

基于质量源于设计(QbD)理念的延胡索醇提工艺质量控制研究

姜慧洁¹, 黄薇¹, 胡林水², 郑洁¹, 叶剑锋², 颜继忠^{1*}

1. 浙江工业大学药学院, 浙江 杭州 310014

2. 浙江康恩贝制药股份有限公司, 浙江 金华 310052

摘要: 目的 运用质量源于设计(QbD)理念, 提升延胡索醇提工艺的质量控制水平, 以满足可达灵片生产的提取要求。方法 以溶剂倍数、提取时间、浸泡时间为关键工艺参数; 以延胡索提取液中干膏率、脱氢延胡索碱含量、脱氢延胡索碱转移率为关键质量属性; 采用响应面法建立关键工艺参数和关键质量属性间的数学模型, 建立多个指标重叠的设计空间, 选取较优操作空间, 最后进行工艺验证。结果 延胡索醇提工艺操作空间为浸泡时间 14~24 h; 第1次溶剂倍数 3.0~4.0 倍, 第2、3次溶剂倍数 1.5~2.0 倍; 提取时间 1.5~2.5 h。该操作空间下延胡索提取物干膏率为 6%~8%, 脱氢延胡索碱质量分数大于 2.8%, 且转移率不低于 85%。结论 QbD 理念有助于延胡索醇提工艺的提升, 获得可靠且适合可达灵片生产的提取操作空间。

关键词: 质量源于设计; 延胡索; 脱氢延胡索碱; 操作空间; 质量控制; 关键工艺参数; 关键质量属性; 设计空间

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)02-0372-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.02.013

Quality control of ethanol extraction process of *Corydalis Rhizoma* based on quality by design (QbD)

JIANG Hui-jie¹, HUANG Wei¹, HU Lin-shui², ZHENG Jie¹, YE Jian-feng², YAN Ji-zhong¹

1. College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China

2. Zhejiang Conba Pharmaceutical Co., Ltd., Jinhua 310052, China

Abstract: **Objective** To improve the quality control level of ethanol extraction process of *Corydalis Rhizoma* (CR) by using quality by design (QbD), so as to meet the extraction requirements of Kedaling Tablets. **Methods** The critical process parameters were solvent multiple, extraction time and soaking time, and the critical quality attributes were dry extract rate, content and transfer rate of dehydrocorydaline. The response surface methodology was used to establish the mathematical model between the critical process parameters and the critical quality attributes. The overlapping design space of multiple index design spaces was established to select the optimal operation space, where the process verification was carried out. **Results** The operating space parameters of ethanol extraction of CR was 14—24 h of the immersion time, 3.0—4.0 times of the first time solvent multiple, 1.5—2.0 times of the second and third time solvent multiple, and 1.5—2.5 h of the extraction time. Under this operating space, the extraction yield of CR was ranged from 6%—8%, the content of dehydrocorydaline was more than 2.8%, and the transfer rate was not less than 85%. **Conclusion** The concept of QbD is helpful to improve the ethanol extraction process of CR, and to obtain a reliable and suitable extraction operation space for the production of Kedaling Tablets.

Key words: quality by design; *Corydalis Rhizoma*; dehydrocorydaline; operating space; quality control; critical process parameter; critical quality attribute; design space

延胡索 *Corydalis Rhizoma* 为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎^[1], 为著名的浙八味之一, 具有活血化瘀、行气止痛之功效,

主要药效物质基础为延胡索总生物碱^[2-5]。以延胡索提取物为主要成分的可达灵片, 具有镇静、镇痛、抗心律失常和降压作用, 可用于治疗冠心病、心绞

收稿日期: 2019-07-22

基金项目: 浙江工业大学中药质量控制技术创新团队项目资助 (ZYX201801)

作者简介: 姜慧洁, 女, 硕士, 主要从事中药提取与质量评价方向的研究。Tel: (0571)88320984 E-mail: science5555@163.com

*通信作者 颜继忠, 男, 教授, 主要从事中药分离工程与中药质量控制方向的研究。Tel: (0571)88320506 E-mail: yjz@zjut.edu.cn

痛、急性心肌梗死等多种心血管疾病^[6-8]。可达灵片的指标成分为脱氢延胡索碱，国家药典委员会药典业发（1999）第 276 号规定其含量应为标示量的 85%~115%^[9]。由于延胡索中药材因产地、炮制、贮藏等原因，各生物碱成分波动较大^[10-13]，在可达灵片醇提工艺过程中会遇到稠膏收率不稳定，脱氢延胡索碱含量不达标等问题。

质量源于设计（quality by design, QbD）理念是先进药品质控理念，可运用于中成药制备工艺开发中，通过设计科学、合理、可靠的工艺过程来提升产品质量^[14-17]。本研究以溶剂倍数、提取时间、浸泡时间为关键工艺参数（critical process parameters, CPPs）；以延胡索提取液中干膏率、脱氢延胡索碱含量、转移率为关键质量属性（critical quality attribute, CQAs），通过实验设计与数学模型阐述两者的相关性，建立多个指标重叠的设计空间，选取较优操作空间，最后进行工艺验证。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪，美国 Agilent 科技有限公司；YP502N 电子天平，上海菁海仪器有限公司；BS124 万分之一电子天平，赛多利斯科学仪器北京有限公司；JP-1000B-8 高速多功能粉碎机，永康市久品工贸有限公司；PTHW-2L 调温电热套，巩义市予华仪器有限公司；DGG-9053AD 电热恒温鼓风干燥箱，上海森信实验仪器有限公司；pH-

100 pH 测试笔，上海力辰邦西仪器科技有限公司；KQ-250DE 数控超声波清洗器，巩义市予华仪器有限公司。

1.2 材料与试药

延胡索饮片，批号 181204、181002、190102、190103，均购于浙江省磐安县中药材市场，饮片经浙江工业大学药学院楚楚副教授鉴定为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎。乙醇，分析纯，天津市四友精细化学品有限公司；甲醇，分析纯，淮安市恒天工贸有限公司；色谱级甲醇、色谱级乙腈，安徽天地高纯溶剂有限公司；磷酸，上海凌峰化学试剂有限公司；三乙胺，成都市科隆化学品有限公司；对照品盐酸脱氢延胡索碱，质量分数 99.9%，浙江省药品检验所，批号 060714；纯净水，杭州娃哈哈集团有限公司。

2 方法与结果

2.1 工艺参数的风险评估

首先采用失效模型与影响分析（failure mode and effects analysis, FMEA），根据笔者在中药提取方面实验及文献阅读积累的经验，对延胡索醇取工艺在饮片、溶剂、提取操作、过滤操作方面所涉及的潜在关键工艺参数（potential critical process parameters, pCCPs）进行风险评估，计算风险优先度（risk priority number, RPN）， $RPN = S \times O \times D$ ，其中 S 为严重度，O 为失效发生频度，D 为不可探测度^[18]，结果见表 1。RPN 值越高风险越大，针对

表 1 延胡索醇提工艺中 pCCPs 的风险评估

Table 1 Risk assessment of pCCPs in alcohol extraction process of *Corydalis Rhizoma*

类别	因素	S	O	D	RPN	备注
饮片	饮片质量	3	3	2	18	依据生产水平，制定企业内部标准，饮片中脱氢延胡索碱质量分数 $\geq 0.15\%$ ^[1]
	饮片粒度	3	3	2	18	属根类，质地坚硬，考察 10、30、60 目粒度，其中 30 目时转移率已较优，采用 30 目
溶剂	溶剂种类	3	2	2	12	原工艺规定为 80%乙醇，不应影响提取部位，不进行更改
	溶剂倍数	3	3	2	18	影响有效成分溶出速率及后续浓缩效率；考察 2、5、10、15 倍，影响明显，10 倍时转移率已较优
提取操作	浸泡时间	3	3	2	18	使溶剂充分浸润饮片，考察 1、10、20、24 h，影响明显，20 h 时转移率已较优
	提取时间	3	3	2	18	原工艺规定为 4 h，考察 30、60、90、120、360 min，影响明显，60 min 时转移率已较优
	提取温度	2	2	2	8	采用加热回流，控制回流速度，不进行更改
	提取次数	3	3	1	9	原工艺规定为提取 3 次，为充分提取，不进行更改
滤过操作	网筛目数	2	2	2	8	考察 120、200、325 目，对固含量影响明显，对成分含量影响不明显，采用 325 目
	滤过温度	3	2	1	6	考察趁热滤过与室温滤过，影响不明显，采用室温滤过
	滤过次数	2	2	1	4	考察滤过 1 次与 2 次，影响不明显，采用滤过 1 次

部分高风险因素进行单因素实验,最后选择溶剂倍数、浸泡时间、提取时间为 CCPs。

2.2 CQAs 的测定方法

2.2.1 脱氢延胡索碱的含量测定

(1) 对照品溶液的制备:取盐酸脱氢延胡索碱对照品适量,精密称定,加甲醇分别制成含脱氢延胡索碱 505.00、252.50、126.25、63.13、31.56 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液,0.22 μm 有机滤膜滤过,即得系列对照品溶液。

(2) 供试品溶液的制备:称取已粉碎延胡索粗粉约 50 g (饮片批号 181204,脱氢延胡索碱质量分数 0.20%),加饮片 6 倍量 80%乙醇,浸泡过夜,加热回流 4 h,趁热过滤。取延胡索提取液 2 mL,至 10 mL 量瓶中,加甲醇定容,摇匀,0.22 μm 有机滤膜滤过,即得供试品溶液。

(3) 色谱条件:以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂的 Zorbax Eclipse Plus C₁₈ (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱;乙腈-磷酸三乙胺溶液 (每升水中加磷酸 2 mL,用三乙胺调节 pH 至 5.0 $\pm$ 0.1)(25:75) 为流动相;体积流量 1 mL/min;柱温 30 $^{\circ}\text{C}$;检测波长 340 nm。理论塔板数按脱氢延胡索碱峰计,应不低于 4 000。

(4) 系统适用性与专属性:分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL ,注入液相色谱仪,测定,即得。在该色谱条件下,供试品中脱氢延胡索碱色谱峰分离良好,分离度 (R) >1.5 ,满足分析检测要求,见图 1。

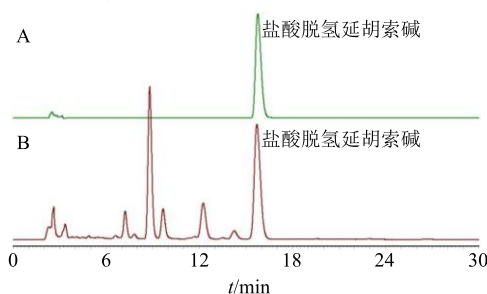


图 1 盐酸脱氢延胡索碱对照品 (A) 与延胡索供试品 (B) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of dehydrocorydaline hydrochloride reference substance (A) and sample of *Corydalis Rhizoma* (B)

(5) 线性关系考察:依法测定不同质量浓度的系列对照品溶液,以峰面积积分值 (Y) 对质量浓度 (X) 进行线性回归,得回归方程 $Y=33.437X+39.875$, $r^2=0.9999$,结果表明盐酸脱氢延胡索碱在 31.56~505.00 $\mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

(6) 精密度考察:取 1 份对照品溶液 (质量浓度为 126.25 $\mu\text{g/mL}$),连续进样 6 次,对照品保留时间和峰面积的 RSD 值分别为 0.32% 和 0.51%,日内精密度良好。

(7) 稳定性考察:依据“2.2.1 (2)”项下方法制备 1 份供试品溶液,分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样,结果峰面积 RSD 值为 1.55%,供试品溶液在 24 h 内稳定。

(8) 重复性考察:依据“2.2.1 (2)”项下方法分别制备 6 份供试品溶液,样品保留时间和质量浓度的 RSD 值分别为 0.10% 和 1.28%,重复性良好。

(9) 加样回收率考察:精密量取已知脱氢延胡索碱含量的样品 [依据“2.2.1 (2)”项下方法制备的供试品溶液] 1 mL,加入质量浓度为 607.00 $\mu\text{g/mL}$ 脱氢延胡索碱对照品溶液 630 μL ,甲醇定容至 10 mL,摇匀,滤过,平行配制 6 份,依法测定。脱氢延胡索碱的平均加样回收率为 97.06%,RSD 值为 0.97%。

2.2.2 干膏率的测定 精密量取延胡索提取液 50 mL,置于已恒定质量的蒸发皿中,水浴蒸干,于烘箱 105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒定质量 (4 h),计算出膏率。

$$\text{干膏率} = mV / (50M)$$

m 为 50 mL 提取液中干浸膏质量, V 为总提取液体积, M 为投料饮片质量

2.2.3 脱氢延胡索碱转移率的计算 延胡索饮片中心脱氢延胡索碱的测定方法同“2.2.1”项下,供试品溶液制备方法为取延胡索粉末 (过 60 目筛) 约 1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,密塞,称定质量,静置过夜。加热回流提取 4 h,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,0.22 μm 有机滤膜滤过,即得。

$$\text{脱氢延胡索碱转移率} = CV / (wM)$$

C 为提取液中的脱氢延胡索碱质量浓度, V 为总提取液体积, w 为饮片中心脱氢延胡索碱的质量分数, M 为投料饮片质量

2.3 CCPs 与 CQAs 的相关性研究

2.3.1 延胡索的提取工艺 称取已粉碎延胡索粗粉约 50 g (饮片批号 181204),电热套加热,回流提取 3 次。第 1 次加饮片 A 倍量 80%乙醇,浸泡 B h 后,加热回流 C h,趁热滤过,第 2、3 次分别加入饮片 A/2 倍量 80%乙醇,再加热回流 C h,趁热滤过,合并滤液,测定干膏率、脱氢延胡索碱含量与转移率。

2.3.2 实验设计与结果 为探讨延胡索醇提工艺中

CPPs (溶剂倍数 A、提取时间 B、浸泡时间 C) 与 CQAs (干膏率 Y_1 、脱氢延胡索碱含量 Y_2 、脱氢延胡索碱转移率 Y_3) 的相关性, 设计 3 因素 3 水平的 Box-Behnken 实验, Box-Behnken 实验设计与响应值见表 2。

2.3.3 CQAs 的回归模型及 ANOVA 分析结果 利用 Design-Expert.V8.0.6 软件进行数据分析, $Y_1 = 2.50 + 1.62 A - 0.038 B + 0.040 C + 0.001 67 AB + 0.004 13 AC - 0.007 67 BC - 0.11 A^2 + 0.049 B^2 - 0.001 88 C^2$ 。该模型的显著性检验 $P < 0.000 1$, 具有统计学意义; 失拟项的 P 值为 0.232 7, 不显著大于纯误差, 表明可以接受该模型; 模型的 $r^2 = 0.994 3$, $r_{adj}^2 = 0.984 0$, 说明该模型与数据拟合程度较高。干膏率回归模型的方差分析 (analysis of

variance, ANOVA) 结果见表 3, 独立自变量 A 和独立自变量的 2 次项 A^2 的 P 值均小于 0.01, 表明溶剂倍数对干膏率的影响十分显著, 而提取时间与浸泡时间对干膏率的影响相对较弱。交互变量 AB、AC、BC 的 P 值均大于 0.01, 说明各因素变化对干膏率的相互影响较小。

$Y_2 = 3.62 - 0.24 A - 0.016 B + 0.009 88 C$, 该模型的显著性检验 $P < 0.000 1$; 失拟项的 P 值为 0.467 3; $r^2 = 0.930 6$, $r_{adj}^2 = 0.911 7$ 。ANOVA 分析结果见表 4, 独立自变量 A 的 P 值小于 0.01, 表明溶剂倍数对脱氢延胡索碱含量的影响显著; 依据独立变量 A、B、C 的 P 值大小, 推测各因素对脱氢延胡索碱含量影响的显著性大小顺序为溶剂倍数 (A) > 浸泡时间 (C) > 提取时间 (B)。

表 2 Box-Behnken 实验设计因素、水平与响应值

Table 2 Box-Behnken experimental design and response values

编号	A	B/h	C/h	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	$Y_3/\%$	编号	A	B/h	C/h	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$	$Y_3/\%$
1	2 (-1)	1.0 (-1)	14.0 (0)	5.52	3.32	88.38	9	4 (0)	1.0 (-1)	4.0 (-1)	7.21	2.73	95.01
2	6 (+1)	1.0 (-1)	14.0 (0)	8.74	2.32	97.77	10	4 (0)	4.0 (+1)	4.0 (-1)	7.92	2.53	96.52
3	2 (-1)	4.0 (+1)	14.0 (0)	5.66	3.27	89.17	11	4 (0)	1.0 (-1)	24.0 (+1)	7.24	2.73	95.32
4	6 (+1)	4.0 (+1)	14.0 (0)	8.90	2.32	99.89	12	4 (0)	4.0 (+1)	24.0 (+1)	7.49	2.79	100.82
5	2 (-1)	2.5 (0)	4.0 (-1)	5.69	3.16	86.68	13	4 (0)	2.5 (0)	14 (0)	7.59	2.61	95.41
6	6 (+1)	2.5 (0)	4.0 (-1)	8.55	2.33	95.96	14	4 (0)	2.5 (0)	14 (0)	7.61	2.72	100.11
7	2 (-1)	2.5 (0)	24.0 (+1)	5.10	3.51	86.58	15	4 (0)	2.5 (0)	14 (0)	7.43	2.80	100.48
8	6 (+1)	2.5 (0)	24.0 (+1)	8.29	2.51	100.49							

表 3 干膏率回归模型的 ANOVA 分析结果

Table 3 ANOVA analysis result by regression model of dry extract yield

来源	自由度	Y_1					Y_3				
		平方和	均方	F 值	P 值	显著水平	平方和	均方	F 值	P 值	显著水平
模型	9	20.950	2.330	96.82	<0.000 1	极显著	353.050	39.230	10.180	0.010 0	显著
A	1	19.560	19.560	813.47	<0.000 1	极显著	234.360	234.360	60.820	0.000 6	极显著
B	1	0.200	0.200	8.25	0.034 9		12.300	12.300	3.190	0.134 0	
C	1	0.200	0.200	8.12	0.035 8		10.220	10.220	2.650	0.164 4	
AB	1	1.000×10^{-4}	1.000×10^{-4}	4.16×10^{-3}	0.951 1		0.440	0.440	0.110	0.748 6	
AC	1	0.027	0.027	1.13	0.336 0		5.360	5.360	1.390	0.291 3	
BC	1	0.053	0.053	2.20	0.198 1		3.980	3.980	1.030	0.356 1	
A^2	1	0.740	0.740	30.80	0.002 6		80.770	80.770	20.960	0.006 0	
B^2	1	0.044	0.044	1.84	0.232 6		0.130	0.130	0.0340	0.861 9	
C^2	1	0.130	0.130	5.42	0.067 3		9.010	9.010	2.340	0.186 8	
残差	5	0.120	0.024				19.270	3.850			
失拟项	3	0.100	0.034	3.45	0.232 7	不显著	3.290	1.100	0.140	0.929 4	不显著
纯误差	2	0.019	9.730×10^{-3}				15.980	7.990			
总离差	14	21.070					372.320				

$Y_3 = 68.58 + 10.97 A - 0.13 B + 0.15 C + 0.11 AB + 0.058 AC + 0.066 5 BC - 1.17 A^2 - 0.083 B^2 - 0.016 C^2$, 该模型的显著性检验 $P < 0.000 1$; 失拟项的 P 值为 0.929 4; $r^2 = 0.948 2$, $r_{adj}^2 = 0.855 1$ 。ANOVA 分析结果见表 3, 溶剂倍数对脱氢延胡索碱转移率的影响显著, 而提取时间与浸泡时间的影响相对较弱。

根据各回归方程进行绘图分析, Y_1 的三维响应面图见图 2-a~c, 溶剂倍数对应的曲面坡度较陡(图 2-a、b), 提取时间与浸泡时间对应的曲面相对平稳(图 2-c), 表明溶剂倍数对干膏率影响更显著。 Y_2

的二维响应面图见图 3-a~c, 3 个因素均与含量成线性相关, 随着溶剂倍数的增加, 含量下降(图 3-a); 随着提取时间与浸泡时间的增加, 对含量的影响不显著(图 3-b、c)。 Y_3 的三维响应面图见图 4-a~c, 溶剂倍数对转移率的影响也较显著。

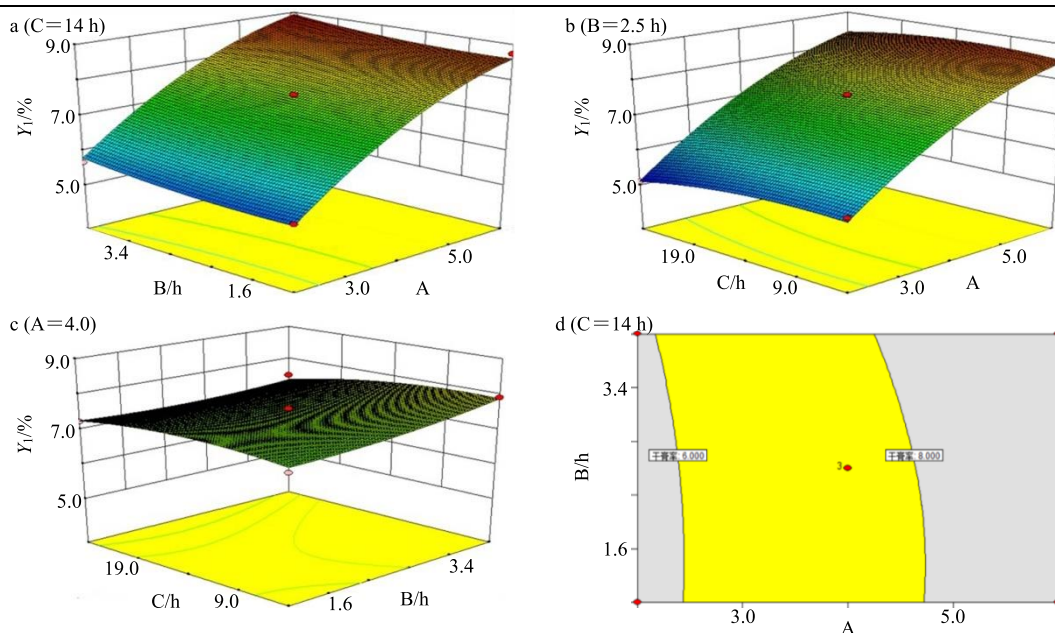
2.4 优选操作空间的建立

2.4.1 单个指标设计空间的建立 根据企业生产经验与需求, 将优化目标定为延胡索提取物干膏率范围为 6%~8%, 脱氢延胡索碱含量大于 2.8%, 且其转移率不低于 85%, 同时符合节约工艺消耗的原则。分别建立干膏率(图 2-d)、脱氢延胡索碱含量(图

表 4 Y_2 回归模型的 ANOVA 分析结果

Table 4 ANOVA analysis result of dehydrocorydaline content

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著水平
模型	1.870	3	0.620	49.16	<0.000 1	显著
A	1.790	1	1.790	140.98	<0.000 1	
B	4.510×10^{-3}	1	4.510×10^{-3}	0.36	0.562 7	
C	0.078	1	0.078	6.16	0.030 5	
残差	0.140	11	0.013			
失拟值	0.120	9	0.013	1.48	0.467 3	不显著
纯误差	0.018	2	9.100×10^{-3}			
总离差	2.010	14				

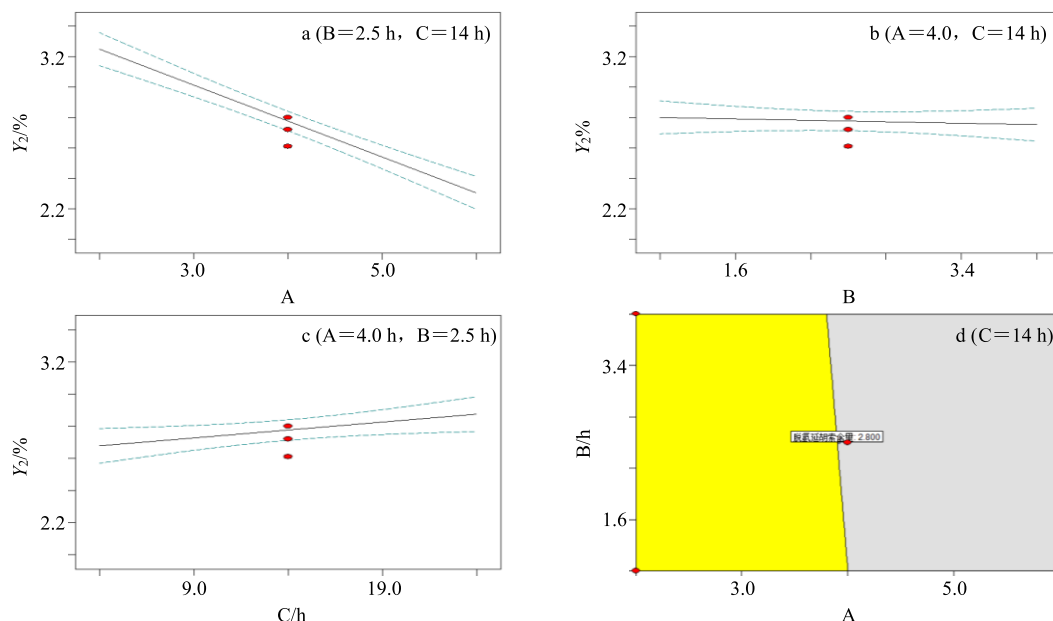


a-溶剂倍数与提取时间交互作用的响应面分析图 b-溶剂倍数与浸泡时间交互作用的响应面分析图 c-提取时间与浸泡时间交互作用的响应面分析图 d-溶剂倍数与提取时间的设计空间

a-response surface analysis of the interaction between solvent multiple and extraction time b-response surface analysis of the interaction between solvent multiple and soaking time c-response surface analysis of the interaction between extraction time and soaking time d-design space of solvent multiple and extraction time

图 2 Y_1 的三维响应面及设计空间

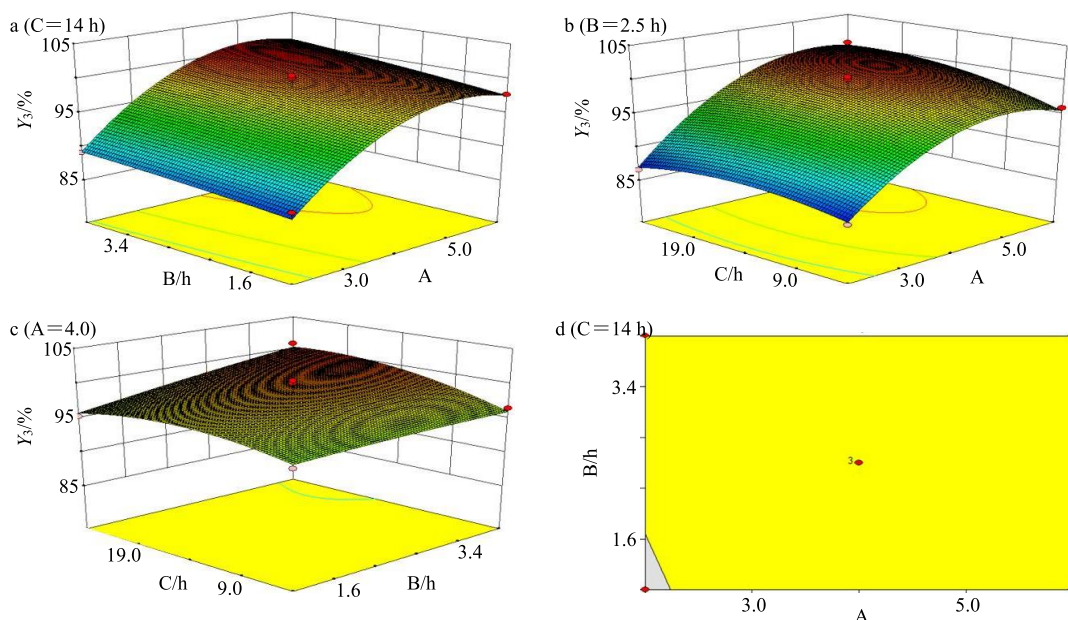
Fig. 2 3D response surface map and design space of Y_1



a-溶剂倍数响应面分析图 b-提取时间响应面分析图 c-浸泡时间响应面分析图 d-溶剂倍数与提取时间的设计空间
a-response surface analysis of solvent multiple b-response surface analysis of extraction time c-response surface analysis of soaking time d-design space of solvent multiple and extraction time

图 3 Y_2 的二维响应面及设计空间

Fig. 3 2D response surface map and design space of Y_2



a-溶剂倍数与提取时间交互作用的响应面分析图 b-溶剂倍数与浸泡时间交互作用的响应面分析图 c-提取时间与浸泡时间交互作用的响应面分析图 d-溶剂倍数与提取时间的设计空间
a-response surface analysis of the interaction between solvent multiple and extraction time b-response surface analysis of the interaction between solvent multiple and soaking time c-response surface analysis of the interaction between extraction time and soaking time d-design space of solvent multiple and extraction time

图 4 Y_3 的三维响应面及设计空间

Fig. 4 3D response surface map and design space of Y_3

3-d)、脱氢延胡索碱转移率(图 4-d)的工艺设计空间,通过 Overlay plot 展示,亮黄色部分即为设计空间。由于平面设计空间仅能体现 2 个因素,单个

指标的设计空间均选择影响不显著的浸泡时间为固定因素,水平为中间值 14 h。

2.4.2 较优操作空间的建立 将上述建立的 3 个单

个设计空间重叠, 延胡索醇提工艺的设计空间随浸泡时间的变化趋势见图 5, 亮黄色设计空间中的工

艺参数组合均能同时满足对干膏率、脱氢延胡索碱含量与转移率的要求。

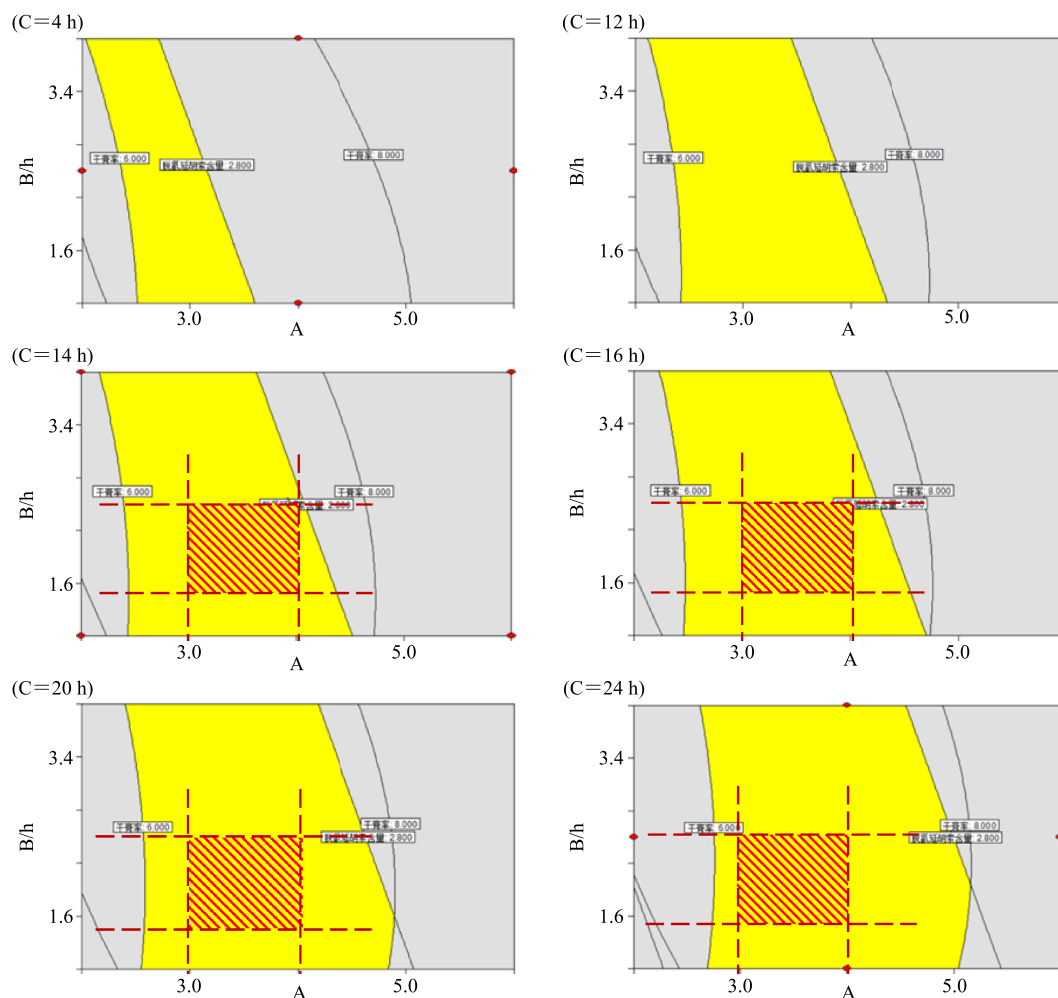


图 5 延胡索醇提工艺的设计空间随浸泡时间的变化趋势

Fig. 5 Trend of design space of ethanol extraction of *Corydalis Rhizoma* with soaking time

比较在浸泡时间 4、12、14、16、20、24 h 条件下, 溶剂倍数与提取时间构成的设计空间的变化情况。浸泡时间 4~12 h 过程中, 设计空间面积随浸泡时间增加的变化幅度明显; 而浸泡时间 14~24 h 过程中, 设计空间面积随浸泡时间增加的变化幅度较缓和, 最后选择浸泡时间为 14~24 h。在设计空间内选取较优操作空间如下, 即为图中斜线方框, 浸泡时间 14~24 h; 第 1 次溶剂倍数 3.0~4.0 倍, 第 2、3 次溶剂倍数 1.5~2.0 倍; 提取时间 1.5~2.5 h。

2.5 优选操作点验证性实验

结合实际情况选取 3 个操作空间内的优选点, 进行验证实验。实际值与预测值的相对误差均较小, 说明模型的预测功能较好; 且均满足延胡索提取物干膏率范围为 6%~8%, 脱氢延胡索碱质量分数大

于 2.8%, 转移率不低于 85%, 结果见表 5。

2.6 延胡索醇提工艺的验证性实验

取小试实验批次延胡索进行工艺稳定性验证, 平行制备 6 次并测定。具体工艺参数为浸泡时间 14 h; 第 1 次溶剂倍数 3.0 倍, 第 2、3 次溶剂倍数 1.5 倍; 提取时间 2.0 h。该工艺下平均干膏率为 6.49%, RSD 为 1.30%; 脱氢延胡索碱平均质量分数为 3.02%, RSD 为 3.45%; 平均转移率为 98.04%, RSD 为 3.30%, 可知该工艺的稳定性良好。

取其他 3 个批次的延胡索进行工艺适应性验证, 平行制备 2 次并测定。具体工艺参数为浸泡时间 14 h; 第 1 次溶剂倍数 3.0 倍, 第 2、3 次溶剂倍数 1.5 倍; 提取时间 2.0 h, 结果见表 6。可知该工艺的适应性良好, 其他批次的干膏率、脱氢延胡索碱含量、转移率均满足要求。

表 5 工艺实际值与预测值的实验结果

Table 5 Experimental results of actual and predicted process values

编号	A	B/h	C/h	干膏率/%			质量分数/%			转移率/%		
				实际值	预测值	相对误差	实际值	预测值	相对误差	实际值	预测值	相对误差
1	3.5	2.0	14.0	5.59	6.08	8.77	3.40	3.14	7.65	91.75	91.63	0.13
2	3.0	2.5	14.0	6.79	6.91	1.77	3.01	2.99	0.66	98.45	95.68	2.81
3	4.0	2.0	14.0	7.32	7.50	2.46	2.87	2.78	3.14	101.22	98.23	2.95

表 6 延胡索醇提工艺适应性的验证性实验

Table 6 Verification experiment of ethanol extraction process of *Corydalis Rhizoma*

批号	饮片脱氢延胡索碱/%	干膏率/%	RSD/%	干膏脱氢延胡索碱/%	RSD/%	脱氢延胡索碱转移率/%	RSD/%
181002	0.25	7.31	1.35	3.17	0.22	92.55	1.58
190101	0.22	7.33	0.87	2.86	1.73	95.07	2.60
190103	0.22	6.64	3.62	2.93	2.90	88.39	0.73

3 讨论

目前,对延胡索提取工艺的研究主要是针对总生物碱或者《中国药典》2015 年版规定延胡索药材的指标成分(延胡索乙素),针对可达灵片中规定指标成分(脱氢延胡索碱)的报道较少。此外,延胡索提取工艺优化往往以单个指标成分提取率或综合指标评分最佳为目标,优化所得的溶剂倍数为 6~12 倍,提取时间为 30~120 min,同时,浸泡时间、提取次数、提取温度也选择也不一^[19-22]。本研究旨在运用 QbD 理念寻找一个合适的延胡索醇提工艺操作空间,使得干膏率满足企业生产内控质量的要求,同时又不因过高的干膏率使提取物中脱氢延胡索碱的含量降低。

QbD 理念运用的关键之一在于设计空间的建立^[23],而设计空间建立的基础则是单因素实验中因素与水平的合理选取,因素应为显著影响因素,水平范围应包含较优的条件点。前期单因素发现浸泡时间 20 h、提取时间 60 min、溶剂倍数 10 倍为脱氢延胡索碱转移率最优工艺参数(表 1)。一般应以单因素实验的较优水平为 0 水平,上下一定范围为 ±1 水平,则考虑浸泡时间 10、20、30 h,提取时间 30、60、90 min、溶剂倍数 8、10、12 倍。但实际生产中提取时间往往需要超过 1 h,提取效率与小试差异较大;而溶剂倍数的增加不仅增加了提取过程中物料的升温时间,并且明显增加了浓缩工艺的负担。综合考虑单因素实验结果和生产效率,本研究 Box-Behnken 实验设计的因素与水平最终定为浸泡时间 4、14、24 h,提取时间 1.0、2.5、4.0 h,溶剂倍数 2、4、6 倍。

本研究未采用综合指标的评分方法寻找最优工艺参数,而是通过多个指标设计空间的重叠,来获得可靠且适合可达灵片醇提工艺生产的操作空间。所建立的设计空间可以预测干膏率、脱氢延胡索含量与转移率随溶剂倍数与提取时间的变化规律。建议操作空间如下:浸泡时间 12~24 h;第 1 次溶剂倍数 3.0~4.0 倍,第 2、3 次溶剂倍数 1.5~2.0 倍;提取时间 1.5~2.5 h。该操作空间下,延胡索提取物干膏率控制在 6%~8%,脱氢延胡索碱含量大于 2.8%,转移率不低于 85%。

可达灵片现行生产工艺参数为粉碎后 80%乙醇提取 3 次,每次 4 h,位于设计空间(亮黄色区域)边缘处,可以生产出合格的中间体。相比现行生产工艺,优选操作空间(图 5,斜线方框)更接近设计空间中心位置,准确性、适用性更高,且节省能耗,可为以后可达灵片提取工艺的变更提供参考价值。该操作空间下虽然延胡索提取物的产量不是最大化,却是在保证质量的情况下合理提高产量。

综上所述,在 QbD 理念运用于提升延胡索醇提工艺时,应通过单因素实验确定了解 CPPs 对 CQAs 的大致影响规律,再结合实际生产设备、生产效率、后续工艺、能耗等影响,选择 BBD 实验设计的因素水平,从而获得比较适合生产的操作空间。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 冯自立,赵正栋,刘建欣. 延胡索化学成分及药理活性研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(11): 2000-2008.
- [3] 胡锦祥,吴瑾瑾,王群星,等. 大孔吸附树脂纯化延胡

- 索总生物碱工艺研究 [J]. 中草药, 2018, 49(18): 4302-4310.
- [4] 王磊, 王媛, 李爱主, 等. 基于靶细胞萃取的延胡索药效成分的筛选和含量测定 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(6): 990-994.
- [5] 董庆海, 吴福林, 王涵, 等. 延胡索药学研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 2019, 38(1): 48-53.
- [6] 黄启和, 周福军, 徐旭, 等. 基于分子对接技术虚拟筛选延胡索抗心肌缺血物质基础研究 [J]. 中草药, 2019, 50(10): 2355-2361.
- [7] 叶士勇, 胡武明, 曾春来, 等. 可达灵片辅助治疗冠心病不稳定型心绞痛的疗效及对血小板聚集、炎症因子的影响 [J]. 心脑血管病防治, 2019, 19(2): 151-152.
- [8] 余守洋, 杨培润, 罗素元. 延胡索抗阿片类药物成瘾的研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(6): 1250-1254.
- [9] 国家药典会药典业发 (1999) 第 276 号 [S]. 1999.
- [10] 杨俊杰, 李平, 郝敏, 等. 中药材产地加工与炮制一体化的现代研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(20): 4726-4730.
- [11] 安艳, 高普珠, 晋小军, 等. 不同产地延胡索产量品质比较 [J]. 中药材, 2018, 41(1): 33-36.
- [12] 宋洪伟, 毛睿, 李丽红, 等. 延胡索炮制前后多组分质量控制方法的研究 [J]. 天津中医药大学学报, 2019, 38(1): 63-67.
- [13] 宋艺君, 郭涛, 孙婧, 等. 陕产延胡索产地加工与炮制一体化 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中医药信息, 2018, 35(5): 49-54.
- [14] 肖传学, 高展, 苏娟, 等. 基于质量源于设计 (QbD) 理念的穿心莲内酯结肠靶向微丸研究 [J]. 中草药, 2019, 50(22): 5462-5469.
- [15] 龚行楚, 陈滕, 瞿海斌. 基于质量源于设计理念的中成药二次开发研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(6): 1031-1036.
- [16] 李鹏程, 刘涛, 张文文, 等. 基于 QbD 理念的黄槐片制备工艺及物理指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2018, 49(7): 1576-1582.
- [17] 王星星, 张艳军, 朱秀辉, 等. 基于质量源于设计理念优化参蒲盆炎颗粒喷雾干燥工艺 [J]. 中草药, 2019, 50(6): 1334-1340.
- [18] 陈桧, 李冰韶, 王永洁, 等. 设计空间法优化红花温浸提取工艺 [J]. 中草药, 2018, 49(19): 4544-4551.
- [19] 商小金, 钱俊青, 郭辉. 响应面法优化延胡索生物碱乙醇提取工艺研究 [J]. 林产化学与工业, 2010, 30(2): 32-36.
- [20] 王绪颖, 贾晓斌, 陈彦. 延胡索总生物碱的提取纯化工艺研究 [J]. 中成药, 2010, 32(11): 1899-1904.
- [21] 杜茂波, 刘淑芝, 刘树扬, 等. 元胡止痛软胶囊中延胡索提取工艺优选 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9): 50-52.
- [22] 罗雪芹, 何道惠, 秦秀蓉, 等. 延胡索有效成分提取纯化的工艺研究 [J]. 时珍国医国药, 2014, 25(1): 23-25.
- [23] 李文竹, 张禄权, 李白玲, 等. 基于质量源于设计理念的丹参浓缩膏石硫工艺优化研究 [J]. 中草药, 2019, 50(10): 2302-2311.