范围 11.716~117.160 μg/mL。

2.2.5 精密度试验 取“2.1”项下制备的喷干粉，按“2.2.2”项下要求制备喷干粉供试品溶液，按

“2.2.3”项下色谱条件连续进样 6 次,记录各色谱峰峰面积,计算各供试品溶液阿魏酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷及藁本内酯峰面积的 RSD 分别为 1.0%、2.0%、1.0%。

2.2.6 重复性试验 取“2.1”项下制备的喷干粉,平行制备 6 份喷干粉供试品溶液,按“2.2.3”项下的色谱条件依次进样,记录各色谱峰峰面积,计算各供试品溶液阿魏酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷及藁本内酯峰面积的 RSD 分别为 1.0%、1.0%、3.0%。

2.2.7 稳定性试验 取“2.1”项下制得的 DBD 喷干粉,按“2.2.2”项下要求制备喷干粉供试品溶液,分别于供试品溶液制备后 0、2、4、6、8、12、24 h 按“2.2.3”项下色谱条件测定,记录各色谱峰峰面积,计算各供试品溶液阿魏酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷及藁本内酯峰面积 DBD 喷干粉,根据喷干粉中阿魏酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷及藁本内酯的含量按 1:1 的比例添加各对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别进样,记录峰面积,计算含量及加样回收率,结果阿魏酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷和藁本内酯的平均加样回收率分别为 102.86%、102.02%、102.14%,RSD 分别为 2.0%、3.0%、4.0%。

结果表明,DBD 喷干粉中阿魏酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷及藁本内酯含量测定方法专属性、线性、仪器精密度、方法重复性、样品稳定性和加样回收率均良好,本实验所建立的方法科学可行。

2.3 辅料种类的筛选

2.3.1 单一辅料的筛选 DBD 中挥发性代表成分藁本内酯具有较高的含量及生物活性,是评价当归挥发油质量优劣的重要指标。本研究在尽可能保留挥发性成分的基础上研究经典名方 DBD 制剂干燥工艺,以期含挥发性成分中药在复方制剂工艺设计与质量控制提供参考。前期预实验以黏壁现象程度为评价指标初步确定喷雾干燥工艺为进风温度 160 ℃;泵速 30 Hz;雾化压力 0.05 MPa;进料速度 12.5 mL/min。分别称取 0.5 g β-环糊精(β-CD)、HPCD、微粉硅胶、微晶纤维素(MCC)、乳糖、甘露醇、糊精于 200 mL DBD 水提液中,于常温搅拌 30 min,放置过夜,喷干,收集粉末,计算得率。并考察 β-CD 与 HPCD 对指标性成分藁本内酯含量的影响,结果见表 2。

取 105 ℃烘干至恒定质量的蒸发皿,记录质量(m_1);精密量取 25 mL 水提液于蒸发皿中,水浴蒸干,105 ℃烘干至恒定质量,记录质量(m_2),则

表 2 单一辅料对 DBD 喷雾干燥粉末得率及藁本内酯含量的影响

Table 2 Effect of single excipient on yield of spray dried powder and content of ligustilide in DBD

辅料种类	喷干粉 得率/%	藁本内酯/ (mg·g ⁻¹)	辅料种类	喷干粉 得率/%	藁本内酯/ (mg·g ⁻¹)
无辅料	29.08	0.043	MCC	—	—
β-环糊精	38.41	0.344	乳糖	—	—
HPCD	42.95	0.405	甘露醇	—	—
微粉硅胶	39.26	—	糊精	22.69	—

“—”无法测定

“—”unable to measure

固含量=(m_2-m_1)/25。根据公式计算喷干粉得率。

喷干粉得率=喷干粉质量/(喷干液固含量×喷干液体积+喷干粉质量)

结果表明,在考察的辅料中微粉硅胶、β-CD、HPCD 能显著增加喷干粉得率,对热熔型黏壁改善作用显著。与不加辅料和加入 β-CD 相比,HPCD 对于指标性成分藁本内酯的保留效果更好,同时发现单一辅料喷雾干燥所得粉体易黏结,不利于后续制剂成型,需添加其他辅料进一步改善粉体性质。

2.3.2 混合辅料的筛选 基于单一辅料筛选对 DBD 喷雾干燥粉末得率及藁本内酯含量的影响试验结果,以 HPCD 和微粉硅胶辅料为基础,进行混合辅料的筛选。平行量取 6 份 200 mL DBD 水提液,按表 3 称取辅料于各提取液中,按“2.2.1”项下喷雾干燥工艺条件喷干,收集粉末,计算得率,结果见表 3。

(1) 吸湿性测定:取干燥玻璃称量瓶,实验前 1 d 置于底部盛有饱和氯化钠的干燥器内,精密称定质量(m_1);取“2.3.1”项下制备的各单一辅料 DBD 喷干粉,平铺于玻璃称量瓶中,厚度约 1 mm,精密称定质量(m_2),放回干燥器;分别于 2、4、6、8、10、12、24、48 h 后称定总质量(m_3),计算各时间段吸湿率,绘制吸湿曲线,见图 2。

吸湿率=(m_3-m_2)/(m_2-m_1)

(2) 休止角测定:用固定漏斗法,将两相同漏斗串联固定于铁架台上,于底下放置一圆形培养皿,使其圆心对准漏斗口且相距 2 cm;取适量喷干粉从漏斗上倒下至流出粉末形成圆锥体,用三角尺测量高(h)及半径(r),计算休止角,结果见表 3。

休止角=arctan(h/r)

结果表明,混合辅料 HPCD+微粉硅胶+MCC

表 3 混合辅料对 DBD 喷雾干燥效果及藁本内酯含量的影响

Table 3 Effect of mixed excipients on spray drying effect and content of ligustilide in DBD

辅料种类	辅料配比/g	得率/%	吸湿性/%	休止角/(°)	藁本内酯/(mg·g ⁻¹)
HPCD+微粉硅胶+甘露醇	1+1+1	44.23	21.87	38.66	0.355
HPCD+微粉硅胶+MCC	1+1+1	57.90	21.54	39.69	0.521
HPCD+微粉硅胶+乳糖	1+1+1	55.59	24.09	45.00	0.588
HPCD+微粉硅胶+糊精	1+1+1	53.41	21.76	42.30	0.526
HPCD+微粉硅胶+β-环糊精	1+1+1	57.70	22.23	43.53	0.719
HPCD+微粉硅胶	1.5+1.5	49.77	22.21	38.66	0.354
DBD 基准样品	—	—	—	—	0.327~0.608

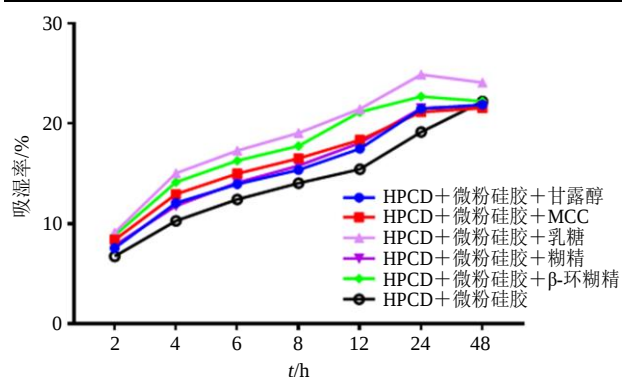


图 2 3 种辅料混合喷干粉吸湿曲线

Fig. 2 Hygroscopic curve of dry powder mixed with three excipients

所得喷干粉得率较高,吸湿率与休止角较小且粘壁现象显著改善。HPCD+微粉硅胶+β-CD 由于另加入了 β-CD,增大的挥发性成分藁本内酯的含量,基于此次结果,以 2 HPCD+微粉硅胶与 HPCD+微粉硅胶+β-CD 进一步考察 HPCD 与 β-CD 所得喷干粉理化性质的影响,结果见表 4。结果表明,通过增加 HPCD 的量可以提高藁本内酯的含量,因此选择混合辅料 HPCD+微粉硅胶+MCC 进行 D-optional 混料设计优化 DBD 喷雾干燥辅料配比。

2.4 混料设计

采用 D-optional 混料设计方法,以提取液固含量(干膏质量)与 3 种辅料的比例为考察因素,分别以喷干粉得率、48 h 吸湿率、休止角及藁本内酯表 4 HPCD 与 β-CD 对 DBD 喷雾干燥效果及藁本内酯含量的影响

Table 4 Effect of HPCD and β-CD on spray drying effect and content of ligustilide in DBD

辅料种类	得率/ %	吸湿性/ %	休止角/ (°)	藁本内酯/ (mg·g ⁻¹)
2 HPCD+微粉硅胶	54.70	15.51	42	0.516
HPCD+微粉硅胶+β-CD	55.46	18.60	45	0.498

含量为指标,利用 Design Expert12 软件的 Stat-Ease, Inc.数据分析插件,设定上、下限,结果见表 5,生成混料设计表,按表 6 称取 DBD 提取液及辅料,喷雾干燥工艺参数同“2.2.1”项下喷干工艺参数,喷干,收集喷干粉,测定各指标,结果见表 6。

表 5 混料设计上、下限

Table 5 Upper and lower limits of mixture design

限度	提取液固含量 (A)	HPCD (B)	微粉硅胶 (C)	MCC (D)
下限	0.5	0.05	0.05	0.05
上限	1.0	0.50	0.50	0.50

限制条件: A+B+C+D=1

limiting condition: A + B + C + D = 1

以得率为指标进行二次多项式回归,分析结果见表 7 及图 3、4,建立回归方程:得率=49.58 A+43.27 B+63.74 C+25.39 D-18.46 AC-67.93 BC+22.34 BD-14.11 CD-435.95 ABC+125.53 ABD+888.13 ACD-77.06 BCD。

方差分析结果如表 7 所示,其回归方程的模型 $P<0.0001$,表示其模型具有极显著性,失拟项 $P=0.1591>0.05$,表示失拟项对于误差并不显著,同时残差图、预测值与真实值图中点都均匀分布在直线周围,无特异点,说明该试验结果与其数据模型拟合较好,此模型可用来预测试验结果。模型决定系数 $R^2=0.9895$,校正决定系数 $R^2=0.9752$,说明此模型可解释所选因素 97.52%的试验数据变化。变异系数(CV)反应模型的置信度,其值越小表示模型置信度越高,本试验 CV 为 3.17%,说明其置信度较高,该模型可较好反应真实试验值。信噪比指能够被模型解释的信息与不能够被模型解释的信息之比,本实验中信噪比为 35.7614,信号充足,说明此模型可用于导航设计空间。

由辅料对比对得率影响 3D 图(A=0.505)可发现高得率区更加靠近 B 与 C,表明固定干膏量时

表 6 混料设计结果

Table 6 Results of mixture design

序号	A	B	C	D	喷干粉 得率/%	吸湿 率/%	休止 角/(°)	藁本内酯/ (mg·g ⁻¹)	序号	A	B	C	D	喷干粉 得率/%	吸湿 率/%	休止 角/(°)	藁本内酯/ (mg·g ⁻¹)
1	0.676	0.220	0.050	0.054	46.37	17.32	42.27	0.111	11	0.500	0.225	0.050	0.225	40.95	15.80	43.60	0.150
2	0.500	0.197	0.151	0.152	49.87	15.28	46.67	0.115	12	0.674	0.050	0.223	0.053	54.77	13.99	42.27	0.065
3	0.500	0.055	0.224	0.221	42.40	13.93	43.60	0.119	13	0.500	0.225	0.050	0.225	39.19	15.14	43.60	0.211
4	0.500	0.050	0.400	0.050	63.06	11.68	43.60	0.093	14	0.674	0.052	0.053	0.221	40.10	18.21	45.00	0.075
5	0.508	0.223	0.220	0.050	66.39	13.75	42.27	0.138	15	0.614	0.170	0.050	0.167	46.67	18.84	42.27	0.140
6	0.559	0.050	0.109	0.282	50.50	11.88	43.60	0.051	16	0.674	0.052	0.053	0.221	39.75	20.29	43.60	0.058
7	0.674	0.050	0.223	0.053	52.52	14.96	42.27	0.057	17	0.676	0.220	0.050	0.054	45.27	18.09	43.60	0.094
8	0.500	0.110	0.285	0.105	62.09	12.48	45.00	0.108	18	0.500	0.055	0.224	0.221	40.31	15.73	43.60	0.084
9	0.850	0.050	0.050	0.050	50.31	19.25	45.00	0.044	19	0.615	0.158	0.156	0.071	47.49	17.34	45.00	0.137
10	0.500	0.050	0.050	0.400	25.38	14.76	48.01	0.051	20	0.500	0.400	0.050	0.050	44.29	17.10	48.01	0.189

表 7 以得率为指标的混料回归模型显著性分析

Table 7 Significance analysis of mixed experimental regression model with yield as index

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性	方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	1 705.123 3	11	155.011 2	68.847 4	0.000 0	极显著	ABD	18.045 0	1	18.045 0	8.014 6	0.022 1	显著
混料回归	1 256.171 2	3	418.723 7	185.973 8	0.000 0	极显著	ACD	206.267 6	1	206.267 6	91.612 6	0.000 0	极显著
AC	22.649 4	1	22.649 4	10.059 6	0.013 2	显著	BCD	5.087 7	1	5.087 7	2.259 7	0.171 2	不显著
BC	170.657 4	1	170.657 4	75.796 5	0.000 0	极显著	残差	18.012 2	8	2.251 5			
BD	34.174 2	1	34.174 2	15.178 3	0.004 6	极显著	失拟项	11.081 8	3	3.693 9	2.665 0	0.159 1	不显著
CD	12.145 1	1	12.145 1	5.394 2	0.048 7	显著	纯误差	6.930 4	5	1.386 1			
ABC	122.976 7	1	122.976 7	54.619 4	0.000 1	极显著	总离差	1 723.135 5	19				

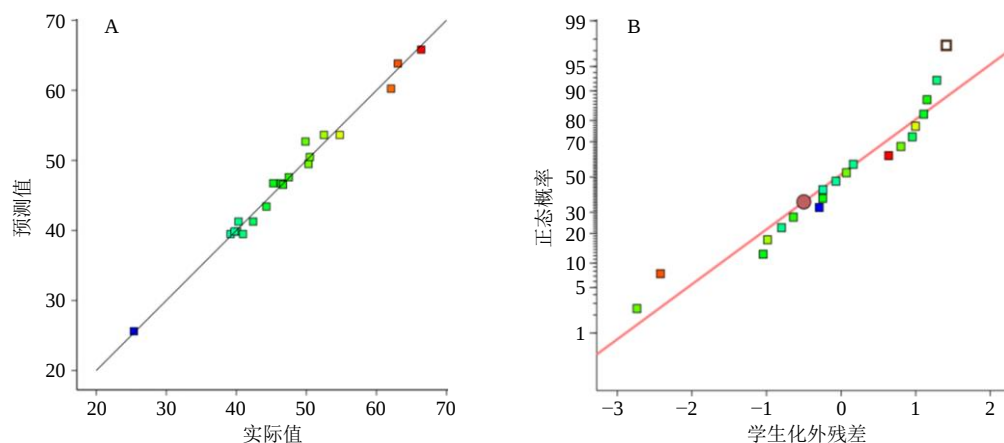


图 3 得率回归模型分析的预测值与实际值对比 (A) 和残差正态图 (B)

Fig. 3 Comparison between predicted value and actual value (A) and normal plot of residuals (B) of regression model of yield analysis

B 与 C (HPCD 与微粉硅胶) 的增加更能提高得率; 由于膏与辅料配比得率影响 3D 图 (D=0.137 5) 可发现低得率区更加靠近 A, 表明增加干膏量 (即减少辅料总量) 会降低得率; 借助 Design Expert 12 软件分析回归方程, 以粉末得率范围 50%~75%,

目标趋于 70%, 优选辅料配比, 得一系列较优配比, 取值范围: $0.500 < A < 0.689$ 、 $0.050 < B < 0.233$ 、 $0.123 < C < 0.338$ 、 $0.050 < D < 0.206$ 。

同法分别以吸湿率、休止角及藁本内酯含量为指标同法进行二次多项式回归, 建立准确可靠回归

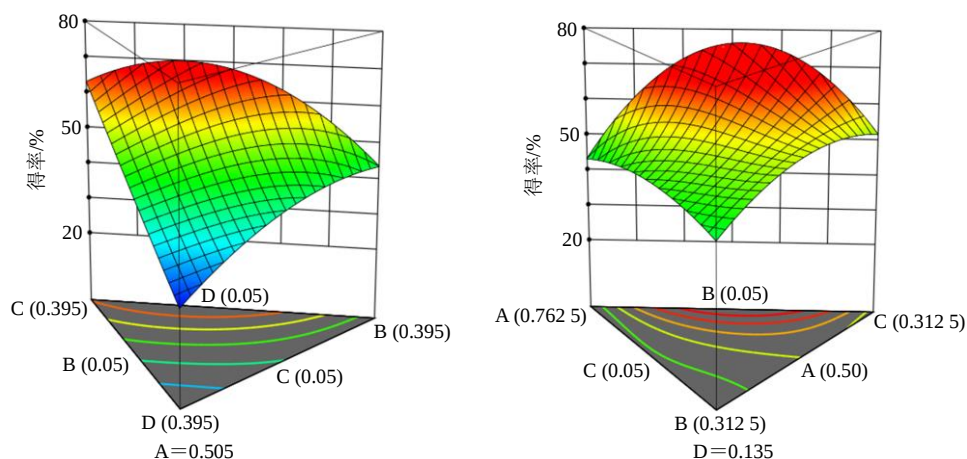


图 4 干膏与辅料配比对得率影响

Fig. 4 Influence of proportion of dry paste and excipient on yield

方程：吸湿率=18.91 A+16.90 B+11.33 C+14.65 D+13.14 AD-4.53 BC+7.46 CD+107.74 ABC-281.10 ACD, $R^2=0.9436$ ；休止角=45.09 A+47.98 B+43.84 C+47.85 D-14.24 AB-8.86 AC-8.93 AD-15.76 BC-17.59 BD-10.76 CD+93.69 ABC+147.35 BCD, $R^2=0.9497$ ；藁本内酯含量=0.003 8 A+0.020 8 B+0.009 1 C+0.008 5 D-2.742 22 AB-0.223 993 AC+1.932 75 AD-16.441 01 BC-1.396 15 BD+19.899 90 CD+35.508 28 ABC-27.729 20 BCD, $R^2=0.9407$ 。分析辅料配比对粉末吸湿性、流动性及藁本内酯含量影响，结果见图 5。低吸湿性区更靠近 C，高吸湿区靠近 A 与 B，说明增加微粉硅胶的量能降低粉末吸湿性，而干膏及 HPCD 会增加粉末吸湿性；低休止角区更靠近 C，高休止角区更靠近 D，增加微粉硅胶的量能增加粉末流动性；较高藁本内酯含量区更靠近 B，表明增加 HPCD 的量可以增加藁本内酯的含量。以粉末得率范围

50%~75%，目标趋于 70%；吸湿性范围 10%~15%，目标趋于 13%；休止角范围 42°~48°，目标趋于 45°；藁本内酯质量分数范围 0.110~0.211 mg/g，目标趋于 0.015%（藁本内酯筛选依据为前期当归质量传递研究中藁本内酯含量范围）为筛选条件，对吸湿率、休止角及藁本内酯含量的回归方程求最优解，最终优选配比结果 A=0.500, B=0.226, C=0.222, D=0.052。

2.5 辅料配比验证

按优选配比结果称取 DBD 水提液及辅料，平行 3 份，按“2.2.1”项下喷雾干燥工艺参数喷干，收集喷干粉，测定得率、吸湿率、休止角及藁本内酯含量，结果见表 8。按最终优选辅料配比配制溶液进行喷雾干燥，喷干粉得率较高，流动性较好，吸湿性有所降低但仍需调整工艺参数进一步改善，使其便于生产；同时实际喷干粉得率、吸湿性、休止角及藁本内酯含量与建立回归模型预测值相近，

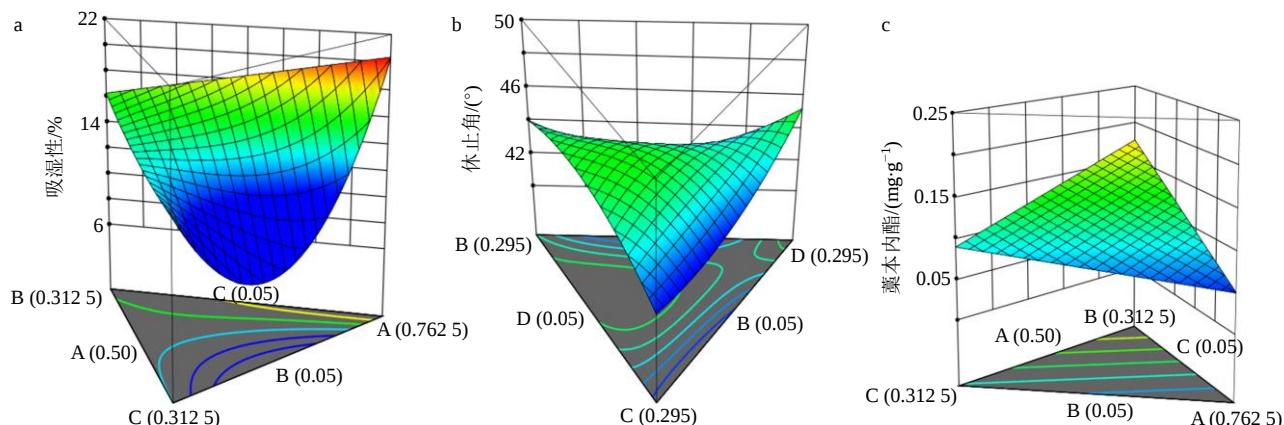


图 5 辅料配比对吸湿性 (D = 0.137 5, a)、休止角 (A = 0.605 0, b) 和藁本内酯含量 (D = 0.137 5, c) 的影响

Fig. 5 Influence of proportion of excipients on moisture rate (D = 0.137 5, a), angle of repose (A = 0.605 0, b) and content of ligustilide (D = 0.137 5, c)

表 8 辅料配比验证结果

Table 8 Validation results of auxiliary material ratio			
试验号	得率/%	吸湿性/%	休止角/(°)
1	66.49	13.005 9	42.27
2	65.89	13.153 6	43.60
3	68.54	13.243 0	42.27
$\bar{x} \pm s$	66.97 ± 1.39	$13.134 2 \pm 0.119 7$	42.17 ± 0.77
RSD/%	2.0	1.0	1.8
预测值	70.00	13.042 0	42.15

表 9 Box-Behnken 响应面试验设计及结果

Table 9 Box-Behnken response surface experimental design and results

试验号	A/°C	B/Hz	C/MPa	得率/%	质量分数/(mg·g ⁻¹)			综合评分
					阿魏酸	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	藜本内酯	
1	180 (+1)	90 (0)	0.065 (+1)	60.11	0.359	0.142	0.577	95.92
2	160 (0)	100 (+1)	0.035 (-1)	55.80	0.412	0.141	0.536	94.21
3	160	90	0.050 (0)	55.97	0.403	0.143	0.494	92.70
4	180	100	0.050	58.15	0.323	0.139	0.531	90.97
5	160	90	0.050	52.46	0.378	0.132	0.462	86.69
6	180	80 (-1)	0.050	49.63	0.291	0.129	0.516	81.88
7	140 (-1)	90	0.035	29.66	0.224	0.076	0.311	51.35
8	160	80	0.035	48.44	0.367	0.124	0.535	84.72
9	180	90	0.035	55.29	0.365	0.137	0.539	91.05
10	160	100	0.065	59.63	0.222	0.143	0.619	90.40
11	160	90	0.050	51.84	0.383	0.136	0.489	87.84
12	140	100	0.050	28.19	0.152	0.075	0.316	46.89
13	160	90	0.050	49.65	0.363	0.127	0.487	84.09
14	160	80	0.065	52.11	0.255	0.139	0.608	86.07
15	140	90	0.065	33.60	0.114	0.092	0.420	54.36
16	160	90	0.050	54.60	0.380	0.139	0.476	89.56
17	140	80	0.050	26.86	0.088	0.072	0.304	42.10

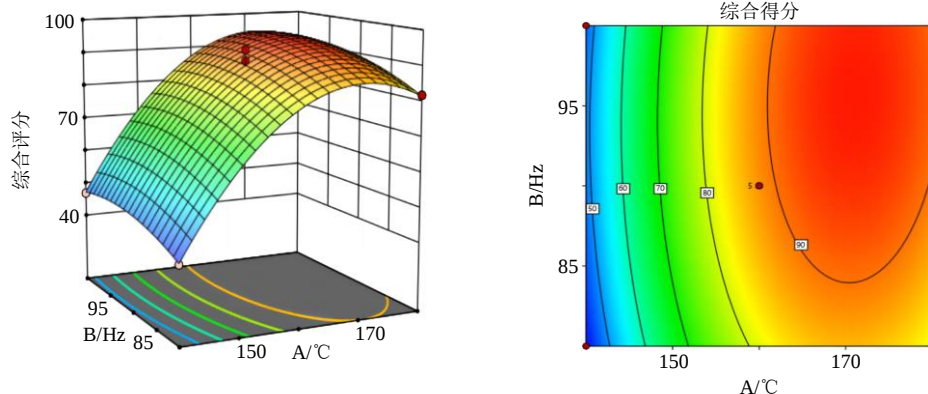


图 6 综合评分的曲面图及等高线图

Fig. 6 Surface plot and contour plot of composite score

数 (Y_3)、藜本内酯质量分数 (Y_4) 为评价指标, 并赋予其权重, 计算综合评分, 综合评分 = $(0.4 X_1/$

进一步证明所建立模型准确可靠。

2.6 Box-Behnken 设计-响应面优化试验

2.6.1 试验设计 试验采用 Box-Behnken 设计-响应面法原理, 根据单因素试验结果, 选取进风温度 (A)、风量 (B)、喷雾压力 (C) 作为因素, 每个因素选取 3 个水平, 以综合指标为因变量, 用 Design-Expert 8.0.6 设计实验, 试验因素及水平、试验设计与结果见表 9 及图 6。以 DBD 喷干粉得率 (Y_1) 及阿魏酸质量分数 (Y_2)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷质量分

$X_{\max} + 0.2 X_2/X_{\max} + 0.2 X_3/X_{\max} + 0.2 X_4/X_{\max}) \times 100$ 。

2.6.2 模型拟合与响应面结果分析 以综合评分为

因变量 (Y), 进风温度 (A)、风量 (B)、喷雾压力 (C) 为自变量, 对实验所得结果采用 Design-Expert 12 软件进行回归分析, 并进行二项式拟合和多元线性回归的方法处理, 并通过相关系数 (r) 来判断模型的拟合程度, 对效应面的回归参数采用 ANOVA 进行分析, 方差分析结果见表 10。从拟合结果得二次多项回归方程: $Y=20.64 A+3.462 5 B+0.677 5 C+1.075 AB+0.465 AC-1.29 BC-19.198 A^2-3.518 B^2+4.192 C^2$ 。

由表 10 中 ANOVA 方差分析可知, 实验所选模型的决定系数 $R^2=0.989 4$, 调整决定系数 $R_{adj}^2=0.975 8$, 模型 $F=72.66$, $P<0.000 1$, 表明该模型

具有极显著性意义; 失拟项 $P>0.05$, 没有显著差异, 表明该模型与实验数据拟合程度良好。A、B、 A^2 、 B^2 、 C^2 的 P 值均小于 0.05, 表明其对综合评分具有显著性影响。CV 值为 3.55%, 说明模型的重现性很好, 该模型可用于 DBD 喷雾干燥工艺优化。本实验中信噪比为 24.295 6, 信号充足, 说明此模型可用于导航设计空间。各因素的影响程度通过 F 值反映, F 值越大代表该因素的影响程度越大, 故各因素对综合评分的影响次序为进风温度>风量>喷雾压力。通过 Design-Expert 8.0.6 软件的优化模块得到 DBD 喷雾干燥的最优工艺参数为进风温度 170 $^{\circ}\text{C}$, 空气流速 37 m^3/h , 雾化压力 0.061 MPa。

表 10 ANOVA 方差分析

Table 10 ANOVA for response surface quadratic model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性	方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	5 194.591	9	577.180	72.661	<0.000 1	极显著	A^2	1 551.850	1	1 551.850	195.350	<0.000 1	极显著
A	3 408.080	1	3 408.081	429.010	<0.000 1	极显著	B^2	52.112	1	52.112	6.560	0.037 5	显著
B	95.912	1	95.910	12.070	0.010 3	显著	C^2	73.990	1	73.990	9.310	0.018 5	显著
C	3.671	1	3.671	0.462	0.518 4		残差	55.613	7	7.945			
AB	4.620	1	4.622	0.582	0.470 5		失拟项	14.214	3	4.738	0.460	0.726 6	不显著
AC	0.865	1	0.864	0.109	0.751 1		纯误差	41.400	4	10.350			
BC	6.660	1	6.660	0.838	0.390 4		总离差	5 250.200	16				

2.6.3 最优处方的验证试验 按照上述最优喷雾干燥工艺参数制备 3 批 DBD 喷雾干燥样品, 收集喷干粉, 测定喷干粉得率及 3 个指标性成分含量, 并计算保留率。结果见表 11, 平均得率为 58.92%, 阿魏酸平均保留率为 50.26%, 毛蕊异黄酮葡萄糖苷平均保留率为 54.98%, 藁本内酯平均保留率为 27.74%。

保留率=喷干粉中总成分含量/喷干前药液总成分含量

表 11 最优处方验证结果

Table 11 Validation results of optimal prescription

试验号	喷干粉 得率/%	质量分数/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)		
		阿魏酸	毛蕊异黄酮 葡萄糖苷	藁本内酯
1	58.75	0.358	0.158	0.607
2	58.59	0.352	0.156	0.603
3	59.41	0.355	0.157	0.602
$\bar{x} \pm s$	58.92 ± 0.43	0.324 ± 0.003	0.144 ± 0.001	0.406 ± 0.003
RSD/%	0.74	2.28	1.66	1.23

3 讨论

经典名方是中医药传承的精华, 喷雾干燥是广

泛运用于中药提取液干燥的一项技术, 但其仍有部分缺点引起关注。经典名方工业基本原则是形成与传统制剂等质的现代生产制剂^[20]。国家中医药管理局发布的 100 首《古代经典名方目录 (第一批)》中, 含有挥发性成分中药的经典名方 83 首, 且多味中药出现频率较高, 如当归在 25 首处方中出现、生姜出现 23 次等, 多味中药含热不稳定性成分和挥发性成分, 以传统水煎煮工艺制备的汤剂中依然可测得, 对于此类制剂, 其热不稳定性成分和挥发性成分的是发挥疗效的关键物质, 然而经喷雾干燥的现代化工业生产后, 其有效成分的保留率是其研发的关键问题之一, 这也是决定工业化生产中采取何种工艺的关键^[21]。

本研究采用混料设计方法, 通过混料设计与 Box-Behnken 响应面法, 以成分保留率及喷干粉得率为主要评价指标, 对经典名方 DBD 的喷雾干燥工艺进行了研究, 在考虑增加喷干粉得率、改善喷干粉性质的同时尽可能保留热不稳定性成分阿魏酸和挥发性成分藁本内酯, 同时引入药材质量评价关键性成分毛蕊异黄酮葡萄糖苷作为评价指标, 优选

出的喷雾干燥工艺稳定可靠,且重现性好,可为经典名方 DBD 制剂的开发提供一定的参考。

另外,本研究从多个角度出发,在考虑喷雾干燥生产工艺的同时,注重制剂中药材成分的变化,考察了药材中关键药效成分的保留率及药材质量关键性成分等,在此基础上优化辅料配比,为其他含热不稳定成分及挥发性成分经典名方复方制剂的开发提供了一定的参考。经典名方制剂的开发涉及其制剂成药性评价、工业化考量及其临床定位,即中药品质传递所涉及的一系列过程(如中药材、中药饮片、中药提取物、中药制剂、临床应用等),喷雾干燥粉(中药提取物)作为经典名方复方制剂研发的中间体,其质量的优良与否极大的影响复方制剂的质量及药效,且中药具有多成分、多功效的品质特点,目前以化学成分为指标对其进行评价仍存在一定的缺陷,后期需结合多种评价技术(生物评价、性状评价等),进而可以更好地把控中药复方制剂的品质传递过程,保障中药复方制剂品质的稳定性和一致性,从而促进经典名方制剂的研究与发展,为中药新药的研发提供动力^[20-23]。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 戴胜云,杨茂蕊,李文静,等.喷雾干燥在中药粉体研究中的应用进展[J].中国实验方剂学杂志,2022,28(14):200-208.
- [2] 张俊鸿,何雁,许燕,等.基于质量源于设计理念的风咳颗粒喷雾干燥工艺研究[J].中草药,2017,48(10):2061-2066.
- [3] 周铁桩,王磊,黄帅,等.喷雾干燥技术研究进展和展望[J].辽宁化工,2019,48(9):907-910.
- [4] 杨净尧,王仁广,王畅,等.喷雾干燥研究进展[J].亚太传统医药,2018,14(9):97-99.
- [5] 王瑞,郭洁,沈锡春,等.中药喷雾干燥粘壁原因与解决途径[J].临床医药文献电子杂志,2018,5(62):193-194.
- [6] 吕丹,张艳军.中药喷雾干燥技术设备现状及问题研究[J].化工装备技术,2021,42(2):8-11.
- [7] 金·李东垣著.田莘时校注.内外伤辨惑论[M].北京:中国医药科技出版社,2011:39-40.
- [8] 张君冬,尹仁芳,陈琦,等.基于网络药理学及分子对接探讨当归补血汤治疗动脉粥样硬化潜在作用机制研究[J].世界科学技术—中医药现代化,2021,23(4):1076-1085.
- [9] 王文越,刘珊,吕琴,等.黄芪-当归药对益气活血药理作用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(6):207-216.
- [10] 胡静,李科,李爱平,等.当归补血汤物质基础研究进展[J].中草药,2020,51(21):5658-5663.
- [11] 杨飞霞,王玉,夏鹏飞,等.当归补血汤化学成分、药理作用、临床应用的研究进展及质量标志物的预测分析[J].中国中药杂志,2021,46(11):2677-2685.
- [12] 余亦婷,王沁雪,戴婧雅,等.黄芪药材不同干燥方式对其饮片的提取动力学影响[J].中草药,2022,53(11):3306-3313.
- [13] 柳小莉,黄小英,张小飞,等.基于 GC-MS 成分分析结合网络药理学预测当归挥发油质量标志物(Q-Marker)[J].中草药,2021,52(9):2696-2706.
- [14] 白钢,田璐,丛龙飞,等.基于质量标志物(Q-Marker)“量效转换”的药材质量快速整合评价研究[J].中草药,2021,52(9):2527-2533.
- [15] 刘妍如,唐志书,宋忠兴,等.以药效成分群-活性-功效关联作用筛选当归质量标志物[J].中草药,2021,52(9):2626-2637.
- [16] 臧泽鹏,黄晓鹏,马国军,等.基于熵权-变异系数法对不同干燥方式下当归干燥特性及理化性质的评价[J].中草药,2022,53(23):7403-7413.
- [17] 李伟霞,泥文娟,王晓艳,等.当归化学成分、药理作用及其质量标志物(Q-marker)的预测分析[J].中华中医药学刊,2022,40(6):40-47.
- [18] 孟萌,李红玲,李凤丽.中药挥发油于中医药现代化研究领域存在的几个问题思考[J].海峡药学,2020,32(10):18-22.
- [19] 陈锦霞,高永坚,林碧珊,等.当归补血汤基准样品质量控制方法研究[J].药物评价研究,2022,45(11):2247-2256.
- [20] 刘艳,章军,陈士林,等.经典名方复方制剂研发策略[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(24):166-172.
- [21] 庄欣雅,元雅丽,张倩,等.基于传统水煎煮工艺的当归中挥发性成分藁本内酯的量值传递研究[J].中国药理学杂志,2022,57(8):628-635.
- [22] 张佳,杨怀瑾,马丽霞,等.中药品质传递过程评价技术与方法研究进展[J].中草药,2021,52(15):4711-4721.
- [23] 高喜梅,贾萌,赵晓莉,等.经典名方传统制法向现代生产工艺转化关键问题探索[J].南京中医药大学学报,2019,35(5):601-605.

[责任编辑 郑礼胜]