

• 药剂与工艺 •

银杏叶片体外溶出度与空间分布均匀度评价及关联辨识研究

王 静¹, 吴志生^{1,2}, 李明爽¹, 赵小军¹, 王恺怡¹, 何 晗¹, 林 玲^{1*}, 王逸飞^{3*}

1. 北京中医药大学中药学院, 北京 102488

2. 中药制药与新药开发教育部工程研究中心, 北京 102488

3. 北京中医药大学房山医院, 北京 102499

摘要: **目的** 建立银杏叶片体外溶出度与空间分布均匀度评价方法, 探究体外溶出行为对空间分布均匀度的影响, 实现银杏叶片质量控制。**方法** 首先, 采用《中国药典》2020 年版方法完成银杏叶片溶出度测定, 并基于模型依赖法对银杏叶片体外溶出特性进行评价; 其次, 通过对称参数图像分析法 (symmetry parameter image analysis, SPIA) 和均匀度百分比指数法 (percentage of homogeneity, H%) 对银杏叶片空间分布均匀度进行评价; 最后, 建立偏最小二乘 (partial least square, PLS) 和标准正则变换 (standardized normal variate, SVR) 模型对银杏叶片体外溶出度与活性药物成分 (active pharmaceutical ingredient, API) 空间分布均匀度进行关联辨识研究。**结果** 银杏叶片在 45 min 内完全溶出且累积溶出率大于 70%, 且不同批次溶出行为存在差异; 银杏叶片 API 空间分布均匀度范围为 64.09%~76.54%, 其中 5 个批次银杏叶片质量差异较大; 银杏叶片体外溶出度与 API 空间分布均匀度 PLS 和 SVR 模型 R^2 值分别为 0.111 0 和 0.254 0, 两者没有相关性。**结论** 所建方法可客观评价中药固体制剂的溶出度与空间分布均匀度, 实现银杏叶片与空间分布均匀度的关联辨识研究, 为银杏叶片制造过程质量控制及提升提供了方向。

关键词: 银杏叶片; 体外溶出度; 模型依赖法; 空间分布均匀度; 质量控制; 对称参数图像分析法; 均匀度百分比指数法; 偏最小二乘; 标准正则变换

中图分类号: R283.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2024)18-6144-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.18.005

Research on evaluation and correlation identification of *in vitro* dissolution and spatial distribution uniformity of *Ginkgo Folium* TabletsWANG Jing¹, WU Zhisheng^{1,2}, LI Mingshuang¹, ZHAO Xiaojun¹, WANG Kaiyi¹, HE Han¹, LIN Ling¹, WANG Yifei³

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

2. Engineering Research Center of Chinese Medicine Production and New Drug Development, Ministry of Education, Beijing 102488, China

3. Fangshan Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102499, China

Abstract: Objective To establish an evaluation method for the *in vitro* dissolution and spatial distribution uniformity of *Ginkgo Folium* Tablets (银杏叶片, GFT), explore the influence of *in vitro* dissolution behavior on spatial distribution uniformity, and achieve quality control of GFT. **Methods** Firstly, the dissolution rate of GFT was determined using the method specified in the 2020 edition of the *Chinese Pharmacopoeia*, and the *in vitro* dissolution characteristics of GFT were evaluated based on model-dependent methods.

收稿日期: 2024-03-20

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2022YFC3501902); 江西省重大科技研发专项 (20203ABC28W018); 国家自然科学基金项目 (82274110); 国家医学攻关产教融合创新平台——中药智能制造工程平台项目 (90010062820031); 中央高校基本科研业务费北京中医药大学揭榜挂帅项目 (2022-JYB-JBZR-019); 中央高校基本科研业务费北京中医药大学揭榜挂帅项目 (2022-JYB-JBZR-018)

作者简介: 王 静, 硕士研究生。E-mail: yongander@163.com

***通信作者:** 王逸飞, 主管中药师, 从事医疗机构中药制剂研发。E-mail: wenifread@163.com

林 玲, 博士研究生。E-mail: linling226@163.com

Secondly, the spatial distribution uniformity of GFT was evaluated using symmetry parameter image analysis (SPIA) and percentage of homogeneity (H%) methods. Finally, partial least square (PLS) and standardized normal variate (SVR) models were established to carry out correlation identification between the *in vitro* dissolution rate of GFT and the spatial distribution uniformity of active pharmaceutical ingredient (API). **Results** GFT completely dissolved within 45 min with a cumulative dissolution rate greater than 70%, and there were differences in dissolution behavior among different batches. The API spatial distribution uniformity in GFT ranged from 64.09% to 76.54%, and five batches showed significant differences in quality. The R^2 values of PLS and SVR models for the *in vitro* dissolution rate and spatial distribution uniformity of API in GFT were 0.111 0 and 0.254 0, indicating a lack of correlation between the two parameters. **Conclusion** The established method can objectively evaluate the dissolution rate and spatial distribution uniformity of traditional Chinese medicine solid preparations and realize the correlation identification of GFT and spatial distribution uniformity, providing direction for quality control and improvement of GFT manufacturing process.

Key words: *Ginkgo Folium* Tablets; *in vitro* dissolution rate; model dependency method; spatial distribution uniformity; quality control; symmetry parameter image analysis; percentage of homogeneity; partial least square; standardized normal variate

中药制造工业是我国医药行业拥有自主知识产权的民族产业, 中药质量是中药制造的核心内容^[1-3]。中药固体制剂是中药制剂中应用最广泛的制剂, 其质量受多种因素影响^[4]。中药固体制剂体外溶出度与质量密切相关, 溶出度大小决定了药物在体内的吸收速度和程度, 反映药物在体内的生物利用度和临床效果, 对药物的有效性和安全性起着至关重要的作用^[5-7]。

空间分布均匀度是固体制剂中活性药物成分分布状态的重要指标, 是质量控制关键指标之一, 国内报道中中药贵细药的空间分布均匀度影响同仁牛黄清心丸过程控制混合均匀, 进而影响制剂的生物利用度^[8-9]。当活性药物成分在制剂中分布均匀时, 药物在体内释放的速度和程度会更加一致, 从而保证了药物在体内的稳定吸收和生物利用度^[10], 对中药质量控制具有重要意义。由此可见, 体外溶出度和活性药物成分(active pharmaceutical ingredient, API) 空间分布均匀度为固体制剂的关键质量属性(critical quality attributes, CQAs), 可作为中药质量评价与控制的评价指标, 且均与生物利用度相关, 共同影响药物的有效性和安全性, 然而目前研究多集中于中药制剂体外溶出特征研究或快速评价空间分布均匀度^[11-13], 缺乏两者之间的关联性研究^[14]。课题组前期基于混合调谐匹配滤波法(mixture tuned matched filtering, MTMF) 构建了中药大品种银杏叶片高光谱图像, 实现了银杏叶片 API 的测定^[15], 但未对银杏叶片体外溶出度进行进一步评价。

溶出曲线由不同取样时间的累积溶出率构成, 模型依赖法作为一种常用的比较同类制剂溶出特性的方法, 可以有效评价溶出行为^[16]。而基于固体制剂化学成像图常用评价方法对称参数图像分析法

(symetry parameter image analysis, SPIA) 和均匀度百分比指数法(percentage of homogeneity, H%) 适用于空间分布均匀度评价^[17]。因此, 本研究以真实生产世界银杏叶片为研究载体, 开展银杏叶片体外溶出度评价与 API 空间分布均匀度评价及两者关联辨识研究, 为银杏叶片制造过程质量控制及提升提供方向, 并丰富基于体外溶出度和空间分布均匀度关联的中药制造质量控制研究。

1 仪器与材料

1.1 仪器

SQP 型电子天平, 塞多利斯科学仪器(北京)有限公司; RC806D 型溶出度试验仪, 天津市天大天发科技有限公司; T6 型新世纪紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; KQ5200DE 型数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司。

1.2 材料

亚硝酸钠、氢氧化钠、盐酸(质量分数 36%~38%, 批号 20170618), 分析纯, 由北京化工厂提供; 硝酸铝-九水合物, 分析纯, 上海麦克林生化科技有限公司; 蒸馏水, 屈臣氏集团香港有限公司; 色谱纯甲醇, 批号 R142034, 质量分数 $\geq 99.99\%$, 由北京迪科马科技有限公司提供; C₁₈ 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5.0 μ m), 由美国沃特世公司提供。

对照品槲皮素(批号 ST00230220, 质量分数 $\geq 98.0\%$)、异鼠李素(批号 RS03201020, 质量分数 $\geq 98.0\%$)、白果内酯(批号 ST01120120, 质量分数 $\geq 98.0\%$)、山柰酚(批号 ST00450120, 质量分数 $\geq 97.6\%$)、芦丁(批号 RS03951120, 质量分数 $\geq 98.0\%$)、银杏内酯 A(批号 RS03221020, 质量分数 $\geq 98.0\%$)、银杏内酯 B(批号 ST03230120, 质量分数 $\geq 98.0\%$)、银杏内酯 C(批号 ST03240120, 质量分数 $\geq 98.0\%$),

上海诗丹德标准技术服务有限公司。

18 批银杏叶片 (未包衣片), 每批 6 片, 均收集于生产真实世界 (扬子江药业集团有限公司), 生产批号分别为 19081241、19082041、19082941、19090441、19091541、19092741、19092842、19100641、19101042、19102841、19101542、19102241、19103142、1912141、19112541、19120241、19120342、19120542, 分别编号 S1~S18。

2 方法与结果

2.1 银杏叶片 API 含量测定

参照《中国药典》2020 年版制剂通则的银杏叶片规定项, 以总黄酮醇苷和总萜类内酯为银杏叶片的含量测定指标, 采用 HPLC 法测定两者含量, 作为银杏叶片的 API 含量。

2.1.1 总黄酮醇苷含量测定

(1) 样品溶液制备: 取 1 片银杏叶片, 将药片研磨呈细粉状后, 精确称取约 175 mg (约半片量) 粉末, 与 25 mL 甲醇-25%盐酸水溶液 (4:1) 在锥形瓶中混合, 进一步置于水浴中加热回流 30 min, 快速冷却后于 50 mL 量瓶中加入甲醇定容。采用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得样品溶液。

(2) 色谱条件: C_{18} 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5.0 μm , 美国 Waters 公司); 流动相为 0.4% 磷酸水溶液-甲醇 (50:50); 体积流量设置为 1 mL/min; 采用 DAD 检测器, 检测波长为 370 nm; 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$; 进样量 10 μL 。

(3) 测定法: 基于不同质量浓度的混合对照品溶液中 3 种成分的峰面积, 分别绘制槲皮素、山柰酚和异鼠李素标准曲线。将测得的样品峰面积代入 3 个标准曲线, 即得相应成分的含量。根据《中国药典》2020 年版, 银杏叶片中总黄酮醇苷含量计算公式为总黄酮醇苷含量=(槲皮素含量+山柰酚含量+异鼠李素含量) $\times$ 2.51。

图 1 为银杏叶片中总黄酮醇苷的色谱图, 样品溶液与对照品溶液的保留时间基本保持一致。分别将各质量浓度对照品峰面积和质量浓度取对数, 计算得标准曲线, 则槲皮素的线性方程为 $Y=1.1021X+10.334$ ($R^2=0.9992$), 线性范围 8.8~88.0 μg ; 山柰酚的线性方程为 $Y=1.1010X+10.521$ ($R^2=0.9991$), 线性范围 9.8~98.0 μg ; 异鼠李素的线性方程为 $Y=1.1031X+10.488$ ($R^2=0.9992$), 线性范围 4.3~43.0 μg ; 3 种成分 HPLC 测定法的精密度、重复性、稳定性均小于 2%, 这表明所优化的色

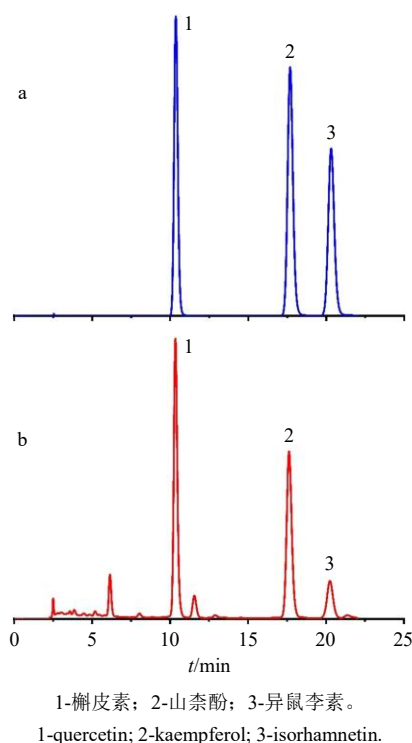


图 1 总黄酮醇苷对照品 (a) 和银杏叶片样品 (b) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of total flavonol glycosides reference substances (a) and *Ginkgo Folium* Tablets sample (b)

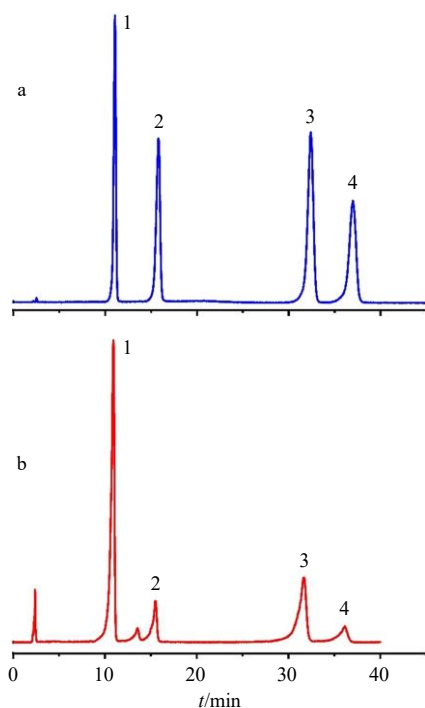
谱条件满足系统适应性条件, 方法稳定可靠。

2.1.2 总萜类内酯含量测定

(1) 色谱条件: C_{18} 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5.0 μm , 美国 Dikma 公司); 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$; 流动相为 0.4% 甲醇水溶液-水 (30:70); 体积流量 1 mL/min; 采用 ELSD 检测器, 漂移管温度 105 $^{\circ}\text{C}$; 氮气体积流量 1.6 L/min。

(2) 测定法: 精密吸取 5、20 μL 对照品溶液, 样品溶液 20 μL , 注入液相色谱仪, 采用外标两点法分别计算白果内酯、银杏内酯 A、银杏内酯 B 和银杏内酯 C 含量。

图 2 为总萜类内酯的色谱图。总黄酮醇苷与萜类内酯均为银杏叶片的 API, 然而, 体外溶出每个时刻的取样量有限, 总萜类内酯无紫外吸收, 且采用的 HPLC 蒸发光检测模式测定的定量限较高, 无法实现总黄酮醇苷与萜类内酯含量的同时测定。因此本研究在相应批次随机抽取银杏叶片 10 片, 采用 HPLC 法测定总黄酮醇苷和萜类内酯含量并计算两者的比值, 结合上述 HPLC 法测定的银杏叶片中总黄酮醇苷含量的测定结果, 推算出银杏叶片中总萜类内酯的含量。此外, 每个批次分别精密称取银



1-白果内酯; 2-银杏内酯 C; 3-银杏内酯 A; 4-银杏内酯 B。
1-bilobalide; 2-ginkgolide C; 3-ginkgolide A; 4-ginkgolide B.

图 2 总萜类内酯对照品 (a) 和银杏叶片样品 (b) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of total terpene lactones reference substances (a) and *Ginkgo Folium* Tablets sample (b)

杏叶片粉末约 175 mg, 用于测定总黄酮醇苷, 精密称取约 1 400 mg, 用于测定总萜类内酯含量。

2.1.3 含量指标测定结果 18 个批次银杏叶片中总黄酮醇苷和萜类内酯的含量测定结果见表 1, 结果显示, 18 批银杏叶片中总黄酮醇苷的含量均大于 19.6 mg, 萜类内酯的含量均大于 4.8 mg, 均符合《中国药典》2020 年版中对银杏叶片的含量测定要求, 总黄酮醇苷与总萜类内酯含量比值为 1.74~4.33。

2.2 银杏叶片体外溶出特性评价

2.2.1 银杏叶片溶出度分析方法建立 随机挑选 10 个批次 25 个样品, 分别为 S2-3 (第 2 批第 3 个样品, 以下编号含义相同)、S4-1、S4-4、S4-6、S7-1、S7-2、S7-3、S7-4、S7-5、S7-6、S9-5、S11-4、S12-3、S15-1、S15-2、S16-1、S16-2、S17-1、S17-2、S17-3、S17-4、S17-5、S17-6、S18-1、S18-4。将以上 25 个样品按照溶出度测定法《中国药典》2020 年版四部通用技术要求 0931 溶出度与释放度测定法第 2 法) 进行银杏叶片体外溶出度测定, 以总黄酮醇苷和总萜类内酯作为银杏叶片体外溶出度测定的指标。按照《中国药典》2020 年版中紫外分光光

表 1 18 批银杏叶片中总黄酮醇苷和总萜类内酯含量

Table 1 Contents of flavonoid glycosides and terpene lactones in 18 batches of *Ginkgo Folium* Tablets

批次	总黄酮醇苷/ mg	总萜类内酯/ mg	总黄酮醇苷含量与总 萜类内酯含量比值
S1	21.50	8.24	2.61
S2	21.50	9.34	2.30
S3	21.10	8.45	2.50
S4	21.10	8.42	2.51
S5	20.80	5.50	3.78
S6	21.50	6.33	3.40
S7	21.40	7.73	2.77
S8	22.30	6.33	3.52
S9	22.80	5.89	3.87
S10	22.60	5.22	4.33
S11	22.10	6.38	3.46
S12	21.50	6.59	3.26
S13	21.00	6.21	3.38
S14	21.80	6.64	3.28
S15	22.40	6.26	3.58
S16	21.40	6.04	3.54
S17	21.30	12.27	1.74
S18	21.40	8.80	2.43

度法测定总黄酮的规定进行测定, 建立标准曲线, 并进行精密度和稳定性试验。每个样品平行测定 3 次, 取平均值作为最终的吸光度测定值。根据不同批次样品 HPLC 的含量测定结果, 估算每片银杏叶片样品中总黄酮醇苷和总萜类内酯的含量, 进一步计算每片银杏叶片样品在 45 min 内的累积溶出率。

由不同质量浓度芦丁对照品溶液测定得总黄酮醇苷标准曲线的线性方程为 $Y=10.051X+0.0301$, $R^2=0.999$, 线性范围 4.012~32.096 μg , 精密度试验测定得对照品溶液吸光度的 RSD 值为 1.35%, 样品溶液吸光度的 RSD 值为 2.12%, 均符合要求; 稳定性试验测定结果显示, 0~4 h 测定的样品溶液吸光度值 RSD 值为 1.92%, 说明银杏叶片溶液在 4 h 内较为稳定。图 3 为 25 个银杏叶片的体外溶出度测定结果, 所有样品最大累积溶出率分布范围为 73.11%~135.31%, 均符合《中国药典》2020 年版中普通片剂体外溶出度测定中累积溶出率应大于 70% 的规定。

2.2.2 基于模型依赖法的溶出度数据分析 药物的体外溶出度是一个复杂多变的过程, 模型依赖法被

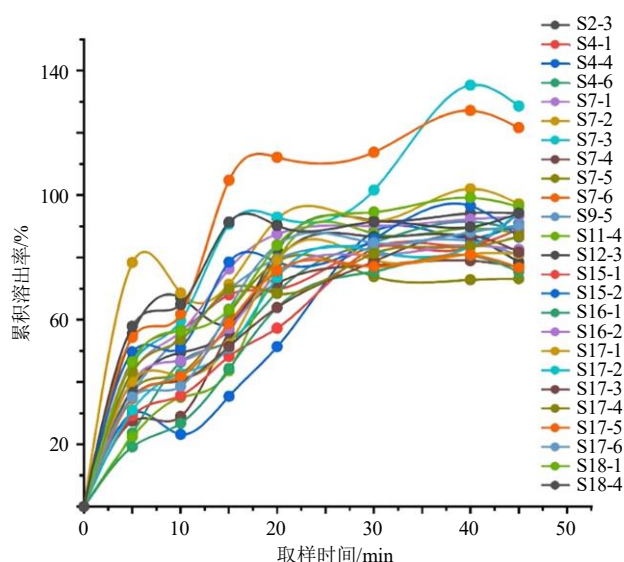


图 3 25 个银杏叶片样品体外溶出度测定结果

Fig. 3 Determination results of *in vitro* dissolution rate of 25 *Ginkgo Folium* Tablets samples

众多研究人员证实,是研究溶出度数据的重要方法之一^[18-20]。基于本研究数据特点和《中国药典》2020 年版关于溶出度的相关规定,本研究分别采用零级动力学模型、一级动力学模型、通口模型及威布尔模型对溶出度数据进行溶出曲线拟合,具体拟合公式见式(1)~(3)。

$$\text{零级拟合方程: } Q_t = Q_0 + K_0 t \quad (1)$$

$$\text{一级拟合方程: } \ln Q_t = \ln Q_0 - K_1 t \quad (2)$$

$$\text{通口模型拟合方程: } Q_t = K_H t^{1/2} \quad (3)$$

t 为溶出度实验中各取样时间点; Q_t 为对应 t 的药物溶出度; Q_0 为片剂初始溶出的药物含量; K_0 、 K_1 和 K_H 均为溶出速率常数, K_0 适用于零级释放药物,表示恒定的释放速率; K_1 适用于一阶释放药物,表示随浓度变化的释放速率; K_H 为通口模型拟合速率常数,适用于多种控释剂型的释药研究。

威布尔模型拟合溶出数据的方程,见公式(4)和(5)。

$$f_t = 1 - e^{-(t-T_0)^m/t_0}, t \geq T \quad (4)$$

$$\ln \{ \ln [1/(1-f_t)] \} = m \ln(t-T) - \ln t_0 \quad (5)$$

t 为溶出度测定时的取样时间点, f_t 为 t 时间内药物的累积溶出百分率, t_0 表示时间尺度, T 在一般固体制剂的体外溶出度研究中等于 0 或为正数, m 为决定所拟合曲线的形状。

通过以上拟合出的威布尔模型,可以进一步计算得到药物溶出过程中的 T_{50} (药物累积溶出百分率达 50% 时对应的溶出时间), T_d (药物累积溶出百分率达 63.2% 时对应的溶出时间), AUC (溶出曲线下面积) 等关键指标。

银杏叶片样品体外溶出度的零级方程拟合结果如表 2 所示,当拟合结果 R^2 值大于 0.95 时,认为该样品的体外溶出度曲线拟合结果较好, S4-4 号的样品拟合结果的 R^2 最高,达到 0.986,其体外溶出效率随溶出时间的增长保持稳定,近似于控释制剂的溶出度曲线。

银杏叶片样品体外溶出曲线的一级动力学方程拟合结果如表 3 所示。同样地当拟合结果 R^2 值大于 0.95 时,表示相应样品的溶出结果符合一级方程特

表 2 零级方程拟合结果

Table 2 Fitting results of zero-order equation

样品	Q_0	K_0	R^2	样品	Q_0	K_0	R^2
S2-3	14.044	0.268	0.839	S15-1	6.492	0.430	0.943
S4-1	3.567	0.470	0.894	S15-2	13.923	0.280	0.748
S4-4	11.948	0.264	0.986	S16-1	5.391	0.421	0.843
S4-6	7.127	0.398	0.885	S16-2	11.275	0.306	0.847
S7-1	12.781	0.287	0.746	S17-1	10.428	0.299	0.763
S7-2	17.414	0.187	0.731	S17-2	8.123	0.402	0.902
S7-3	11.403	0.524	0.913	S17-3	8.519	0.353	0.918
S7-4	7.323	0.332	0.753	S17-4	12.405	0.267	0.872
S7-5	10.975	0.212	0.589	S17-5	10.340	0.287	0.743
S7-6	15.377	0.418	0.735	S17-6	9.875	0.370	0.773
S9-5	11.699	0.249	0.676	S18-1	12.056	0.346	0.874
S11-4	6.180	0.454	0.814	S18-4	17.137	0.193	0.570
S12-3	10.596	0.273	0.719				

表 3 一级方程拟合结果

Table 3 Fitting results of first-order equation

样品	Q_0	K_1	R^2	样品	Q_0	K_1	R^2
S2-3	91.411	0.124	0.684	S15-1	102.264	0.046	0.961
S4-1	141.516	0.024	0.897	S15-2	/	/	/
S4-4	86.459	0.113	0.853	S16-1	92.682	0.047	0.948
S4-6	99.487	0.058	0.892	S16-2	84.756	0.092	0.924
S7-1	94.257	0.108	0.970	S17-1	84.100	0.087	0.847
S7-2	90.093	0.274	0.158	S17-2	97.185	0.060	0.956
S7-3	135.746	0.063	0.926	S17-3	89.322	0.066	0.938
S7-4	85.494	0.067	0.910	S17-4	83.736	0.114	0.923
S7-5	75.871	0.115	0.868	S17-5	81.563	0.092	0.933
S7-6	126.176	0.095	0.914	S17-6	94.627	0.075	0.919
S9-5	85.313	0.111	0.981	S18-1	99.533	0.088	0.915
S11-4	104.902	0.049	0.919	S18-4	92.450	0.168	0.860
S12-3	85.989	0.095	0.900				

“/” 不符合一级方程拟合。

“/” not fitting the first-order equation.

点, 累积溶出百分率的自然对数值与溶出速率呈负相关。S7-1、S9-5、S15-1、S17-2 号样品的拟合 R^2 值大于 0.95, 除 S15-2 号样品不符合一级方程拟合, 其余样品拟合 R^2 值均大于 0.85, 表明大多数样品的溶出行为符合一级动力学方程。《中国药典》2020 年版第四部 9013 中缓释、控释和迟释制剂指导原则指出, 缓释制剂的溶出数据可用一级方程和通口方程等拟合, 因此 S7-1、S9-5、S15-1、S17-2 号银杏叶片体外溶出行为接近缓释制剂体外溶出特点。

银杏叶片体外溶出曲线的通口模型拟合结果如表 4 所示。当拟合结果 R^2 值大于 0.95 时, 样品的溶出数据可用通口模型拟合, 累积溶出百分率与溶出速率的平方根呈线性关系。S4-6、S7-3、S15-1、S17-2、S17-3 号样品拟合 R^2 值大于 0.95, 表明以上样品的溶出行为符合通口模型。S15-1 和 S17-2 号银杏叶片体外溶出数据拟合既符合一级动力学方程也符合通口模型拟合, 进一步根据 R^2 值可知, 两样品的溶出行为更加符合通口模型。已知通口模型与一级方程均可拟合缓释制剂溶出数据, 因此 S4-6、S7-3、S15-1、S17-2、S17-3 号样品体外溶出行为接近缓释制剂。

银杏叶片体外溶出曲线的威布尔模型拟合结果如表 5 所示, S4-6、S7-3、S9-5、S15-2、S17-2 和 S17-4 号银杏叶片体外溶出数据可用威布尔模型拟合, 其符合迟释制剂的溶出特点。图 4 为上述银杏

叶片威布尔模型拟合溶出度曲线, 各样品的溶出曲线趋势大致相同, 但也存在一定差异性。S7-3 号样品的 T_{50} 值最小, 对应的 T_d 值也越小; S17-2 号样品

表 4 通口模型拟合结果

Table 4 Fitting results of Higuchi model

样品	K_H	R^2	样品	K_H	R^2	样品	K_H	R^2
S2-3	16.141	0.854	S7-6	21.009	0.901	S17-2	14.188	0.975
S4-1	13.001	0.890	S9-5	14.665	0.869	S17-3	13.464	0.976
S4-4	15.016	0.910	S11-4	14.032	0.919	S17-4	14.530	0.903
S4-6	14.255	0.974	S12-3	14.315	0.892	S17-5	13.470	0.908
S7-1	16.134	0.890	S15-1	13.359	0.977	S17-6	14.837	0.927
S7-2	17.461	0.677	S15-2	15.686	0.861	S18-1	16.324	0.942
S7-3	20.197	0.974	S16-1	12.203	0.933	S18-4	16.921	0.717
S7-4	12.910	0.917	S16-2	14.046	0.932			
S7-5	13.119	0.821	S17-1	13.750	0.903			

表 5 威布尔函数结果

Table 5 Weibull function results

样品	m	T	t_0	R^2	T_{50}/min	T_d/min
S4-6	0.920	1.681	0.047	0.988	12.608	17.412
S7-3	0.605	0.463	0.001	0.948	6.001	9.124
S9-5	0.833	5.490	0.021	0.995	8.804	12.648
S15-2	0.903	8.648	0.009	0.898	6.361	11.687
S17-2	0.901	3.022	0.025	0.967	12.728	18.053
S17-4	0.902	0.926	0.068	0.973	7.523	13.889

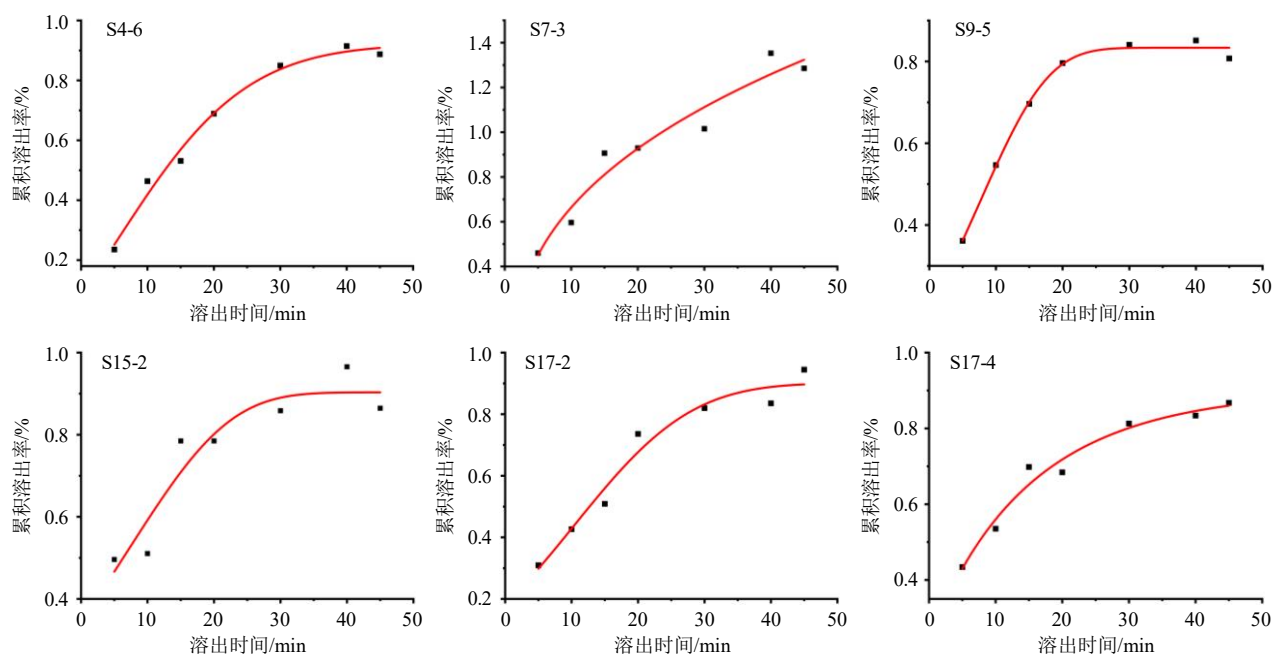


图 4 银杏叶片的威布尔模型拟合溶出度曲线

Fig. 4 Weibull model fitting dissolution curves of *Ginkgo Folium* Tablets

的 T_{50} 值最大, 对应的 T_d 值也越大。 T_{50} 越小, 说明银杏叶片溶解曲线前段的溶解速率越快, 对应的 T_d 值也就越小, 则所有样品的前段溶出速率由大到小的排列顺序为 $S7-3 > S15-2 > S17-4 > S9-5 > S4-6 > S17-2$ 。 T_d 与 T_{50} 的差值代表 50%~63.2% 阶段内的溶出速率大小, 则所有样品的中段溶出速率由大到小的排序为 $S7-3 > S9-5 > S4-6 > S17-2 > S15-2 > S17-4$ 。 $S7-3$ 号样品的 T_d 与 T_{50} 差值最小, 与其前段溶出速率保持一致, 溶出速率相对稳定, $S15-2$ 号和 $S17-4$ 号样品的 T_d 与 T_{50} 差值大于其余样品, 且与前段溶出速率不符, 说明中段溶出速率较小, 整体溶出速率变化较大。

以上模型依赖法研究结果显示, 零级动力学模型、一级动力学方程、通口模型和威布尔模型拟合的样品数分别为 1、4、5 和 6 个。通过威布尔模型对银杏叶片体外溶出度的评价得到银杏叶片样品虽符合药典积溶出率大于 70% 的规定, 但体外溶出速率存在差异, 即体外溶出行为存在差异。然而, 本研究中采用的银杏叶片体外溶出度测定方法仅从化学性质层面表征其溶出规律, 提供的信息数量有限且不具备连续性, 无法展现溶出过程的结构性变化, 如片剂不同部位的溶出速率和不同粒径颗粒的溶出速率等。此外, 银杏叶片自身的特征也会对研究产生一定的影响, 如原材料质量和加工工艺的差异。因此, 引入空间分布均匀度进一步对银杏叶片差异批次筛选, 为银杏叶片中药质量控制及评价提供新方向。

2.3 基于 SPIA 法和 H% 法的银杏叶片 API 空间分布均匀度评价

2.3.1 基于 SPIA 法的银杏叶片 API 空间分布均匀度评价

首先, 基于课题组前期关于银杏片的研究构建的银杏叶片样品 API 含量的直方图^[15], 设置直方图范围为 $\bar{x} \pm 3s$, 得到均值、峰度、偏度和标准偏差等直方图特征值; 其次, 将不同样本的直方图参数均作为独立的元素, 对所有元素进行均值中心化和方差标准化处理; 进一步, 对标准化后的元素进行主成分分析 (principal component analysis, PCA) 分析, 结果见图 5, 前 2 个表征样本 87% 的信息, 样品 $S13-2$ 、 $S1-5$ 、 $S2-6$ 、 $S14-5$ 和 $S15-2$ 被判定为离群值。剔除以上离群值, 基于常态几率图设置 90% 的 Hotelling T^2 为置信区间, 共有 5 个批次的银杏叶片的质量有差异, 结果如图 6 所示。

2.3.2 基于 H% 法的银杏叶片 API 空间分布均匀度

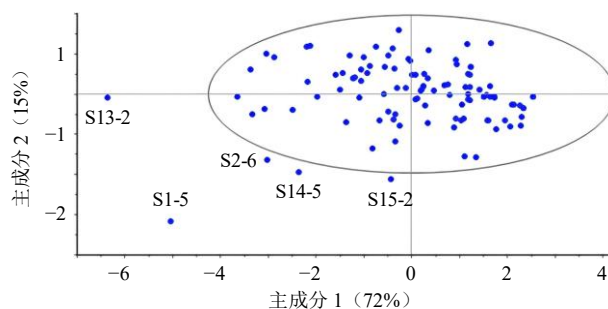


图 5 银杏叶片样品直方图特征值 PCA 结果

Fig. 5 PCA results of histogram eigenvalues of *Ginkgo Folium Tablets* samples

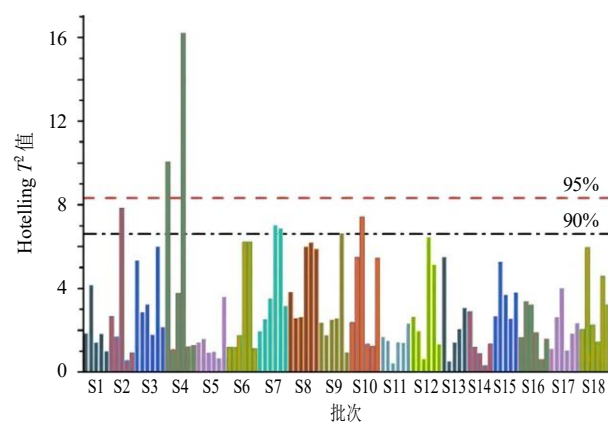


图 6 不同银杏叶片样品的 Hotelling T^2 分析结果

Fig. 6 Hotelling T^2 analysis results of different *Ginkgo Folium Tablets* samples

评价 课题组前期通过近红外高光谱化学成像法构建了组分空间分布图, 首先根据图像的大小设置像元块的边长大小为除 1 以外所有的公约数, 采用不同边长均匀地将整个图像划分成若干不重叠的像元块 (宏像素); 其次, 通过公式 (6)~(8) 计算不同边长宏像素划分状态下图像中各像元块强度均值和标准偏差, 以及整个图像中所有像元块强度值的标准偏差平均值, 将原空间分布图进行随机化分布处理, 生成完全分散图, 模拟片剂中成分完全分布均匀时的状态, 采用相同方法分割图像及计算标准偏差值; 最后, 通过公式 (9)、(10), 计算不同大小宏像素状态下样品空间分布图与随机分布图的标准偏差之比, 获得所有尺寸宏像素尺寸对应的银杏叶片空间分布均匀度值 H%。

$$\bar{x} = \sum_{i=1}^n x_i / n \quad (6)$$

$$S_w = [1/(n-1)]^{1/2} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \quad (7)$$

$$\bar{M}_{sw} = \sum_{i=1}^N S_{wi} / N \quad (8)$$

$$M_p = \bar{M}_{SW} / \bar{M}_{rad} \quad (9)$$

$$H\% = (M_p) \times 100 \quad (10)$$

空间分布均匀度曲线如图 7 所示, 分别拟合了不同像元块尺寸下的真实分布图、随机分布图和非均匀分布图的标准偏差趋势曲线。分别求得 3 种分布状态下的标准偏差曲线下面积, 进一步计算原始化学成像图的均匀度曲线下面积与随机分布图均匀度曲线下面积的比值, 即得 H% 值。当样品分布图的分布均匀度曲线越接近随机化分布曲线时, H% 值越接近 100%, 说明目标成分的空间分布越接近于完全均匀分布状态。25 个样品 API 空间分布均匀度的范围为 64.09%~76.54%, 其中第 16 批银杏叶片的 H% 均匀值最小, API 空间分布均匀程度最低, 第 11 批的 H% 平均值最大, API 空间分布均匀程度最高。

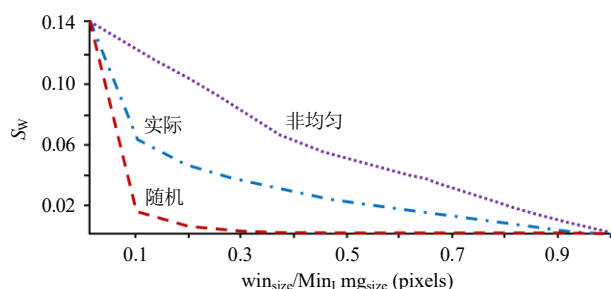


图 7 空间分布均匀度曲线图

Fig. 7 Space distribution uniformity curve

本研究采用 SPIA 法和 H% 法分别测定出了 18 个批次中的异常样本, 然而 2 种方法测定的结果并不完全相符, 这是由于 SPIA 法和 H% 法的评价方法差异较大, SPIA 法侧重于批次间样本的差异比较, 基于直方图特征值, 直接筛选出差异大的样本, 而 H% 法则侧重于单个样本的均匀度测定, 判断样本间的差异性, 将这 2 种方法用于银杏叶片 API 空间分布均匀度判断, 分别实现了批内和批间的整体质量评价。而银杏叶片来源于生产真实世界, 基于原料把控和稳定生产工艺, API 空间分布均匀度差异较小。后续将进一步基于 H% 法 API 空间分布均匀度评价与体外溶出度进行关联辨识研究。

2.4 银杏叶片体外溶出度与 API 空间分布均匀度关联辨识研究

为探究银杏叶片 API 空间分布均匀度与其体外溶出度的内在关联性, 以 H% 法评价的银杏叶片 API 空间分布均匀度数据作为自变量 (表 6), 以银杏叶片体外溶出的累积溶出率为因变量, 建立两者的 PLS 关联模型, 实现银杏叶片体外溶出度与 API 空

间分布均匀度的关联辨识研究。首先, 对自变量进行归一化, 进一步选择 LVs 值为 3, 采用留一交叉验证法建立 PLS 模型。模型的结果显示, R^2_{cal} 为 0.111 0, 表明该模型建立失败, 银杏叶片的 API 空间分布均匀度与其体外溶出行为可能不存在线性关联。进一步, 采用 SVR 模型对银杏叶体外溶出度与 API 空间分布均匀度的非线性关系展开研究。首先采用均值中心化法对 H% 法测定的银杏叶片 API 空间分布均匀度进行归一化处理, 以归一化后的空间分布均匀度数值为自变量, 以银杏叶片体外溶出的累积溶出率为因变量, 建立 SVR 模型。结果显示, SVR 模型的 R^2_{cal} 为 0.254 0, R^2_{val} 为 0.037 0, 校正均方根误差 (root mean square error of prediction, RMSEP) 为 12.173 6, 预测均方根误差 (root mean square error of calibration, RMSEC) 为 13.193 7, 表明银杏叶片的体外溶出度与 API 空间分布均匀度没有关联性。银杏叶片 API 的空间分布均匀度和体外溶出行为可能受到多种因素的共同影响, 导致这种关系变得复杂且难以用简单的模型来描述。采用 PLS 模型和 SVR 模型对银杏叶片 API 空间分布均匀度和体外溶出度进行仅为初步关联分析。综上, 对银杏叶片体外溶出度与 API 空间分布均匀度进行关联辨识研究, 发现两者没有相关性, 表明银杏叶片的体外溶出度不会影响 API 空间分布均匀度。

3 讨论

本研究以中药大品种银杏叶片为研究载体, 完成了银杏叶片溶出度的测定, 判断出了 25 个样品在 45 min 内的累积溶出百分率大于 70%, 符合《中国药典》2020 年版对普通片剂体外溶出度测定中累积溶出率的规定。此外, 基于零级动力学模型、一级动力学方程、通口模型和威布尔模型对银杏叶片体外溶出特性进行评价, 发现了银杏叶片的体外溶出行为是接近缓释制剂的部分溶出趋势, 且 25 个银杏叶片样品的溶出行为存在差异。进一步对空间分布均匀度评价, 基于前期构建的银杏叶片化学成像图, 采用 SPIA 法评价筛选出了质量差异较大的 5 个批次样品, 而 H% 法判断出样品 API 空间分布均匀度的范围为 64.09%~76.54%。

最后, 将银杏叶片的体外溶出度与 API 空间分布均匀度进行关联辨识研究, 基于 PLS 和 SVR 模型发现了银杏叶片体外溶出度与 API 空间分布均匀度没有相关性, 溶出度与空间分布均匀度之间无关联且不相互影响, 均为固体制剂的关键属性。然而,

表6银杏叶片API空间分布均匀度与溶出度数据

Table 6 Data of API spatial distribution uniformity and dissolution rate of Ginkgo Folium Tablets

样品	体外溶出度(累积溶出百分率)/%	体外溶出拟合模型	SPIA 法分布均匀度评价	%H 法分布均匀度评价/%
S2-3	94.18	/	异常样品	71.09
S4-1	94.30	/	异常样品	69.77
S4-4	86.28	零级方程	异常样品	69.35
S4-6	91.46	通口模型/威布尔模型	正常样品	71.03
S7-1	92.28	一级方程	正常样品	67.61
S7-2	97.21	/	正常样品	70.67
S7-3	135.31	通口模型/威布尔模型	正常样品	72.51
S7-4	78.96	/	正常样品	67.92
S7-5	73.11	/	异常样品	71.03
S7-6	127.11	/	异常样品	72.46
S9-5	85.13	一级方程/威布尔模型	正常样品	71.44
S11-4	89.31	/	正常样品	72.14
S12-3	86.27	/	正常样品	70.13
S15-1	89.16	一级方程/通口模型	正常样品	68.81
S15-2	96.54	威布尔模型	正常样品	68.47
S16-1	80.61	/	正常样品	65.25
S16-2	83.73	/	正常样品	60.95
S17-1	81.11	/	正常样品	67.07
S17-2	94.47	一级模型/通口模型/威布尔模型	正常样品	72.49
S17-3	87.09	通口模型	正常样品	70.32
S17-4	86.75	威布尔模型	正常样品	64.79
S17-5	80.75	/	正常样品	69.38
S17-6	90.22	/	正常样品	73.04
S18-1	99.18	/	正常样品	64.81
S18-4	94.25	/	正常样品	68.60

“/”表示没有体外溶出拟合模型。
“/” no *in vitro* dissolution fitting model.

本研究中采用基础的体外溶出度测定方法，获取的数据量十分有限，仅能从化学含量上判断大致的溶出行为，无法实现对溶出过程中固体制剂表明的结构性变化进行表征，从而较难观测到API不同空间分布状态下的溶出行为。

综上，体外溶出度和空间分布均匀度可作为中药固体制剂质量控制与评价指标，且两者之间没有关联性。本研究为中药制造过程固体制剂溶出度与空间分布均匀度研究提供了新思路，也为银杏叶片制造质量控制及提升提供了参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 吴志生, 乔延江, 肖伟, 等. 论中药制造测量学之 4 个

关键工程技术难题 [J]. 中国中药杂志, 2023, 48(11): 2841-2855.

[2] 吴志生, 乔延江. 中药制造测量学 [M]. 北京: 科学出版社, 2022: 1-9.

[3] 吴志生, 乔延江. 中药制造信息学 [M]. 北京: 科学出版社, 2024: 9-13.

[4] 关欢欢, 白雷, 袁冬平, 等. 中药制造全过程的品质传递控制与一致性评价研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(5): 1728-1737.

[5] 江茂源, 林夏, 杨莎莎, 等. 基于溶出特性评价附子理中丸的剂型特征 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(24): 15-22.

[6] 李文栋, 朱卫丰, 李哲, 等. 中药固体制剂多成分溶出研究方法进展 [J]. 中成药, 2020, 42(7): 1842-1847.

- [7] Tsume Y, Mudie D M, Langguth P, *et al.* The Biopharmaceutics classification system: Subclasses for *in vivo* predictive dissolution (IPD) methodology and IVIVC [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2014, 57: 152-163.
- [8] 张芳语, 林玲, 曾敬其, 等. 中药大品种制造关键质量属性表征: 空间分布均匀度质量属性的同仁牛黄清心丸贵细药混合过程控制可视化方法研究 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(7): 1585-1591.
- [9] 李杰, 杨军辉, 蒋志涛, 等. 厚朴酚固体分散体的制备及生物利用度研究 [J]. 中草药, 2019, 50(14): 3337-3344.
- [10] 蒋沅岐, 田成旺, 周钰通, 等. 双氢青蒿素固体分散体的制备及其生物利用度研究 [J]. 中草药, 2022, 53(4): 1013-1020.
- [11] 周璐薇. 基于近红外化学成像技术的固体制剂组分分布均匀度评价方法学研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2015.
- [12] 余飞. 基于药物晶型和辅料的盐酸小檗碱片体外溶出特征研究 [D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2020.
- [13] 赵阳. 枸橼酸莫沙必利制剂体外溶出度研究报告 [D]. 延吉: 延边大学, 2021.
- [14] 张婧, 黎翩, 孙阳恩, 等. 中药固体制剂溶出行为研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2019, 28(20): 2498-2501.
- [15] 林玲, 张芳语, 张静, 等. 中药大品种制造关键质量属性表征: 空间分布均匀度属性的银杏叶片质量控制可视化方法研究 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(7): 1616-1621.
- [16] 马莉, 祝传勇, 何小琳, 等. 溶出曲线的常见评价方法及优劣性探讨 [J]. 中国新药杂志, 2021, 30(22): 2091-2097.
- [17] Puchert T, Lochmann D, Menezes J C, *et al.* A multivariate approach for the statistical evaluation of near-infrared chemical images using symmetry parameter image analysis (SPIA) [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2011, 78(1): 117-124.
- [18] Jayachandran P, Ilango S, Suseela V, *et al.* Green synthesized silver nanoparticle-loaded liposome-based nanoarchitectonics for cancer management: *In vitro* drug release analysis [J]. *Biomedicines*, 2023, 11(1): 217.
- [19] 王玺, 贺木兰, 何成峙, 等. 基于色谱指纹图谱与溶出性质的血府逐瘀胶囊批次一致性评价研究 [J]. 中草药, 2024, 55(8): 2571-2578.
- [20] Wu I Y, Bala S, Skalko-Basnet N, *et al.* Interpreting non-linear drug diffusion data: Utilizing Korsmeyer-Peppas model to study drug release from liposomes [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2019, 138: 105026.

[责任编辑 郑礼胜]