

- 化[J]. 中成药, 2022, 44(11): 3614-3618.
- [15] 吴玉琼, 金永新, 张红梅, 等. 健脾通气无糖颗粒制备工艺的优化及质量控制[J]. 中成药, 2021, 43(10): 2788-2793.
- [16] 潘 力, 谢泽宇, 陈吉生. 五味消毒颗粒成型工艺优化[J]. 中成药, 2024, 46(10): 3431-3434.
- [17] 程子为, 唐 雨, 杨曼宁, 等. D-最优混料设计方法分析及其在制剂处方优化中的应用进展[J]. 广东药科大学学报, 2023, 39(5): 114-119.
- [18] 陶 振, 洪 韵, 安双凤, 等. 基于不同算法对杏贝止咳颗粒中间体物料属性与颗粒溶解性的相关性研究[J]. 中草药, 2024, 55(22): 7644-7652.
- [19] 辛二旦, 于小刚, 李东辉, 等. 基于 D-最优混料设计优选益气固表速溶散处方及评价[J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(5): 37-42.
- [20] 修宇航, 韩子璇, 张 强, 等. 中药浸膏粉的吸湿性分析及防潮措施[J]. 广州化工, 2022, 50(23): 21-23.

温阳健脾颗粒提取工艺优化

牛晓静^{1,2}, 韩红玉¹, 苏 畅⁴, 吴延烧^{1,2}, 耿阳丽⁴, 段晓颖^{1,2,3*}

(1. 河南中医药大学第一附属医院, 河南 郑州 450000; 2. 河南省中药临床应用、评价与转化工程研究中心, 河南 郑州 450000; 3. 河南省中药临床药学中医药重点实验室, 河南 郑州 450000; 4. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046)

摘要: **目的** 优化温阳健脾颗粒提取工艺。**方法** 基于质量源于设计 (QbD) 理念, 以鞣花酸、京尼平苷酸、绿原酸、6-姜酚含量和出膏率为关键质量属性 (CQAs), 失效模式与效应分析 (FMEA) 法结合单因素试验对关键工艺参数 (CPPs) 进行风险评估和筛选, AHP-熵权混合加权法结合 Box-Behnken 响应面法建立 CQAs、CPPs 模型, 构建设计空间, 蒙特卡洛模拟和随机抽样试验对设计空间的准确度进行验证。**结果** 最优设计空间为加水量 10~12 倍, 浸泡时间 23~48 min, 提取次数 2 次, 每次 106~120 min, 操作空间内的提取工艺均符合相关要求。**结论** 该方法稳定可靠, 可为温阳健脾颗粒进一步成型工艺及其质量控制研究提供基础。

关键词: 温阳健脾颗粒; 提取工艺; AHP-熵权混合加权法; Box-Behnken 响应面法; 蒙特卡洛模拟; 随机抽样试验; 质量源于设计 (QbD)

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)11-3742-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.11.031

温阳健脾颗粒为河南中医药大学第一附属医院徐立然教授的临床经验方, 由覆盆子、杜仲雄花、干姜、甘草等药材组成, 主要用于治疗气血不足、脾胃虚弱所致神疲乏力、畏寒肢冷等虚寒证, 疗效显著。原方为临床汤剂, 服用量大, 不易携带, 为了克服上述问题, 课题组前期结合临床需求、处方日用量、剂型载药量、有效成分性质等方面, 将其制成颗粒剂。

质量源于设计 (QbD) 理念作为现代药物开发的常用手段^[1-4], 其核心内容是通过建立影响产品质量的关键质量属性 (CQAs)、关键工艺参数 (CPPs) 模型, 获取稳健的设计空间^[5], 提取工艺作为制剂开发的关键环节, 引入上述理念后对提高产品创新能力、附加值具有重要意义。因此, 本实验基于 QbD 理念, 采用失效模式与效应分析 (FMEA) 法结合单因素试验对温阳健脾颗粒提取工艺 CPPs 进行筛选, 层次分析 (AHP) -熵权混合加权法结合

Box-Behnken 响应面法建立 CQAs、CPPs 模型, 获得设计空间, 蒙特卡洛模拟及随机抽样试验进行验证, 以期获得稳定可靠的工艺参数, 为该制剂工业化生产提供依据。

1 材料

Waters e2695 高效液相色谱仪, 配置 Waters 2998 DAD 检测器 (美国 Waters 公司); BSA224S-CW 电子分析天平 [赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司]; XS105DU 电子分析天平 (十万分之一, 瑞士梅特勒-托利多公司); GZX-9146MBE 电热鼓风干燥箱 (上海博讯实业有限公司); MH-2000 调温型电热套、HH-S4A 电热恒温水浴锅 (北京科伟永兴仪器有限公司)。

覆盆子、杜仲雄花、干姜、甘草等药材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施钧瀚副主任药师鉴定为正品。鞣花酸、6-姜酚 (批号 MUST-23033114、MUST-23052713) 对照品均购自成都曼斯

收稿日期: 2025-05-08

基金项目: 国家中医药管理局 2022 年度张仲景传承与创新专项项目 (GZY-KJS-2022-046-2); 河南省中医药科学研究专项 (2024ZY2021)

作者简介: 牛晓静 (1983—), 女, 硕士, 副主任药师, 研究方向为中药制剂及其质量控制。E-mail: niuxiaojing314@163.com

* **通信作者:** 段晓颖 (1966—), 女, 硕士, 主任药师, 硕士生导师, 研究方向为中药新剂型和新技术。E-mail: dxy1378@163.com

特生物科技有限公司；京尼平苷酸、绿原酸（批号 A620025、2231206005）对照品均购自北京索莱宝科技有限公司，纯度符合要求。乙腈（色谱纯，德国 Merck 公司）；磷酸（色谱纯，德国 Dikma 公司）；甲醇、二甲基亚砜等其他试剂均为分析纯；水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 含量测定 采用 HPLC 法。

2.1.1 色谱条件 Agilent ZORBAX Eclipse SB-Aq 色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相乙腈（A）-0.2% 磷酸（B），梯度洗脱（0~10 min，5%~12% A；10~15 min，12%~15% A；15~40 min，15%~22% A；40~50 min，22%~40% A；50~55 min，40%~50% A；55~65 min，50%~80% A；65~70 min，80%~5% A；70~80 min，5% A）；体积流量 1 mL/min；柱温 30 ℃；检测波长 237 nm（京尼平苷酸、鞣花酸）、280 nm（绿原酸、6-姜酚）；进样量 5 μL。

2.1.2 溶液制备

2.1.2.1 对照品溶液 精密称取京尼平苷酸、绿原酸、6-姜酚对照品适量，70% 甲醇溶解稀释，制成质量浓度分别为 1.12、0.89、0.35 mg/mL 的贮备液 1；精密称取鞣花酸对照品适量，二甲基亚砜溶解，制成质量浓度为 60.5 μg/mL 的贮备液 2；吸取上述贮备液适量，70% 甲醇制成分别含鞣花酸 48.40 μg/mL、京尼平苷酸 44.80 μg/mL、绿原酸 53.40 μg/mL、6-姜酚 21.00 μg/mL 的溶液，即得。

2.1.2.2 供试品溶液 吸取提取液 5 mL，置于 10 mL 量瓶中，甲醇定容，12 000 r/min 离心 10 min，取上清液，即得。

2.1.2.3 阴性样品溶液 按处方和工艺，分别制成缺覆盆子、缺杜仲雄花、缺干姜的阴性样品，按“2.1.2.2”项下方法制备，即得。

2.1.3 专属性试验 取“2.1.2”项下 3 种溶液适量，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 1。由此可知，阴性无干扰，表明该方法专属性良好。

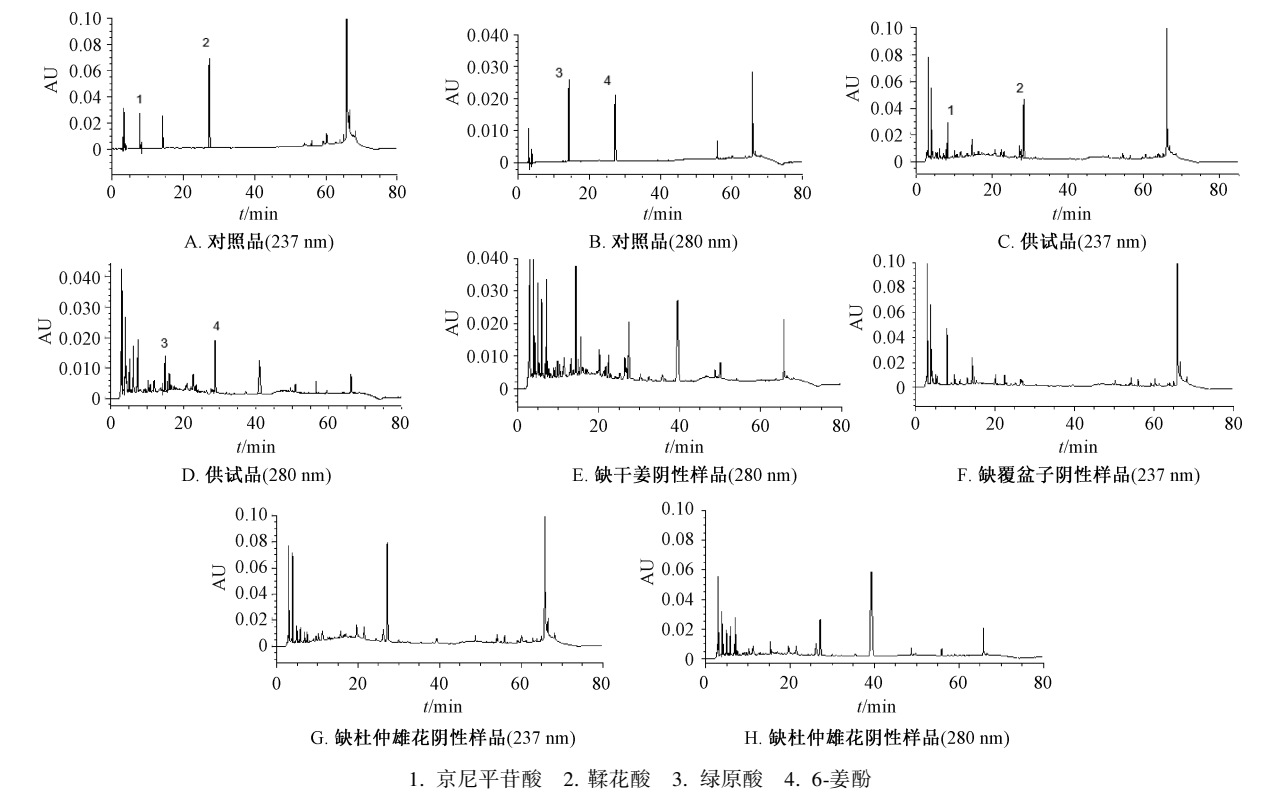


图 1 各成分 HPLC 色谱图

2.1.4 线性关系考察 分别吸取对照品溶液 1、2、3、4、5 mL，70% 甲醇稀释至 5 mL，制成不同质量浓度，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，得方程分别为鞣花酸 $Y=33\,939.1X-22\,934.3$ （ $r=0.999\,9$ ）、京尼平苷酸 $Y=6\,485.1X-2\,757.0$ （ $r=0.999\,9$ ）、绿原酸 $Y=6\,607.7X-3\,821.9$ （ $r=0.999\,8$ ）、6-姜酚 $Y=2\,742.1X-1\,053.5$ （ $r=0.999\,5$ ），分别在 9.68~48.40、8.96~44.80、10.68~53.40、4.20~21.00 μg/mL 范围内线性关系良好。

2.1.5 精密度试验 取同一份供试品溶液，在“2.1.1”

项色谱条件下进样测定 6 次，测得鞣花酸、京尼平苷酸、绿原酸、6-姜酚峰面积 RSD 分别为 0.49%、0.85%、1.33%、1.82%，表明仪器精密度良好。

2.1.6 稳定性试验 取供试品溶液适量，于 0、4、8、12、16、24 h 在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，测得鞣花酸、京尼平苷酸、绿原酸、6-姜酚峰面积 RSD 分别为 0.75%、2.76%、1.62%、2.77%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.7 重复性试验 取 Box-Behnken 响应面法 4 号提取液适量，按“2.1.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，在

“2.1.1”项色谱条件下进样测定，测得鞣花酸、京尼平苷酸、绿原酸、6-姜酚含量 RSD 分别为 2.39%、2.64%、2.21%、3.08%，表明该方法重复性良好。

2.1.8 加样回收率试验 取 Box-Behnken 响应面法 4 号提取液 2.5 mL，共 6 份，精密加入适量对照品溶液，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，鞣花酸、京尼平苷酸、绿原酸、6-姜酚平均加样回收率分别为 98.74%、100.02%、100.48%、100.30%，RSD 分别为 1.94%、2.54%、3.30%、1.85%。

2.2 出膏率测定 参照文献 [6] 报道，精密吸取 25 mL 提取液，水浴蒸干，干燥，称定质量，计算出膏率。

2.3 关键质量属性 (CQAs)、关键工艺参数 (CPPs) 确定

2.3.1 CQAs 质量标志物与临床有效性密切相关，覆盖子主要活性成分是以鞣花酸为代表的苷类，与核心靶点具有较高的结合能^[7-8]；京尼平苷酸、京尼平苷和绿原酸为杜仲雄花主要活性成分，具有增强免疫、抗疲劳、降压、调节血脂等作用^[9]；干姜药效成分除萜类、挥发油外，主要含有姜辣素类，并且 6-姜酚作为其质量标志物，具有促进消化液分泌、缓解胃肠不适和胃酸过多、保护胃黏膜等作用^[10-11]。另外，出膏率可反映提取液含固量，对制剂后续成型工艺和质量整体表征有一定影响。因此，本实验选择

鞣花酸 (Y_1)、京尼平苷酸 (Y_2)、绿原酸 (Y_3)、6-姜酚 (Y_4) 含量及出膏率 (Y_5) 作为 CQAs。

2.3.2 关键工艺参数 (CPPs)

2.3.2.1 影响因素分析 根据前期经验结合文献 [12-14] 报道，影响提取工艺的因素有设备、饮片、环境、工艺、人员等，本实验将其绘制成鱼骨图，共细化为 18 个影响因素，见图 2。然后，采用失效模式和效应分析 (FMEA)，对事件严重程度 (S)、发生频率 (P) 和可检测程度 (D) 分别设置 1~4 个等级，计算风险评估系数 (RPN)，公式为 $RPN=S\times P\times D$ ， $RPN<6$ 为低风险， $6\leq RPN<18$ 为中风险， $RPN\geq 18$ 为高风险^[15-16]，结果见表 1，可知环境、饮片、设备、实验人员均属于中、低风险因素，而提取条件为高风险因素。因此，本实验将浸泡时间、提取时间、加水量、提取次数作为潜在 CPPs。

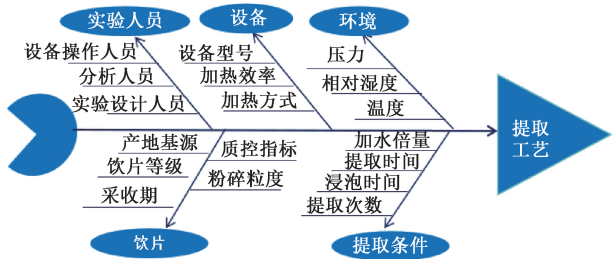


图 2 提取工艺影响因素鱼骨图

表 1 FMEA 风险评估结果

类别	参数	S	P	D	RPN	风险说明	风险评价
饮片	产地基源	2	1	1	2	本实验采用同一批饮片,根据实际生产条件饮片均不粉碎	低
	饮片等级	2	1	1	2		低
	采收期	2	1	1	2		低
	质控指标	3	2	1	6		中
	粉碎粒度	2	2	1	4		低
环境	相对湿度	2	1	1	2	同一实验室,提取环境在一定范围内	低
	温度	2	1	1	2		低
	压力	2	1	1	2		低
设备	加热方式	2	2	1	4	实验固定仪器设备	低
	加热效率	3	2	1	6		中
	设备型号	1	2	1	2		低
提取条件	浸泡时间	4	3	2	24	影响有效成分的溶解、浸出	高
	提取时间	4	4	2	32	提取时间越长,提取出的成分越多	高
	加水量	4	3	2	24	影响浓度差,继而影响指标成分溶出	高
	提取次数	4	4	2	32	对有效成分溶出、出膏率及后续浓缩效率影响明显	高
实验人员	设备操作人员	2	2	1	4	人员固定不变	低
	分析人员	3	2	1	6		中
	实验设计人员	3	2	1	6		中

2.3.2.2 单因素试验 根据表 1 结合预实验，以浸泡时间 (0、30、60、90 min)、加水量 (4、6、8、10、12 倍)、提取时间 (30、60、90、120、150 min)、提取次数 (1、2、3 次) 为影响因素，测定 CQAs。先按照公式 $d_i = (Y_i - Y_{\min}) / (Y_{\max} - Y_{\min})$ 进行归一化处理，并且各成分含量及出膏率取值越大越好，再计算总评“归一值” (OD 值)，公式为 $OD\text{ 值} = (d_1 d_2 \cdots d_k)^{1/k}$ ，其中 k 为指标数 (本实验中 $k=5$)，结果见表 2。

由此可知，随着浸泡时间延长 OD 值先升后降，在 30 min 时达到最大值；随着加水量增加 OD 值逐渐升高，但 10、12 倍时无明显差异；随着提取时间延长 OD 值先升后降，可能是因为加热时间过长会导致部分成分发生分解，在 90 min 时达到最大值；随着提取次数增加 OD 值升高，但 2、3 次时无明显差异，并且 6-姜酚含量在提取 3 次时有降低趋势，可能是由于提取次数过多导致该成分发生部分分解。综合考虑实际生产条件及后续浓缩能耗，最终选择

表 2 单因素试验结果

因素	水平	含量/(mg·g ⁻¹)				Y ₅ 出膏率/%	OD 值
		Y ₁ 鞣花酸	Y ₂ 京尼平苷酸	Y ₃ 绿原酸	Y ₄ 6-姜酚		
浸泡时间	0 min	0.389 1	0.637 0	0.718 3	0.216 7	30.90	0
	30 min	0.394 7	0.650 5	0.758 6	0.217 5	31.07	0.572 9
	60 min	0.458 3	0.641 6	0.726 7	0.214 1	28.81	0.457 8
	90 min	0.429 5	0.655 0	0.709 8	0.175 5	28.05	0
加水量	4 倍	0.247 5	0.521 9	0.615 7	0.139 3	27.28	0
	6 倍	0.447 1	0.620 2	0.697 7	0.198 2	31.19	0.442 0
	8 倍	0.606 8	0.665 9	0.774 5	0.240 3	29.92	0.640 1
	10 倍	0.689 0	0.697 7	0.792 3	0.248 1	32.08	0.906 0
提取时间	12 倍	0.766 8	0.725 5	0.817 9	0.253 6	30.86	0.943 4
	30 min	0.328 6	0.710 8	0.741 6	0.166 7	30.89	0
	60 min	0.539 3	0.650 9	0.747 9	0.221 4	33.71	0
	90 min	0.659 5	0.685 3	0.869 2	0.267 2	37.39	0.797 4
提取次数	120 min	0.917 5	0.677 6	0.830 1	0.248 3	36.72	0.742 4
	150 min	0.854 0	0.650 9	0.790 2	0.194 8	33.53	0.140 1
	1 次	0.216 5	0.581 5	0.474 1	0.147 7	25.35	0
	2 次	0.702 7	0.725 4	0.628 4	0.282 0	37.39	0.833 2
	3 次	0.759 5	0.787 6	0.671 7	0.248 1	39.98	0.943 6

浸泡时间、加水量、提取时间作为 CPPs，并分别以 30 min、10 倍、90 min 作为 Box-Behnken 响应面法的中心点。另外，提取次数为非连续性变量^[17-18]，故确定为 2 次，不再进行后续优化。

2.4 Box-Behnken 响应面法

2.4.1 实验设计 在单因素试验基础上，选择浸泡时间 (*A*)、加水量 (*B*)、提取时间 (*C*) 作为影响因素，AHP-熵权混合加权法^[19-20] 计算鞣花酸 (*Y*₁)、京尼平苷酸 (*Y*₂)、绿原酸 (*Y*₃)、6-姜酚 (*Y*₄) 含量及出膏率 (*Y*₅)

的综合评分 (*Y*)，结果见表 3。

2.4.2 权重系数确定

2.4.2.1 AHP 法 根据君臣佐使配伍规律及各药味功效成分，本实验将 5 个评价指标划分 4 个层次，依次为鞣花酸含量>京尼平苷酸含量>绿原酸含量=6-姜酚含量>出膏率，构建成对比较的优先判断矩阵，见表 4。经 SPSSPRO 在线数据分析平台，得五者权重系数 ω_{i_i} 分别为 0.413 7、0.241 2、0.135 4、0.135 4、0.074 3，并且 CR = 0.004 < 0.10，表明权重系数有效。

表 3 Box-Behnken 响应面法结果

试验号	<i>A</i> 浸泡时间/ min	<i>B</i> 加水 量/倍	<i>C</i> 提取 时间/min	含量/(mg·g ⁻¹)				Y ₅ 出膏率/%	<i>Y</i> 综合评分/分
				Y ₁ 鞣花酸	Y ₂ 京尼平苷酸	Y ₃ 绿原酸	Y ₄ 6-姜酚		
1	0(−1)	8(−1)	90(0)	0.707 5	0.843 6	0.647 6	0.233 4	37.21	76.36
2	60(1)	8(−1)	90(0)	0.729 4	0.802 8	0.585 4	0.275 7	35.46	77.01
3	0(−1)	12(1)	90(0)	0.966 9	0.908 2	0.642 5	0.284 5	38.07	91.76
4	60(1)	12(1)	90(0)	0.798 4	0.864 0	0.623 9	0.344 0	38.53	85.57
5	0(−1)	10(0)	60(−1)	0.670 1	0.875 9	0.626 7	0.277 6	36.73	76.41
6	60(1)	10(0)	60(−1)	0.627 8	0.759 6	0.574 9	0.259 1	32.91	70.28
7	0(−1)	10(0)	120(1)	0.795 1	0.868 8	0.619 5	0.305 5	34.42	83.02
8	60(1)	10(0)	120(1)	0.914 5	0.882 9	0.607 5	0.290 8	38.59	88.43
9	30(0)	8(−1)	60(−1)	0.578 7	0.890 9	0.643 8	0.242 8	35.83	70.98
10	30(0)	12(1)	60(−1)	0.693 1	0.770 4	0.593 3	0.309 0	37.18	76.88
11	30(0)	8(−1)	120(1)	0.858 7	0.868 1	0.596 2	0.264 9	37.29	83.94
12	30(0)	12(1)	120(1)	1.014 4	0.875 0	0.624 1	0.346 2	38.88	96.09
13	30(0)	10(0)	90(0)	0.839 9	0.790 8	0.670 8	0.385 5	37.82	89.69
14	30(0)	10(0)	90(0)	0.837 2	0.853 8	0.610 8	0.367 2	37.30	87.85
15	30(0)	10(0)	90(0)	0.850 6	0.853 1	0.620 9	0.316 7	37.28	86.41
16	30(0)	10(0)	90(0)	0.891 5	0.897 5	0.637 6	0.344 3	36.77	90.52
17	30(0)	10(0)	90(0)	0.848 5	0.948 7	0.655 5	0.332 5	37.82	89.16

注：括号内数字为影响因素对应的水平。

2.4.2.2 熵权法 采用 SPSSPRO 在线数据分析平台，先对数据进行归一化处理以克服其量纲不同，再进行熵权分析，得鞣花酸、京尼平苷酸、绿原酸、6-姜酚含量及出膏率的权重系数 ω_{2_i} 分别为 0.144 8、0.096 1、0.143 3、

0.150 4、0.148 3。

2.4.2.3 AHP-熵权混合加权法 根据公式 $\omega = \frac{\omega_{i_i} \times \omega_{2i}}{\sum_{i=1}^n \omega_{i_i} \times \omega_{2i}}$ ，得鞣花酸、京尼平苷酸、绿原酸、6-姜酚

表 4 各评价指标成对比较的优先判断矩阵

评价指标	鞣花酸 含量	京尼平苷酸 含量	绿原酸 含量	6-姜酚 含量	出膏率
鞣花酸含量	1	2	3	3	5
京尼平苷酸含量	1/2	1	2	2	3
绿原酸含量	1/3	1/2	1	1	2
6-姜酚含量	1/3	1/2	1	1	2
出膏率	1/5	1/3	1/2	1/2	1

含量及出膏率的权重系数 ω 分别为 0.480 3、0.114 2、0.174 1、0.177 6、0.053 9。

2.4.2.4 方法比较 分别按“2.4.2.1”至“2.4.2.3”项下方法计算权重系数，测定综合评分（ Y ），公式为 $Y = \sum_{i=1}^n \frac{\omega_i \times Y_i}{Y_{i\max}} \times 100$ ，采用 SPSS 26.0 软件进行相关性分析，结果见表 5~6。由表 6 可知，3 种方法所得综合评分一致（ $P<0.01$ ）；AHP 法与熵权法之间的相关性不显著（ $P>0.05$ ），表明两者所反映的信息不具有叠加性，而 AHP-熵权混合加权法可兼顾主客观两方面，结果更科学合理。

表 6 相关性分析结果

权重方法	综合评分		权重系数	
	相关系数	P 值	相关系数	P 值
AHP 法与熵权法	0.953 **	$P<0.01$	0.043	0.946
AHP 法与 AHP-熵权混合加权法	0.994 **	$P<0.01$	0.884 *	$P<0.05$
熵权法与 AHP-熵权混合加权法	0.966 **	$P<0.01$	0.472	0.422

2.4.3 方差分析与响应面分析 采用 Design Expert 13 软件对表 3 数据进行二次多元回归拟合，得方程为 $Y=88.73-0.782\ 3A+5.25B+7.12C-1.71AB+2.88AC+1.56BC-4.24A^2-1.81B^2-4.95C^2$ ，方差分析见表 7。由此可知，模型 $P<0.01$ ，具有高度显著性；失拟项 $P>0.05$ ，表明无失拟因素存在； $R^2=0.973\ 3$ ，校正后 $R^2=0.938\ 9$ ，表明模型可对提取工艺进行预测和优化；各因素影响程度依次为 $C>B>A$ ， A^2 、 C^2 、 BC 、 AC 有显著或极显著影响（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ）。

表 7 方差分析结果

来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	896.98	9	99.66	28.34	0.000 1
A	4.90	1	4.90	1.39	0.276 6
B	220.57	1	220.57	62.72	<0.000 1
C	405.36	1	405.36	115.27	<0.000 1
AB	11.68	1	11.68	3.32	0.111 2
AC	33.29	1	33.29	9.47	0.017 9
BC	9.76	1	9.76	2.77	0.139 7
A^2	75.80	1	75.80	21.55	0.002 4
B^2	13.76	1	13.76	3.91	0.088 4
C^2	103.03	1	103.03	29.30	0.001 0
残差	24.62	7	3.52	—	—
失拟项	14.16	3	4.72	1.81	0.285 7
纯误差	10.46	4	2.61	—	—
总离差	921.59	16	—	—	—

响应面分析见图 3。由此可知，因素 A 、 C 曲线较陡，

3746

表 5 综合评分计算结果（分）

编号	AHP-熵权混合加权法	AHP 法	熵权法
1	76.36	78.68	79.89
2	77.01	78.44	79.83
3	91.76	92.76	90.16
4	85.57	86.56	89.37
5	76.41	79.02	81.40
6	70.28	71.91	74.54
7	83.02	84.33	84.99
8	88.43	89.60	87.98
9	70.98	74.62	77.37
10	76.88	77.79	81.91
11	83.94	85.56	83.83
12	96.09	95.80	94.75
13	89.69	88.67	93.98
14	87.85	88.21	90.79
15	86.41	87.16	88.00
16	90.52	91.17	91.75
17	89.16	90.86	91.54

等高线为椭圆形，表明浸泡时间和提取时间存在显著交互作用；其他因素曲线较平缓，交互作用较弱，影响较小，与方差分析一致。

2.5 设计空间建立 采用 Design Expert 13 软件，设定综合评分 ≥ 88 分作为优化目标，同时加入 $\alpha=0.05$ 的置信区间以克服空间边界的不确定性，通过 Overlay Plot 展示，亮黄色区域即为设计空间，见图 4。结合生产可操控性，将各项因素均取整数，最终确定最优设计空间（红色区域）为加水量 10~12 倍，浸泡时间 23~48 min，提取时间 106~120 min，提取次数 2 次。

2.6 验证试验

2.6.1 蒙特卡洛模拟 将“2.5”项下设计空间输入 Minitab18 软件进行拟合，设定各影响因素范围分别为 23 min<浸泡时间<48 min，10 倍<加水量<12 倍，106 min<提取时间<120 min，得方程为 $Y=-28.522\ 6+0.253\ 060A+10.176\ 62B+0.870\ 154C-0.028\ 475AB+0.003\ 205AC+0.026\ 030BC-0.004\ 714A^2-0.451\ 983B^2-0.005\ 496C^2$ ，设置重复随机验证 50 000 次，以过程能力指数（CPK）判断模拟结果^[21]。结果，CPK=1.67>1.33，表明设计空间内的工艺参数制程能力良好，过程变异少，稳定可靠。

2.6.2 随机抽样试验 随机选取设计空间内 5 个点进行验证，计算综合评分，结果见表 8。由此可知，测得值与预测值相差不大，表明模型预测能力良好；空间内 1、2 号实验点和置信区间内 3 号实验点的综合评分均可达到要求，并且空间内的更高，而空间外 4、5 号实验点的综合评分不

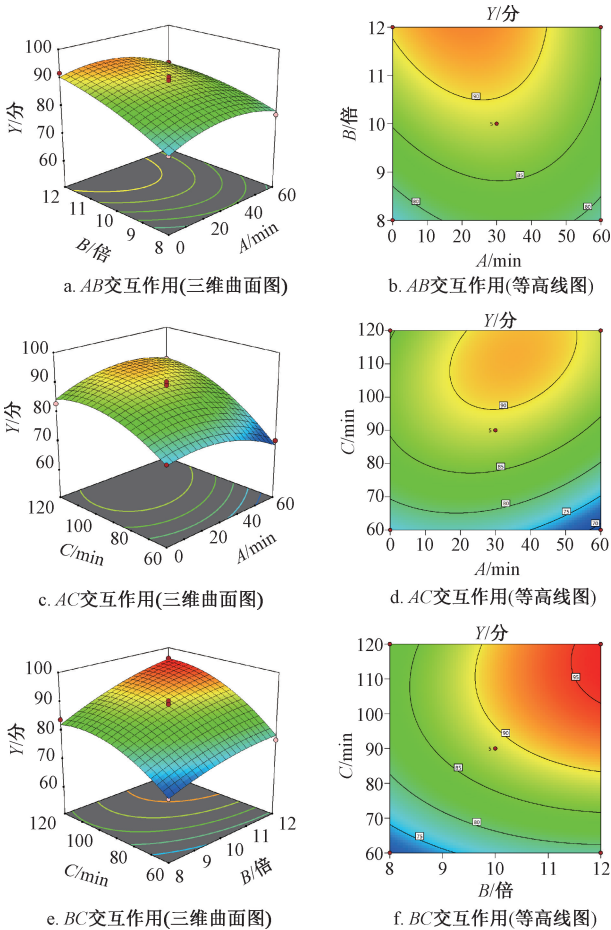


图 3 各因素响应面图

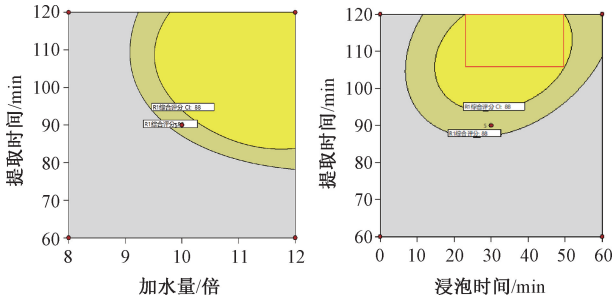


图 4 提取工艺设计空间

符合要求，设计空间内的工艺质量稳定。

3 讨论与结论

文献 [22] 报道，温阳健脾方中药味主要成分鞣花酸、山柰酚-3-O-芸香糖苷、京尼平苷酸、绿原酸、6-姜酚、甘草苷等质量标志物与其临床疗效密切相关。课题组前期曾测定山柰酚-3-O-芸香糖苷、甘草苷含量，但因两者色谱峰峰面积较小，分离度较差，而且阴性有干扰，故本实验不纳入考虑。同时，还分别考察了甲醇、乙腈不同比例流动相及检测波长 254、237、344、280 nm，最终确定为“2.1.1”项下色谱条件，此时各成分色谱峰分离度、对称性良好，基线平稳，阴性无干扰。另外，本实验筛选 CPPs 时，先通过鱼骨图结合 FMEA 进行风险分析，再通过单因素试验确定，可提高产品质量及系统可靠性。

构建稳健的设计空间是 QbD 理念最核心的环节，本实验采用 Design Expert 软件，通过回归方程评估 CQAs 与 CPP 之间的关系，该方法宏观可见，可靠性高^[14-15,23-24]，并且在

表 8 随机验证试验结果

试验号	浸泡时间/min	加水量/倍	提取时间/min	煎煮次数/次	综合评分实际值/分	综合评分预测值/分
1(操作空间内)	30	12	116	2	97.82	95.98
	30	12	116	2	94.32	
2(操作空间内)	30	12	110	2	94.24	95.76
	30	12	110	2	97.95	
3(置信区间内)	20	11	90	2	91.05	90.98
	20	11	90	2	90.45	
4(空间外)	0	8	45	2	61.01	61.36
5(空间外)	0	8	75	2	75.08	73.93

空间验证中增加蒙特卡洛模拟验证，通过大量数字模拟试验来验证模型准确性，可弥补随机抽样次数的不确定性，更具说服力^[24]，结果均符合要求。

综上所述，通过 QbD 理念所得温阳健脾颗粒提取工艺的设计空间稳定可靠，可为该制剂进一步工业化生产提供依据。但上述操作在实验室中进行，与中试生产条件有一定差距，今后需进一步完善。

参考文献:

[1] 韦良银, 李 霞, 王 虹, 等. 基于质量源于设计 (QbD) 理念的氧化苦参碱-黄芪甲苷共载脂质体处方工艺研究[J]. 药学报, 2024, 59(1): 232-242.

[2] Jong K H, Beom S S, Du H C. Comprehensive study of intermediate

and critical quality attributes for process control of high-shear wet granulation using multivariate analysis and the quality by design approach[J]. *Pharmaceutics*, 2019, 11(6): 252.

[3] 毛小文, 顾志荣, 王园园, 等. 基于 QbD 理念的双叶枇杷颗粒成型工艺优化及物理指纹图谱研究[J]. 中国药房, 2023, 34(21): 2608-2612.

[4] Jagtap K, Chaudhari B, Redasani V, et al. Quality by design (QbD) concept review in pharmaceuticals[J]. *Asian J Org Chem*, 2022, 15(4): 303-307.

[5] Yu L X. Pharmaceutical quality by design: product and process development, understanding, and control[J]. *Pharm Res*, 2008, 25(4): 781-791.

[6] 田明鑫, 倪昌荣, 周洪亮, 等. 昆葵保肾颗粒提取工艺优化[J]. 中成药, 2023, 45 (12): 4066-4070.

[7]

He B H, Dai L H, Jin L, *et al.* Bioactive components, pharmacological effects, and drug development of traditional herbal medicine *Rubus chingii* Hu (Fu-Pen-Zi) [J]. *Front Nutr*, 2023, 9: 1052504.

[8]

李 航. 覆盆子苷类物质的提取及其抗溃疡性结肠炎的活性研究[D]. 长春: 长春工业大学, 2023.

[9]

李博华. 杜仲雄花颗粒的制备及药效学研究[D]. 开封: 河南大学, 2019.

[10]

何建桥, 张 森, 杨志军, 等. 干姜的性效、炮制历史沿革及成分活性研究进展[J]. *中药材*, 2024, 47(2): 497-505.

[11]

付梦雅, 敖慧豪, 卜 超, 等. 基于指纹图谱和网络药理学的干姜质量标志物预测分析[J]. *山东科学*, 2023, 36(4): 35-41.

[12]

李燕燕, 周玮玲, 侯寓森, 等. 基于质量源于设计理念优化都梁方渗漉提取工艺[J]. *中草药*, 2023, 54(11): 3489-3500.

[13]

刘玉娟, 王永洁, 邓莉莉, 等. 基于质量源于设计理念的中药制剂工艺研究进展[J]. *中国现代中药*, 2022, 24(3): 523-528.

[14]

裴晓婷, 刘 珂, 彭 雷, 等. 基于质量源于设计 (QbD) 理念的胆木提取物醇沉工艺研究[J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(24): 6653-6662.

[15]

孙 萌, 刘雪纯, 赵玥瑛, 等. 基于 QbD 理念的散偏汤提取工艺设计空间预测[J]. *中国现代中药*, 2024, 26(2): 348-356.

[16]

高 迪, 王亚静, 王雁雯, 等. 基于失效模式与效应分析 (FMEA) 的中药干法制粒贝叶斯故障诊断研究[J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(24): 5982-5987.

[17]

黄 莉, 邹纯才, 鄢海燕, 等. 基于指纹图谱的 Box-Behnken 响应面法结合 BP 神经网络多指标优化决明子总蒽醌提取工艺[J]. *中国药学杂志*, 2023, 58(7): 619-631.

[18]

程索婷, 孙新宇, 王紫彤, 等. 基于指纹图谱的 Box-Behnken 响应面法结合 BP 神经网络多指标优化黑胡椒提取工艺[J]. *天然产物研究与开发*, 2022, 34(9): 1481-1492.

[19]

岳亚楠, 牛晓静, 吴延娆, 等. AHP-熵权法结合均匀设计优选毅力含片的醇提工艺[J]. *时珍国医国药*, 2024, 35(1): 108-112.

[20]

马 肖, 要林青, 张瑞堂, 等. 复方当归补血颗粒成型工艺的优化及质量控制[J]. *中成药*, 2021, 43(4): 847-852.

[21]

丁 涵, 徐忠坤, 王振中, 等. 基于 AHP-CRITIC 混合加权法和 Box-Behnken 设计-响应面法优化羌活颗粒成型工艺及其物理指纹图谱研究[J]. *中草药*, 2024, 55(3): 787-797.

[22]

李 娜, 张 晨, 钟赣生, 等. 不同品种甘草化学成分、药理作用的研究进展及质量标志物 (Q-Marker) 预测分析[J]. *中草药*, 2021, 52(24): 7680-7692.

[23]

蒋建兰, 宣建邦, 张凯旋, 等. 数学模型在 QbD 理念实施中的应用及推广[J]. *中国新药杂志*, 2018, 27(4): 429-436.

[24]

王文哲, 吴志生, 张 瀚, 等. 基于 QbD 理念和蒙特卡洛抽样法的小儿消食颗粒提取工艺及成本函数优化研究[J]. *中草药*, 2024, 55(17): 5795-5802.

曼陀罗籽油超临界 CO₂ 提取工艺优化及其脂肪酸组成分析

吐鲁洪·卡地尔^{1,2}, 早熟古丽·买买提明³, 阿娜尔古丽·马合木提^{1,2}, 李建梅^{1,2*}, 祖里皮亚·塔来提^{1,2*}

(1. 新疆维吾尔自治区维吾尔医药研究所, 新疆 乌鲁木齐 830001; 2. 新疆维吾尔自治区维吾尔医药研究所维吾尔医方剂学重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830001; 3. 新疆维吾尔自治区第二人民医院, 新疆 乌鲁木齐 830049)

摘要: **目的** 优化曼陀罗籽油超临界 CO₂ 提取工艺, 并分析其脂肪酸组成。**方法** 在单因素试验基础上, 以提取温度、提取压力、提取时间、CO₂ 体积流量为影响因素, 出油率为评价指标, 响应面法优化提取工艺, GC-MS 法分析其脂肪酸组成。**结果** 最佳条件为提取温度 50 ℃, 提取压力 30 MPa, 提取时间 2 h, CO₂ 体积流量 18 L/h, 出油率为 8.31%。共鉴定出 17 种脂肪酸, 其中亚麻酸含量最高, 达 82.05%, 1-亚油酸单甘油酯、β-香树精次之。**结论** 该方法准确度高, 重复性好, 可为超临界 CO₂ 提取曼陀罗籽油提供参考, 对推动该资源合理利用具有积极意义。

关键词: 曼陀罗籽油; 超临界 CO₂ 提取工艺; 脂肪酸; 组成分析; 响应面法; GC-MS

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2025)11-3748-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2025.11.032

收稿日期: 2025-06-22

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目 (2021D01A159); 新疆维吾尔自治区公益性科研院所基本科研业务经费资助项目 (KY2023083)

作者简介: 吐鲁洪·卡地尔(1976—), 男, 博士, 高级实验师, 从事中药质量标准研究。E-mail: 253587246@qq.com

* **通信作者:** 李建梅 (1982—), 女, 正高级实验师, 从事新药研发工作。E-mail: 85762226@qq.com

祖里皮亚·塔来提, 女, 博士, 副研究员, 从事中药质量标准研究。E-mail: 387859124@qq.com