

设计空间法优化红花温浸提取工艺

陈 桧, 李冰韶, 王永洁, 刘 鑫, 刘欣妍, 赵 颖, 吴 清*

北京中医药大学中药学院, 北京 102488

摘要: 目的 基于质量源于设计 (quality by design, QbD) 理念, 建立红花温浸提取工艺的设计空间并进行验证。方法 以红花为模型药, 通过查阅文献及前期研究经验获得关键评价指标; 采用鱼骨图结合失效模式与效应分析 (failure mode effects analysis, FMEA) 确定影响红花温浸提取过程的关键工艺参数 (critical process parameters, CPPs), 通过 Box-Behnken 实验设计建立了 CPPs 与关键评价指标的数学模型。结果 以总黄酮提取量、羟基红花黄色素 A (HSYA) 提取量以及总固体提取量为关键评价指标, 通过鱼骨图结合 FMEA 确定了加水倍量、提取温度、提取时间及提取次数为 CPPs。Box-Behnken 实验方差分析结果显示所建立模型的 P 值均小于 0.000 1, 表明所建立的模型具有较好的预测能力, 得到推荐的操作空间为提取次数 2 次, 提取时间 2.5 h, 加水倍量为 23.5~25 mL/g 生药, 提取温度 65~71 °C。结论 红花温浸提取设计空间的建立, 提高了提取工艺参数与提取液质量之间的关联性, 为设计空间法在中药领域的适用性提供了参考。

关键词: 设计空间; 羟基红花黄色素 A; 总黄酮; 关键工艺参数; 风险评估

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)19-4544-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.19.012

Design space method for optimizing extraction process of *Carthami Flos*

CHEN Cheng, LI Bing-shao, WANG Yong-jie, LIU Xin, LIU Xin-yan, ZHAO Ying, WU Qing

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

Abstract: Objective To establish and verify the design space for the extraction process of *Carthami Flos* (CF) based on the concept of quality by design (QbD). **Methods** The safflower was used as a model drug. The critical evaluation indicators were determined through literature and previous research experience. Fishbone diagram and Failure Mode Effect Analysis (FMEA) were carried out to determine the critical process parameters (CPPs). The mathematical models of CPPs and critical evaluation indicators were established using the Box-Behnken experimental design method. **Results** The critical evaluation indicators were the extraction amount of total flavonoid, hydroxysafflor yellow A (HSYA), and total solids. The water-adding amount, extraction temperature, extraction time, and extraction times were determined as the CPPs by the fishbone diagram and FMEA. The variance analysis results of Box-Behnken experiments showed that the P values of established models were less than 0.000 1, indicating that the models have good prediction ability. The recommended operating space were as follows: the extraction times were twice and 2.5 h for each time, the water-adding amount was 23.5—25 mL/g crude drug and the temperature was 65—71 °C. **Conclusion** The establishing of design space for CF extraction improves the correlation between the extraction process parameters and extract quality, which provides a reference for the applicability of the design space approach in the field of CMM.

Key words: design space; HSYA; total flavonoid; critical process parameters; risk assessment

21 世纪初, 美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 推出了质量源于设计 (quality by design, QbD) 理念, 将 QbD 引入药品管理。随后, 人用药品注册技术标准国际协调会 (International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of

Pharmaceuticals for Human Use, ICH) Q8 指南指出, 药品的质量是通过其生产前的设计、增加事前风险控制而建立起来的, 而不是通过对产品的检测得来的。ICH Q8 中设计空间的定义为已被证明可以保证质量的输入变量和工艺参数的多维组合及相互作用^[1]。在设计空间内发生的工艺参数改变通常不被

收稿日期: 2018-05-29

作者简介: 陈 桧, 硕士研究生, 研究方向为中药新剂型与新技术。Tel: 18801083431 E-mail: chencheng20170602@163.com

*通信作者 吴 清, 教授, 博士生导师, 从事中药新剂型与新技术研究。E-mail: qwu@vip.sina.com

视为工艺变更,在设计空间以外的操作才被视为变更。基于 QbD 理念建立工艺设计空间,有助于结合产品质量属性控制目标,对相关工艺参数或物料属性的超限范围进行界定,设计空间通过验证后可减少或简化药品批准后的工艺变更程序^[2]。

传统的质量源于检测理念中生产工艺和参数是固定的,主要依靠最初的大生产批次进行验证,重点关注优化和控制能力;基于 QbD 理念的设计空间法强调生产工艺和参数在设计空间内是可以改变的,重点关注控制策略和工艺的耐用性,使用的是统计工艺控制方法。目前已广泛应用于生物、医药、食品、化工等领域^[3-11]。

红花为菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花,始载于《开宝本草》,主产于我国新疆、河南、浙江、云南等地^[12],味辛,性温,归心、肝经,是传统的活血化瘀、祛瘀止痛之良药,用于治疗痛经闭经、血脉闭塞、跌打损伤、冠心病、高血压和心绞痛等^[13-14]。文献曾报道从该植物中得到的化学成分包括黄酮类、生物碱类、木脂素类、有机酸类和聚炔类和亚精胺类等^[15-18],具有显著的抗炎、镇痛、抗心肌损伤、抗凝血、抗肿瘤、免疫调节以及神经保护作用等^[19-24]。本实验以红花为模型药进行研究,探究设计空间法在中药领域的适用性,为中药质量控制研究提供参考。

1 仪器与材料

Ultimate 3000 高效液相色谱仪, VWD-3100 紫外检测器,德国赛默飞公司; Inertsil® ODS-3C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 756PC 紫外可见分光光度计,上海舜宇恒平科学仪器有限公司; DZKW4 型恒温水浴锅,北京中兴伟业仪器有限公司; SHB-II 型循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司; RE-50A 型旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂; BZF 50 型真空干燥箱,上海 Boxun 公司; BSA224S 电子天平、BS110S 型电子分析天平,北京赛多利斯公司; JY1002 电子天平,上海舜宇恒平科学仪器有限公司。

红花,北京三和药业有限公司,批号 73390801,经北京中医药大学中药学院刘春生教授鉴定为合格品,系菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花,定量测定均符合《中国药典》2015 年版一部项下要求,对照品羟基红花黄色素 A (HSYA),中国食品药品检定研究院,批号 110737-201516,质量分数 91.9%;亚硝酸钠,批号 20030310,北京世纪

红星化工有限责任公司;硝酸铝,批号 20140310,天津市福晨化学试剂厂;氢氧化钠(批号 20171031)、无水乙醇(批号 20171102),北京化工厂;甲醇、乙腈,色谱纯,Merck 公司;液相用水为娃哈哈纯净水,其余用水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 红花水提液的制备

准确称取红花约 100 g 于烧杯中,按实验条件加入相应倍量的水,搅拌润湿,于相应温度下温浸提取,滤过,合并滤液,减压浓缩至 2 500 mL 备用。

2.2 风险评估

根据实际生产经验结合鱼骨图分析可以找到影响红花温浸提取过程的工艺参数和设备监测参数(图 1)。主要涉及药材、环境因素、设备和提取工艺操作条件 4 个方面。

采用失效模式与效应分析(failure mode effects analysis, FMEA)对各工艺参数的影响进行定量风险评估^[25],通过严重程度(*S*)、发生概率(*O*)和检测难易程度(*D*)对工艺参数的风险进行量化,评分原则见表 1。

结合实际生产经验以及前期研究基础对各工艺参数的 *S*、*O* 及 *D* 赋值,将三者的得分值相乘得到风险评估系数(risk priority number, RPN)。根据 RPN 值高低确定关键工艺参数(critical process parameters, CPPs),每个参数的 RPN 值见表 2,当某个 CPP 的 RPN 值大于 10 时,认定其为红花温浸提取过程的高风险因素,将被识别为 CPPs。

$$RPN=S \times O \times D$$

2.2.1 关键评价指标 红花中含有红色素和黄色素 2 种色素,其中醌式查尔酮类化合物红花黄色素是其有效成分,是红花发挥药理作用的物质基础,其中 HSYA 为红花黄色素中含量最多、药理功效最佳的查尔酮苷类化合物;为红花药理功效中最有效的水溶性成分。而总固体提取量则会影响提取液中的固含量,对后续操作过程产生影响。因此,选定单位药材中总黄酮提取量、HSYA 提取量以及总固体提取量为关键评价指标。

2.2.2 CPPs 由 FMEA 风险评估结果可知,提取次数、加水倍量、提取温度和提取时间的 RNP 值较大,因此,选定提取次数、加水量、提取温度和提取时间为影响红花温浸提取工艺的 CPPs。

2.3 分析方法

2.3.1 总黄酮含量测定 总黄酮含量测定采用亚硝

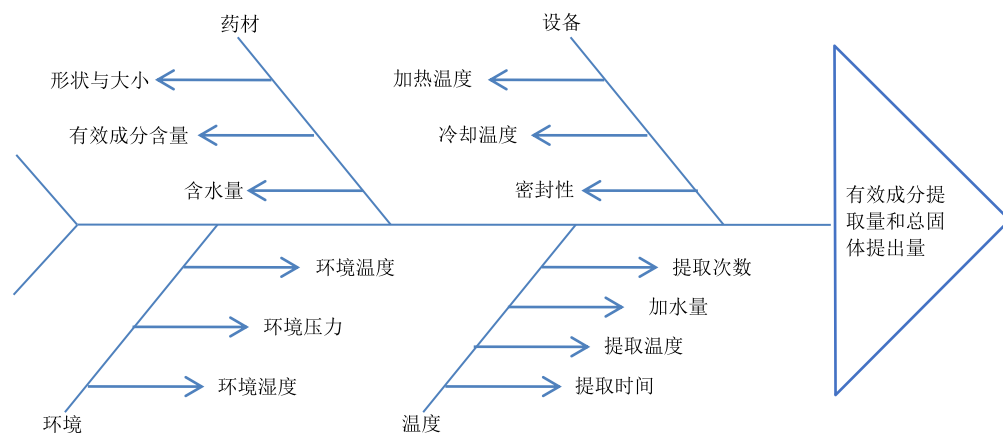


图 1 红花温浸提取鱼骨图

Fig. 1 Fishbone diagram of *Carthami Flos* extraction process表 1 红花水提工艺 *S*、*O* 及 *D* 的评分原则Table 1 Scoring principles for *S*, *O*, and *D* in CF extracting process

属性	评分等级	评分标准
<i>S</i>	4	高：参数小的波动就能对工艺产生严重的影响
	3	中：只有参数在较大范围内波动时才能对工艺产生严重影响
	2	低：参数的波动对工艺的影响始终较小
	1	参数的波动对工艺几乎没有影响
<i>O</i>	3	偏离设定值或产生较大波动的可能性较大
	2	偏离设定值或产生较大波动的可能性较小
	1	始终很稳定，不易偏离设定值或产生波动
<i>D</i>	3	发生异常时，很难被检测到
	2	发生异常时，偶尔被检测到
	1	只要发生异常，就能被检测到

表 2 红花温浸提取工艺 FMEA 风险评估结果

Table 2 FMEA risk assessment results of CF extract

来源	参数	<i>S</i>	<i>O</i>	<i>D</i>	RPN	得分依据
药材	形状与大小	3	2	1	6	本实验过程均采用同一批药材提取，参数的变化对提取液质量的影响较小，因此本实验不予考虑药材因素的影响
	有效成分含量	4	2	1	8	
	含水量	3	3	1	9	
设备	加热温度	3	2	1	6	所有实验均在相同仪器设备上进行操作，风险较低
	冷却温度	1	1	1	1	
	密封性	4	2	1	8	
环境	环境温度	1	1	2	2	统一实验环境：温度 22~25 ℃，相对湿度 30%~35%
	环境湿度	1	1	2	2	
	环境压力	1	1	2	2	
提取	提取次数	4	3	1	12	工艺参数的改变，直接影响提取液的质量，且均属于实验过程中的可控指标，因此本实验重点考虑
	加水倍量	3	2	2	12	
	提取温度	4	2	2	16	
	提取时间	4	3	1	12	

酸钠-硝酸铝-氢氧化钠显色法^[26]进行测定,以芦丁为对照品,于 510 nm 处测定吸光度 (A) 值。以芦丁对照品质量浓度为横坐标 (X), A 值为纵坐标 (Y) 进行线性回归,得到芦丁的标准曲线回归方程为 $Y=0.011\ 2\ X-0.004$, $r^2=0.999\ 8$ 。

2.3.2 HSYA 定量测定

(1) 色谱条件^[27]: 色谱柱为 Inertsil® ODS-3 C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以甲醇-乙腈-0.7%磷酸溶液 (26:2:72) 为流动相; 检测波长为 403 nm; 柱温 25 ℃; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μL。理论板数按 HSYA 峰计算应不低于 5 000。

(2) 对照品溶液的制备: 取 HSYA 对照品适量, 精密称定, 加 25% 甲醇制成含 HSYA 0.13 mg/mL 的溶液, 即得。

(3) 供试品溶液的制备: 取红花药材 100 g, 精密称定, 加水倍量为 24 倍, 于 70 ℃ 温浸提取 2 次, 每次 2.5 h, 滤过, 合并滤液, 减压浓缩至 2 500 mL, 取续滤液, 即得。

(4) 线性关系考察: 以 HSYA 对照品质量浓度 (X) 为横坐标, 峰面积为纵坐标 (Y) 进行线性回归, 得 HSYA 的标准曲线回归方程为 $Y=0.583\ 1\ X-1.494\ 7$, $r^2=0.999\ 9$ 。

(5) 测定方法: 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 测定,

即得。

2.3.3 总固体提取量测定 按干燥失重法进行测定, 精密吸取红花提取液 20 mL 于干燥至恒定质量的蒸发皿中, 水浴蒸干, 蒸干后置于 105 ℃ 真空干燥箱中干燥至恒定质量, 冷却至室温后称定质量, 至连续 2 次称量误差在 5 mg 以内即可, 计算总固体提取量。

2.3.4 数据处理 总黄酮提取量、HSYA 提取量与总固体提取量的计算公式如下。

总黄酮提取量=(总黄酮提取液质量浓度×提取液体积)/生药质量

HSYA 提取量=(HSYA 提取液浓度×提取液体积)/生药质量

总固体提取量=(干物质质量/20×提取液体积)/生药质量

2.4 Box-Behnken 实验设计

采用 Box-Behnken 实验设计, 考察加水量 (A)、提取温度 (B)、提取时间 (C) 及提取次数 (D) 4 因素对红花温浸提取工艺的影响规律。实验设计的因素水平和编码值以及实验顺序与结果见表 3。为描述红花温浸提取工艺关键评价指标与 CPPs 之间的关系, 采用响应面法建立二阶数学模型。数学模型的基本形式如下 $Y=a_0+a_1\ X_1+a_2\ X_2+a_3\ X_3+a_4\ X_4+a_5\ X_1X_2+a_6\ X_1X_3+a_7\ X_1X_4+a_8\ X_2X_3+a_9\ X_2X_4+a_{10}\ X_3X_4+a_{11}\ X_1^2+a_{12}\ X_2^2+a_{13}\ X_3^2+a_{14}\ X_4^2$, 其中 a_0 为常数项, $a_1\sim a_{14}$ 为回归系数, Y 表示红花温浸提

表 3 Box-Behnken 实验设计及结果

Table 3 Box-Behnken experimental conditions and results

编号	A/倍	B/℃	C/h	D	提取量/(mg·g ⁻¹)		
					总黄酮	HSYA	总固体
1	15 (-1)	35 (-1)	2 (0)	2 (0)	12.59	14.98	384
2	25 (1)	35 (-1)	2 (0)	2 (0)	12.28	15.50	346
3	15 (-1)	75 (1)	2 (0)	2 (0)	12.99	15.41	377
4	25 (1)	75 (1)	2 (0)	2 (0)	14.11	16.14	372
5	20 (0)	55 (0)	1 (-1)	1 (-1)	10.76	13.33	294
6	20 (0)	55 (0)	3 (1)	1 (-1)	11.47	14.15	315
7	20 (0)	55 (0)	1 (-1)	3 (1)	14.60	16.39	386
8	20 (0)	55 (0)	3 (1)	3 (1)	12.37	16.94	422
9	15 (-1)	55 (0)	2 (0)	1 (-1)	9.82	12.19	319
10	25 (1)	55 (0)	2 (0)	1 (-1)	11.70	13.52	328
11	15 (-1)	55 (0)	2 (0)	3 (1)	14.09	16.70	418
12	25 (1)	55 (0)	2 (0)	3 (1)	13.43	16.71	403
13	20 (0)	35 (-1)	1 (-1)	2 (0)	11.96	14.06	354
14	20 (0)	75 (1)	1 (-1)	2 (0)	13.30	15.81	374
15	20 (0)	35 (-1)	3 (1)	2 (0)	13.39	15.42	381
16	20 (0)	75 (1)	3 (1)	2 (0)	13.04	15.84	411
17	15 (-1)	55 (0)	1 (-1)	2 (0)	11.88	14.70	353
18	25 (1)	55 (0)	1 (-1)	2 (0)	13.84	16.29	336
19	15 (-1)	55 (0)	3 (1)	2 (0)	13.35	16.01	373
20	25 (1)	55 (0)	3 (1)	2 (0)	14.33	16.45	375
21	20 (0)	35 (-1)	2 (0)	1 (-1)	9.42	10.84	284
22	20 (0)	75 (1)	2 (0)	1 (-1)	11.43	13.28	342
23	20 (0)	35 (-1)	2 (0)	3 (1)	13.71	15.94	383
24	20 (0)	75 (1)	2 (0)	3 (1)	14.11	15.80	426
25	20 (0)	55 (0)	2 (0)	2 (0)	13.13	16.31	380
26	20 (0)	55 (0)	2 (0)	2 (0)	13.08	16.03	375
27	20 (0)	55 (0)	2 (0)	2 (0)	14.20	16.38	385
28	20 (0)	55 (0)	2 (0)	2 (0)	12.86	15.62	367

取工艺的关键评价指标, X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 为 CPPs, 采用多元线性回归分析剔除模型中没有统计学意义的项, 将移入和移出模型的显著水平设为 0.05。所有实验数据的计算由 MODDE 12.0.1 软件完成。建立模型时, 自变量采用对应的编码代入。

在 Box-Behnken 实验基础上, 采用 Monte Carlo 法来获取基于达标概率的设计空间。对于所有实验测定的数据进行正态分布检验。设定各关键工艺参数的计算步长为 0.01, 假设其服从正态分布并生产随机数, 显著水平 α 为 0.05, 设定模拟次数为 50 000 次。由于提取次数的变化是不连续的, 所以每次计算时设其为一固定值。

2.5 关键工艺参数的影响规律

Box-Behnken 实验结果如表 3 所示, 总黄酮提取量在 9.42~14.60 mg/g, HSYA 提取量在 10.84~16.94 mg/g, 总固体提取量在 284~426 mg/g。由

MODDE 12.0.1 软件对上述实验数据结果进行模型拟合, 模型拟合结果见表 4, 方差分析结果见表 5。由表 4 可以看出, 所有模型的 R^2 都在 0.89 以上, R^2_{adj} 都在 0.83 以上, Q^2 均大于 0.5, 且 R^2 与 Q^2 的差值小于 0.3, 说明模型拟合较好, 模型能解释数据的大部分变异。模型有效值均大于 0.25, 表明模型没有失拟; 重现性均大于 0.5, 说明模型具有良好的重现性。从方差分析结果可以看出, P 值均小于 0.000 1, 表明 3 个关键评价指标的回归方程均具有统计学意义, 具有较好的拟合度。

表 4 Box-Behnken 模型拟合结果

Table 4 Box-Behnken model fitting results

关键评价指标	R^2	R^2_{adj}	Q^2	模型有效性	重现性
总黄酮提取量	0.89	0.83	0.71	0.90	0.80
HSYA 提取量	0.96	0.94	0.90	0.85	0.95
总固体提取量	0.90	0.88	0.85	0.60	0.96

表 5 红花提取方差分析结果

Table 5 Variance analysis of CF extraction

来源	总黄酮提取量				HSYA 提取量				总固体提取量			
	平方和	均方	F 值	P 值	平方和	均方	F 值	P 值	平方和	均方	F 值	P 值
回归	42.29	4.23	13.93	***	57.22	5.72	45.64	***	31 766.70	7 941.67	50.20	***
残差	5.16	0.30			2.13	0.13			3 638.27	158.18		
总计	47.45				59.36				35 404.97			

*** $P < 0.000 1$

图 2 为各因素及其交互作用对总黄酮提取量、HSYA 提取量以及总固体提取量的相关系数图, 系数为正表明该因素对各评价指标的影响为正相关, 系数越大影响越大; 反之则为负相关, 即阻碍 HSYA 提取量、总固体提取量和总黄酮提取量的增加。从图 2 中 HSYA 提取量结果可以看出, 加水倍量、提取温度、提取时间及提取次数 4 因素对 HSYA 提取量的影响均呈正相关, 且均具有显著性差异, 其中提取次数影响最大; 两因素的交互作用中, 提取温度和提取次数对 HSYA 提取量有较大负影响, 即提取温度越高、提取次数越多, 越不利于 HSYA 的提取。从总固体提取量结果可以看出, 提取温度、提取时间及提取次数对总固体提取量具有一定程度的正面影响, 提取次数的影响最大, 提取温度与提取时间的影响基本一致。从总黄酮提取量结果可以看出, 4 因素对总黄酮提取量的影响均呈正相关, 且加水倍量、提取温度和提取次数具有显著性差异, 提取时间对总黄酮提取量则无显著性影响; 两因素

交互作用中, 加水倍量与提取时间对总黄酮提取量的影响为正相关, 即在一定范围内适当提高加水倍量、延长提取时间有助于提高总黄酮的提取量。

2.6 设计空间的获取

根据前面的数据分析建立的 3 个数学模型, 开发设计空间。实际生产中, 希望通过水温浸提取获得的 HSYA 提取量与总黄酮提取量尽可能的高, 所以设置 HSYA 与总黄酮提取量的优化标准为最大值; 对于总固体提取量, 查阅近年来相关文献报道, 确定其目标范围为 200~400 mg/g, 由此确定了 HSYA 提取量、总黄酮提取量与总固体提取量 3 个关键评价指标的目标范围, 见表 6。采用 Monte Carlo 法来获取基于达标概率的设计空间。所有测得的实验数据均服从正态分布, 由于提取次数的变化是不连续的, 考虑到节约经济, 因此固定提取次数为 2 次, 所得结果如图 3 所示, 图中数字为工艺参数落在相应区域时, 关键评价指标未能达标的概率, 数字越大, 代表不达标的可能性越大, 即不管工艺参

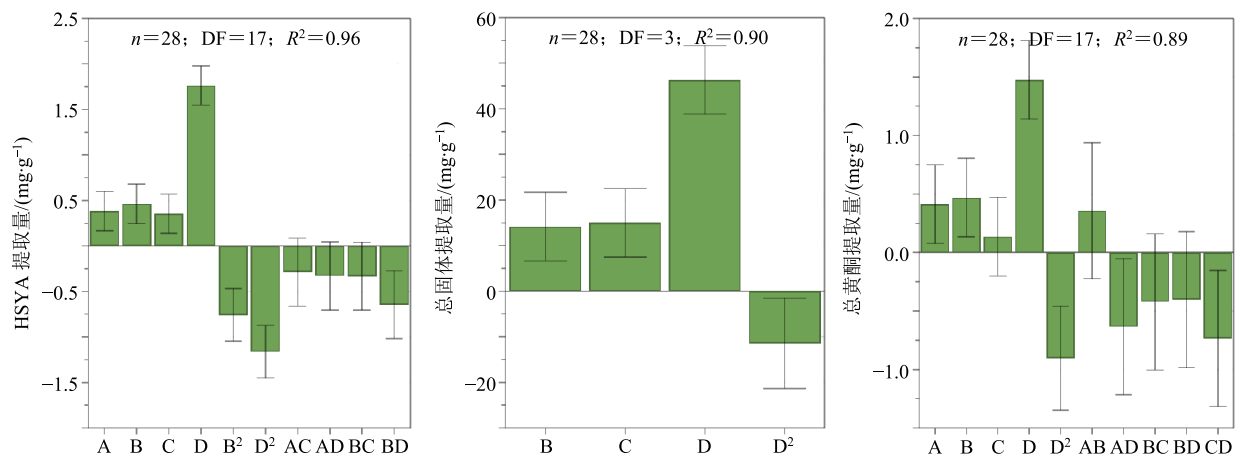


图 2 CPPs 与关键评价指标的相关系数图 (置信区间为 0.95)

Fig. 2 Correlation coefficient diagram of CPPs and critical evaluation indicators (confidence interval is 0.95)

表 6 红花温浸提取工艺关键评价指标的目标范围

Table 6 Target range of critical evaluation indicators of CF extraction process

关键评价指标	优化标准	下限	上限
HSYA 提取量/(mg·g ⁻¹)	最大值	—	—
总固体提取量/(mg·g ⁻¹)	目标范围	200	400
总黄酮提取量/(mg·g ⁻¹)	最大值	—	—

数条件如何变化, 3 个评价指标的值都达不到所需要求; 图中绿色区域即为所得设计空间, 当试验点位于该区域内时, 工艺参数条件的改变不会对总黄酮提取量、HSYA 提取量及总固体提取量的结果造成影响; 颜色由绿到红的渐变表示相应工艺条件下, 响应值不符合要求的概率逐渐增大。

根据模型建立的设计空间是一个动态的设计空

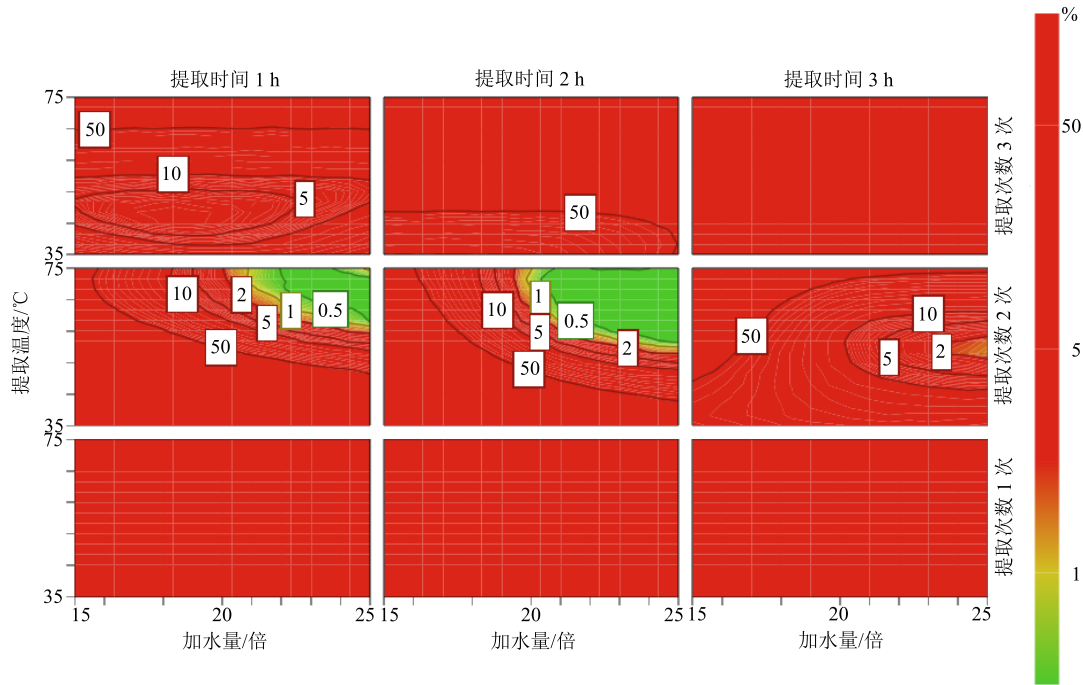


图 3 红花提取工艺设计空间

Fig. 3 Design space of CF extraction process

间, 加水倍量、提取温度、提取时间以及提取次数都是调节设计空间的因素, 任一因素的改变都会造成设计空间范围的波动。4 个 CPPs 对所得结果的重要性是相互影响的, 在进行试验时, 有必要严格协

调 4 者之间的关系以获得较好的实验结果。实际生产过程中, 考虑到对提取液质量进行控制的难易程度以及适用于工艺化大生产, 得到推荐的操作空间为提取次数 2 次, 提取时间 2.5 h, 加水量为 23.5~

25 倍, 提取温度 65~71 °C。

2.7 设计空间的验证

为了验证所建立模型的有效性以及设计空间的可靠性, 因此, 选择设计空间内的点来进行验证, 即提取次数 2 次, 提取时间 2.5 h, 加水倍量为 24, 提取温度 70 °C, 平行实验 3 次, 结果见表 7。从验证结果可以看出, 实验值与预测值接近, 表明该模型具有较好的预测能力, 且在设计空间内操作能保证提取液质量的稳定性。

表 7 红花提取工艺验证结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 7 Verification experiment of CF extraction process ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

关键评价指标	预测值/(mg·g ⁻¹)	实验值/(mg·g ⁻¹)
总黄酮提取量	14.06	14.05±0.09
HSYA 提取量	16.37	16.54±0.33
总固体提取量	390.00	391.00±2.00

3 讨论

常规中药工艺研发中, 多采用单因素实验结合正交实验优选出最佳的工艺参数, 并在生产中固定运行。实际生产过程中, 当原料药材的质量范围波动较大时, 采用固定的生产工艺参数生产出的产品质量批间差异性也较大。而设计空间的建立, 可以根据原料药材的质量范围调节工艺参数, 使得工艺参数在所建立的操作范围内变动时, 终产品的质量也能保持一致, 进一步提高了工艺参数与产品质量之间的关联性, 保证产品质量的批间一致性, 做到安全有效、均一可控。

本实验基于 QbD 理念建立了红花温浸提取工艺的设计空间, 通过查阅文献以及前期研究经验获得红花温浸提取的关键评价指标为 HSYA 提取量、总黄酮提取量和总固体提取量。采用鱼骨图结合 FMEA 法确定加水倍量、提取温度、提取时间、提取次数为影响红花温浸提取过程的 CPPs。通过 Box-Behnken 实验设计研究了 CPPs 对关键评价指标的影响, 最终得到红花温浸提取工艺推荐的操作空间为: 提取次数 2 次, 提取时间 2.5 h, 加水倍量为 23.5~25 倍, 提取温度 65~71 °C。验证实验结果与预测值符合良好, 在设计空间内操作能保证红花提取液质量的均一可控。

参考文献

[1] International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for

Human Use (ICH). Pharmaceutical Development. Q8(R2) [EB/OL] (2018-01-31) http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q8_R1/Step4/Q8_R2_Guideline.pdf.

- [2] 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): 1015-1024.
- [3] 张小飞, 邢传峰, 果秋婷. 基于质量源于设计 (QbD) 理念优化穿心莲内酯固体脂质纳米粒 [J]. 中草药, 2015, 46(2): 194-200.
- [4] Cunha B, Silva R J S, Correia C, *et al.* Finding the design space of a filtration-based operation for the concentration of human pluripotent stem cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 542(12): 399-407.
- [5] 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.
- [6] Kaur A, Bhoop B S, Chhibber S, *et al.* Supramolecular nano-engineered lipidic carriers based on diflunisal-phospholipid complex for transdermal delivery: QbD based optimization, characterization and preclinical investigations for management of rheumatoid arthritis [J]. *Int J Pharm*, 2017, 522(1): 206-224.
- [7] 张娟娟, 孙巍, 王萍, 等. 基于分析方法质量源于设计 (AQbD) 的复方丹参滴丸皂苷指纹图谱开发方法初步研究 [J]. 中草药, 2017, 48(19): 3992-3997.
- [8] Rathore A S, Pathak M, Godara A. Process development in the QbD paradigm: Role of process integration in process optimization for production of biotherapeutics [J]. *Biotechnol Prog*, 2016, 32(2): 355-362.
- [9] 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.
- [10] Silva P, Silva C L, Perestrelo R, *et al.* A useful strategy based on chromatographic data combined with quality-by-design approach for food analysis applications. The case study of furanic derivatives in sugarcane honey [J]. *J Chromatogr A*, 2017, 1520: 117-126.
- [11] 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.
- [12] 李彤彤, 韩红园, 林瑞超, 等. 红花 UPLC 法特征指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2017, 48(5): 997-1004.
- [13] 南京中医药大学. 中药大辞典 [M]. 第 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006.
- [14] 金益, 濮宗进, 唐于平, 等. 当归-红花药对活血功效相互作用研究 [J]. 中草药, 2017, 48(10): 2087-2092.
- [15] 尹宏斌, 何直升, 叶阳. 红花化学成分的研究 [J]. 中草药, 2001, 32(9): 11-13.

- [16] 刘玉明, 杨峻山, 刘庆华. 红花化学成分研究 [J]. 中药材, 2005, 28(4): 288-289.
- [17] Conte R, Gullich L, Bilibio D, *et al.* Pressurized liquid extraction and chemical characterization of safflower oil: A comparison between methods [J]. *Food Chem*, 2016, 213: 425-430.
- [18] 姜建双, 夏鹏飞, 冯子明, 等. 红花化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(24): 2911-2913.
- [19] Wang X, Ma Z, Fu Z, *et al.* Hydroxysafflor yellow A protects neurons from excitotoxic death through inhibition of NMDARs [J]. *Asn Neuro*, 2016, 8(2): 1-19.
- [20] Yao D, Wang Z, Miao L, *et al.* Effects of extracts and isolated compounds from safflower on some index of promoting blood circulation and regulating menstruation [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 38(191): 264-272.
- [21] 田京伟, 蒋王林, 王振华, 等. 红花总黄酮对大鼠局部脑缺血及血栓形成的影响 [J]. 中草药, 2003, 34(8): 741-743.
- [22] 苏 宁, 卢芬萍, 朱明明, 等. 黄芪甲苷联合羟基红花黄色素 A 对小鼠心肌梗死的保护作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(2): 98-103.
- [23] 王晓菲, 臧宝霞, 吴 伟, 等. 羟基红花黄色素 A 对 LPS 所致内皮细胞损伤的保护作用 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(12): 1650-1653.
- [24] 金 鸣, 董宁宁, 吴 伟, 等. 羟基红花黄色素 A 缓解大鼠心肌细胞凋亡作用的研究 [J]. 中草药, 2009, 40(6): 924-930.
- [25] 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.
- [26] 李 鹏, 张宇燕, 李金辉, 等. 补阳还五汤方中红花黄芪配伍总黄酮的制备工艺 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(6): 10-13.
- [27] 中国药典 [S]. 一部. 2015.