

基于 Box-Behnken 设计-响应面法结合熵权法优化二氧化硅固化感冒清热颗粒挥发油工艺研究

尤倩男^{1,2}, 张东阁^{2,3}, 牛向伟², 王春民^{2,3*}

1. 河北中医药大学药学院, 河北 石家庄 050020

2. 颈复康药业集团有限公司, 河北 承德 067000

3. 河北省中药新辅料工程技术研究中心, 河北 承德 067000

摘要: 目的 研究二氧化硅固化感冒清热颗粒 (Ganmao Qingre Granules, GQG) 中挥发油成分的球磨法制备工艺, 优化工艺参数。方法 建立二氧化硅固化 GQG 挥发油中薄荷酮、*L*-薄荷醇、胡薄荷酮的气相色谱 (gas chromatography, GC) 含量测定方法; 以制成物的外观性状和薄荷酮、*L*-薄荷醇、胡薄荷酮的含量变化为评价指标, 优选球磨罐材质; 以薄荷酮、*L*-薄荷醇、胡薄荷酮的混合均匀度 (relative standard deviation, RSD)、吸附率及挥发率为评价指标, 采用熵权法优选二氧化硅型号; 采用 Box-Behnken 设计 (Box-Behnken design, BBD)-响应面法 (response surface methodology, RSM) 结合熵权法优化制备工艺, 确定球磨罐填充率、球磨机转速、油料比以及球磨时间等 4 个关键工艺参数 (critical process parameters, CPPs), 建立工艺设计空间并进行工艺验证。结果 建立的 GC 测定方法在线性、精密度、重复性、稳定性和加样回收等试验均符合检测要求; 球磨罐材质可选用玛瑙或氧化铝; 普通型二氧化硅吸附效果较好; 4 个关键工艺参数的设计空间为球磨罐填充率为 64%~67%, 球磨机转速为质反应因素, 固定为 400 r/min, 油料比为 1:1.1~1:1.2, 球磨时间为 54~60 min。结论 所建立的薄荷酮、*L*-薄荷醇、胡薄荷酮 3 种成分的 GC 测定方法能够满足检测要求, 研究确定的二氧化硅固化 GQG 挥发油制备工艺可行。

关键词: 感冒清热颗粒挥发油; 二氧化硅; 固化; Box-Behnken 设计-响应面法; 熵权法; 球磨法; 薄荷酮; *L*-薄荷醇; 胡薄荷酮

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2023)19-6305-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.19.012

Optimization of curing process of Ganmao Qingre Granules volatile oil with silica based on Box-Behnken design response surface method and entropy weight method

YOU Qian-nan^{1,2}, ZHANG Dong-ge^{2,3}, NIU Xiang-wei², WANG Chun-min^{2,3}

1. College of Pharmacy, Hebei University of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050020, China

2. Jingfukang Pharmaceutical Group Co., Ltd., Chengde 067000, China

3. Hebei Research Center for Traditional Chinese Medicine New Excipients Engineering Technology, Chengde 067000, China

Abstract: Objective To study the ball milling process for preparing volatile oil components in silica solidified Ganmao Qingre Granules (感冒清热颗粒, GQG) and optimize process parameters. **Methods** A gas chromatography (GC) method for the determination of menthone, *L*-menthol and pulegone in the complex of silica solidified GQG volatile oil was established; Based on the appearance characteristics of the products and the changes in the content of menthone, *L*-menthol and pulegone, the ball milling tank material was selected; Using the relative standard deviation (RSD), adsorption rate and volatilization rate of menthone, *L*-menthol and pulegone as evaluation indicators, the entropy weight method was used to select the optimal type of silica; Box-Behnken design (BBD)-response surface methodology (RSM) combined with entropy weight method were used to optimize the preparation process, four critical process parameters (CPPs) were determined, including ball milling tank filling rate, ball mill speed, oil material ratio and ball

收稿日期: 2023-04-19

作者简介: 尤倩男, 女, 硕士研究生, 主要从事中药生产与质量控制研究。E-mail: 15103250180@163.com

*通信作者: 王春民, 男, 硕士, 主任中药师, 主要从事中药生产新工艺技术研究。E-mail: 13603140779@139.com

milling time. A process design space was established and process validation was conducted. **Results** The established GC assay method met the detection requirements in terms of linearity, precision, repeatability, stability and sample recovery; The material of the ball milling tank can be agate or zirconia; The adsorption effect of ordinary silica was better; The design space for the four critical process parameters was as follow: The filling rate of the ball milling tank was 64%—67%, the ball milling speed was a quality reaction factor, fixed at 400 r/min, the oil material ratio was 1:1.1—1:1.2, and the ball milling time was 54—60 min. **Conclusion** The established GC determination method for the three components of menthone, *L*-menthol and pulegone can meet the detection requirements, and the preparation process of silica solidified GQG volatile oil is feasible.

Key words: volatile oil of Ganmao Qingre Granules; silica; solidification; Box-Behnken design-response surface methodology; entropy weight method; ball milling method; menthone; *L*-menthol; pulegone

感冒清热颗粒(Ganmao Qingre Granules, GQG)由荆芥穗、薄荷、防风等 11 味中药制成,具有疏风散寒、解表清热的功效,用于风寒感冒、头痛发热、恶寒身痛、鼻流清涕、咳嗽咽干,现收载于《中国药典》2020 年版一部^[1]。中医药理论认为,中药挥发油芳香走串,是解表药的重要功效成分。挥发油是 GQG 的主要药效部位之一,主要来自荆芥穗、薄荷和紫苏叶 3 味药材。荆芥穗挥发油主要成分为胡薄荷酮和薄荷酮,具有抗炎、抗菌、抗病毒以及解热等药理活性^[2-3];薄荷挥发油主要成分为 *L*-薄荷醇^[4-6],具有抗病原微生物、抗炎、祛痰、改善精神疲劳^[7]、解热发汗等药理活性^[8];紫苏叶挥发油主要成分为紫苏醛^[9],具有降气化痰、解表散寒^[10]、抗菌、抗肿瘤、降血脂等药理活性^[11-12]。

中药挥发油化学成分复杂,普遍含有双键、杂原子、手性原子等,易挥发、易氧化分解,理化性质不稳定,因此,提高中药挥发油成分的制剂稳定性研究具有重大意义。根据 GQG 现行国家药品标准【制法】项规定,GQG 挥发油是直接喷洒在所制颗粒的表面,混合均匀后包装。由此可见,GQG 挥发油成分的制剂稳定性难以保证。研究表明,中药挥发油固体化技术是解决其口服制剂稳定性的主要方法,通常采用环糊精包合技术,张东阁等^[13]利用 β -环糊精包合 GQG 挥发油,油料比为 1:9~1:10,包合率均大于 62%,显著提高了挥发油的制剂稳定性。但是,环糊精包合中药挥发油的包合率低、辅料用量大等问题有待进一步解决。

二氧化硅具有孔隙率高、比表面积大、生物相容性好等特质,已成为近年来新型药物辅料的研究热点之一。已有研究^[14-16]表明,二氧化硅固化中药挥发油的油料比约为 1:1,吸附率达到 90%以上,有效克服了环糊精包合技术的上述缺陷。本研究采用二氧化硅吸附技术,将 GQG 挥发油固化在二氧化硅中,形成二氧化硅挥发油复合物以实现挥发油

的固体化。制备工艺为球磨法,采用 Box-Behnken 设计(Box-Behnken design, BBD)-响应面法(response surface methodology, RSM)结合熵权法优化 GQG 挥发油固化制备工艺参数,建立工艺设计空间,以期为提高 GQG 挥发油的制剂稳定性奠定研究基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

XQM-0.4A 型立式行星球磨机,长沙天创粉末技术有限公司;MS204TS 型电子天平,梅特勒-托利多仪器有限公司;Eppendorf-5427 型离心机,德国艾本德股份公司;7890A 型气相色谱仪,美国安捷伦公司。

1.2 材料

对照品薄荷酮(批号 ST77840381,质量分数 $\geq 90.0\%$)、*L*-薄荷醇(批号 ST20650120,质量分数 $\geq 98.0\%$)、胡薄荷酮(批号 ST19390181,质量分数 $\geq 98.0\%$),均购自上海标准技术发展有限公司;GQG 挥发油,自提,批号 20230310;二氧化硅,批号 TF67211101,湖南九典宏阳制药有限公司;二氧化硅 350FCP,批号 UJ-0861,广州市天润药业有限公司;二氧化硅 244FP,批号 1000375093,上海申美医药开发科技有限公司;二氧化硅 HY-244NP,批号 20220812,青岛和域科技有限公司;醋酸乙酯,分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司。

2 方法与结果

2.1 二氧化硅固化 GQG 挥发油粉末的制备

称取二氧化硅 5 g,置于球磨罐中,再加入 GQG 挥发油适量,设置好球磨机转速和球磨时间进行制备,即得二氧化硅固化 GQG 挥发油粉末。

2.2 含量测定方法的建立

2.2.1 供试品溶液的配制 取二氧化硅固化 GQG 挥发油粉末约 0.2 g,精密称定,加入 25 mL 醋酸乙酯,摇匀,4000 r/min 离心 5 min(离心半径 8.4 cm),

吸取上清液 2 mL 置 10 mL 量瓶中, 加醋酸乙酯稀释至刻度线, 即得供试品溶液。

2.2.2 混合对照品溶液的配制 精密称取薄荷酮对照品 79.55 mg、*L*-薄荷醇对照品 16.97 mg、胡薄荷酮对照品 93.43 mg, 分别置于 3 个 25 mL 棕色量瓶中, 加醋酸乙酯溶解并稀释至刻度, 作为储备液。再分别精密吸取薄荷酮对照品储备液 0.4 mL、*L*-薄荷醇对照品储备液 3 mL、胡薄荷酮对照品储备液 0.5 mL 于同一 10 mL 量瓶中, 加入醋酸乙酯稀释至刻度, 制成含薄荷酮、*L*-薄荷醇、胡薄荷酮质量浓度分别为 114.55、199.56、158.86 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.2.3 色谱条件 色谱柱为 HP-5 柱 (30 m×0.320 mm×0.25 μm); 进样量 1 μL, 分流比 10:1, 进样口温度 250 °C, FID 检测器温度 250 °C, 体积流量 1 mL/min; 程序升温: 初始温度 100 °C, 保持 0 min, 以 1.8 °C/min 升至 130 °C, 保持 4 min, 以 20 °C/min 升至 220 °C, 保持 6 min。混合对照品溶液及供试品溶液的 GC 图谱见图 1。

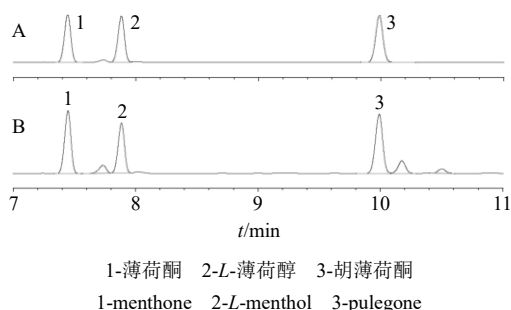


图 1 混合对照品 (A) 及 GQG 样品 (B) 的 GC 图

Fig. 1 GC chart of mixed reference substances (A) and GQG sample (B)

2.2.4 线性关系考察 分别精密吸取薄荷酮对照品储备液 0.1、0.2、0.4、0.8、1.0 mL, *L*-薄荷醇对照品储备液 0.5、1.0、2.5、3.0、5.0 mL, 胡薄荷酮对照品储备液 0.1、0.2、0.5、0.8、1.0 mL 依次置于 5 个不同棕色 10 mL 量瓶中, 加入醋酸乙酯稀释至刻度, 得到 5 个不同系列质量浓度的混合对照溶液, 进样测定。以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 进行线性回归, 所得薄荷酮、*L*-薄荷醇、胡薄荷酮的线性回归方程分别为 $Y=1\,596.4 X+0.276\,2$, $r=1.000\,0$; $Y=1\,575.0 X+0.495\,3$, $r=0.999\,9$; $Y=1\,455.3 X+0.718\,7$, $r=1.000\,0$ 。结果表明, 薄荷酮在 28.138~281.370 μg/mL、*L*-薄荷醇在 21.932~219.320 μg/mL、胡薄荷酮在 34.171~

341.710 μg/mL 线性关系良好。

2.2.5 精密度试验 取“2.2.2”项下的混合对照溶液, 连续进样 6 次, 记录峰面积并计算其 RSD 值。薄荷酮、*L*-薄荷醇、胡薄荷酮的 RSD 分别为 0.96%、0.99%、0.98%, 结果表明仪器精密度良好。

2.2.6 重复性试验 按照“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 平行制备 6 份, 进样, 计算各成分的质量分数及其 RSD 值。薄荷酮、*L*-薄荷醇、胡薄荷酮质量分数的 RSD 分别为 0.33%、0.46%、0.37%, 结果表明该方法重复性良好。

2.2.7 稳定性试验 按照“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 分别在制备后 0、1、2、4、6、8、12 h 进样测定, 记录峰面积及计算其 RSD 值。薄荷酮、*L*-薄荷醇、胡薄荷酮峰面积的 RSD 分别为 0.76%、0.68%、0.77%, 结果表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.2.8 加样回收率试验 取二氧化硅固化粉末约 0.1 g, 精密称定, 平行称定 9 份, 精密加入 25 mL 醋酸乙酯, 摇匀, 4000 r/min 离心 5 min (离心半径 8.4 cm), 精密吸取上清液 2 mL 于 10 mL 量瓶中, 分别加入已知成分含量的 50% (3 份)、100% (3 份)、150% (3 份), 加入醋酸乙酯稀释至刻度, 进样测定。薄荷酮、*L*-薄荷醇、胡薄荷酮的平均加样回收率分别为 96.75%、101.64%、103.03%, RSD 分别为 0.98%、1.91%、1.01%, 结果表明该含测方法准确性较高。

2.3 数据处理

2.3.1 评价指标的计算 研究制备二氧化硅固化 GQG 挥发油粉末, 以二氧化硅固化 GQG 挥发油粉末中薄荷酮、*L*-薄荷醇、胡薄荷酮的 RSD、吸附率及挥发率为评价指标, 采用熵权法计算各指标权重, 得出综合得分, 评价指标计算方法如下。

$$\text{RSD} = \text{标准偏差} / \text{算术平均值}$$

$$\text{吸附率} = \text{固化物中有效成分含量} / \text{挥发油中有效成分投料量}$$

$$\text{挥发率} = 24 \text{ h 内有效成分减少量} / \text{初始有效成分含量}$$

2.3.2 熵权法计算综合得分 熵权法是根据评价指标变异性大小来确定客观权重, 减小了主观评价对试验结果的影响, 如果评价指标的信息熵越小, 表明该指标的变异程度越大, 权重越高; 反之, 则越低。本研究以薄荷酮、*L*-薄荷醇、胡薄荷酮的 RSD、吸附率以及挥发率为评价指标, 利用熵权法确定各指标的客观权重系数, 利用综合得分对吸附效果进

行评价。

(1) 数据标准化: 对于各成分的 RSD 及挥发率来讲, 是负向指标, 其值越小越好; 对于各成分的吸附率来讲, 是正向指标, 其值越大越好。

①正向指标标准化

$$X_{ij} = (X_{ij} - \min\{X_{1j}, \dots, X_{mj}\}) / (\max\{X_{1j}, \dots, X_{mj}\} - \min\{X_{1j}, \dots, X_{mj}\}) \quad (m \text{ 为样本数})$$

②负向指标标准化

$$X_{ij} = (\max\{X_{1j}, \dots, X_{mj}\} - X_{ij}) / (\max\{X_{1j}, \dots, X_{mj}\} - \min\{X_{1j}, \dots, X_{mj}\})$$

(2) 计算第 j 个指标下第 i 个项目的指标值比重 (P_{ij})。

$$P_{ij} = X_{ij} / \sum_{i=1}^m X_{ij}$$

(3) 计算第 j 个指标的熵值 (e_j)。

$$e_j = - \sum_{i=1}^m P_{ij} \ln P_{ij} / \ln m$$

(4) 计算第 j 个指标的变异指数 (d_j)。

$$d_j = 1 - e_j$$

(5) 计算第 j 个指标的权重 (W_j)。

$$W_j = d_j / \sum_{j=1}^n d_j \quad (n \text{ 为评价指标数})$$

(6) 计算第 i 个样本的综合得分 (Z_i)。

$$Z_i = \sum_{j=1}^n W_j X_{ij}$$

2.4 球磨罐材质的筛选

选取不锈钢、玛瑙以及氧化锆 3 种材质的球磨罐, GQG 挥发油与二氧化硅按照油料比 1:1 投料, 设置转速为 400 r/min, 时间为 30 min, 得 3 种不同材质球磨罐下制备的固化物粉末。分别观察 3 种固化物粉末性状, 测定挥发油中 3 种成分含量, 结果见表 1。可见, 不锈钢材质球磨罐所制成的固化物外观颜色为灰黑色, 与挥发油颜色相差较大, 外观性状不合格, 故舍弃不锈钢材质; 玛瑙与氧化锆材质的球磨罐所制成的固化物颜色均为淡黄色, 3 种

表 1 不同材质球磨罐的挥发油固化效果

Table 1 Curing effect of ball milling tank with different materials

材质	性状	质量分数/(mg·g ⁻¹)		
		薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮
不锈钢	颜色偏灰黑色	—	—	—
玛瑙	颜色为淡黄色	65.47	74.91	150.62
氧化锆	颜色为淡黄色	67.81	74.24	153.10
差值	—	-2.34	0.67	-2.48

成分含量相差不大。因此, 玛瑙与氧化锆材质的球磨罐均可用于挥发油固化物的制备。本研究采用玛瑙球磨罐。

2.5 二氧化硅型号的筛选

2.5.1 二氧化硅固化挥发油粉末制备 分别精密称取二氧化硅 350FCP 3 g、二氧化硅 244FP 2 g、普通二氧化硅 5 g 以及二氧化硅 HY-244NP 1.8 g 置球磨罐中 (球磨罐的填充率均为 67%), 分别按二氧化硅与挥发油质量体积比 1:1 加入不同体积的挥发油, 设置转速 400 r/min, 球磨时间为 30 min, 球磨结束后固化粉末过 80 目筛, 即得。

2.5.2 固化粉末供试品溶液的制备 将制备好的固化粉末平铺于托盘上, 按照 5 点取样法在托盘上取点, 每点取样 0.2 g, 按照“2.2.1”项下制备供试品溶液。取样后将固化粉末保存于自封袋中。

2.5.3 实验结果 不同型号二氧化硅制备的固化物中薄荷酮、L-薄荷醇、胡薄荷酮的 RSD、吸附率和挥发率以及综合得分见表 2。结果表明, 二氧化硅综合得分最高, 故选用二氧化硅固化 GQG 挥发油。

2.6 单因素考察

基于所选的球磨罐材质和二氧化硅型号, 开展单因素工艺考察。

2.6.1 球磨罐填充率 设置二氧化硅填充率分别为 57%、62%、67%、72%、77%, 固定转速为 400 r/min、油料比为 1:1、球磨时间为 30 min, 制备固化物,

表 2 不同型号二氧化硅固化 GQG 挥发油结果

Table 2 Results of different types of silica solidified volatile oil from GQG

型号	RSD/%			吸附率/%			挥发率/%			综合得分
	薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮	薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮	薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮	
二氧化硅 244FP	2.14	2.29	2.14	92.00	94.72	94.00	9.20	4.75	7.03	0.133 5
二氧化硅 350FCP	1.23	1.10	1.14	92.61	94.75	94.03	7.63	5.14	6.40	0.391 2
二氧化硅 HY-244NP	0.48	0.93	0.58	90.86	92.64	92.08	3.44	-0.40	1.20	0.584 1
二氧化硅	1.94	1.66	1.83	94.18	96.07	95.51	-0.51	-3.73	-2.20	0.750 8

测定各成分含量, 结果见表 3。结果表明, 填充率在 57%~67%时, 综合得分呈上升趋势, 超过 67%时呈下降趋势, 在 67%时综合得分达到最高, 故填充率低水平和高水平分别选取 62%和 72%。

2.6.2 球磨机转速 设置球磨机转速分别为 100、200、300、400、600、700 r/min, 固定填充率为 67%、油料比为 1:1、球磨时间为 30 min, 制备固化物,

测定各成分含量, 结果见表 4。结果表明, 球磨机转速在 100、200、300 r/min 的情况下, 出现不同程度的黏底现象, 外观性状不合格。可见, 转速的单因素试验无法判断出综合得分的低水平和高水平, 可能在出现综合得分最高点的转速下, 其固化物的外观性状不合格, 故将转速认为是质反应因素, 固定转速为综合得分最高且性状合格的 400 r/min。

表 3 填充率单因素考察结果

Table 3 Single factor test results of filling rate

填充率/ %	RSD/%			吸附率/%			挥发率/%			综合得分
	薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮	薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮	薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮	
57	1.32	1.36	1.36	91.29	92.60	92.18	5.97	3.76	5.66	0.208 4
62	1.88	2.02	1.95	91.73	92.92	92.50	4.76	2.14	4.05	0.219 3
67	0.86	0.91	0.88	93.95	90.53	94.52	-0.03	-1.61	-0.81	0.859 2
72	0.55	0.48	0.46	93.47	90.28	94.10	2.72	-1.24	1.18	0.783 3
77	1.25	1.23	1.22	92.37	88.41	92.67	1.06	-2.46	-0.42	0.525 8

表 4 转速单因素考察结果

Table 4 Single factor test results of rotate speed

转速/ (r·min ⁻¹)	RSD/%			吸附率/%			挥发率/%			综合得分
	薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮	薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮	薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮	
400	1.15	1.49	1.36	96.91	98.20	97.74	2.39	0.06	1.48	0.872 3
600	1.54	1.32	1.37	91.12	92.19	92.01	3.05	0.40	1.26	0.253 4
700	1.60	1.81	1.75	90.23	91.69	91.38	2.45	0.18	0.84	0.221 8

2.6.3 油料比例 设置油料比例分别为 0.5:1、0.8:1、1:1、1.2:1、1.5:1, 固定填充率为 67%、转速为 400 r/min、球磨时间为 30 min, 制备固化物, 测定各成分含量, 结果见表 5。结果表明, 油料比在 0.5:1~1:1 时, 综合得分呈上升趋势, 超过 1:1 时呈下降趋势, 在 1.2:1 后趋于平缓, 在 1:1 时综合得分达到最高, 故油料比低水平和高水平分别选取 0.8:1 和 1.2:1。

2.6.4 球磨时间 设置球磨时间分别为 30、45、60、

75 min, 固定填充率为 67%、转速为 400 r/min、油料比例为 1:1, 制备固化物, 测定各成分含量, 结果见表 6。结果表明, 球磨时间在 30~45 min 时, 综合得分呈上升趋势, 超过 45 min 时呈下降趋势, 在 45 min 时综合得分达到最高, 故球磨时间低水平和高水平分别选取 30 min 和 60 min。

2.7 BBD-RSM 优化二氧化硅固化 GQG 挥发油工艺

2.7.1 BBD-RSM 试验设计及结果 实验采用二氧化硅吸附固化 GQG 挥发油, 固化方式采用球磨法,

表 5 油料比单因素考察结果

Table 5 Single factor test results of oil-material ratio

油料比/ (mL·g ⁻¹)	RSD/%			吸附率/%			挥发率/%			综合得分
	薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮	薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮	薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮	
0.5:1	1.37	0.82	1.17	92.78	95.46	94.79	6.92	3.85	5.75	0.516 2
0.8:1	1.05	0.57	0.96	92.85	94.98	94.28	9.10	3.46	6.27	0.512 0
1.0:1	1.97	1.75	1.83	94.70	96.24	95.76	2.54	0.14	1.67	0.682 1
1.2:1	1.29	1.04	1.03	89.46	91.29	90.93	-1.14	-3.87	-2.35	0.554 6
1.5:1	1.14	0.98	1.03	88.31	90.50	89.96	-2.23	-6.42	-4.63	0.579 2

表 6 球磨时间单因素考察结果

Table 6 Single factor test results of ball milling time

球磨时间/ min	RSD/%			吸附率/%			挥发率/%			综合得分
	薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮	薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮	薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮	
30	2.41	2.31	2.33	95.09	92.00	95.98	3.56	-0.20	2.13	0.232 0
45	2.95	3.12	3.09	96.09	93.01	97.08	0.81	-2.18	-0.42	0.701 5
60	1.12	0.73	0.80	94.87	96.37	95.89	2.32	-0.24	1.42	0.436 0
75	0.92	0.83	0.87	94.30	96.29	95.62	2.60	-0.53	1.08	0.402 6

玛瑙罐体。选择影响吸附效果的球磨罐填充率(X_1)、球磨转速、油料比(X_2)以及球磨时间(X_3)为关键工艺参数,由单因素试验得出球磨转速固定为 400 r/min,以薄荷酮、L-薄荷醇、胡薄荷酮的 RSD、吸附率以及挥发率为评价指标,利用熵权法得到各指标的客观权重分别为 0.176 4、0.110 9、0.112 9、0.132 9、0.136 2、0.126 2、0.064 5、0.065 1、0.074 9,按照综合得分=0.176 4×薄荷酮 RSD+0.110 9×L-薄荷醇 RSD+0.112 9×胡薄荷酮 RSD+0.132 9×薄荷酮吸附率+0.136 2×L-薄荷醇吸附率+0.126 2×胡薄荷酮吸附率+0.064 5×薄荷酮挥发率+0.065 1×L-薄荷醇挥发率+0.074 9×胡薄荷酮挥发率计算各组的综合得分,基于单因素试验筛选出的

各因素水平设计响应面试验,所得响应面试验设计及结果见表 7。

2.7.2 回归模型建立及方差分析 将试验结果导入 Design Expert 13 软件进行分析,方差分析结果见表 8。结果表明模型 $P<0.05$,模型具有显著性,失拟项 $P>0.05$,表明失拟项不显著,所建立的模型有统计学意义。其中,因素 X_1 对综合得分的影响显著,各因素对综合得分影响程度分别为 $X_1>X_3>X_2$,所得多元线性回归方程为综合得分 $Y=0.531 1+0.089 7 X_1+0.036 9 X_2+0.078 8 X_3-0.108 1 X_1X_2-0.104 7 X_1X_3-0.005 5 X_2X_3$ 。

由响应面图 2 可知, X_1X_2 与 X_1X_3 的交互作用对综合得分影响较弱, X_2X_3 没有交互作用。

表 7 BBD-RSM 试验设计及结果

Table 7 Experimental design and results of BBD-RSM

实验号	$X_1/\%$	$X_2/$ (mL·g ⁻¹)	X_3/min	RSD/%			吸附率/%			挥发率/%			综合得分
				薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮	薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮	薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮	
1	62 (-1)	0.8 (-1)	45 (0)	2.93	2.68	2.67	91.61	93.88	93.22	2.81	-1.91	-0.03	0.391 1
2	72 (+1)	0.8	45	1.88	2.12	1.99	93.96	95.92	95.37	1.02	-4.43	-1.90	0.738 5
3	62	1.2 (+1)	45	3.06	3.00	2.99	95.01	96.89	96.24	2.02	-1.48	-0.07	0.591 7
4	72	1.2	45	1.61	1.72	1.67	91.86	93.41	93.04	3.93	1.69	3.87	0.506 9
5	62	1.0 (0)	30 (-1)	2.99	3.52	3.41	90.14	91.81	91.42	1.69	-0.90	1.32	0.176 7
6	72	1.0	30	2.32	2.39	2.36	94.62	96.13	95.80	4.27	0.35	2.46	0.613 6
7	62	1.0	60 (+1)	2.16	2.52	2.41	92.89	94.62	94.09	0.39	-3.89	-2.04	0.593 2
8	72	1.0	60	0.88	0.88	0.85	91.27	92.67	92.12	3.71	0.52	1.64	0.611 2
9	67 (0)	0.8	30	1.49	1.46	1.48	89.91	91.47	90.82	3.45	0.52	1.38	0.418 2
10	67	1.2	30	2.16	1.95	2.02	93.33	94.67	94.26	2.33	-0.55	0.53	0.592 3
11	67	0.8	60	2.81	3.02	2.84	93.97	96.04	95.56	2.94	-1.26	0.74	0.537 4
12	67	1.2	60	2.24	2.48	2.45	94.64	96.12	95.84	0.59	-2.21	-1.00	0.689 6
13	67	1.0	45	2.22	2.35	2.39	92.55	93.97	93.53	3.82	0.58	1.99	0.467 5
14	67	1.0	45	1.36	1.06	1.10	93.51	94.85	94.39	2.38	-0.40	1.08	0.740 9
15	67	1.0	45	2.16	2.03	2.09	92.04	93.46	93.05	5.29	1.85	2.11	0.441 4
16	67	1.0	45	2.14	2.09	2.09	93.45	95.02	94.64	8.51	6.48	6.16	0.463 2
17	67	1.0	45	1.83	2.24	2.10	91.54	92.76	92.10	1.65	0.07	1.00	0.455 7

表 8 拟合回归方程方差分析结果

Table 8 Variance analysis results of fitted regression equation

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	0.215 6	6	0.035 9	3.52	0.038 6	X_2X_3	0.000 1	1	0.000 1	0.011 8	0.915 8
X_1	0.064 4	1	0.064 4	6.31	0.030 8	残差	0.102 0	10	0.010 2		
X_2	0.010 9	1	0.010 9	1.07	0.325 5	失拟项	0.037 1	6	0.006 2	0.380 8	0.860 2
X_3	0.049 7	1	0.049 7	4.88	0.051 7	纯误差	0.064 9	4	0.016 2		
X_1X_2	0.046 7	1	0.046 7	4.58	0.058 0	总和	0.317 6	16			
X_1X_3	0.043 9	1	0.043 9	4.30	0.064 8						

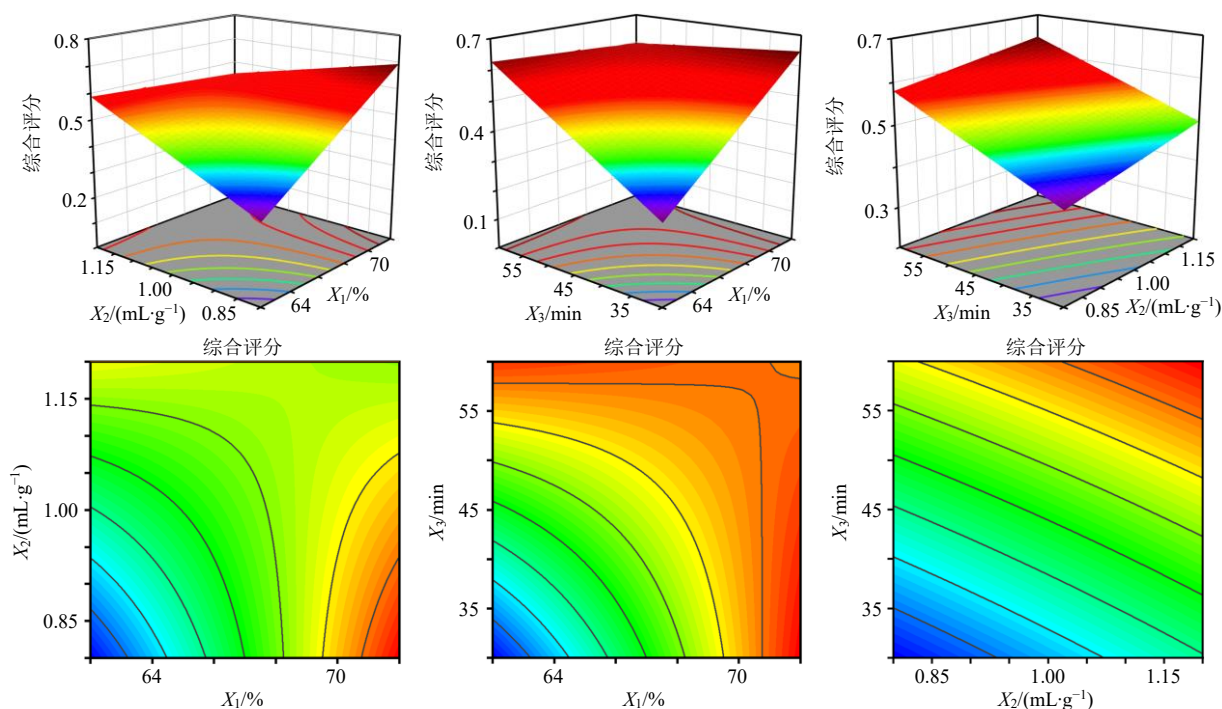


图 2 因素间交互作用响应面图

Fig. 2 Response surface diagram of interaction between factors

2.7.3 工艺优化空间的建立 根据实际试验经验,在设定的参数范围内,优选出综合得分大于 0.5 的设计空间。由于预测值与实际值存在一定的偏差,

将优选出的空间给予 95% 的置信区间,为方便操作过程中工艺参数取点,在优选空间内取出尽可能大的矩形,如图 3 所示,矩形内亮黄色区域即为操作

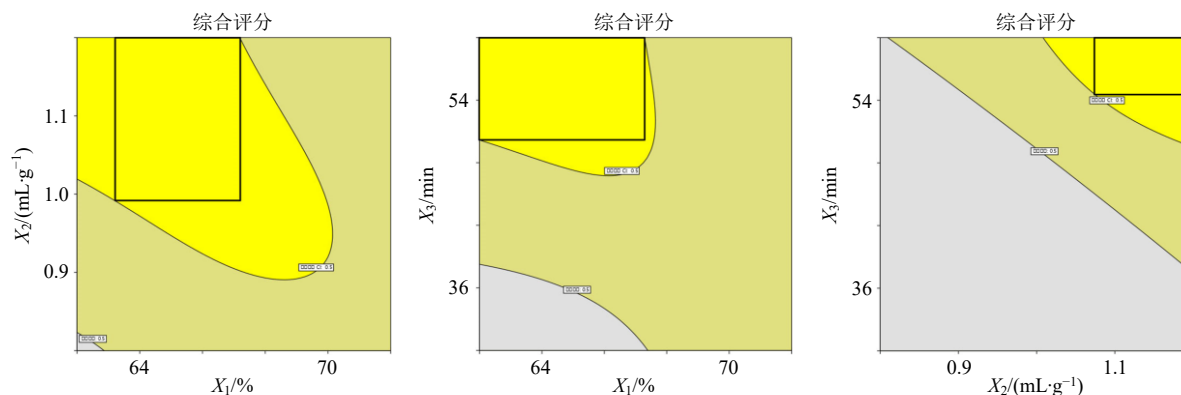


图 3 填充率、油料比、时间的空间选取

Fig. 3 Space selection of filling rate, oil material ratio and time

空间。选定空间范围：填充率为 64%~67%，油料比为 1:1.1~1:1.2，球磨时间为 54~60 min。

2.7.4 工艺验证试验 选取操作空间内的点进行验证试验，平行制备 3 批，每批做 2 个平行样，取平

均值，计算综合得分见表 9。可知，3 批验证的混合均匀度 RSD 值均在 3% 以下，吸附率均在 93% 以上，挥发率均在 2.52% 以下，综合得分均在 0.5 以上，说明优选工艺空间稳定，具有可操作性。

表 9 3 批验证结果

Table 9 Three batches of verification results

批次	RSD/%			吸附率/%			挥发率/%			综合得分
	薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮	薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮	薄荷酮	L-薄荷醇	胡薄荷酮	
1	2.55	2.59	2.60	96.04	97.61	96.99	2.09	1.04	1.65	0.516 3
2	2.58	2.61	2.65	96.49	97.62	96.95	2.52	1.04	1.85	0.551 3
3	2.83	2.39	2.52	96.37	95.08	93.89	0.60	-0.33	0.35	0.525 9

3 讨论

中药挥发油通常具有较好的药理活性，但因其成分复杂，多含不饱和官能团，受光照、氧气、温度、金属杂质等诸多因素的影响^[17]，易被氧化分解或挥发。本课题采用二氧化硅吸附技术，球磨法制备 GQG 挥发油固化物，对比了 4 种常用二氧化硅型号的固化效果，筛选出国产二氧化硅效果较好，建立了固化工艺参数空间，所得油料比 1:1.1~1:1.2，吸附率在 90% 以上，与张东阁等^[13]利用 β -环糊精包含 GQG 挥发油相比，有着辅料用料少、吸附率高等优势，能够较好的实现中药挥发油成分的固化，对于提高挥发油成分的制剂稳定性具有一定参考价值。

二氧化硅具有孔隙率高、比表面积大、稳定性好和生物相容性较好等特质，是一种新型的药用辅料，已成为近几年药物载体的研究热点。二氧化硅吸附提高中药挥发油稳定性的原理主要是通过辅料吸附固化制约挥发油分子间的相互作用，降低分子间的碰撞几率，增大挥发油的分散度^[18]，减少外界环境对挥发油的影响。二氧化硅吸附中药挥发油可能为物理吸附、化学吸附或二者并存，吸附机制较为复杂。二氧化硅吸附的过程主要分为 3 个阶段，分别为液膜扩散、颗粒内扩散、挥发油瞬间在微孔表面吸附^[19]，在吸附过程中，吸附在微孔表面的挥发油可能会一定程度上受外界因素的影响，发生一些物理化学反应，这就使得在吸附过程中有效成分变化波动及挥发率较大。

在本研究中，二氧化硅 GQG 挥发油固化物的挥发率就存在不稳定的问题，即使是相同参数下制备、保存在同一条件下其挥发率也会有所不同，这与 GQG 挥发油理化性质不稳定有着很大的关系，

即使已经将其固化，吸附在二氧化硅表面及孔隙表面的挥发油依旧会受到外界环境的影响，但发现各成分挥发率大小总体趋势为薄荷酮>胡薄荷酮>L-薄荷醇。因此，对于不同中药的挥发油固化，应选择适宜的二氧化硅型号来尽量减少这一不利影响，也对制成物的存储条件提出了较为严格的要求。此外，本实验发现不同球磨罐材质对中药挥发油的固化效果影响巨大，制药设备通常选用的不锈钢材质无法满足制备需要。通过本实验研究，开发了一种新的 GQG 挥发油成分的固体化制剂工艺，可为该产品制剂工艺的后续研究奠定基础。

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: 1796.
- [2] Ng Y C, Kim Y W, Lee J S, *et al.* Antiviral activity of *Schizonepeta tenuifolia* Briquet against noroviruses via induction of antiviral interferons [J]. *J Microbiol*, 2018, 56(9): 683-689.
- [3] 苏畅, 赵艳云, 冯媛, 等. 荆芥叶及穗的抗菌效果和成分分析 [J]. 中国新药杂志, 2022, 31(11): 1103-1111.
- [4] 刘群群. 薄荷属植物的化学成分及药理学作用研究 [J]. 现代食品, 2016(7): 44-45.
- [5] 黄兴雨, 杨黎燕, 尤静. 薄荷挥发油研究进展 [J]. 化工科技, 2019, 27(3): 70-74.
- [6] 华燕青. 薄荷化学成分及其提取方法研究进展 [J]. 陕西农业科学, 2018, 64(4): 83-86.
- [7] 杨睿, 陈炫好, 李晋, 等. 薄荷化学成分及药理活性研究进展 [J]. 天津中医药大学学报, 2022, 41(1): 4-13.
- [8] 杨翠云. 不同化学型薄荷挥发油抗菌、抗氧化活性初步研究 [D]. 镇江: 江苏大学, 2020.
- [9] 赵奕栋, 孙文豪, 陈天源, 等. 紫苏叶有效成分药理作用研究进展 [J]. 江苏中医药, 2022, 54(8): 79-82.
- [10] 何育佩, 郝二伟, 谢金玲, 等. 紫苏药理作用及其化学

- 物质基础研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(16): 3957-3968.
- [11] 唐飞, 冯五文, 敖慧. 紫苏叶药理作用研究进展 [J]. 成都中医药大学学报, 2021, 44(4): 93-97.
- [12] He Y K, Yao Y Y, Chang Y N. Characterization of anthocyanins in *Perilla frutescens* var. *acuta* extract by advanced UPLC-ESI-IT-TOF-MSⁿ method and their anticancer bioactivity [J]. *Molecules*, 2015, 20(5): 9155-9169.
- [13] 张东阁, 王凤霞, 杨宇杰, 等. 感冒清热颗粒挥发油包合工艺的优化 [J]. 中国药房, 2021, 32(14): 1734-1740.
- [14] 蒋艳荣, 张振海, 胡绍英, 等. 胶态二氧化硅 SYLOID244FP 固化肉桂挥发油的研究 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(1): 53-56.
- [15] 田娟娟, 余雅婷, 赵立杰, 等. 介孔二氧化硅固化柴翘挥发油及其粉体学性质的研究 [J]. 药学学报, 2019, 54(8): 1493-1501.
- [16] 刘胜, 何丹丹, 刘艺, 等. 胶态二氧化硅与 β -环糊精固化丁香油比较研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2018, 34(1): 77-80.
- [17] 吴意, 万娜, 刘阳, 等. 中药挥发油稳定性影响因素、变化机制及保护策略 [J]. 中草药, 2022, 53(21): 6900-6908.
- [18] 任桂林, 柯刚, 郑琴, 等. 介孔二氧化硅 350FCP 固化陈皮、青皮挥发油研究 [J]. 中草药, 2021, 52(5): 1323-1334.
- [19] 江晓霞, 刘红宁, 姚子恒, 等. 中药挥发油的粉末化技术研究进展 [J]. 中成药, 2022, 44(11): 3560-3566.

[责任编辑 郑礼胜]