

丹参破壁饮片物理属性的质量评价

张前亮, 罗铮, 邓雯, 成金乐*

(中山市中智药业集团有限公司 中药破壁饮片国家地方联合工程研究中心,
国家中医药管理局中药破壁饮片技术与应用重点实验室, 广东中山 528437)

[摘要] 目的:建立丹参破壁饮片物理属性的质量评价方法。方法:建立丹参破壁饮片的粒径分布和比表面积测定方法并进行方法学考察。以15个物理指标[D_{90} (颗粒累积分布达90%时所对应的粒径),粒径分布范围,粒径分布宽度,松密度,振实密度,颗粒间空隙率,卡尔指数,比表面积,孔体积,休止角,平板角,豪斯纳比,明暗度 L^* ,红绿色度 a^* ,黄蓝色度 b^*]来表征丹参破壁饮片的质量属性和构建其物理指纹图谱。以相似度分析,聚类分析(CA),主成分分析(PCA)及正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)等多元统计分析方法对不同年份生产的11批丹参破壁饮片(S1~S11)进行质量评价,找出样品批间差异性指标。结果:丹参破壁饮片的粒径分布和比表面积测定方法稳定可行、重复性良好。10批大生产样品(S1~S3,S5~S11)的物理指纹图谱与对照图谱的相似度均 >0.85 ,但样品S4与对照图谱的相似度仅0.488;不同批次样品的物理属性指标有一定差异,其特征性差异指标分别为颗粒间空隙率、比表面积、孔体积、卡尔指数、粒径分布宽度、明暗度 L^* 和黄蓝色度 b^* 。结论:该方法可较为全面地评价丹参破壁饮片的物理质量属性,可反映药材本身物质基础差异或生产工艺对丹参破壁饮片成品物理性质的影响,从物理状态层面评价产品批间的质量一致性,为新型中药破壁饮片的质量控制研究提供新思路。

[关键词] 丹参破壁饮片; 物理属性; 粒径; 综合质量评价; 物理指纹图谱; 多元统计分析

[中图分类号] R22;R28;C37;R9;Q241 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)23-0145-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201154

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200313.1714.004.html>

[网络出版日期] 2020-3-14 10:19

Quality Evaluation of Physical Properties of Ultrafine Granular Powder of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*

ZHANG Qian-liang, LUO Zheng, DENG Wen, CHENG Jin-le*

(Key Laboratory of Technologies and Applications of Ultrafine Granular Powder of Herbal Medicine, National Administration of Traditional Chinese Medicine, National and Local Joint Engineering Research Center for Ultrafine Granular Powder of Herbal Medicine, Zhongshan Zhongzhi Pharmaceutical Group Co. Ltd., Zhongshan 528437, China)

[Abstract] **Objective:** Taking ultrafine granular powder of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* (UGPSMR) as the research object, to establish a method for evaluating its physical properties. **Method:** A method was established for measuring the particle size distribution and specific surface area of UGPSMR, and the methodological investigation was carried out. A total of 15 physical indicators [D_{90} (particle size value when the cumulative particle distribution reaches 90%), particle size distribution range, particle size distribution width, bulk density, tap density, intergranular porosity, Carr index, specific surface area, pore volume, angle of repose, tablet angle, Hausner ratio, black to white degree L^* , red to green degree a^* , yellow to blue degree b^*]

[收稿日期] 20200218(021)

[基金项目] 广东省省级科技计划项目(2018B020207008);广东省中药破壁饮片工程实验室项目(粤发改创新函[2018]3149号);中山市协同创新中心项目(2016C1014)

[第一作者] 张前亮,硕士,从事天然产物化学研究,Tel:0760-85311037,E-mail:zhang664854303@126.com

[通信作者] *成金乐,教授,主任中药师,从事中药创新与开发研究,Tel:0760-85311966,E-mail:gdcjl9@126.com

were used to characterize the quality attributes of UGPSMR and to construct the physical fingerprint. Multivariate statistical analysis methods such as similarity analysis, cluster analysis (CA), principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) were used to evaluate the quality of 11 batches of UGPSMR (S1-S11) produced in different years, and to find out the difference index between samples from different batches. **Result:** The method for measuring the particle size distribution and specific surface area of UGPSMR was feasible and repeatable. The similarities between the physical fingerprint of 10 batches of samples (S1-S3, S5-S11) from production and control fingerprint of UGPSMR were above 0.85, but the similarity between sample S4 and the control fingerprint was only 0.488. There were some differences in physical property indicators between different batches of UGPSMR, and the characteristic difference indicators were intergranular porosity, specific surface area, pore volume, b^* , L^* , Carr index, particle size distribution width, respectively. **Conclusion:** This method can comprehensively evaluate the physical quality attributes of UGPSMR, and can reflect the effect of differences in material basis of the medicinal materials or production process on the physical properties of finished products, and can evaluate quality consistency between batches from the physical state level, which provides new ideas for the quality control of ultrafine granular powder of herbal medicine.

[Key words] ultrafine granular powder of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*; physical property; particle size; comprehensive quality evaluation; physical fingerprint; multivariate statistical analysis

丹参首载于《神农本草经》，被列为上品，功效活血祛瘀、通经止痛、清心除烦、凉血消痈^[1]。其活性成分主要为脂溶性的丹参酮类和水溶性的丹酚酸类，脂溶性成分具有抗氧化、消炎、抑菌等作用，而水溶性成分则具有抑制血小板凝聚、扩张冠状动脉等作用^[2]。就其药效成分特点而言，传统水煎剂应用会造成丹参脂溶性成分的利用较少，而以破壁饮片的方式口服则能达到全成分利用，其药理作用也更全面。目前，经国家药品监督管理局批准以丹参或其有效成分为主的上市药物有40多种，主要用于心脑血管疾病的治疗和辅助治疗^[3]。中药成分复杂，产品批间质量差异大，且缺乏全面、有效的质量控制手段，因此，亟需提高此类产品的质量控制水平，建立更加完善的质量标准体系以保证其临床用药的有效性和安全性。

丹参破壁饮片是一种经现代超微粉碎及无添加成型制粒技术制备出的干燥颗粒状饮片^[4-7]，其打破了丹参饮片的细胞壁，保留原饮片全成分。破壁饮片是中药传统应用方式的创新，其特点是应用安全便捷，相较于注射剂临床上不良反应报告率低^[3,8]；药效成分利用率高，经临床研究证明应用时可实现减量等效^[6,9]。目前，丹参破壁饮片的质量控制已制定广东省标准，包括显微鉴别、薄层鉴别及含量测定等^[10]；此外，HPLC指纹图谱已纳为其内控标准^[11]。总体而言，对其质量控制还是偏重于化学成分层面，常规几个物理指标难以表征复杂中药的

整体质量；且丹参破壁饮片是一种新型颗粒状饮片，其药效的发挥除与药效成分的比例和含量有直接关联外，还与这些物质的存在形式、结合状态有关，即破壁饮片的外在物理属性，如粒径分布、比表面积、密度、崩解性等，这些都有可能影响产品的溶出及其在人体内的吸收和分布，进而影响最终药效。因此，有必要对其物理层面的属性进行深入研究。

质量源于设计(QbD)是一套系统的研发方法，强调对影响药品性质的质量属性和制备工艺过程透彻的理解^[12]；崔向龙等^[13-15]运用该方法建立银杏叶片制粒工艺中颗粒中间体的表征指标并以此构成物理指纹图谱，指出物理指纹图谱可帮助评价不同批次颗粒的质量一致性。刘涛等^[16]发现不同干燥方式对桑枝提取物的物理性质有一定影响，而对总黄酮含量影响较小，证明将物理指纹图谱作为中药提取物干燥工艺的筛选指标切实可行。以上研究均表明物理指纹图谱技术在中药的质量评价与工艺研究中具有重要作用。因此，本研究选择丹参破壁饮片为研究对象，依据QbD的思想，在对产品理化特性和工艺深入理解的基础上，建立物理属性表征指标测定方法及物理指纹图谱，并采用相似度分析和多元统计分析方法，从物理属性层面评价产品批间的质量一致性，建立丹参破壁饮片物理属性的综合评价方法，为提高丹参破壁品质和质量控制水平奠定基础。

1 材料

3H-2000PS2型比表面积及孔径分析仪[贝士德仪器科技(北京)有限公司], TopSizer2000型激光粒度分析仪(珠海欧美克仪器有限公司), BT-100型粉体综合特性测试仪(丹东百特仪器有限公司), CM-5型分光测色计(柯尼卡美能达有限公司), TM-D24UV型明澈纯水系统(德国默克密理博公司), 101-4A型电热鼓风干燥箱(上海雷韵试验仪器制造有限公司), M150型中药磨粉机(金华市旋风药材机械厂), TC-10型气流粉碎分级机(南京龙立天目超微粉体技术有限公司); AB204-S型1/1万电子天平, ME203型电子天平, ME1002E型电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司)。

蔗糖酯、六偏磷酸钠(上海扶生实业有限公司, 分析纯), 十二烷基苯磺酸钠、乙醇(广州市试剂化工厂, 分析纯), 水为自制超纯水。丹参药材采自山东日照中智药业丹参种植基地, 经中山市中智药业集团有限公司贾世清中药师鉴定为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* 的干燥根及根茎; 依据2015年版《中国药典》中丹参饮片炮制方法^[1], 将丹参药材置于生产质量管理规范(GMP)车间进行挑选(除去杂质和残茎), 洗净, 润透, 切厚片, 干燥, 即得丹参饮片, 然后将其粉碎成粗粉, 经气流粉碎分级机制成破壁粉 [D_{90} (颗粒累积分布达90%时所对应的粒径) $<45 \mu\text{m}$, 比表面积(S) $>3.0 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$], 采用无添

加成型制粒技术制备成30~100目的干燥颗粒。11批丹参破壁饮片的样品编号S1~S11, 对应的批号分别为20180423, 20180424, 20180425, 20150801, 20160901, 20160902, 20160903, 15040701, 20180501, 20180505, 20180510, 其中样品S1~S3和S5~S11均为中山市中智药业集团有限公司生产的成品, 样品S4为中试车间制备的中试样品。

2 方法与结果

2.1 丹参破壁饮片粒径及其分布的测定 采用激光衍射法测定, 样品用湿法分散。选择取样代表性(不同取样方式)和样品量、分散介质、分散助剂、超声时间和功率、遮光比、循环泵转速等因素分别进行单因素试验考察, 确定了测试条件。即分别取各批样品400 g铺成圆饼, 用四分法(2次)缩分得样品25 g, 再将其铺成正方形采用平面五点取样得代表性样品7.5 g, 混匀后准确称取样品0.15 g加入盛有水80 mL的烧杯中, 搅拌超声(功率560 W, 频率设定40 kHz)分散3 min。调试激光粒度分析仪, 设置循环泵转速2 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$, 边搅拌边缓慢加入超声分散后的样品至遮光比为10%, 测量, 记录 D_{10} (颗粒累积分布达10%时所对应的粒径), D_{50} (颗粒累积分布达50%时所对应的粒径, 即中值粒径), D_{90} 。分别称取同一批样品6份, 于上述条件下测定, 结果 D_{10} , D_{50} 和 D_{90} 的RSD均 $<2.0\%$, 表明该方法重复性良好。每批样品各平行测试2次, 结果见表1。

表1 丹参破壁饮片物理属性质量指标的测定 ($n=2$)

Table 1 Determination of quality indexes of physical properties of ultrafine granular powder of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* (UGPSMR) ($n=2$)

编号	D_{90} / μm	D_{50} / μm	D_{10} / μm	S / $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$	V_g / $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$	D_a / $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$	D_c / $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$	φ /度	α /度	L^*	a^*	b^*	Ie	IC /%	Width / μm	Span	IH
S1	38.006	12.807	3.648	0.236 0	0.000 9	0.656 5	0.751 5	33.8	40.3	32.25	15.80	21.04	0.19	12.64	34.36	2.68	1.14
S2	37.570	12.951	3.806	0.211 9	0.000 9	0.678 5	0.751 5	33.9	40.8	31.11	14.72	19.26	0.14	9.71	33.76	2.61	1.11
S3	37.377	12.944	3.732	0.136 7	0.000 8	0.654 0	0.748 0	34.8	40.2	32.68	15.92	21.17	0.19	12.57	33.65	2.60	1.14
S4	27.589	9.691	3.300	0.605 2	0.002 5	0.551 5	0.595 5	37.9	40.5	37.51	17.88	24.68	0.13	7.39	24.29	2.51	1.08
S5	23.429	9.266	3.541	0.237 3	0.000 9	0.637 0	0.659 5	36.9	41.7	27.13	11.76	14.07	0.05	3.41	19.89	2.15	1.04
S6	24.699	10.132	3.694	0.285 8	0.001 0	0.641 5	0.665 5	37.0	44.1	28.84	13.04	16.45	0.06	3.61	21.01	2.07	1.04
S7	25.306	9.247	3.406	0.173 3	0.000 8	0.636 0	0.666 0	35.8	43.2	28.61	12.15	14.88	0.07	4.50	21.90	2.37	1.05
S8	34.183	13.056	3.792	0.241 3	0.000 9	0.662 4	0.723 0	36.4	40.3	25.99	12.76	14.48	0.13	8.37	30.39	2.33	1.09
S9	33.665	11.953	3.731	0.216 2	0.000 9	0.722 8	0.749 6	36.4	39.3	27.81	12.80	14.95	0.05	3.57	29.93	2.50	1.04
S10	38.733	12.636	3.607	0.092 2	0.000 6	0.658 2	0.723 4	35.8	39.9	27.50	13.36	15.34	0.14	9.02	35.13	2.78	1.10
S11	37.965	12.146	3.445	0.188 9	0.000 8	0.683 3	0.769 5	35.7	40.3	28.69	14.97	17.13	0.16	11.20	34.52	2.84	1.13

2.2 丹参破壁饮片比表面积及孔体积的测定 比表面积采用低温氮气吸附法进行测定(静态容量法)。分别准确称取各批样品4.0 g, 装入已经称定

质量的干燥测量管中, 置于全自动比表面积及孔径分析仪的脱气模块中, 于60 $^{\circ}\text{C}$ 脱气8 h, 放冷后精密称定并且计算样品质量, 连接到测试模块上测试,

每个样品完成22个点的数据采集。采用多分子层吸附理论方程(BET方程)自动计算得到样品的 S 和孔体积(V_g)。分别称取同一批样品6份,于上述条件下测定,结果上述2个参数的RSD均 $<7.0\%$,表明该方法重复性较好。每批样品各平行测试2次,结果见表1。

2.3 丹参破壁饮片物理指纹图谱的构建

2.3.1 物理属性指标的测定 以均一性、堆积性、可压性、流动性和稳定性作为丹参破壁饮片物理指纹图谱的一级指标。不同的一级指标采用相应的二级指标来表征,其中均一性用 D_{90} ,粒径分布范围(Width),粒径分布宽度(Span),明暗度(L^*),红绿色度(a^*)和黄蓝色度(b^*)表征^[17-18],表示颗粒粒径大小、分布以及颗粒色泽的均匀程度;堆积性用松密度(Da)和振实密度(Dc)表征,表示颗粒的堆积状态;可压性用颗粒间空隙率(Ie),卡尔指数(IC)和 V_g 表征,表示颗粒压缩成型的能力;流动性用休止角(φ),平板角(α)和豪斯纳比(IH)表征,表示颗粒的流动能力;稳定性用 S 表征,其大小直接反映了颗粒与空气、水分的接触面积。

2.3.2 各二级指标的测定及计算 D_{10}, D_{50}, D_{90} 的测定方法同2.1项,按公式 $Width=D_{90}-D_{10}$, $Span=(D_{90}-D_{10})/D_{50}$ ^[19]计算Width和Span; L^*, a^*, b^* 直接采用色差仪测定。先称量容器(100 mL)的质量(G_0),通过粉体综合特性测试仪的振动筛加料,直至容器装满丹参破壁饮片,用刮板将容器口轻轻刮平,称定质量,记为 G_1 ,按公式 $Da=(G_1-G_0)/100$ 计算Da。将上述容器上端连接塑料管,继续加料至丹参破壁饮片充满塑料管,盖上胶塞,设置定时器为6 min,经上下振动后取出容器,轻轻将容器口刮平,称定质量 G_2 ,按公式 $Dc=(G_2-G_0)/100$ 计算Dc。Ie用于表征颗粒之间的空隙大小,计算公式为 $Ie=(Dc-Da)/(Da \times Dc)$ 。IC用于表征颗粒的可压缩程度,计算公式为 $IC=(Dc-Da)/Dc \times 100$ ^[20]。 V_g 直接采用全自动比表面积及孔径分析仪测定,测定方法同2.2项。

φ 和 α 使用粉体综合特性测试仪测定。将减振器放置到仪器中央的定位处,再放上接料盘和休止角试样台,定时器调至3 min,打开振动筛开关,缓慢加料至形成落满试样台的对称圆锥体时停止。用量角器从3个不同位置测定,取均值,即得 φ 。将托盘、升降台放到仪器测试平台上,调整抹刀高度使其伸入托盘中,将待测颗粒徐徐抛落在托盘中,直到埋没抹刀并使样品厚度达3 cm左右为止。缓慢降低升降台高度,使抹刀与托盘分离约6 cm,用量

角器测定3处留在抹刀上颗粒所形成的角度,取平均值。提起重锤约4 cm,然后松手使其自然下落冲击抹刀,此时再用测角器测定3处留在抹刀上颗粒所形成的角度,取平均值。2次平均值之和的一半即为 α 。IH与颗粒的流动性有关^[21],其计算公式为 $IH=Dc/Da$ 。 S 的大小间接反映了样品的稳定性、吸潮和润湿情况,直接采用全自动比表面积及孔径分析仪测定,测定方法同2.2项。

2.3.3 物理指纹图谱的指标转化 由于丹参破壁饮片物理属性指标数值范围和量纲不同,为了便于综合比较,需将其标准化至同一标尺,即0~10。标准化转换方法及各物理属性指标的可能数值范围参考2015年版《中国药典》标准^[1]和文献[22-23];各物理指标的标准化转化公式及转化值范围见表2。

表2 丹参破壁饮片二级物理属性质量指标的标准化转换方法及转化值范围

Table 2 Standardized conversion methods and ranges of conversion values of secondary physical quality indexes of UGPSMR

一级指标	二级指标/单位	数值范围	转化公式
均一性	$D_{90}/\mu\text{m}$	0~150	$10-x/15$
	Width/ μm	50~1	$10-x/20$
	Span	4~1	$(40-10x)/3$
	L^*	0~100	$x/5$
	a^*	0~100	$(x+20)/5$
堆积性	b^*	0~100	$(x+20)/5$
	Da/ $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$	0~1	$10x$
可压性	Dc/ $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$	0~1	$10x$
	Ie	0~1.2	$40x/1.2$
流动性	IC/%	0~50	$x/5$
	$V_g/\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$	0~0.01	$4\ 000x$
	$\varphi/\text{度}$	0~50	$10-x/6$
稳定性	$\alpha/\text{度}$	0~60	$10-x/6$
	IH	3~1	$(30-10x)/3$
	$S/\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$	0~2	$15x$

注: x 表示各二级指标数值范围内的某一测定值。

2.3.4 物理指纹图谱的构建 取11批丹参破壁饮片适量,分别按2.3.2项下方法测定15个物理属性指标值。各指标测定值依据2.3.3项下方法进行标准化处理,见表3。以11批样品的15个标准化参数值为半径,采用Origin 9软件绘制雷达图,并取各批样品参数值的平均值为半径绘制对照物理指纹图谱(R)雷达图,见图1。结果表明11批样品各指标值的转化值范围及其平均值分别为 D_{90} (7.42~8.44,

7.83), Width (8.24~9.01, 8.55), Span (3.86~6.42, 5.02), L^* (5.20~7.50, 5.97), a^* (6.35~7.58, 6.82), b^* (6.81~8.94, 7.52), Da (5.52~7.23, 6.53), Dc (5.96~7.69, 7.09), Ie (1.65~6.42, 4.00), IC (0.68~2.53, 1.56), V_g (2.40~9.80, 3.91), φ (3.68~4.37, 4.03), α (2.65~3.44, 3.17), IH (6.18~6.55, 6.38), S (1.38~9.08, 3.58)。11批丹参破壁饮片的 D_{90} 均 $<45\ \mu\text{m}$ (对应的转化值均 >7),符合法定质量标准要求;休止角

越小,流动性越好。一般认为, $\varphi\leq 30$ 度表示流动性好; $\varphi\leq 40$ 度表示可以满足生产过程中的流动性需求; $\varphi>40$ 度表示流动性差^[24-25]。11批丹参破壁饮片的休止角均 <40 度(对应转化值均 >3.33),表明流动性良好,各批样品的 α 都略大于 φ 。10批大生产样品(S1~S3, S5~S11)的 S 均 $<0.3\ \text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$,与丹参破壁粉($3.0\ \text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$)相比降低10倍,说明制成颗粒后其 S 显著减小,有利于产品稳定保存。

表3 丹参破壁饮片物理指纹图谱的各指标转化值

Table 3 Transformed values of each index in physical fingerprint of UGPSMR

编号	均一性						堆积性		可压性			流动性		稳定性	
	D_{90}	Width	Span	L^*	a^*	b^*	Da	Dc	Ie	IC	V_g	φ	α	IH	S
S1	7.47	8.28	4.39	6.45	7.16	8.21	6.57	7.52	6.42	2.53	3.60	4.37	3.29	6.18	3.54
S2	7.50	8.31	4.64	6.22	6.94	7.85	6.79	7.52	4.77	1.94	3.40	4.36	3.21	6.31	3.18
S3	7.51	8.32	4.67	6.54	7.18	8.23	6.54	7.48	6.41	2.51	3.00	4.20	3.30	6.19	2.05
S4	8.16	8.79	4.98	7.50	7.58	8.94	5.52	5.96	4.47	1.48	9.80	3.68	3.24	6.40	9.08
S5	8.44	9.01	6.18	5.43	6.35	6.81	6.37	6.60	1.79	0.68	3.60	3.84	3.05	6.55	3.56
S6	8.35	8.95	6.42	5.77	6.61	7.29	6.42	6.66	1.87	0.72	4.00	3.83	2.65	6.54	4.29
S7	8.31	8.91	5.44	5.72	6.43	6.98	6.36	6.66	2.36	0.90	3.20	4.04	2.80	6.51	2.60
S8	7.72	8.48	5.57	5.20	6.55	6.90	6.62	7.23	4.21	1.67	3.40	3.93	3.28	6.36	3.62
S9	7.76	8.50	4.99	5.56	6.56	6.99	7.23	7.50	1.65	0.71	3.40	3.93	3.44	6.54	3.24
S10	7.42	8.24	4.07	5.50	6.67	7.07	6.58	7.23	4.57	1.80	2.40	4.04	3.35	6.34	1.38
S11	7.47	8.27	3.86	5.74	6.99	7.43	6.83	7.69	5.47	2.24	3.20	4.06	3.28	6.25	2.83
R	7.83	8.55	5.02	5.97	6.82	7.52	6.53	7.09	4.00	1.56	3.91	4.03	3.17	6.38	3.58

2.3.5 相似度分析 基于丹参破壁饮片15个物理指纹图谱的指标转化值,采用SPSS 22.0软件中夹角余弦法计算不同批次丹参破壁饮片的相似度,相似度越接近1,表明2批样品的物理性质越相近。计算样品S1~S11的物理指纹图谱与R的相似度分别为0.872, 0.973, 0.858, 0.488, 0.922, 0.916, 0.967, 0.981, 0.932, 0.933, 0.917。其中样品S4与R相似度最低;其余10批大生产样品的物理指纹图谱与R的相似度较好。因此,拟规定样品的物理指纹图谱与R的相似度应 >0.85 。

2.3.6 多元统计分析 采用SPSS 22.0软件,以11批样品物理指纹图谱的表征指标(15个二级指标转化值)为变量,选择欧氏距离平方作为测度进行聚类分析(CA),绘制树状图,见图2(A);采用SIMCA-P 14.1软件进行主成分分析(PCA),软件自动拟合出3个主成分,贡献率分别为主成分(PC)1=50.9%, (PC)2=35.1%, (PC)3=6.9%, 累计贡献率达92.9%,说明通过数据降维,前3个主成分因子在反映不同批次样品物理属性差异与15个变量的关系中起主

导作用,能够解释样品中的主要差异信息,其PCA得分图见图2(B)。上述分析发现CA和PCA结果基本一致,可将样品S1~S11分成三类,样品S5~S7, S9归为一类,样品S1~S3, S8, S10, S11归为一类, S4单独归为一类,与相似度分析结果基本一致;说明这11批丹参破壁饮片的物理属性存在一定差异。

为了找出物理属性质量控制的关键辨识指标,使用SIMCA-P 14.1软件对11批样品的物理指纹图谱各指标转化数据进行正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)。因OPLS-DA属于有监督的判别分析,故在CA和PCA的分类基础上,将11批样品分为3组(a组:S1~S3, S8, S10, S11; b组:S4; c组:S5~S7, S9)。通过两两比较,找出各组间的主要差异指标,结果显示不同组的样品点在横坐标轴 $t[1]$ 方向上明显分为2个簇,说明样品组间物理性质差异明显,见图3(A, C, E);结合变量重要性投影(VIP)值,以VIP值 >1 为筛选标准,筛选出不同组间的差异性标志物,见图3(B, D, F)。a组与c组之间筛选得到具有统计学意义的差异性指标共3个,其

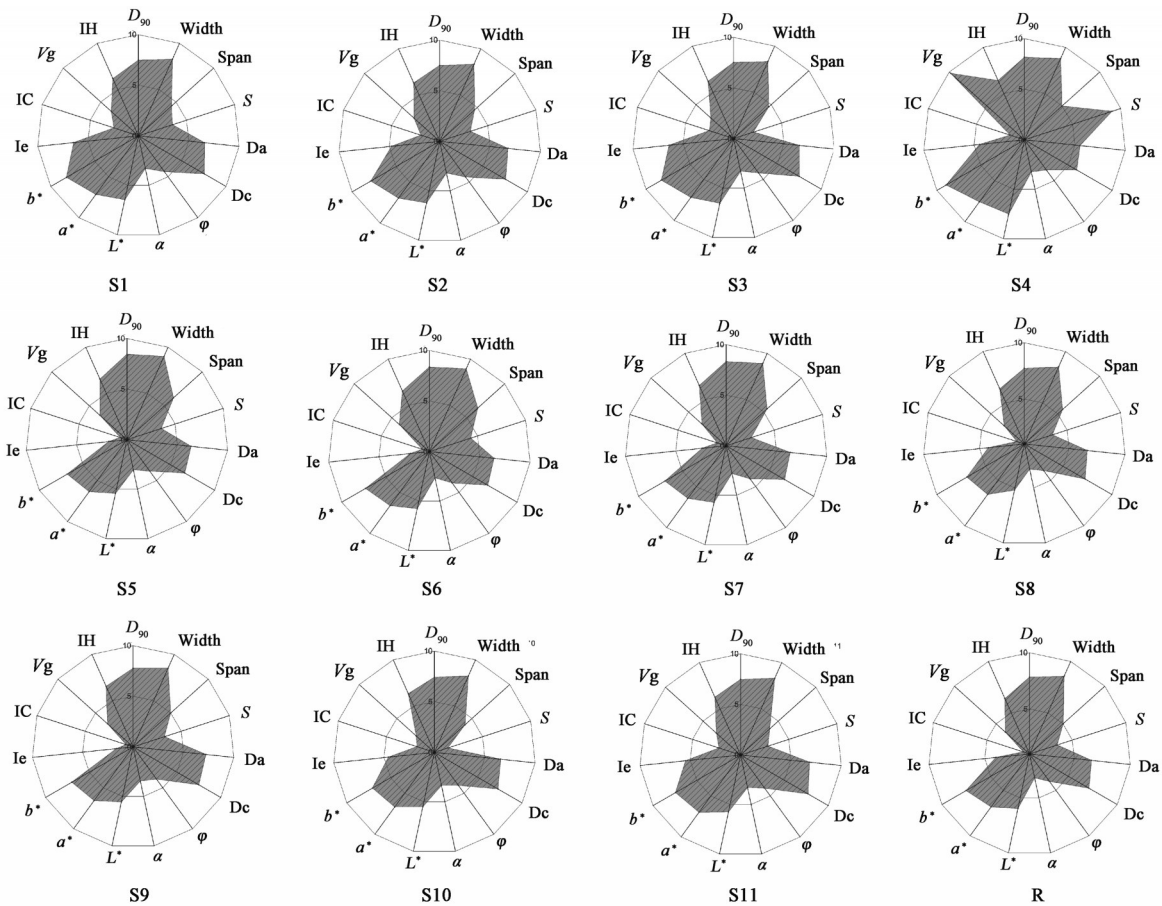


图1 11批丹参破壁饮片(S1~S11)的物理指纹谱及其对照指纹谱(R)

Fig. 1 Physical fingerprints of 11 batches of UGPSMR (S1-S11) and their control fingerprint (R)

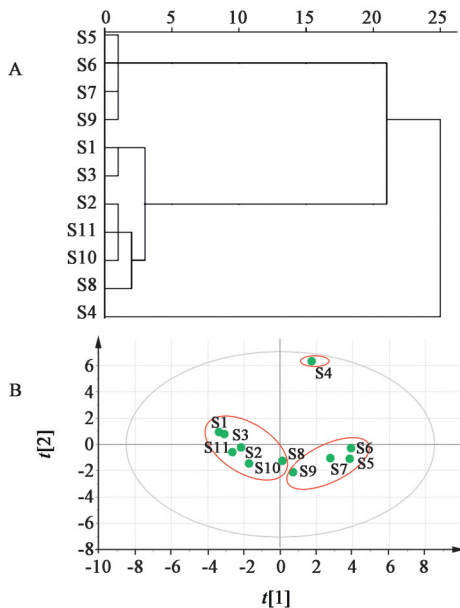


图2 11批丹参破壁饮片的CA树状分析(A)和PCA得分(B)

Fig. 2 CA dendritic analysis (A) and PCA score (B) of 11 batches of UGPSMR

影响程度依次为 $Ie > IC > Span$; a组与b组之间具有统计学意义的差异性指标共2个,其影响程度依次为

$Vg > S$; b组和c组间具有统计学意义的差异性指标共有5个,其影响程度依次为 $Vg > S > Ie > b^* > L^*$ 。

由图3可知,b组与a,c两组间的差异主要在颗粒的2个指标上,即 Vg 和 S 。由表3可知,b组样品的 S 和 Vg 转化值均约为a,c两组样品均值的3倍,推测样品S4颗粒较小,且颗粒中的粉末结合较疏松,表面粗糙多孔隙;由表1可知,与其他10批样品(S1~S3, S5~S11)相比,样品S4的 S 和 Vg 最大,而 Da 和 Dc 最小,进一步证明了此推断。a组与c组间的差异主要在颗粒的3个指标上,即 Ie , IC 和 $Span$ 。其中贡献率最大的2个指标为 Ie 和 IC ,这2个指标a组样品的转化均值均为c组样品均值的2.8倍,而c组样品 $Span$ 的转化均值为a组样品均值的1.3倍;即a组与c组间样品差异主要体现在颗粒的密度、粒径大小及分布方面,而颗粒的密度大小与其药材的物质组成比例及制粒工艺参数有关,粒径大小及分布和破壁粉碎过程密切相关,其综合反映了不同年份所用药材本身的物质差异及可能的工艺波动等信息,提示这3个物理指标代表性较强,可作为丹参破壁饮片的关键质量控制指标。

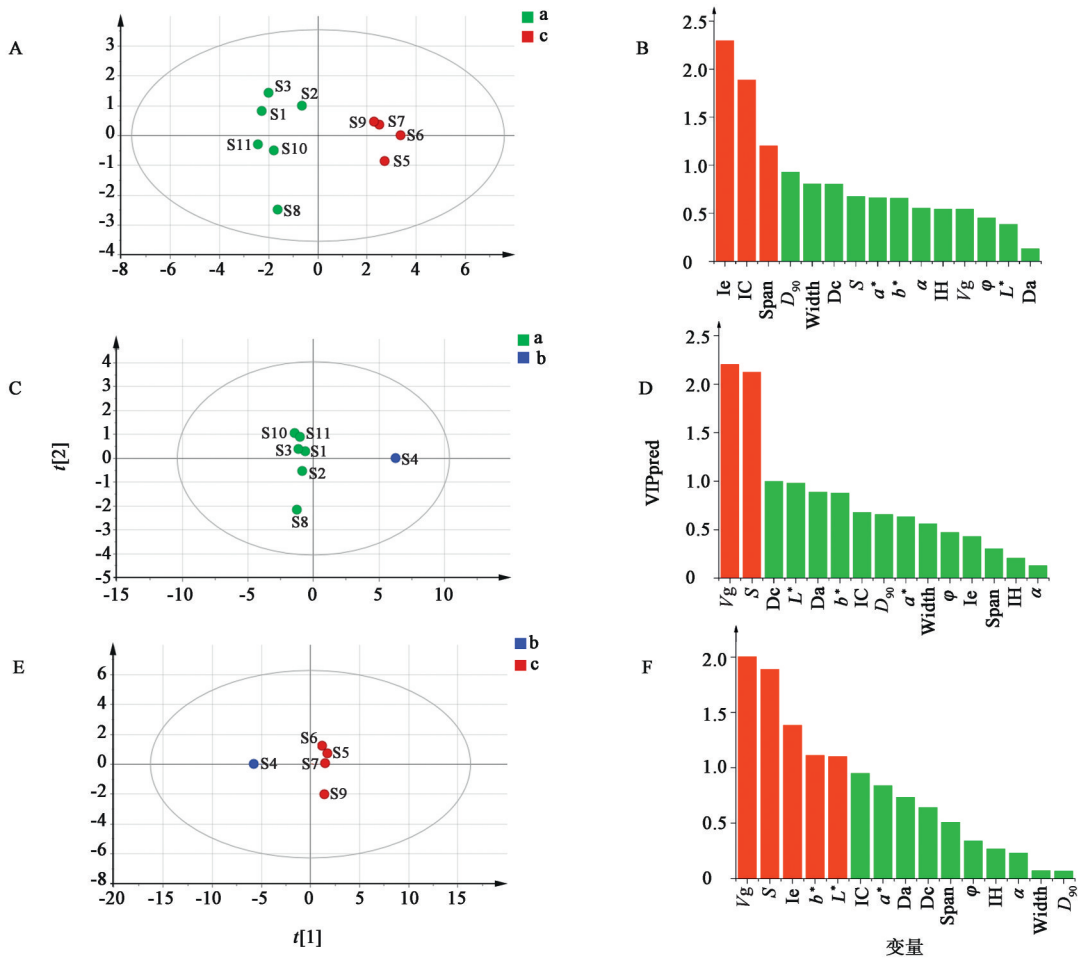


图3 丹参破壁饮片的组间OPLS-DA得分和组间差异VIP分析
Fig. 3 OPLS-DA score and VIP analysis of differences between groups of UGPSMR

3 讨论

本研究构建物理指纹图谱对丹参破壁饮片的物理属性进行了综合评价,发现不同批次样品物理属性方面存在一定差异,并通过数据挖掘,找到不同批次丹参破壁饮片主要物理属性差异指标有7个(Ie, S, Vg, b*, L*, IC和Span);说明在关注产品化学属性的同时,其物理属性也应该得到重视。破壁饮片的物理属性是药材质量、工艺质量的综合体现,与产品的质量 and 疗效密切相关,构建物理指纹图谱是对产品含量测定及HPLC指纹图谱等质量控制方法的有效补充,打破了原有技术方法仅控制产品化学属性的局限性,该方法为评价产品批间质量一致性提供了新手段,也为产品的进一步工艺优化和改进奠定了基础。后续将继续收集多批次代表性样品,积累各差异指标及物理指纹图谱数据,通过综合分析制定其参数范围,并验证其适用性和合理性,以利于建立更加完善的质量标准体系。

中药成分复杂,质量控制难度大,化学成分

评价反映了药材本身因种植、环境、基原、炮制等因素不同引起的质量差异;而生产工艺除了影响化学成分外还会对产品物理性质产生显著影响,如样品S4与其他批次样品物理性质明显不同,其原因可能是因为该样品为实验室中试车间制备,软材采用电热鼓风干燥,而其他样品是采用喷雾干燥,推测不同干燥方式下颗粒中水分迁移方式、速率和受外力作用有所不同,进而导致其颗粒密度小,颗粒较疏松,S和Vg均很大,这些都可能与其制备工艺密切相关;但仅1批样品数据缺乏代表性,探讨工艺对产品物理属性的影响,以及引入物理属性指标评价和监控工艺稳定性等尚需进一步深入研究。不同年份生产的破壁饮片虽原药材产地固定、种植过程规范,但受自然气候条件的影响,药材物质成分的积累和品质仍有一定差异,这种物质成分有差异的药材经相同工艺加工,亦会带来成品物理性质的不同,推测a组和c组之间的差异性主要是由药材本身差异带来的。

从表征产品物理属性以及与生产工艺相关的物理指标中进一步筛选易测定、可重复、稳定的关键质量属性,以此结合化学属性指标,可建立更高效的联合质量控制方法。本课题组前期已对丹参破壁饮片的指标成分含量及HPLC指纹图谱开展了研究,并已应用于产品的质量,本研究探索了丹参破壁饮片的物理属性表征指标及物理指纹图谱,并进行了深入的数据分析,符合QbD的理念,有助于提高产品质量。后续将对破壁饮片的物质存在形式和结合状态进行评价,再结合溶出特性、体内代谢行为研究,建立与药效密切相关的质量控制指标体系,为生产高效、稳定的中药破壁饮片提供新研究方向。

[参考文献]

- [1] 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,2015:76-77.
- [2] 姜雪,史磊. 丹参活性成分及药理作用研究进展[J]. 药学研究,2017,36(3):166-169.
- [3] 侯莹,孙崇,陈修平. 丹参类药物的不良反应及其应对策略[J]. 医药导报,2019,38(9):1107-1113.
- [4] 成金乐,赖智填,陈炜璇,等. 中药破壁饮片—传统中药饮片的传承和创新[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2016,18(9):1546-1552.
- [5] 邓雯,谢果,杨泽锐,等. 中药破壁饮片安全性研究进展及思考[J]. 中国现代中药,2015,17(12):1340-1344.
- [6] 成金乐,彭丽华,邓雯. 中智中药破壁饮片量效关系初探[J]. 世界中医药,2016,11(3):529-532.
- [7] 成金乐,郑夏生,杨泽锐,等. 中药饮片粉末的历史与应用[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2016,18(9):1539-1545.
- [8] 国家食品药品监督管理总局. 国家药品不良反应监测年度报告(2014年)[EB/OL]. <http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2155/318885.html>, 2015-07-17/2020-02-15.
- [9] 雷夏凌,马会,柳璐,等. 丹参破壁饮片非临床安全性评价研究[A]. 中国毒理学会中药与天然药物毒理与安全性评价第四次(2019年)学术年会论文集[C]. 海口:出版社不详,2019:164-165.
- [10] 赖智填,成金乐. 中药破壁饮片[M]. 北京:人民卫生出版社,2017:274-276.
- [11] 彭丽华,赖智填,成金乐,等. 基于HPLC指纹图谱的中药破壁饮片质量评价[J]. 中国现代中药,2016,18(9):1230-1232.
- [12] 周浩,王亚静,田倩瑜,等. 基于质量源于设计理念辨识影响三叶片抗张强度的颗粒关键质量属性与范围[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(2):9-13.
- [13] 崔向龙,徐冰,张毅,等. 质量源于设计在银杏叶片制粒工艺中的应用(I):颗粒粉体学性质综合评价[J]. 中国中药杂志,2017,42(6):1037-1042.
- [14] 徐冰,崔向龙,杨婵,等. 质量源于设计在银杏叶片制粒工艺中的应用(II):颗粒关键质量属性辨识[J]. 中国中药杂志,2017,42(6):1043-1047.
- [15] 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.
- [16] 刘涛,付春梅,唐玉,等. 不同干燥方式对桑枝提取物物理指纹图谱及其总黄酮含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(3):34-38.
- [17] 周蔚昕,刘涛,刘钱,等. 川芎饮片标准汤剂的HPLC及物理指纹图谱研究[J]. 中草药,2018,49(21):5107-5115.
- [18] WAN S L, YANG R, ZHANG H, et al. Application of the SeDeM expert system in studies for direct compression suitability on mixture of rhodiola extract and an excipient[J]. AAPS Pharm Sci Tech, 2019, 20(3):105.
- [19] 罗铮,邓雯,张前亮,等. 当归破壁粉制备工艺优化及物理指纹图谱评价研究[J]. 中草药,2019,50(24):5980-5987.
- [20] PÉREZ P, SUÑÉ-NEGRE J M, MIÑARRO M, et al. A new expert systems (SeDeM diagram) for control batch powder formulation and preformulation drug products [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2006, 64(3):351-359.
- [21] European Pharmacopeia. Dosage Forms Monographs [M]. Strasbourg: European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare, 2013.
- [22] RAYMOND C R, PAUL J S, MARIAN E Q. Handbook of Pharmaceutical Excipients [M]. 6th edition. London: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association, 2009.
- [23] 徐玉玲,谢敏,梁悦,等. 基于QbD理念优选川明参口含片的制备工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(17):14-19.
- [24] 杜焰,冯怡,徐德生,等. 基于主成分分析的中药粉体流动性表征研究[J]. 中成药,2012,34(7):1258-1263.
- [25] 张鹏. 卡尔指数法在评价煤粉粉体特性中的应用[J]. 中国粉体技术,2000,6(5):33-36.

[责任编辑 刘德文]