

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.15.007

基于质量源于设计理念的山参饮提取工艺研究*

何云华¹, 石红霞¹, 刁本恕², 杨林^{1△}

(1. 四川大学华西医院临床药理学部, 四川 成都 610041; 2. 四川省成都市第七人民医院刁本恕名医工作室, 四川 成都 610072)

摘要:目的 优选山参饮提取工艺。方法 以山参饮的饮片为模型药,以有机酸、苦杏仁苷的含量和浸膏得率为质量控制指标,采用单因素试验设计确定各因素水平,采用 Plackett-Burman 试验设计筛选关键工艺参数,通过 Box-Behnken 试验设计建立数学模型,考察关键工艺参数与关键质量属性的交互作用,建立山参饮提取工艺设计空间并进行优化。结果 回归模型的 $P < 0.01$,且失拟值不显著,表明所建模型具有较好的预测能力;山参饮的最佳提取工艺为提取次数2次,提取60 min,加10倍量水。结论 基于质量源于设计理念的山参饮提取工艺稳定、可靠,有利于提高制剂质量的稳定性,可为实际生产提供参考。

关键词:质量源于设计;山参饮;有机酸;苦杏仁;提取工艺

中图分类号:R932;TQ460.6

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2020)15-0028-05

Extraction Process of Shanshenyin Based on QbD Concept

HE Yunhua¹, SHI Hongxia¹, DIAO Benshu², YANG Lin^{1△}

(1. Department of Clinical Pharmacy, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu, Sichuan, China 610041; 2. The Studio of Famous TCM Doctor Diao Benshu, Chengdu No. 7 People's Hospital, Chengdu, Sichuan, China 610072)

Abstract: **Objective** To optimize the extraction process of Shanshenyin by using the quality by design(QbD) concept. **Methods** With Shanshenyin pieces as a model drug, with the content of organic acids, laetrile and extract yield as critical quality attributes, the single factor experiment design was used to determine the level of each factor; the Plackett-Burman experiment design was used to select the critical process parameters; and the mathematical model was established to investigate the interaction between key process parameters and key quality attributes by Box-Behnken experiment design, and the process design space for the extraction of mountain Shanshenyin was established and optimized. **Results** The P value of the regression model was less than 0.01 and the lack-of-fit was not significant, which indicated that the model had good predictive ability. The optimal extraction process was determined as follows: the number of extraction were 2 times, the extraction time was 60 min, and the amount of water addition was 10 times. **Conclusion** The extraction process of Shanshenyin based on QbD concept is stable and reliable, which is conducive to improving the quality stability of the preparation and providing a basis for production.

Key words: quality by design; Shanshenyin; organic acid; bitter apricot seed; extraction process

*基金项目:四川省中医药管理局中医药科研专项[2018KF014]。

第一作者:何云华,大学本科,中药师,研究方向为中药临床合理使用,(电子信箱)296770761@qq.com。

△通信作者:杨林,硕士研究生,副主任药师,研究方向为中医药制剂的研究与开发,(电子信箱)1550010063@qq.com。

- effect on chronic myocardial ischemia/reperfusion injury in rats via inhibiting myocardial apoptosis and lipid peroxidation[J]. Am J Transl Res, 2016, 15, 8(8):3319-3328.
- [5] 邵旭,董六一,李晓亮,等. 牡荆素对麻醉犬血流动力学及心肌耗氧量的影响[J]. 安徽医药, 2010, 14(9):1001-1004.
- [6] 王亚男,彭成凤,甄毅岚,等. 注射用牡荆素与葛根素注射液抗大鼠心肌梗死/再灌注损伤量效关系的研究[J]. 安徽医科大学学报, 2015, 50(3):314-318.
- [7] 彭成凤. 牡荆素对大鼠心肌梗死后再灌注损伤的保护及其机制研究[D]. 合肥:安徽医科大学, 2015.
- [8] 毛丽娜,朱清,李俊旭. 牡荆素的神经保护作用及机制研究进展[J]. 中国药理学通报, 2016, 32(10):1353-1356.
- [9] 赵锐. 测定弱电解质电离平衡常数实验的改进[J]. 广州化工, 2014, 42(9):106-107.
- [10] 徐聪,楼燕,卢祺炯,等. 牡荆素在大鼠体内的代谢研究[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(9):1365-1369.
- [11] 李婷婷,邝国俊,霍慧灵,等. RP-HPLC测定汉黄芩苷、汉黄芩素和千层纸素A的pKa[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(8):1475-1480.
- [12] 方倩因,宋德安,孔凡玉. 乙酰甲胺磷酸碱解离常数的测定[J]. 现代农药, 2019, 18(6):15-18.
- [13] 丁雨寅,丁选胜,吴正红,等. 淫羊藿苷解离常数及表观油水分分配系数的测定[J]. 江西中医药, 2019, 50(6):64-67.
- [14] 雷震,马卫东,於凯芹,等. 香豆素类化合物的体内代谢研究进展[J]. 中国药业, 2016, 25(23):5-8.
- [15] 谭头云,李俊杰,郑欢图,等. 电导法和滴定法测定2,4-滴解离常数[J]. 现代农药, 2018, 17(4):26-27.

(收稿日期:2020-02-26)

山参饮为四川省名中医刁本恕主任医师的临床验方,由山药、山楂、郁李仁、人参等10味中药组方,具有开胃健脾、润肠通便功效,用于肿瘤放化疗、老年病、术后食欲不振、肠道功能差、消化不良、便秘等。该方临床使用已有10余年,疗效显著,安全性好,为方便服用,将其研制成质量可控的中药颗粒剂。质量源于设计理念是应用质量风险管理知识,重点控制产品的生产工艺,以达到预定目标的产品研发过程,其主要途径是根据关键质量属性,确定关键工艺参数,然后采用多种试验设计方法和数据分析方法开发产品生产工艺^[1-4]。目前,质量源于设计理念已应用于中药的干燥^[5-6]、包衣^[7]等生产过程。本研究中基于质量源于设计理念,优化山参饮提取工艺。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

1260型高效液相色谱仪(包括DAD检测器,美国安捷伦科技有限公司);BT25S型电子分析天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司,精度为十万分之一);JA2003型电子分析天平(上海良平仪器仪表有限公司,精度为千分之一);YPR-10T型超纯水器(北京英普瑞环保设备有限公司);AS20500T型超声波清洗器(天津奥特赛恩斯仪器有限公司,功率为300 W,频率为40 kHz)。

1.2 试剂

山药饮片(批号为18060806,四川禾一天然药业有限公司);山楂饮片(批号为180927-8),郁李仁饮片(批号为180528-8),麦芽饮片(批号为180829-8),均购自泸州百草堂中药饮片有限公司;人参饮片(批号为180301941),白扁豆饮片(批号为180100032),薏苡仁饮片(批号为180800871),砂仁饮片(批号为180701701),火麻仁饮片(批号为180800781),均购自成都康美药业有限公司;生姜饮片(自制)。所有药材经四川大学华西医院杨林副主任药师鉴定为正品。苦杏仁苷对照品(批号为110820-201506,质量分数为93.4%,中国食品药品检定研究院);乙腈(色谱纯,赛默飞世尔科技有限公司);其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 有机酸含量测定

参照2015年版《中国药典(一部)》山楂含量测定方法^[8],按处方比例称取药材(山药30 g,山楂12 g,郁李仁10 g,人参3 g,麦芽15 g,白扁豆15 g,火麻仁15 g,薏苡仁30 g,砂仁3 g,生姜3 g)进行煎煮,过滤,取滤液适量,置容量瓶中,加纯水定容,摇匀,加酚酞指示液2滴,用氢氧化钠滴定液(0.1 mol/L)滴定[每1 mL氢氧化钠滴定液(0.1 mol/L)相当于6.404 mg的枸橼酸($C_6H_8O_7$)],即得有机酸含量。

2.2 苦杏仁苷含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent extend- C_{18} 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μ m);流动相:乙腈-水(12:88, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:210 nm;柱温:25 $^{\circ}$ C;进样量:10 μ L。

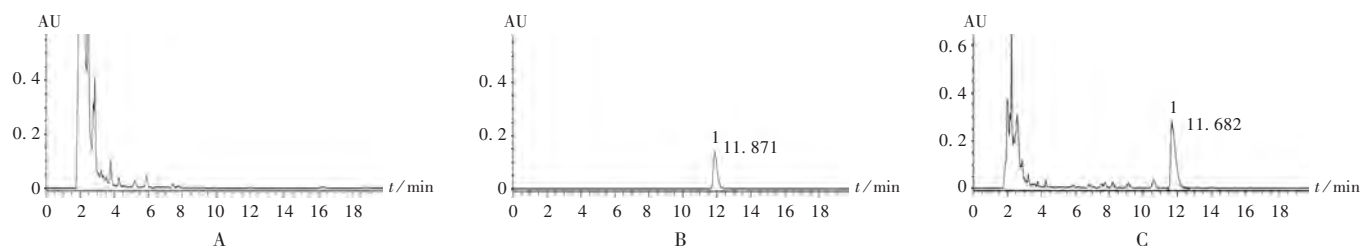
2.2.2 溶液制备

取苦杏仁苷对照品(质量分数为93.4%)20.02 mg,精密称定,置25 mL容量瓶中,加甲醇溶解至刻度,制成质量浓度为0.747 947 2 mg/mL的溶液,即得对照品溶液。按处方比例称取药材(山药30 g,山楂12 g,郁李仁10 g,人参3 g,麦芽15 g,白扁豆15 g,火麻仁15 g,薏苡仁30 g,砂仁3 g,生姜3 g)进行煎煮,过滤,取适量滤液,置水浴上蒸干,加甲醇溶解于容量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。按处方比例称取郁李仁以外的其他药材,按供试品溶液的制备方法制备阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

专属性试验:分别精密吸取2.2.2项下3种溶液,按拟订色谱条件进行测定,记录色谱图。可见,阴性对照无干扰,表明该方法专属性良好。详见图1。

线性关系考察:精密吸取2.2.2项下对照品溶液,加甲醇稀释成质量浓度为74.794 72, 149.589 44, 299.178 88, 448.768 32, 598.357 76, 747.947 20 μ g/mL的对照品溶液,按拟订色谱条件进行测定。以质量浓度(X)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y=1324.6X-19.127$, $r=0.9991$ ($n=6$)。结果



1. 苦杏仁苷

A. 阴性对照品溶液 B. 对照品溶液 C. 供试品溶液

图1 高效液相色谱图

表明,苦杏仁苷质量浓度在 74.79472~747.94720 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取 2.2.2 项下的对照品溶液,按拟订色谱条件连续进样 6 次,记录峰面积。结果苦杏仁苷峰面积的 RSD 为 1.13% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取样品(批号为 180528-8),按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,分别于制备后 0,2,4,6,8,12,24 h 时按拟订色谱条件测定,各进样 10 μL ,记录峰面积。结果苦杏仁苷峰面积的 RSD 为 1.56% ($n=7$),表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

重复性试验:取样品(批号为 180528-8),按 2.2.2 项下方法平行制备供试品溶液 6 份,按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积。结果苦杏仁苷峰面积的 RSD 为 2.52% ($n=6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取同一批(批号为 180528-8)样品 0.2 g,精密称定,共 6 份,精密加入对照品溶液 4 mL(质量浓度为 1.850 067 2 mg/mL),按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定。结果苦杏仁苷的平均回收率为 99.61%, RSD 为 1.60% ($n=6$)。

2.3 吸水率计算

吸水率(%) = (处方饮片浸泡后质量 - 处方饮片浸泡前质量) / 处方饮片浸泡前质量 $\times 100\%$

2.4 浸膏得率测定

参照 2015 年版《中国药典(四部)》浸出物测定法项下方法,精密吸取各试验项下滤液 25 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,于 105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 3 h,置干燥器中冷却 30 min,迅速精密称定质量,计算供试品中水溶性浸出物含量和浸膏得率。

浸膏得率 = 浸膏质量 / 25 mL 药液相当于药材质量 $\times 100\%$

2.5 数据处理

根据本研究指标有机酸、苦杏仁苷的含量和浸膏得率在处方中的地位,设定满分为 100 分,其权重系数分别为苦杏仁苷含量 50,有机酸含量 30,浸膏得率 20,进行综合评分^[9]。综合评分 = (苦杏仁苷含量/最大值) $\times 50$ + (有机酸含量/最大值) $\times 30$ + (浸膏得率/最大值) $\times 20$ 。

2.6 影响因素分析

中药提取过程中会受到多种因素影响,根据预试验研究,结合生产环境,将山参饮提取过程的影响因素归结为 5 个方面,将其细化分类绘成鱼骨图(见图 2)。其中,环境、饮片、设备和溶剂为客观因素,故本试验对工艺参数进行考察^[10]。

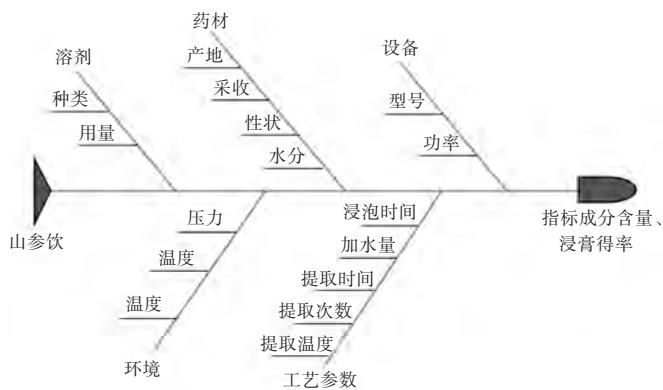


图2 山参饮提取工艺鱼骨图

2.7 单因素考察

浸泡时间:以吸水率为指标考察。按处方比例称取饮片 100 g,分别置同一规格烧杯中,加 10 倍量水,浸泡 30,60,90,120,150,180 min,按 2.3 项下公式计算饮片的吸水率。结果见图 3 A。可见,90 min 前吸水率呈上升趋势,超过 90 min 后趋于平稳,故选浸泡时间为 60 min 和 90 min。

加水量:以有机酸、苦杏仁苷的含量和浸膏得率为指标考察。按处方比例称取饮片 100 g,置烧杯中,分别加水 8,10,12,14 倍,浸泡 90 min,提取 2 次,每次 60 min,依法测定有机酸含量,测定苦杏仁苷含量及浸膏得率。结果见图 3 B。可见,加 8~12 倍水时,各指标呈上升趋势,超过 12 倍水后趋于平稳,故选加水量为 12 倍和 8 倍。

提取时间:以有机酸、苦杏仁苷的含量和浸膏得率为指标考察。按处方比例称取饮片 100 g,置烧杯中,加水 12 倍,浸泡 90 min,分别提取 30,60,90,120 min,提取 2 次,依法测定有机酸含量、苦杏仁苷含量及浸膏得率。结果见图 3 C。可见,提取时间为 30~90 min 时,各

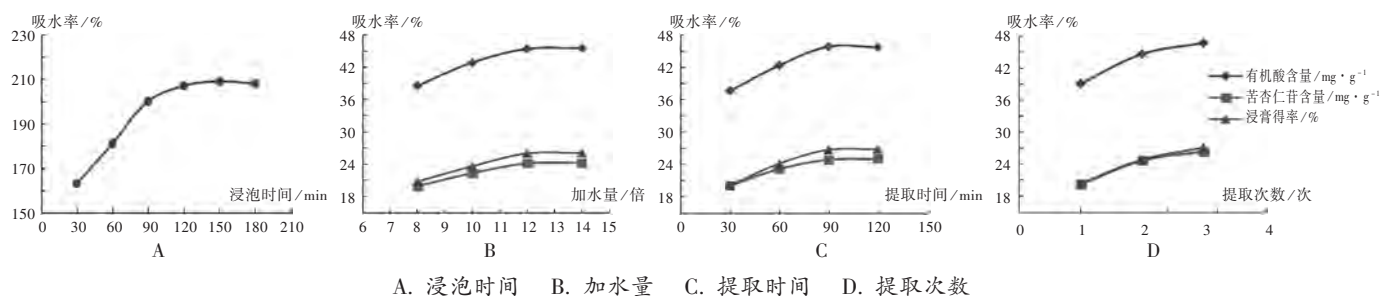


图3 提取影响因素考察结果

指标呈上升趋势,超过 90 min 后下降,故选提取时间为 90 min 和 30 min。

提取次数:以有机酸、苦杏仁苷的含量和浸膏得率为指标考察。按处方比例称取饮片 100 g,置烧杯中,加水 12 倍,浸泡 90 min,提取 90 min,分别提取 1,2,3 次,依法测定有机酸含量、苦杏仁苷含量及浸膏得率。结果见图 3 D。可见,提取次数为 1~3 次时,各指标呈上升趋势,故选提取次数为 3 次和 1 次。

提取温度:提取方法为煎煮提取法,根据生产经验,提取温度为 100 ℃ 和 90 ℃ 进行试验。

2.8 Plackett – Burman 试验设计筛选关键工艺参数

试验设计:采用 Plackett – Burman 试验设计方法,根据检测指标筛选显著影响的因素^[11]。以有机酸的含量、苦杏仁苷的含量和浸膏得率为指标,以浸泡时间(因素 A)、加水量(因素 B)、提取时间(因素 C)、提取次数(因素 D)、提取温度(因素 E)为影响因素。根据单因素试验结果,选择各影响因素水平,采用 Plackett – Burman 设计筛选关键工艺参数,因素水平见表 1。本试验中采用综合评分作为响应值,采用 Minitab 16.0 软件进行分析。

表 1 Plackett – Burman 试验因素水平表

水平	因素 A(min)	因素 B(倍)	因素 C(min)	因素 D(次)	因素 E(℃)
-1	60	8	30	1	90
1	90	12	90	3	100

试验结果:试验见表 2 和表 3。由表 3 可见,因素 B,C,D 有显著影响,因素 A,E 无显著影响,故筛选加水量、提取时间和提取次数为关键工艺参数。浸泡时间根据单因素筛选结果选浸泡 90 min;根据生产经验,提取加热方式采用先武火后文火。

2.9 Box – Behnken 优化提取工艺

根据 Plackett – Burman 试验结果,采用 Box – Behnken 试验设计^[12-14],以综合评分为响应值^[15-18],优化山参饮提取工艺。试验设计及结果见表 4。

采用 Minitab 16.0 软件,对 Box – Behnken 试验数据进行响应面分析,由响应面分析得回归方程 $Y = 98.43 - 2.29B - 0.038C - 2.16D - 0.58BC + 1.28BD - 3.52CD - 4.89B^2 - 13.21C^2 - 11.66D^2$, $P < 0.01$ 表明模型拟合度较好。结果见表 5,响应面 3D 图见图 4。可见,优选的最佳工艺为加 9.96 倍量水,提取 62.47 min,提取 2.14 次。依据实际生产情况,修正提取参数为加 10 倍量水,提取 60 min,提取 2 次。

2.10 验证试验

通过以上试验及数据分析,得到山参饮最佳提取工

表 2 Plackett – Burman 试验结果

序号	有机酸含量(mg/g)	苦杏仁苷含量(mg/g)	浸膏得率(%)	综合评分(分)
1	45.92	23.26	25.37	96.85
2	45.98	24.08	19.58	94.33
3	29.16	13.56	13.78	57.28
4	34.70	16.39	18.48	70.22
5	45.79	23.60	27.14	98.78
6	31.27	13.43	14.36	58.81
7	45.14	24.13	26.46	98.95
8	43.19	22.85	18.73	89.33
9	28.41	13.20	15.54	57.34
10	35.40	15.76	18.65	69.50
11	32.84	15.90	16.97	66.88
12	44.06	24.02	26.29	97.89

表 3 Plackett – Burman 试验方差分析结果

来源	f	离差平方和	均方	F 值	P 值
模型	5	4.836 27	0.967 34	28.92	<0.001
A	1	0	0	0	0.911
B	1	0.078 74	0.078 74	6.54	0.017
C	1	0.049 38	0.049 38	7.17	0.046
D	1	1.229 31	1.229 31	111.92	<0.001
E	1	0.000 12	0.000 12	0.05	0.946
残差误差	6	0.060 16	0.010 18		

表 4 Box – Behnken 试验设计及结果

序号	因素 B(倍)	因素 C(min)	因素 D(次)	有机酸含量(mg/g)	苦杏仁苷含量(mg/g)	浸膏得率(%)	综合评分(分)
1	10	30	1	37.71	18.80	19.79	78.83
2	10	90	3	31.04	13.72	14.30	61.24
3	8	30	2	37.79	19.71	20.42	80.51
4	10	90	1	41.39	19.53	20.44	84.21
5	8	90	2	40.01	19.21	21.63	83.19
6	10	60	2	45.65	23.17	26.09	97.51
7	8	60	1	41.33	18.47	20.09	82.57
8	8	60	3	42.65	19.47	22.86	87.28
9	12	60	1	35.05	17.15	19.80	73.90
10	12	30	2	38.60	17.57	20.28	78.63
11	10	30	3	34.11	16.32	17.20	69.94
12	12	90	2	39.58	17.43	19.29	78.79
13	10	60	2	46.12	23.20	27.14	98.83
14	10	60	2	45.37	24.14	25.81	98.21
15	12	60	3	40.32	19.62	21.22	83.73

艺条件为加 10 倍量水,提取 60 min,提取 2 次。结合实际操作,将优化后的工艺参数修正为加水量、提取时间、提取次数,重复试验 3 次。结果有机酸含量分别为 45.52,44.78,45.36 mg/g,平均值为 45.22 mg/g;苦杏仁苷含量分别为 23.87,23.96,23.51 mg/g,平均值为 23.7 mg/g;浸膏得率分别为 27.09%,27.15%,

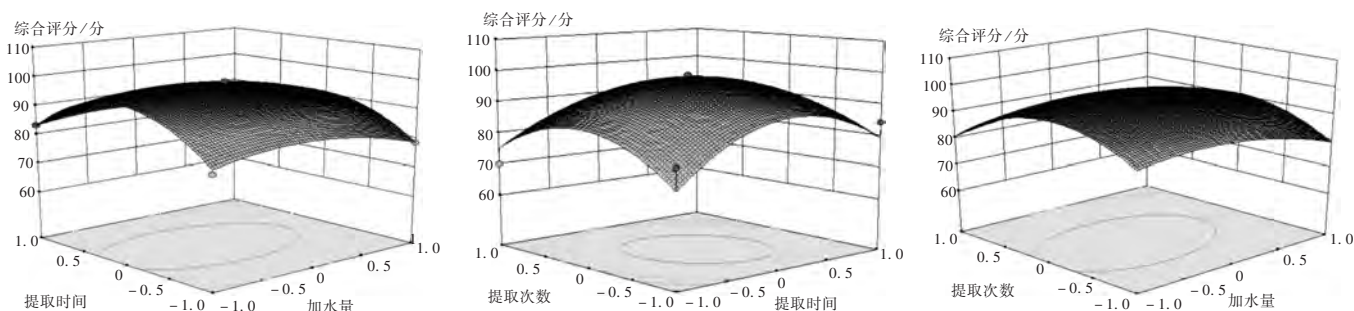


图4 Box-Behnken 试验响应面 3D 图

表5 Box-Behnken 试验方差分析结果

来源	f	离差平方和	均方	F 值	P 值
B	1	41.95	41.95	1.05	0.340 0
C	1	0.011	0.011	0.000 281	0.987 1
D	1	37.50	37.50	0.94	0.365 4
BC	1	1.37	1.37	0.034	0.858 5
BD	1	6.55	6.55	0.16	0.697 8
CD	1	49.56	49.56	1.24	0.302 6
B ²	1	100.89	100.89	2.52	0.156 4
C ²	1	734.75	734.75	18.35	0.003 6
D ²	1	572.94	572.94	14.31	0.006 9
失拟项	3	278.83	92.94	268.15	<0.000 1
纯误差	4	1.39	0.35		

26.86%, 平均值为 27.03%。与理论预测值相比, 相对误差小于 1.0%。表明该方法所建立的数学模型具有良好的预测性, 优化工艺条件重复性好。

3 讨论

采用鱼骨图列出各因素, 筛选主要影响因素, 再进行单因素影响试验, 根据试验结果确定各影响因素试验水平, 采用 Plackett-Burman 试验设计筛选显著影响因素, 对显著影响因素采用 Box-Behnken 试验设计进行优化。最终得到最优提取工艺为加 10 倍量水, 浸泡 90 min, 提取 2 次, 每次 60 min, 先武火后文火。通过验证, 该工艺稳定、可靠。

质量源于设计作为一种先进的国际制剂研究理念, 能完成药品质量从检验出来到设计出来的策略要求, 采用一系列科学推理和分析方法, 达到药品质量批间一致性高的目的。本研究中基于质量源于设计理念优化山参饮提取工艺, 可推广到实际生产中, 提高提取产物质量的稳定性, 保证制剂质量稳定、可控。

参考文献:

- [1] 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): 1015.
- [2] 戴胜云, 徐冰, 史新元, 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.

- [3] 连传运, 徐冰, 王秋平, 等. 中药质量源于设计应用: 工艺控制策略[J]. 世界中医药, 2018, 13(3): 561.
- [4] 石国林, 徐冰, 林兆洲, 等. 中药质量源于设计方法和应用: 工艺建模[J]. 世界中医药, 2018, 13(3): 543.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 31.
- [9] 邹吉利, 盛碧, 陈永刚, 等. 回乳抑增颗粒回流提取工艺的优化[J]. 中成药, 2019, 41(6): 1219-1222.
- [10] 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.
- [11] 丁瑞雪, 何雁, 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.
- [12] 丛婧, 王秀丽. 响应曲面法优选人参葛根煎膏醇沉工艺[J]. 中国药业, 2019, 28(16): 17-19.
- [13] 屈云萍, 刘铁军, 王娇, 等. 连参通淋片中挥发油提取及包合工艺研究[J]. 中国药业, 2019, 28(11): 19-23.
- [14] 叶永华, 杨玲, 徐伟, 等. 响应面法优化盐肤木总鞣质回流提取工艺[J]. 中国药业, 2019, 28(9): 9-13.
- [15] 万丹娜, 饶倩如, 俞梦莹, 等. Box-Behnken 设计-响应面法优化山楂的醇沉工艺[J]. 中国药房, 2018, 29(15): 2078-2081.
- [16] 梁丽莉, 王柳萍, 林忠秋, 等. 藿夏胶囊的提取和成型工艺研究[J]. 中国药业, 2019, 28(16): 1-4.
- [17] 林新艳, 王宏, 徐超, 等. 正交试验法优化山黄祛痛喷雾剂醇提工艺[J]. 中国药业, 2019, 28(9): 28-30.
- [18] 卢雪盈, 彭怡文, 姜新根, 等. 正交试验设计优选肝纤颗粒水提工艺[J]. 中国药业, 2019, 28(20): 9-12.

(收稿日期: 2019-12-10; 修回日期: 2020-03-07)