DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.09.008

基于质量源于设计理念与AHP－熵权法优化佛手、香橼、陈皮、薄荷挥发油提取与包合工艺

苏畅[1,2],耿阳丽[1,2],牛晓静[2,3],吴延娆[2,3],徐立然[2,3],段晓颖[2,3]
(1. 河南中医药大学,河南 郑州 450046;2. 河南中医药大学第一附属医院药学部,河南 郑州 450003;
3. 河南省中药临床应用、评价与转化工程研究中心、河南省中药临床药学中医药重点实验室,河南 郑州 450003)

摘要:目的 优化佛手、香橼、陈皮、薄荷混合挥发油的提取与包合工艺。方法 在质量源于设计理念的指导下使用鱼骨图和失效模型与效应分析法分别定性、定量的筛选挥发油提取的关键工艺参数,使用单因素试验结合Box－Behnken响应面试验优化混合挥发油的提取工艺,并结合层次分析法(Analytic Hierarchy Process,AHP)－熵权法对挥发油提取率、D－柠檬烯含量、γ－松油烯含量、L－薄荷醇含量进行综合评分,建立提取工艺设计空间。使用单因素试验结合正交试验优化挥发油包合工艺并对其包合物进行表征。结果 以提取时间、加水倍数、浸泡时间为关键工艺参数建立的挥发油提取工艺设计空间为提取时间4.5～5 h、加水倍数8.8～10倍、浸泡时间44～60 min。该混合挥发油包合最优工艺为包合时间2.5 h、β－环糊精与挥发油比例12∶1 g/mL、包合温度30 ℃。结论 基于质量源于设计理念结合AHP－熵权法优化的佛手、香橼、陈皮、薄荷混合挥发油提取与包合工艺稳定可靠,为后续相关制剂的开发与工业化生产提供了实验基础。

关键词:质量源于设计;AHP－熵权法;挥发油;提取工艺;包合工艺
中图分类号:R285.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2025)09-0042-10

Optimized Extraction and Inclusion Process of Volatile Oil from Foshou(Citri Sarcodactylis Fructus), Xiangyuan(Citri Fructus), Chenpi(Citri Reticulatae Pericarpium) and Bohe(Menthae Haplocalycis Herba) Based on Quality by Design Concept and AHP－entropy Weight Method

SU Chang[1,2], GENG Yangli[1,2], NIU Xiaojing[2,3], WU Yanrao[2,3], XU Liran[2,3], DUAN Xiaoying[2,3]
(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, Henan, China;
2. Department of Pharmacy, The First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450003, Henan, China;
3. Henan Provincial Research Center for Clinical Application, Evaluation and Transformation of Traditional Chinese Medicine, Henan Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Clinical Pharmacy, Zhengzhou 450003, Henan, China)

Abstract: *Objective* To optimize the extraction and inclusion technology of the mixed volatile oil of Foshou(Citri Sarcodactylis Fructus), Xiangyuan(Citri Fructus), Chenpi(Citri Reticulatae Pericarpium) and Bohe(Menthae Haplocalycis Herba). *Method* Under the guidance of the quality by design concept, the key process parameters of volatile oil extraction were qualitatively and quantitatively screened using fishbone diagram, failure model and effect analysis respectively, and the extraction process of mixed volatile oil was optimized using single factor test combined with Box－Behnken response surface test. The extraction rate, contents of D－limonene, γ－terpinene and L－menthol of volatile oil were scored by Analytic Hierarchy Process(AHP)－entropy weight method, and the space of extraction process design was established. Single factor test and orthogonal test were used to optimize the inclusion process of volatile oil and characterize its inclusion compounds. *Results* The extraction time, water adding ratio and soaking time were the key parameters, and the extraction time was 4.5－5 h, water adding ratio was 8.8－10 times and soaking time was 44－60 min. The optimal process of inclusion of volatile oil included the inclusion time of 2.5 h, the ratio of β－cyclodextrin to volatile oil of 12∶1 g/mL and the inclusion temperature of 30 ℃. *Conclusion* The extraction and inclusion process of the volatile oil from the mixture of Foshou(Citri Sarcodactylis Fructus), Xiangyuan(Citri Fructus), Chenpi(Citri Reticulatae Pericarpium) and Bohe(Menthae Haplocalycis Herba) is stable and reliable based on the quality by design concept and AHP－entropy weight method, which provides an experimental basis for the subsequent development and industrial production of related preparations.

Keywords: quality by design; AHP－entropy weight method; volatile oil; extraction process; inclusion process

基金项目:国家中医药管理局张仲景传承与创新专项(GZY－KJS－2022－046－2);河南省中医药科学研究专项(2024ZY2021)
作者简介:苏畅(2000－),男,山东滕州人,硕士在读,研究方向:药物新剂型与新技术。
通讯作者:段晓颖(1966－),女,河南郑州人,主任药师,硕士研究生导师,硕士,研究方向:中药新技术新剂型与新药。E-mail:dxy1378@163.com。

质量源于设计理念(Quality by Design,QbD)是一种质量管理理念,强调在目标产品开发的早期阶段就通过系统性的设计以确保其质量[1-2],其可以有效地提高药品研发与生产中的质量控制能力,提高生产效率,优化资源利用。

层次分析法(Analytic Hierarchy Process,AHP)可以将问题分解为不同层次的因素,并对这些因素进行比较和评价[3],从而更全面地分析问题,赋予权重。熵权法可以综合多个指标的权重,考虑了各指标的信息熵,使得权重更加准确,具有客观性。将两者结合进行组合赋权可以减少主观偏差,提高了权重的准确性和可信度[4-5]。

本研究中的佛手挥发油主要成分有 D-柠檬烯、γ-松油烯、α-蒎烯等,其具有止咳、祛痰、抗焦虑等作用[6-7],香橼挥发油主要成分有 D-柠檬烯、γ-松油烯、邻花伞烃等,具有抗氧化和抑菌等作用[8-9],陈皮挥发油主要成分有 D-柠檬烯、γ-松油烯、β-月桂烯等,具有祛痰止咳以及祛风下气等作用[10-11],薄荷挥发油主要成分为 L-薄荷醇等,具有抗肿瘤、抗氧化等作用[12-13]。本研究创新性地将 QbD 理念应用于挥发油的提取与包合工艺的全过程研究中,使用 Box-Behnken 响应面试验结合 AHP-熵权法,研究了佛手、香橼、陈皮、薄荷混合挥发油的提取工艺,并综合考虑混合挥发油的提取率以及各有效成分含量,建立了提取工艺的设计空间,并采用正交试验优化挥发油的包合工艺,以期克服其易挥发、不稳定的缺点[14],为相关制剂的开发奠定了实验基础。

1 材料

1.1 仪器

XS105DU 型十万分之一电子天平(梅特勒-托利多集团);ME204 型电子分析天平(梅特勒-托利多集团);7890A 型气相色谱仪(Agilent 科技有限公司);HJ-2B 双数显恒温磁力搅拌器(金坛区西城新瑞仪器厂);LEICA-DM1000 型偏光显微镜(徕卡显微系统有限公司);TLC VISUALIZER 2 型薄层成像仪(瑞士卡玛公司);DZF-6126LC 型真空干燥箱(上海齐欣科学仪器有限公司);Evolution 201 型紫外可见分光光度计(美国 Thermo 公司)。

1.2 饮片

佛手(批号:2302043)、香橼(批号:2304042)、陈皮(批号:2212223)、薄荷(批号:2303152)均购于河南中一医药经营有限公司,经河南中医药大学第一附属医院陈天朝主任药师鉴定均为正品。

1.3 试剂

对照品 D-柠檬烯(纯度≥99%,批号 R871932,上海麦克林生化科技股份有限公司);对照品 L-薄荷醇(GC≥98%,批号:J25HB189550,上海源叶生物科技有限公司);对照品 γ-松油烯(GC≥95%,批号:Y19A14Y18900,上海源叶生物科技有限公司);β-环糊精(批号 C14474126,上海麦克林生化科技股份有限公司);无水乙醇(分析纯,批号 YD20220720,天津市永大化学试剂有限公司);石油醚 60~90 ℃(分析纯,批号 YD20230829,天津市永大化学试剂有限公司);乙酸乙酯(分析纯,批号 YD20220922,天津市永大化学试剂有限公司)。

2 挥发油提取工艺研究方法与结果

2.1 关键质量属性(critical quality attributes,CQAs)的确定

QbD 理念的核心概念之一是确定关键质量属性(CQAs)和关键工艺参数(CPPs),并通过使用科学实验设计等方法,确保这些关键参数得到有效控制。结合 2020 版《中华人民共和国药典》和相关参考文献,本研究将混合挥发油提取率、D-柠檬烯含量、γ-松油烯含量、L-薄荷醇含量作为挥发油提取工艺的 CQAs。

2.2 关键工艺参数(critical process parameters,CPPs)的筛选

挥发油的提取主要受到环境、设备、饮片、提取条件等因素的影响,在众多因素中识别并控制潜在关键工艺参数是 QbD 理念的重要应用方式。本研究使用鱼骨法对挥发油提取的风险因素进行定性描述,结果见图 1。在定性识别风险因素的基础上,使用失效模型和效应分析法(failure modes andeffect analysis,FMEA)对众多因素的风险程度进行定量分析[15],使用风险优先数(risk priority number,RPN)评价风险程度,公式为 RPN = S × O × D(S:失效的严重度,O:发生频度,D:检出度)。风险评估结果见表 1。因此,根据 RPN 值选取其中的高风险因素:提取时间、加水倍数、浸泡时间,为挥发油提取工艺研究的 CPPs。

2.3 挥发油的提取

参照 2020 版《中华人民共和国药典》四部通则 2204 挥发油测定法甲法,按处方比例称取佛手、香橼、陈皮、薄荷共 324 g 于圆底烧瓶中,加入相应倍数的水,连接挥发油提取器等装置,采用水蒸气蒸馏法提取其混合挥发油。

2.4 挥发油指标成分含量测定

2.4.1 对照品溶液的制备 精密称定 D-柠檬烯、γ-松油烯、L-薄荷醇对照品适量,分别置于10 mL容量瓶中,加无水

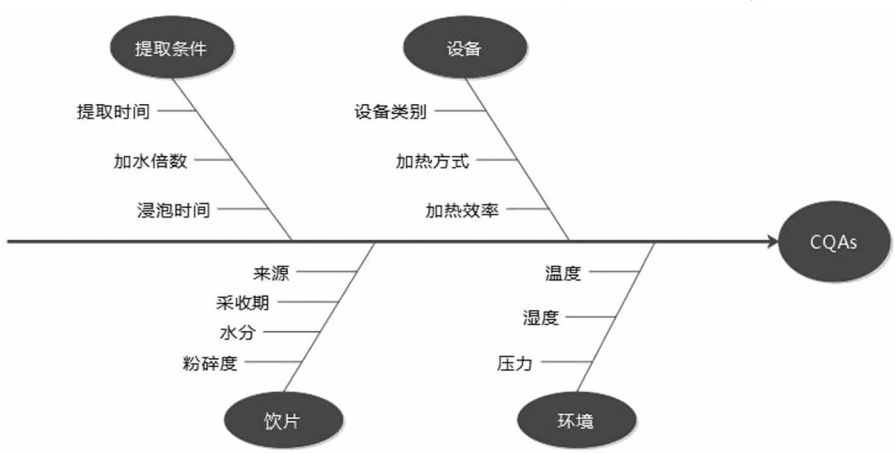


图 1 挥发油提取风险因素鱼骨图

乙醇定容至刻度，制得上述成分质量浓度分别为 41.397、35.126、4.662 mg/mL 的单一对照品母液，备用。

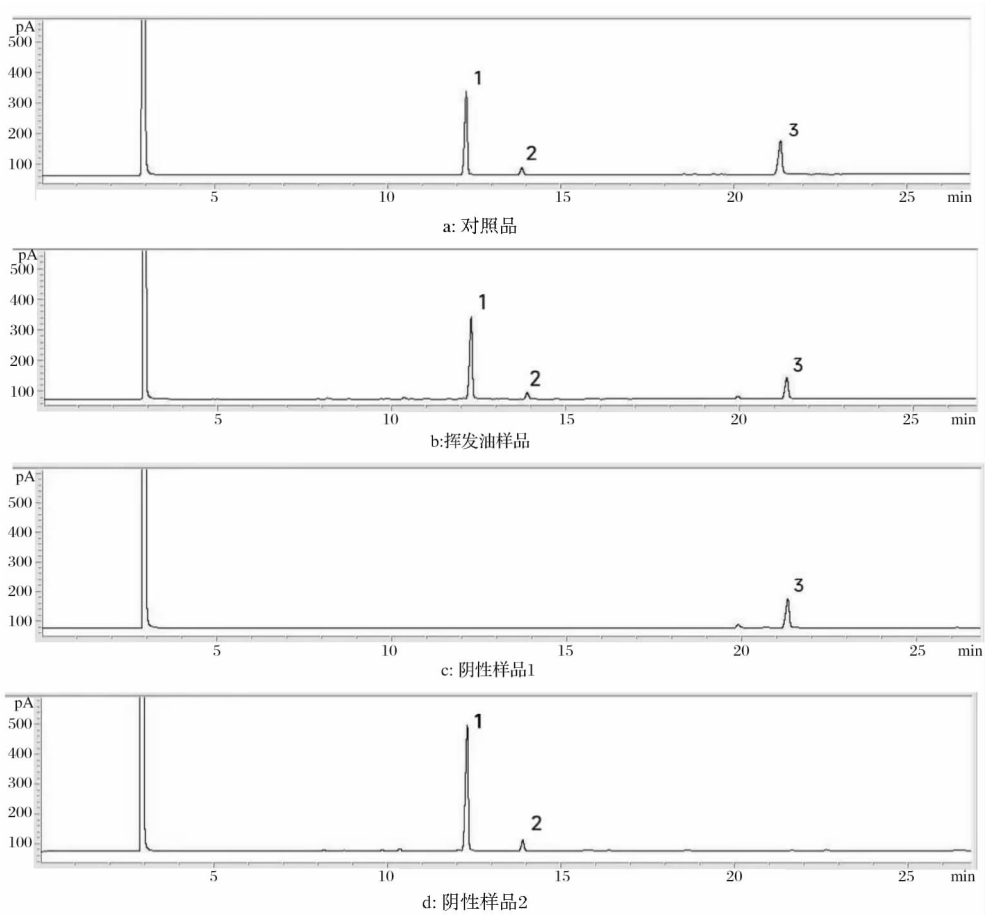
2.4.2 供试品溶液的制备 精密吸取挥发油 100 μL 于 10 mL 容量瓶中，加无水乙醇定容至刻度，摇匀后经 0.22 μm 微孔滤膜过滤即得。同法制得缺佛手、香橼、陈皮的阴性样品 1 和缺薄荷的阴性样品 2。

2.4.3 气相色谱条件 色谱柱 HP-5（30 m × 0.32 mm × 0.25 μm，美国 Agilent 公司），FID 检测；程序升温：初始温度 70 ℃，保持 3.5 min，以 1.5 ℃/min 升温至 105 ℃；进样量：1 μL，分流比 40∶1，载气为氦气，氦气流速 1.2 mL·min^{-1}，进样口温度为 200 ℃，检测器温度为 300 ℃，空气流速：400 mL/min 氢气流速：30 mL/min，尾吹：25 mL/min。色谱图见图 2。

2.4.4 线性关系的考察 精密吸取 D-柠檬烯对照品母液 0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mL，γ-松油烯对照品母液 0.02、0.03、0.04、0.05、0.06 mL，L-薄荷醇对照品母液 0.15、0.30、0.60、1.20、2.40 mL 置 5 mL 量瓶中，加入无水乙醇定容至刻度，摇匀。照 2.4.3 项下气相色谱条件测定，所得结果以浓度为横坐标（X）峰面积为纵坐标（Y）进行线性回归，得到回归方程，见

表 1 FMEA 风险评估结果

风险来源	参数	S	O	D	RPN	依据
环境	温度	2	1	1	2	本研究在同一实验室进行，具有相同的实验环境，温湿度、大气压均保持在一定范围内，风险较小。
	湿度	2	1	1	2	
	压力	1	2	1	2	
设备	设备类别	3	2	1	6	本研究使用固定设备，风险较小。
	加热方式	2	1	1	2	
	加热效率	2	1	2	4	
饮片	来源	2	1	1	2	本研究使用饮片均为同一批次，均不进行粉碎，风险较小。
	采收期	3	1	2	6	
	粉碎度	3	2	1	6	
	水分	3	1	1	3	
提取条件	提取时间	4	4	1	16	提取条件可控性强，且对挥发油及其有效成分的提取量影响强，风险高。
	加水倍数	4	3	1	12	
	浸泡时间	4	3	1	12	



注：1：D-柠檬烯；2：γ-松油烯；3：L-薄荷醇。

图 2 气相色谱图

表 2。

表 2 指标成分的线性关系

成分	回归方程	线性范围/(mg·mL^{-1})	R^2
D－柠檬烯	Y=405.36X－42.380	1.655 9－4.967 6	0.999 3
L－薄荷醇	Y=376.15X－24.129	0.139 9－2.237 8	0.999 1
γ－松油烯	Y=439.99X－15.000	0.140 5－0.421 5	0.999 2

2.4.5 仪器精密度考察 按 2.4.3 项下色谱条件，取 D－柠檬烯、γ－松油烯、L－薄荷醇对照品溶液连续进样 6 针，记录峰面积。计算各项 RSD 值（n=6），分别为 D－柠檬烯 0.427%、γ－松油烯 0.239%、L－薄荷醇 0.369%。RSD 值均小于 3%，表明仪器设备精密度良好。

2.4.6 重复性考察 取同一挥发油样品，按 2.4.2 项下方法平行制备 6 份供试品溶液，按 2.4.3 项下色谱条件进样，计算 D－柠檬烯、γ－松油烯、L－薄荷醇含量的 RSD 值（n=6），结果分别为 1.711%、1.722%、1.588%，表明该方法重复性良好。

2.4.7 稳定性考察 取同一供试品溶液，按照 2.4.3 项下色谱条件分别于溶液制备后 0、2、4、6、8、12、24 h 后进样分析。分别计算 D－柠檬烯、γ－松油烯、L－薄荷醇的峰面积 RSD 值（n=6），结果依次为 0.427%、0.737%、0.362%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.8 加样回收率试验 精密量取 6 份已知上述 3 种成分含量的挥发油样品 50 μL 分别置于 10 mL 容量瓶中，精密加入与各成分含量成 1∶1（m∶m）比例的对照品，按 2.4.2 项下方法制备 6 份供试品溶液，按 2.4.3 项下色谱条件进样，分别计算 D－柠檬烯、γ－松油烯、L－薄荷醇的平均加样回收率为 99.67%、100.14%、99.89%，RSD 值分别为 1.018%、1.129%、0.875%。

2.5 提取工艺各指标权重分析及综合评分

2.5.1 AHP 法 采用 AHP 法对各指标进行主观赋权分析[16]，优先顺序为提取率＞D－柠檬烯含量＞γ－松油烯含量＝L－薄荷醇含量，由此构建优先判断矩阵，见表 3。计算得提取工艺各指标主观权重 W_1 分别为 54.52%、27.27%、9.09%、9.09%。一致性检验结果显示 CR＜0.1，通过一致性检验，主观赋权合理。

表 3 提取工艺各指标优先判断矩阵

权重指标	提取率	D－柠檬烯含量	γ－松油烯含量	L－薄荷醇含量
提取率	1	2	6	6
D－柠檬烯含量	1/2	1	3	3
γ－松油烯含量	1/6	1/3	1	1
L－薄荷醇含量	1/6	1/3	1	1

2.5.2 熵权法 采用熵权法进行客观赋权[17]，使用 Min－Max 标准化法处理数据以消除各指标量纲。将消除量纲后的各指标数据建立原始矩阵，再将原始矩阵转化为概率矩阵，最后使用公式：

$$H_j = -\frac{1}{\ln m}\sum_{i=1}^{m} P_{ij}\ln P_{ij}$$

$$W_2 = (1-H_j)/\sum_{j=1}^{n}(1-H_j$$

计算提取率、D－柠檬烯含量、γ－松油烯含量、L－薄荷醇含量的客观权重 W_2。

2.5.3 综合评分 将 AHP 法和熵权法所得权重 W_1 和 W_2 结合，计算各指标综合权重 $W_{综合}$，计算公式为 $W_{综合} = \frac{W_1 W_2}{\sum_{j=1}^{n} W_{12}}$，将各指标的综合权重带入公式，计算综合评分，综合评分 Y＝（提取率/提取率 Max×提取率 $W_{综合}$＋D－柠檬烯含量/D－柠檬烯含量 Max×D－柠檬烯含量 $W_{综合}$＋γ－松油烯含量/γ－松油烯含量 Max×γ－松油烯含量 $W_{综合}$＋L－薄荷醇含量/L－薄荷醇含量 Max×L－薄荷醇含量 $W_{综合}$）×100。

2.6 挥发油提取工艺单因素实验

本研究考察了提取时间、加水倍数、浸泡时间对上述饮片挥发油提取效果的影响。在固定其中两项条件不变的前提下，分别考察提取时间：2、3、4、5、6 h，加水倍数：6、8、10、12、14 倍，浸泡时间：0、30、60、90、120 min。按照 2.5 项下方法计算提取率、D－柠檬烯含量、γ－松油烯含量、L－薄荷醇含量的综合权重 $W_{综合}$。考察因素为提取时间时各指标 $W_{综合}$ 分别为 54.19%、28.82%、10.20%、6.79%。考察因素为加水倍数时各指标 $W_{综合}$ 分别为 47.03%、25.77%、10.17%、17.03%。考察因素为浸泡时间时各指标 $W_{综合}$ 分别为 53.35%、31.39%、8.37%、6.89%。按照 2.4.3 项下色谱条件测定各成分含量，按 2.5 项下方法计算综合评分，结果见图 3。

由图 3 可知，提取时间、加水倍数、浸泡时间对综合评分的影响曲线总体均呈上升－平稳趋势。其中提取时间在 5 h 处，加水倍数在 10 倍处，浸泡时间在 60 min 处，综合评分达到或接近最大值，此后变化不明显。因此，选择提取时间 4 h，加水倍数 8 倍，浸泡时间 30 min 作为 Box－Behnken 响应面优化实验的中心点。

2.7 Box－Behnken 响应面法优化挥发油提取工艺

2.7.1 实验设计与结果 根据单因素实验确定的 Box－Behnken 响应面优化的中心值，以上述三因素作为自变量，以综合评分 Y 作为响应值，建立三因素三水平 Box－Behnken 响应面实验表，见表 4。按照 2.4.3 项下色谱条件测定各成分含量，按照 2.5 项下方法计算 Box－Behnken 响应面实验中提取率、D－柠檬烯含量、γ－松油烯含量、L－薄荷醇含量的综合权重 $W_{综合}$，分别为：69.54%、20.23%、5.38%、4.84%，计算综合评分。Box－Behnken 响应面实验结果见表 5。

2.7.2 模型的建立与方差分析 使用 Design－Expert 13 软件对表 5 中的数据进行多元回归拟合，得到方程 Y＝89.49＋9.45A＋2.28B＋2.90C＋0.713 1AB＋0.913 7AC＋0.746 4BC－4.11A^2＋0.850 7B^2－0.063 8C^2。方差分析结果见表 6，其中模型极显著（P=0.000 4＜0.01），失拟项不显著（P=0.540 5＞0.05），表明该模型拟合度较好。拟合相关系数 R^2=0.959 5，R^2_{adj}=0.907 9 均＞0.9，表明响应值与预测值有较高的相关性，该模型可以较好地预测综合评分的变化。F 值大小可以反映各因素对综合评分的影响程度，即 A（提取时间）＞C（浸泡时间）＞B（加水倍数），且 A（提取时间）和 C（浸泡时间）对综合评分影响极显著（P＜0.01），B（加水倍数）对综合评分影响显著（P＜0.05）。

2.7.3 响应面分析 使用 Design－Expert 13 软件绘制三维响应面图和等高线图，结果见插页Ⅻ图 4。通过观察图 4 中 a、b、c3 组图的三维响应面图陡峭程度和等高线图密度、颜色变化综合判断各因素对综合评分的影响程度。综合比较各因素对于综合评分的影响程度为 A＞C＞B，与方差分析中 F 值的判断一致。

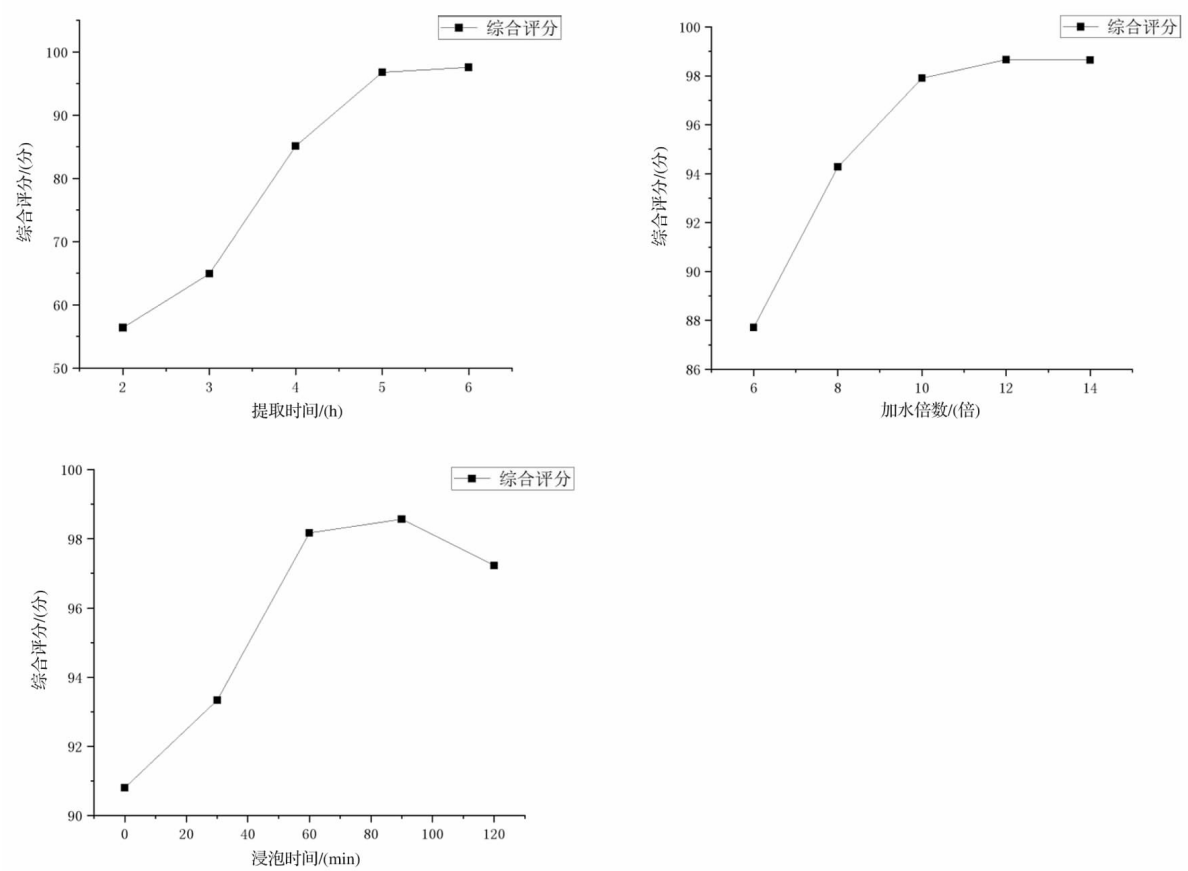


图 3 挥发油提取单因素考察结果

表 4 Box – Behnken 响应面实验因素水平

水平	A 提取时间/(h)	B 加水倍数	C 浸泡时间/(min)
−1	3	6	0
0	4	8	30
+1	5	10	60

表 5 Box – Behnken 响应面实验设计与结果

实验号	A	B	C	提取率/(%)	D – 柠檬烯/(mg/g)	γ – 松油烯/(mg/g)	L – 薄荷醇/(mg/g)	Y. 综合评分
1	+1	0	+1	0.44	2.01	0.16	4.06	99.78
2	0	0	0	0.41	1.70	0.15	4.07	91.11
3	+1	−1	0	0.41	1.93	0.16	3.32	93.37
4	0	0	0	0.40	1.55	0.14	4.20	88.88
5	+1	+1	0	0.43	1.99	0.15	3.83	97.68
6	0	0	0	0.38	1.65	0.14	3.37	85.78
7	0	+1	+1	0.42	1.96	0.16	4.04	96.00
8	−1	0	+1	0.35	1.42	0.12	4.20	78.76
9	+1	0	−1	0.42	1.61	0.13	2.86	90.05
10	0	−1	−1	0.38	1.66	0.15	3.76	86.05
11	−1	−1	0	0.34	1.35	0.12	3.72	76.21
12	−1	0	−1	0.34	1.17	0.10	3.68	72.68
13	−1	+1	0	0.35	1.40	0.13	3.71	77.66
14	0	0	0	0.41	1.71	0.16	4.24	92.07
15	0	−1	+1	0.39	1.67	0.14	3.76	88.26
16	0	0	0	0.40	1.69	0.14	3.88	89.61
17	0	+1	−1	0.40	1.75	0.15	3.87	90.81

2.7.4 设计空间的建立与验证 根据生产经验和数据分析，以综合评分 $Y \geq 89.80$（90% Y_{max}）为目标，在工艺参数空间内选取合适的子集空间构建设计空间，由于模型的预测值和实验真实值可能存在差异且设计空间的边界存在不确定性，因此在设计空间内加入 95% 的置信区间进行优化，结果见插页Ⅻ图 5。为方便实际操作，最终选取的空间范围为提取时间：4.5 ~ 5 h，加水倍数：8.8 ~ 10 倍，浸泡时间：44 ~ 60 min。

表 6 方差分析表

来源	平方和	自由度	均方	*F* 值	*P* 值
模型	903.74	9	100.42	18.43	0.000 4
A	713.96	1	713.96	131.04	< 0.000 1
B	41.72	1	41.72	7.66	0.027 8
C	67.36	1	67.36	12.36	0.009 8
AB	2.03	1	2.03	0.373 3	0.560 5
AC	3.34	1	3.34	0.612 9	0.459 4
BC	2.23	1	2.23	0.409 0	0.542 8
A^2	71.14	1	71.14	13.06	0.008 6
B^2	3.05	1	3.05	0.559 2	0.478 9
C^2	0.01 71	1	0.017 1	0.003 1	0.956 8
残差	38.14	7	5.45		
失拟项	14.69	3	4.90	0.835 2	0.540 5
纯误差	23.45	4	5.86		
总离差	941.88	16			

为了验证该设计空间的可靠性，分别于设计空间内外各选两点测定各项指标，计算综合评分，结果见表 7。结果显示设计空间内两点的综合评分均满足要求，而设计空间外的两点均不满足要求，表明该设计空间预测效果较好，提取工艺稳定

可靠。

表 7 挥发油提取工艺设计空间验证结果

序号	A/(h)	B/(倍)	C/(min)	提取率/(%)	D-柠檬烯/(mg/g)	γ-松油烯/(mg/g)	L-薄荷醇/(mg/g)	Y. 综合评分
1(空间内)	4.5	9	45	0.42	1.86	0.15	3.93	95.58
2(空间内)	5.0	9	50	0.44	2.05	0.16	3.57	99.26
3(空间外)	4.0	7	20	0.39	1.64	0.13	3.72	86.29
4(空间外)	3.5	8	20	0.38	1.39	0.13	3.85	82.38

3 挥发油包合工艺研究方法与结果

3.1 挥发油包合工艺 CQAS 和 CPPS 的确定

结合参考文献[18-19],选取挥发油包合率、包合物得率、包合物含油率为包合工艺研究的 CQAs,选取包合时间、挥发油与β-环糊精的比例、包合温度为 CPPs。

3.2 空白回收率测定

参照 2020 版中国药典四部通则 2204 挥发油测定法甲法,精密量取 1 mL 挥发油置于圆底烧瓶中,加入适量的蒸馏水,保持微沸 5 h 提取挥发油,冷却 1 h 后读取挥发油体积,计算挥发油空白回收率,平行测定 3 次。挥发油空白回收率 =(挥发油测得量/挥发油加入量)×100%,结果平均空白回收率为 94%,RSD = 1.064%

3.3 挥发油密度测定

精密量取挥发油 2 mL,置于已称定质量的量瓶中,称定两者的总质量,重复实验 3 次,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 mL。结果为挥发油平均密度 = 0.851 8 g/mL,RSD = 0.333%。

3.4 挥发油包合率测定

将已称定质量的包合物置于圆底烧瓶中,加入适量的纯水,按照 3.2 项下方法提取包合物中的挥发油,计算包合率。包合率 = 包合物中提取挥发油量/(挥发油加入量 × 空白回收率)×100%。

3.5 包合物含油率测定

包合物含油率 = 包合物中提取挥发油质量/包合物质量 ×100%。

3.6 包合物得率测定

采用饱和水溶液法进行包合物的制备,取 β-环糊精适量充分溶解于设定温度的纯水中,以转速 750 r/min 持续搅拌,逐滴加入 2 mL 使用无水乙醇溶解的挥发油(50%,v/v),在设定温度下持续搅拌一定的时间后冷却至室温,置于 4 ℃冷藏 24 h,抽滤,使用无水乙醇洗涤 3 次,每次 15 mL,40 ℃真空干燥 5 h,得干燥的挥发油包合物,称重,计算包合物得率。包合物得率 = 所得包合物质量/(β-环糊精质量 + 挥发油质量)×100%。

3.7 包合工艺各指标权重分析及综合评分

3.7.1 AHP 法 按照 2.5.1 项下方法,对挥发油包合工艺各指标进行客观赋权分析,优先顺序为包合率 > 包合物得率 > 包合物含油率,由此构建优先判断矩阵,见表 8。计算得包合工艺各指标主观权重 W_1 分别为 63.64%、27.27%、9.09%,一致性检验结果显示 CR < 0.1,通过一致性检验,主观赋权合理。

3.7.2 熵权法 按照 2.5.2 项下方法,对挥发油包合工艺各指标进行客观赋权分析,计算包合率、包合物得率、包合物含油率的客观权重 W_2。

表 8 提取工艺各指标优先判断矩阵

权重指标	包合率/(%)	包合物得率/(%)	包合物含油率/(%)
包合率	1	7/3	7
包合物得率	3/7	1	3
包合物含油率	1/7	1/3	1

3.7.3 综合评分 按照 2.5.3 项下方法,将 AHP 法和熵权法所得权重 W_1 和 W_2 结合,计算各指标综合权重 $W_{综合}$。将挥发油包合各指标的综合权重代入公式,计算综合评分,综合评分 Y =(包合率/包合率 Max × 包合率 $W_{综合}$ + 包合物得率/包合物得率 Max × 包合物得率 $W_{综合}$ + 包合物含油率/包合物含油率 Max × 包合物含油率 $W_{综合}$)×100。

3.8 包合工艺单因素实验考察

本研究考察了包合时间、β-环糊精与挥发油的比例、包合温度对挥发油包合效果的影响。在固定其中两项条件不变的前提下,按照 3.4、3.5、3.6 项下实验方法分别考察包合时间 0.5、1、1.5、2、2.5 h,β-环糊精与挥发油的比例为 4∶1、6∶1、8∶1、10∶1、12∶1 g/mL,包合温度 30、40、50、60 ℃对挥发油包合工艺的影响。按照 3.7 项下方法计算包合率、包合物得率、包合物含油率的综合权重 $W_{综合}$。考察因素为包合时间时各指标 $W_{综合}$ 分别为 61.66%、29.59%、8.75%。考察因素为β-环糊精与挥发油的比例时各指标 $W_{综合}$ 分别为 70.64%、21.11%、8.25%。考察因素为包合温度时各指标 $W_{综合}$ 分别为 62.58%、27.74%、9.68%,计算综合评分,结果见图 6。

从图 2 可知,包合时间、β-环糊精与挥发油的比例、包合温度对综合评分的影响曲线总体均呈上升-下降趋势。其中包合时间在 2 h 处,β-环糊精与挥发油的比例在 10∶1 处,包合温度在 40 ℃处,综合评分达到最大值,此后呈下降趋势。因此,选择提取时间 1.5、2、2.5 h,β-环糊精与挥发油的比例8∶1、10∶1、12∶1,包合温度 30、40、50 ℃,进行三因素三水平的正交实验设计,进一步优化挥发油的包合工艺。

3.9 正交实验优化包合工艺

3.9.1 正交实验设计与结果 根据挥发油包合单因素实验确定的因素水平,建立 $L_9(3^4)$ 挥发油包合正交实验因素水平表,见表 9。按照 3.4、3.5、3.6 项下实验方法分别测定各实验组的包合率、包合物得率、包合物含油率,按照 3.7 项下方法计算包合率、包合物得率、包合物含油率的综合权重 $W_{综合}$,分别为 66.90%、23.71%、9.38%,计算综合评分,结果见表 10。

3.9.2 方差分析 根据正交实验数据进行方差分析,结果见表 11。根据 F 值可以比较各因素对综合评分的影响程度,即 B > A > C,其中 A 和 B 对综合评分影响显著($P < 0.05$),C 无显著性影响($P > 0.05$)。根据 K 值分析正交实验优化的最优包合工艺为 A3B3C2,由于因素 C 影响不显著,为了节约能源、方便操作,挥发油包合最优工艺确定为 A3B3C1,即包合时间 2.5 h,β-环糊精与挥发油比例为 12∶1 g/mL,包合温度为 30 ℃。

3.9.3 包合工艺的验证 为验证正交实验优化的挥发油包合工艺的稳定性,按照最优工艺平行制备 3 批包合物,实验结果见表 12。综合评分平均值为 98.0,RSD = 0.819%,表明该包合工艺稳定可行。

3.10 包合物表征

3.10.1 显微成像法 分别取 β-环糊精、包合物以及挥发油少许制水装片,于显微镜下观察其状态,见插页Ⅻ图 7。其中包

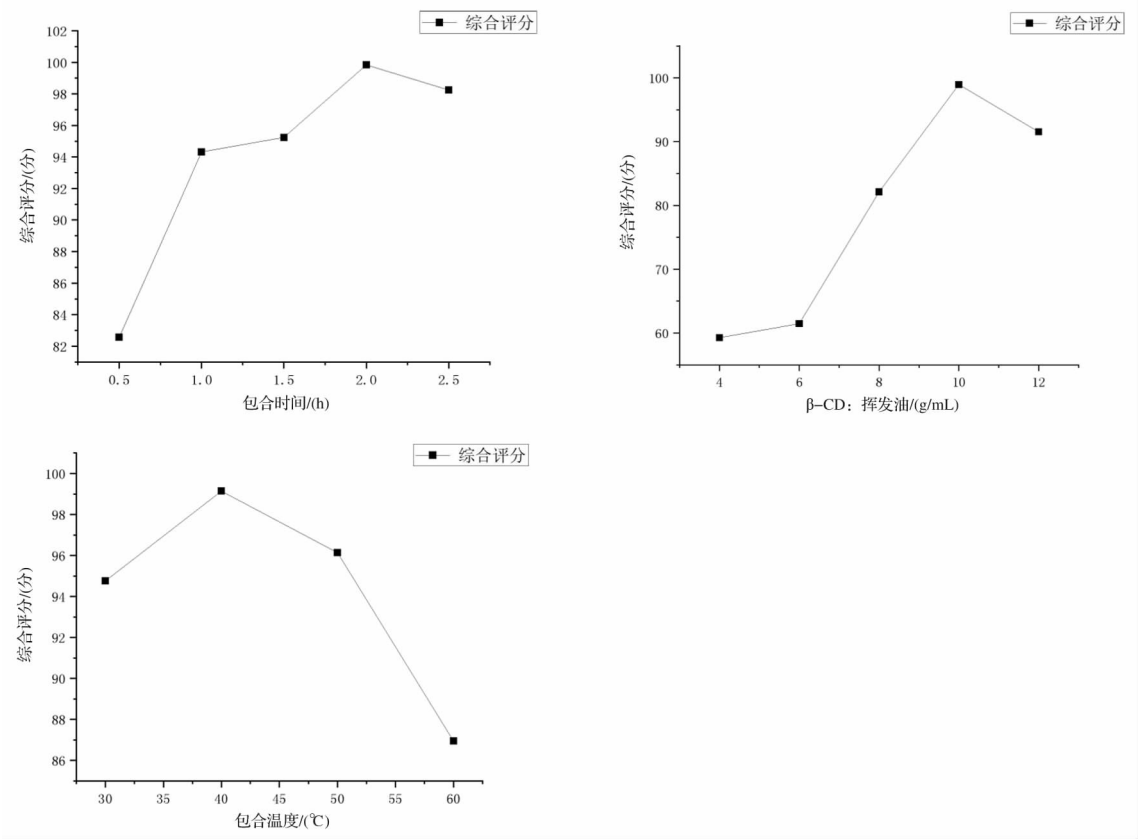


图 6 挥发油包合单因素考察结果

表 9 $L_9(3^4)$挥发油包合正交实验因素水平表

因素 水平	A. 包合 时间/(h)	B. β－环糊精： 挥发油/(g/mL)	C. 包合 温度/(℃)
1	1.5	8∶1	30
2	2.0	10∶1	40
3	2.5	12∶1	50

表 10 $L_9(3^4)$挥发油包合正交实验设计与结果

序号	A	B	C	D (空白)	包合率/ (%)	包合物 得率/(%)	含油率/ (%)	综合 评分/(分)
1	1	1	1	1	68.09	76.67	5.97	75.41
2	1	2	2	2	87.23	84.54	8.08	93.58
3	1	3	3	3	84.04	91.68	8.03	93.09
4	2	1	2	3	63.83	74.73	5.64	71.49
5	2	2	3	1	69.15	80.71	6.32	77.62
6	2	3	1	2	74.47	82.26	6.36	81.87
7	3	1	3	2	75.53	84.52	7.13	84.11
8	3	2	1	3	80.85	83.66	7.61	88.25
9	3	3	2	1	93.62	86.14	7.72	98.14
K1	87.360	77.003	81.843	83.723				
K2	76.993	86.483	87.737	86.520				
K3	90.167	91.033	84.940	84.277				
R	13.174	14.030	5.894	2.797				

表 11 方差分析结果

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	*F* 值	*P* 值
A	288.882	2	144.441	21.952	<0.05
B	307.414	2	153.707	23.360	<0.05
C	52.142	2	26.071	3.962	>0.05

注：$F_{0.05}(2,2)=19$。

表 12 挥发油包合工艺验证实验

序号	包合率/ (%)	包合物 得率(%)	包合物 含油率(%)	综合 评分/(分)
1	92.92	88.81	8.16	98.84
2	92.19	86.97	7.64	97.24
3	92.35	87.76	7.96	97.93

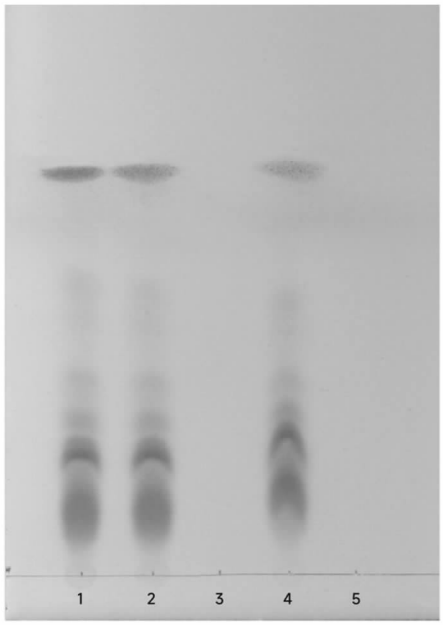
合物形态明显区别于 β－环糊精和挥发油，表明发生了包合。

3.10.2 *薄层色谱法* 取挥发油、包合物中提取的挥发油、包合物、物理混合物以及 β－环糊精适量，使用无水乙醇溶解，过滤后取上清液作为样品溶液 1～5。按照薄层色谱试验法吸取样品溶液 1～5 各 10 μL 点于同一硅胶 G 薄层板上，使用石油醚(60～90 ℃)－乙酸乙酯(20∶1)为展开剂，展开后取出、晾干，使用 5% 香草醛硫酸溶液为显色剂，显色，于 105 ℃烘干至斑点清晰，见图 8。硅胶 G 薄层板中 3 无斑点，而 1、2 出现斑点说明挥发油已通过饱和水溶液法包合进 β－环糊精中，且包合前后的挥发油性质无明显改变。4 出现斑点说明简单的物理混合无法形成包合物。

3.10.3 *紫外－可见分光光度法* 取挥发油、包合物以及 β－环糊精适量，于无水乙醇中溶解，使用 UV 法扫描，结果见插页Ⅻ图 9。在 240 nm 处挥发油有明显紫外吸收，而 β－环糊精、包合物无吸收，说明挥发油可以通过饱和水溶液法包合进入 β－环糊精的空腔内而形成新的物质结构，即挥发油包合物。

4 讨论

佛手、香橼、陈皮挥发油的主要成分均含有 D－柠檬烯、γ－松油烯[6-11]，因此在制作气相色谱阴性样品 1 时，同时去除了佛手、香橼、陈皮。且由于 D－柠檬烯、γ－松油烯在 3 种药材中均有存在，所以将其定为挥发油提取工艺的 CQAs 之



注:1. 挥发油;2. 包合物中提取挥发油;3. 包合物;4. 物理混合;5. β - 环糊精。

图 8 薄层色谱图

一。挥发油中的 D - 柠檬烯含量较高且作用广泛[20-22],γ - 松油烯在 3 种药材中含量较少,因此在 AHP 评分时将 D - 柠檬烯设置为权重仅次于挥发油提取率,将 γ - 松油烯与 L - 薄荷醇的权重并列设于 D - 柠檬烯之下。

中药挥发油的抗菌、抗癌、调节中枢神经和心脑血管等多种作用使其在中药制剂领域得到日益广泛地关注和应用[23-25]。本研究将 QbD 理念融入到整个挥发油提取与包合工艺研发过程中,其目标是减少质量风险并提高药品质量的可控性和可预测性[26-27]。AHP - 熵权法能够通过综合主客观评分的方式提供一种系统性的方法来评估与权衡提取工艺和包合工艺中各个指标的重要性,为工艺决策提供了量化的评估和权重分配。通过结合两者可以在中药挥发油提取与包合工艺研究中使用科学的决策分析方法,以确保尽可能地考虑了所有相关因素,以减少实际生产中的不确定性,降低风险,建立稳定可靠的工艺,从而为后续新制剂的开发与生产奠定了实验基础。

参考文献

[1] 董乔,张兴跃,许明慧,等. 基于 QbD 理念的氨来呫诺亲水凝胶骨架缓释片的制备[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版),2023,53(5):118 - 125.

[2] 房辰晨,孙敬蒙,卢美彤,等. 基于质量源于设计理念优化布洛芬双释双层片的处方工艺[J]. 医药导报,2021,40(9):1237 - 1242.

[3] 梁晓莲,桂雄斌,陈勇,等. 基于层次分析法结合 Box - Behnken 设计响应面法优选咽痒咳合剂提取工艺[J]. 中药材,2023,46(5):1243 - 1248.

[4] 樊箫雨,杨凯丽,李花花,等. Box - Behnken 响应面结合基准关联度和 AHP - 熵权法优化经典名方半夏泻心汤的提取工艺[J]. 中草药,2022,53(21):6716 - 6725.

[5] 陈方圆,王继龙. Box - Behnken 设计 - 响应面法结合 G1 - 熵权法优化黄芪六一汤黄酮组分的提取纯化工艺[J]. 中草药,2024,55(14):4688 - 4699.

[6] 张璞,张佳琪,李冰,等. 佛手精油的化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中成药,2023,45(2):514 - 518.

[7] 曹小敏,潘思轶. 柑橘属药食同源植物次生代谢物及生物活性研究进展[J]. 食品科学,2022,43(23):305 - 315.

[8] 徐丽珊,王利枝,江震宇. 佛手与香橼、柠檬、椪柑挥发油的成分及抑菌和清除 DPPH 自由基作用比较[J]. 浙江师范大学学报(自然科学版),2018,41(1):84 - 91.

[9] 严辉,高明亮,查玉玲,等. 香橼化学成分和药理作用研究进展及其质量标志物预测分析[J]. 中国现代应用药学,2022,39(7):976 - 988.

[10] 朱丽云,柳小莉,郑琴,等. 陈皮挥发油质量标志物预测及 GC - MS 定量分析[J]. 中国中药杂志,2021,46(24):6403 - 6409.

[11] 刘日群,李字棋,肖淑华,等. 理气药抗抑郁作用及机制研究进展[J]. 中草药,2024,55(10):3558 - 3568.

[12] 张东阁. 基于 QbD 理念的感冒清热颗粒挥发油提取与包合工艺研究[D]. 承德:承德医学院,2022.

[13] 贾学伟,代玉祥,何峰,等. 薄荷颗粒香料的干燥工艺及滤棒加香应用研究[J]. 轻工学报,2024,39(3):62 - 71.

[14] 孔伟浩,孙帅,陆禹河,等. 复方蒙药广枣 - 肉豆蔻片的制备与质量控制[J]. 科学技术与工程,2024,24(9):3632 - 3637.

[15] 崔向龙,徐冰,孙飞,等. 质量源于设计在银杏叶片制粒工艺中的应用(Ⅲ):基于设计空间的过程控制策略[J]. 中国中药杂志,2017,42(6):1048 - 1054.

[16] 任天航,聂紫璇,廉婧,等. 层次分析法结合 Box - Behnken 响应面法优化炙黄芪炒制工艺[J]. 中华中医药学刊,2023,41(7):208 - 213,278.

[17] 常春辉,李家豪,徐翠珊,等. 效应面结合熵权法优选复方麝香黄芪滴丸中当归、川芎、桃仁、赤芍的醇提工艺[J]. 中华中医药学刊,2023,41(6):172 - 177,274.

[18] 邓亚伟,刘明松,李欣浓,等. 基于 Plackett - Burman 结合 Box - Behnken 优选经典名方三化汤挥发油 β - 环糊精包合工艺[J]. 中国现代应用药学,2023,40(19):2669 - 2676.

[19] 王炳琪,李国文,周振华,等. 芪术颗粒挥发油 β - 环糊精包合物的制备及表征[J]. 中国新药杂志,2023,32(16):1690 - 1696.

[20] 江丽洁,温乐乐,石佳艺,等. 常山胡柚果皮精油提取工艺模型筛选优化、化学成分及抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发,2024,36(7):1101 - 1111.

[21] 王腾飞,陈凤,齐玲,等. D - 柠檬烯对胶质母细胞瘤细胞增殖的抑制作用及其机制[J]. 吉林大学学报(医学版),2024,50(3):647 - 657.

[22] 吕邵娃,郭红丽,李影,等. 六君子汤中理气药陈皮挥发性成分与胃肠动力调节关联性研究[J]. 吉林中医药,2024,44(5):582 - 589.

[23] 王琪,郑晓,吴飞,等. 挥发油在中药口服制剂中应用的研究进展[J]. 中成药,2022,44(2):498 - 503.

[24] 冯金涛,叶向露,张宁,等. 中药挥发油治疗炎症性肠病的药理研究进展[J]. 中成药,2024,46(5):1577 - 1582.

[25] 张一飞,程露,任明诗,等. 中药挥发油化学成分和抗抑郁作用机制研究进展[J/OL]. 中国药科大学学报,1 - 19[2024 - 07 - 13].

[26] 皮桐昊,代英辉,王东凯. 质量源于设计在制剂设计中的应用研究进展[J]. 中国药剂学杂志(网络版),2022,20(4):129 - 138.

[27] 曾华婷,郭健,刘聪燕,等. 基于质量源于设计(QbD)理念的淫羊藿素 - 薏苡仁油微乳制备工艺研究[J]. 中国中药杂志,2020,45(16):3844 - 3851.

基于质量源于设计理念与 AHP－熵权法优化佛手、香橼、陈皮、薄荷挥发油提取与包合工艺

（正文见 42－49 页）

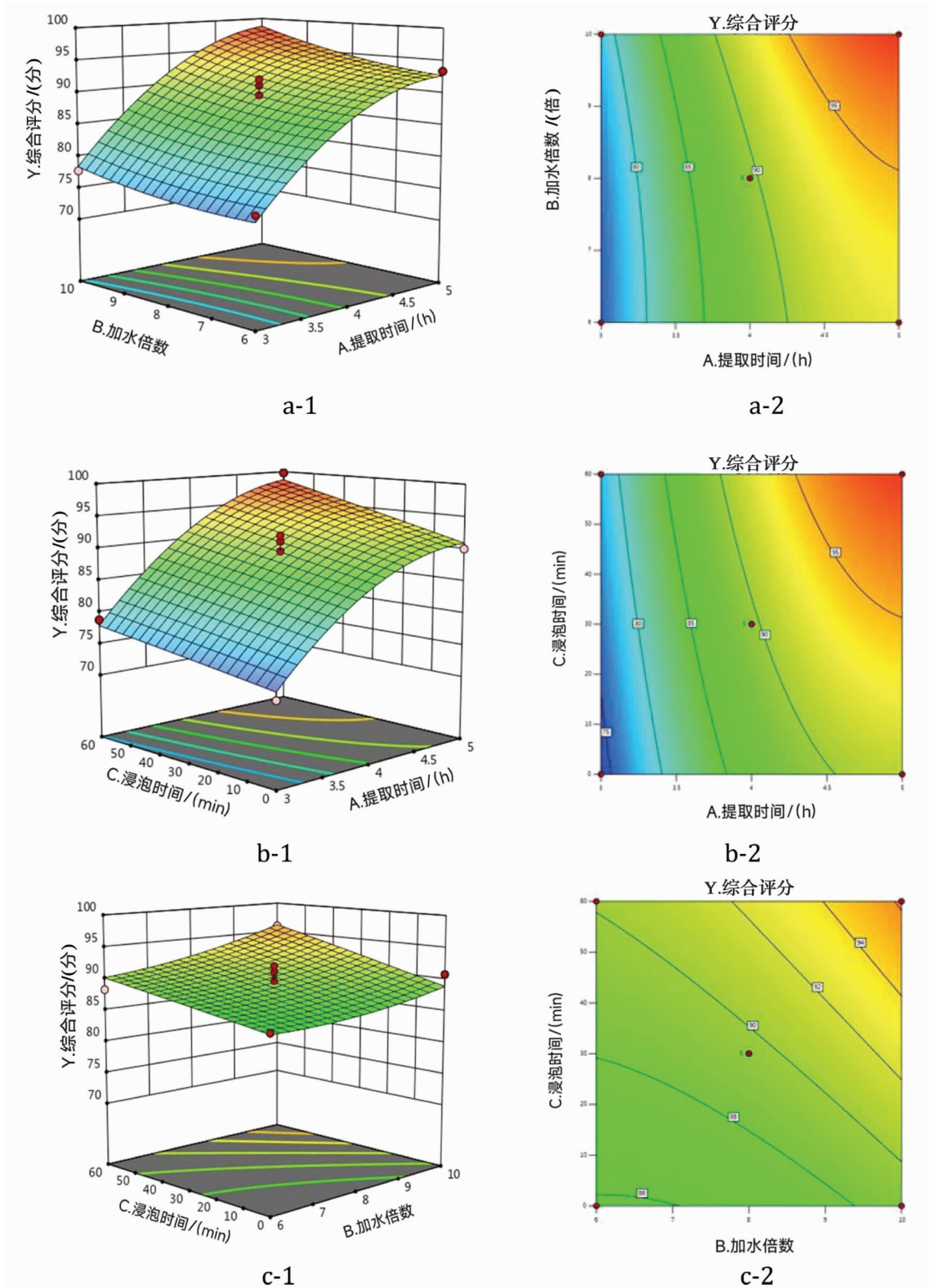


图 4　响应面曲面及等高线图

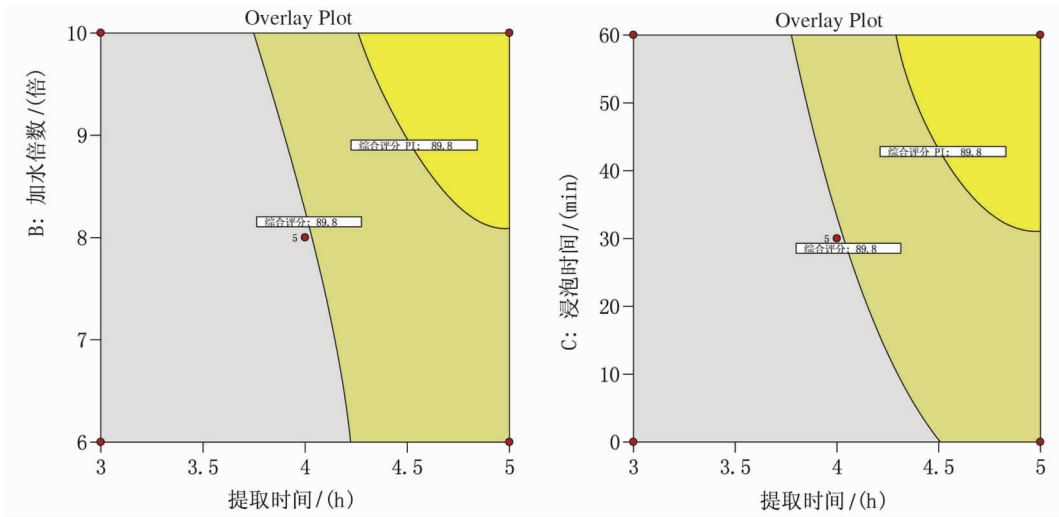


图 5　挥发油提取工艺设计空间(DS)

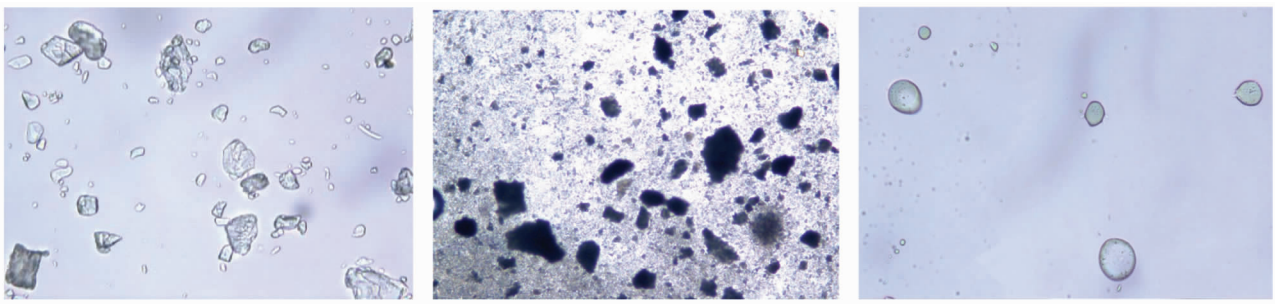


图 7　显微图

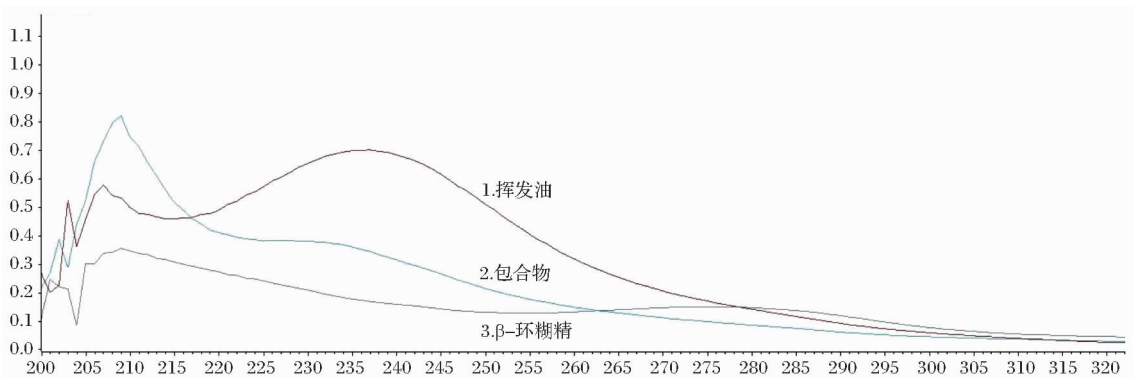


图 9　紫外吸收光谱