·实验研究·

# 基于 Box-Behnken 设计-响应面法结合 G1-熵权法优化七味蟾参胶囊制剂工艺及其质量标准研究

唐　玉[1,2],张爱军[2],李　帅[2],朱红梅[2],毛九州[2],余凌英[1]
(1 成都中医药大学,成都 611137;2 四川省中医药科学院,成都 610041)

[摘要]　**目的:**优化七味蟾参胶囊(Qiwei Chanshen Capsules,QCC)的制剂工艺并进行质量标准研究。**方法:**以成型率、干燥失重、吸湿率、振实密度、休止角的综合评分为评价指标,以药辅比、润湿剂(乙醇)浓度和干燥时间为影响因素,采用 Box-Behnken 设计-响应面法结合 G1-熵权组合赋权法优化 QCC 的制剂工艺。对所制备胶囊的水分、装量差异、崩解时限进行测定,采用薄层色谱(TLC)法定性鉴别、HPLC 波长切换法同时测定 3 种抗肿瘤成分(表儿茶素、喜树碱、人参皂苷 $Rb_1$)含量。**结果:**最佳制剂工艺为药辅比 1∶1.15,润湿剂(乙醇)浓度 91%,干燥时间 117 min。QCC 的水分、装量差异、崩解时限的测定结果均符合药典标准。TLC 鉴别专属性强。3 种抗肿瘤成分的线性范围分别为 0.52 ~ 16.74($r$ = 0.999 6),0.68 ~ 21.68($r$ = 0.999 9)和 6.70 ~ 214.49 μg·mL$^{-1}$($r$ = 0.999 7);精密度、稳定性、重复性实验 RSD 均 < 3%;平均加样回收率分别为 97.11%(RSD = 1.73%,$n$ = 6),99.33%(RSD = 1.68%,$n$ = 6)和 99.18%(RSD = 2.21%,$n$ = 6);含量分别为 0.158 8,0.196 7 和 3.091 3 mg·g$^{-1}$。**结论:**QCC 制剂工艺稳定可行,质量控制较为全面系统。

[关键词]　七味蟾参胶囊;制剂工艺;Box-Behnken 设计-响应面法;G1-熵权法;质量标准
[中图分类号]　R944.2　　[文献标志码]　A　　[文章编号]　1003 - 3734(2021)10 - 0953 - 08

# Optimization of preparation process of Qiwei Chanshen Capsules by Box-Behnken design-response surface method combined with G1-entropy weight method and its quality standard research

TANG Yu[1,2], ZHANG Ai-jun[2], LI Shuai[2], ZHU Hong-mei[2], MAO Jiu-zhou[2], YU Ling-ying[1]
(1 *Chengdu University of Traditional Chinese Medicine*, *Chengdu* 611137, *China*;
2 *Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences*, *Chengdu* 610041, *China*)

[**Abstract**]　**Objective:** To optimize the preparation process of Qiwei Chanshen Capsules (QCC) and conduct quality standard research. **Methods:** Using the comprehensive scores of molding rate, drying weight loss, moisture absorption rate, solid density and angle of repose as characteristic index, the preparation technology of QCC was optimized using Box-Behnken design-response surface method combined with G1-entropy weight method with regard to the factors such as drug dosage, wetting agent (ethanol) concentration and drying time. Moisture, volume difference, disintegration time limit were checked. TLC method was used for qualitative identification. HPLC wavelength switching method was used to simultaneously determine the contents of 3 components with anti-tumor effect, such as

[基金项目]　四川省科学技术厅四川省科研院所科技成果转化资金资助项目(2018YSZH0023)
[作者简介]　唐玉,女,硕士研究生,主要从事中药制剂与新药开发研究。联系电话:(028)85255137,E-mail:593812828@qq.com。
[通讯作者]　张爱军,女,硕士研究生导师,研究员,主要从事中药新制剂及成药性药学评价研究。联系电话:(028)85255137,E-mail:ajzh33@sohu.com。余凌英,女,硕士研究生导师,副教授,主要从事中药炮制学与中药新制剂新技术研究。联系电话:(028)85255137,E-mail:yuly26@163.com。

epicatechin, camptothecin, and ginsenoside $Rb_1$. **Results**: The best preparation process was as following: the dosage ratio of drug to adjuvant was 1∶1.15, the wetting agent (ethanol) concentration was 91%, and drying time was 117 min. The moisture, volume difference and disintegration time limit of the capsule were in line with Chinese Pharmacopoeia. TLC identification is highly specific. The linear ranges of the 3 components with anti-tumor effect were 0.52 ~ 16.74 μg·mL$^{-1}$ ($r$ = 0.999 6), 0.68 ~ 21.68 μg·mL$^{-1}$ ($r$ = 0.999 9), 6.70 ~ 214.49 μg·mL$^{-1}$ ($r$ = 0.999 7), respectively. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 3%. The average recoveries were 97.11% (RSD = 1.73%, $n$ = 6), 99.33% (RSD = 1.68%, $n$ = 6), 99.18% (RSD = 2.21%, $n$ = 6), respectively. The content of them were 0.158 8, 0.196 7, 3.091 3 mg·g$^{-1}$. **Conclusion**: The preparation process of QCC is stable and feasible. The quality control method is comprehensive and systematic.

[**Key words**] Qiwei Chanshen Capsules; preparation process; Box-Behnken design-response surface method; G1-entropy weight method; quality standard

七味蟾参胶囊(Qiwei Chanshen Capsules, QCC)处方来源于四川省中医药科学院附属中西医结合医院肿瘤专科的临床经验方,由干蟾皮、壁虎、金荞麦、喜树果、西洋参等药材组成。此方经 10 余年临床验证,其对于胃癌及其他消化道肿瘤证属血瘀者疗效显著。七味蟾参方目前在临床上使用为汤剂,汤剂味苦量大、不宜久储、服用不便。为了掩盖药物异味、提高药物稳定性、便于癌症患者携带和服用、提高患者用药依从性,拟将汤剂研制成胶囊剂。并根据《药品注册管理办法》及中药复方新药的相关技术要求[1],对所制得的 QCC 进行较为全面系统的质量研究。

合理的工艺设计是保障中药质量的关键。Box-Behnken 设计-响应面法采用非线性模型拟合,可连续对实验各水平进行分析,从整个区域中优选出最佳因素组合,实验结果具有直观精确便于分析的特点,克服正交实验法无法找出整个区域上因素的最佳组合、实验次数较多的缺点[2]。G1-熵权法是一种主观赋权法和客观赋权法相结合的方法,既可避免人为赋权过于主观性,又可避免实验数据出现误差后所导致综合评价结果出现的较大偏差[3]。G1 法是由决策者根据主观经验计算评价指标权重的方法,是在 AHP 法基础上进行改进的主观赋权法,与 AHP 法相比具有计算速度快、保序性、无需一致性检验等优点;熵权法是根据实验数据信息计算各指标熵值进而赋权的一种客观评价方法[4]。Box-Behnken 设计-响应面法与 G1-熵权组合赋权法相结合,能提高所得实验结果的科学性与严谨性,使优选出的工艺更具合理性及可行性。因此,本实验采用 Box-Behnken 设计-响应面法结合 G1-熵权组合赋权法对 QCC 的制剂工艺进行优化,并对其质量标准进行初步研究,为其研发奠定基础。

## 材　　料

### 1　药品与试剂

人参皂苷 $Rb_1$(批号:110704-201827, HPLC 91.2%)、表儿茶素(批号:110878-201703, HPLC 99.7%)、喜树碱(批号:100532-201702, HPLC 99.8%)、干蟾皮对照药材(批号:120963-200504)、金荞麦对照药材(批号:121114-201403)购自中国食品药品检定研究院;蟾蜍噻吟(自制[5],纯度:98.5%);喜树果(四川利民中药饮片有限责任公司,批号:180401);金荞麦(批号:181009)、西洋参(批号:181103)等饮片购自四川省中药饮片有限责任公司和山东康源堂中药饮片股份有限公司;复方浸膏(自制,批号:20190123, 20190124, 20190125);缺干蟾皮阴性浸膏(自制,批号:20190612);缺喜树果阴性浸膏(自制,批号:20190611);缺金荞麦阴性浸膏(自制,批号:20190613);缺西洋参阴性浸膏(自制,批号:20190612);预胶化淀粉(曲阜市天利药用辅料有限公司,批号:1104012);微晶纤维素(山东新大精细化工公司,批号:110315);乙腈为色谱纯;其余试剂均为分析纯;水用怡宝纯净水。

### 2　仪器

Agilent 1260 高效液相色谱仪(配置四元泵、在线脱气装置、自动进样器、DAD 检测器和 OpenLAB 色谱工作站, Agilent 公司);XS205 电子天平(Mettler-Toledo 公司);KQ－300B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);BD－207 型电热鼓风恒温干燥箱(成都电烘箱厂);TLC 数码成像系统(瑞士

CAMAG 公司)。

## 方法和结果

### 1 制剂工艺研究

本实验在单因素实验的基础上,采用 Box-Behnken 设计-响应面法结合 G1-熵权法优化 QCC 的制剂工艺。

#### 1.1 G1-熵赋权法组合赋权[3-4,6-7]

**1.1.1** G1 法主观赋权 通过主观赋权反映各指标的重要程度,指标越重要,权重系数越大。具体步骤:① 对各指标的重要程度进行排序,建立评价指标 $Z_1,Z_2,\cdots,Z_m$ 相对于某评价准则(或目标)的序关系,记为 $Z_1 > Z_2 > \cdots > Z_m$,其中 $m$ 为评价指标个数。② 确定相邻指标之间的重要程度及各指标权重评价标度:$r_k = w_{k-1}/w_k$,k = $m,m-1,\cdots,2$。③ 计算 G1 主观权重 $W_1$,$W_k = (1 + \sum_{k=2}^{m}\prod_{i=k}^{m} r_i)^{-1}$,$W_{k-1} = r_k W_k$,$k = m,m-1,\cdots,2$。

**1.1.2** 熵权法客观赋权 通过各指标原始数据代表的信息量大小对各指标进行客观赋权,指标原始数据熵值越小,权重系数越大。具体步骤如下:① 对不同指标数据进行归一化处理,高优指标归一化:$Y_{ij} = (x_{ij} - \min\{x_{ij}\})/(\max\{x_{ij}\} - \min\{x_{ij}\})$,低优指标归一化:$Y_{ij} = (\max\{x_{ij}\} - x_{ij})/(\max\{x_{ij}\} - \min\{x_{ij}\})$,式中,$x_{ij}$表示第 $i$ 个评价对象的第 $j$ 项指标数据,$\max\{x_{ij}\}$、$\min\{x_{ij}\}$分别为 $x_{ij}$的最大值和最小值,$Y_{ij}$为第 $i$ 个评价对象的第 $j$ 项指标数据的标准值。② 计算熵值:$H_i = -k\sum_{i=1}^{n} P_{ij}\ln P_{ij}$,$P_{ij} = Y_{ij}/\sum_{i=1}^{n} Y_{ij}$,$k = 1/\ln n$,当 $P_{ij} = 0$ 时,$x_{ij}\ln n = 0$,其中,$n$ 为指标数据个数。③ 计算熵权客观权重 $W_2$:$W_i = (1 - H_i)/(m - \sum_{j=1}^{m} H_i)$。

**1.1.3** 组合权重的确定 设由 G1 法得到的权重为 $W_1$,熵权法得到的权重为 $W_2$,组合权重为 $W_j$,则 $W_j = W_{1j}W_{2j}/\sum_{j=1}^{m} W_{1j}W_{2j}$。

#### 1.2 单因素考察

七味蟾参方浸膏粉末吸湿性强、流动性差,无法直接填充胶囊。经前期实验研究,确定预胶化淀粉-微晶纤维素(0.67∶0.33)作为其辅料,将浸膏粉与辅料混合均匀,乙醇为润湿剂制备软材,过 40 目筛制粒,60 ℃干燥,整粒,即得胶囊内容物。

**1.2.1** 药辅比对制剂工艺的影响 药辅比分别为 1∶0.4,1∶0.6,1∶0.8,1∶1.0,1∶1.2 和 1∶1.4 的中间体,以 90% 乙醇为润湿剂,制粒后干燥 1 h,即得胶囊内容物。随着辅料比例的增大,成型率、振实密度、休止角无太大变化;干燥失重、吸湿率先降低,后降低不明显。因此,结合制剂生产实际情况,选择考察范围为 1∶0.8 ~ 1∶1.2。

**1.2.2** 乙醇浓度对制剂工艺的影响 药辅比 1∶1 的中间体,分别以 70%,75%,80%,85%,90% 和 95% 乙醇为润湿剂,制粒后干燥 1 h,即得胶囊内容物。随着乙醇浓度的增大,振实密度、休止角、吸湿率无太大变化;成型率先增加,后降低;干燥失重呈降低趋势。因此,结合制剂生产实际情况,选择考察范围为 85% ~95%。

**1.2.3** 干燥时间对制剂工艺的影响 药辅比 1∶1 的中间体,以 90% 乙醇为润湿剂制备软材,制粒后在 60 ℃下干燥 30,60,90,120,150 和 180 min 后,即得。随着干燥时间的增加,振实密度、休止角、吸湿率无太大变化;成型率先无明显变化后降低;干燥失重先降低,后降低不明显。因此,结合制剂生产实际情况,选择考察范围为 60 ~ 120 min。

#### 1.3 Box-Behnken 实验设计及结果

**1.3.1** Box-Behnken 实验设计 在单因素实验研究基础上,选择药辅比($A$)、乙醇浓度($B$)和干燥时间($C$)为自变量,以成型率($Z_1$)、干燥失重($Z_2$)、吸湿率($Z_3$)、振实密度($Z_4$)、休止角($Z_5$)的综合评分($Y$)为响应值,采用 Box-Behnken 设计-响应面法优选成型工艺,实验设计见表 1。

**表 1** Box-Behnken 实验设计的因素及水平

| 水平 | 影响因素 | | |
|---|---|---|---|
| | 药辅比($A$) | 乙醇浓度($B$)/% | 干燥时间($C$)/min |
| -1 | 1∶0.8 | 85 | 60 |
| 0 | 1∶1 | 90 | 90 |
| 1 | 1∶1.2 | 95 | 120 |

**1.3.2** Box-Behnken 实验结果分析 成型率越高,成型效果越好,因而可作为制剂工艺筛选的重要指标;干燥失重与吸湿率表征颗粒的稳定性,因而可作为次重要指标;振实密度和休止角是影响胶囊填充效果的重要指标,因此可作为次要指标。由 G1 法确定 5 个评价指标的顺序关系为成型率($Z_1$) > 干燥失重($Z_2$) = 吸湿率($Z_3$) > 振实密度($Z_4$) = 休止

角($Z_5$),并确定各指标权重评价标度 $r_1=1, r_2=1.4, r_3=1, r_4=1.2, r_5=1$,由此求得各指标的主观权重值($W_1$)。利用获取的制剂工艺实验数据,采用熵权法计算各指标的客观权重值($W_2$)。最后计算得到各指标的组合权重值($W_j$)。结果见表 2 和表 3。

**表 2** 组合权重

| 评价指标 | $W_1$ | $W_2$ | $W_j$ |
|---|---|---|---|
| $Z_1$ | 0.276 3 | 0.204 7 | 0.284 1 |
| $Z_2$ | 0.197 4 | 0.182 3 | 0.180 8 |
| $Z_3$ | 0.197 4 | 0.171 9 | 0.170 4 |
| $Z_4$ | 0.164 5 | 0.227 1 | 0.187 7 |
| $Z_5$ | 0.164 5 | 0.214 0 | 0.176 9 |

**表 3** Box-Behnken 实验设计及结果

| 实验号 | $A$ | $B$/% | $C$/min | $Z_1$/% | $Z_2$/% | $Z_3$/% | $Z_4$/g·mL$^{-1}$ | $Z_5$/° | $Y$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1∶0.8 | 85 | 90 | 63.18 | 8.58 | 7.22 | 0.63 | 38.8 | 84.32 |
| 2 | 1∶1.2 | 85 | 90 | 64.92 | 6.72 | 6.07 | 0.50 | 35.31 | 89.42 |
| 3 | 1∶0.8 | 95 | 90 | 66.02 | 8.06 | 7.56 | 0.59 | 38.69 | 84.45 |
| 4 | 1∶1.2 | 95 | 90 | 71.30 | 6.50 | 6.10 | 0.49 | 35.27 | 91.86 |
| 5 | 1∶0.8 | 90 | 60 | 76.40 | 8.33 | 7.77 | 0.62 | 38.50 | 88.11 |
| 6 | 1∶1.2 | 90 | 60 | 77.47 | 6.66 | 6.23 | 0.51 | 35.46 | 93.65 |
| 7 | 1∶0.8 | 90 | 120 | 76.72 | 8.09 | 7.82 | 0.61 | 38.44 | 88.29 |
| 8 | 1∶1.2 | 90 | 120 | 77.80 | 6.43 | 6.26 | 0.52 | 35.88 | 94.37 |
| 9 | 1∶1 | 85 | 60 | 67.00 | 7.83 | 6.14 | 0.57 | 36.56 | 88.81 |
| 10 | 1∶1 | 95 | 60 | 71.80 | 7.63 | 6.34 | 0.58 | 37.02 | 90.38 |
| 11 | 1∶1 | 85 | 120 | 69.68 | 7.69 | 6.17 | 0.54 | 36.68 | 89.02 |
| 12 | 1∶1 | 95 | 120 | 74.30 | 7.33 | 6.38 | 0.57 | 36.49 | 91.73 |
| 13 | 1∶1 | 90 | 90 | 82.38 | 7.59 | 6.56 | 0.54 | 36.38 | 92.73 |
| 14 | 1∶1 | 90 | 90 | 82.76 | 7.59 | 6.59 | 0.55 | 36.55 | 92.99 |
| 15 | 1∶1 | 90 | 90 | 81.71 | 7.57 | 6.55 | 0.55 | 37.23 | 92.43 |
| 16 | 1∶1 | 90 | 90 | 82.29 | 7.58 | 6.58 | 0.54 | 37.24 | 92.25 |
| 17 | 1∶1 | 90 | 90 | 81.90 | 7.57 | 6.53 | 0.53 | 36.42 | 92.38 |

采用 Design-Expert 8.0.6 软件对综合评分进行模型拟合,得到回归方程为 $Y=-912.276\,58+59.377\,00A+21.607\,97B-0.286\,83C+0.575\,60AB+0.022\,317AC+1.919\,50\times10^{-3}BC-49.055\,69A^2-0.123\,25B^2+5.669\,42\times10^{-4}C^2$,$r=0.993\,8$,表明模型拟合度良好。由表 4 可知,模型 $P<0.000\,1$,失拟项 $P>0.05$,表明实验模型中回归方程符合成型工艺实际操作情况,无失拟因素存在,可用于成型工艺参数优化过程的预测。回归模型中的 $A<0.000\,1$,$B<0.01$,$C<0.05$,$A^2<0.000\,1$,$B^2<0.000\,1$,$C^2<0.05$,表明其对制剂工艺影响显著,且 3 个因素对制剂工艺的影响因素为 $A>B>C$;$AB<0.05$,$AC$ 和 $BC$ 均 $>0.05$,说明 $A$ 和 $B$ 之间交互作用显著,$A$ 和 $C$ 之间及 $B$ 和 $C$ 之间交互作用不显著。由图 1 可知,$AB$ 曲面平滑,$AC$ 和 $BC$ 曲面接近于平滑,说明 $A$ 和 $B$ 之间有交互作用,$A$ 和 $C$ 及 $B$ 和 $C$ 之间无交互作用。

**表 4** 方差分析

| 来源 | 均方和 | 自由度 | 离差平方和 | $F$ 值 | $P$ 值 |
|---|---|---|---|---|---|
| 模型 | 140.34 | 9 | 15.59 | 125.22 | <0.000 1 |
| $A$ | 72.75 | 1 | 72.75 | 584.2 | <0.000 1 |
| $B$ | 5.84 | 1 | 5.84 | 46.93 | 0.000 2 |
| $C$ | 0.76 | 1 | 0.76 | 6.13 | 0.042 5 |
| $AB$ | 1.33 | 1 | 1.33 | 10.64 | 0.013 8 |
| $AC$ | 0.072 | 1 | 0.072 | 0.58 | 0.472 7 |
| $BC$ | 0.33 | 1 | 0.33 | 2.66 | 0.1467 |
| $A^2$ | 16.21 | 1 | 16.21 | 130.18 | <0.000 1 |
| $B^2$ | 39.98 | 1 | 39.98 | 321.01 | <0.000 1 |
| $C^2$ | 1.1 | 1 | 1.1 | 8.8 | 0.020 9 |
| 残差 | 0.87 | 7 | 0.12 | — | — |
| 失拟项 | 0.52 | 3 | 0.17 | 1.94 | 0.264 8 |
| 纯误差 | 0.35 | 4 | 0.089 | — | — |

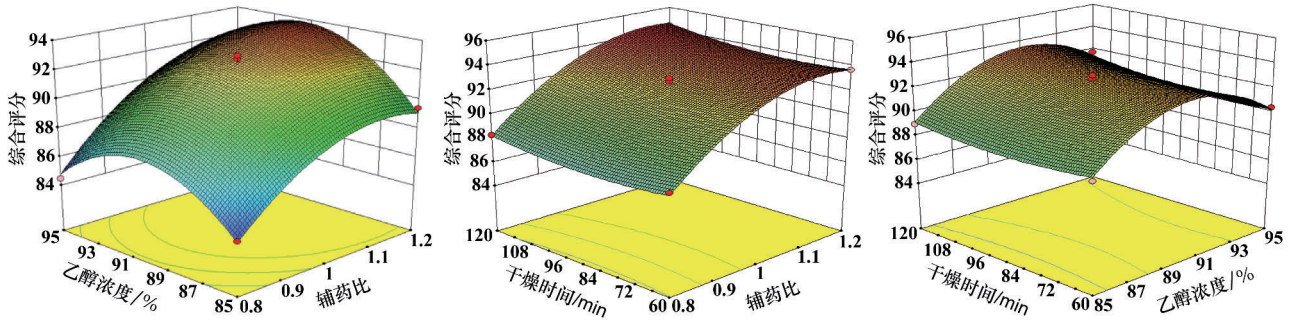



**图 1** 各因素三维响应面图

由 Design-Expert 软件分析得出最佳制剂工艺为:药辅比 1∶1.15、乙醇浓度 90.77%、干燥时间 116.70 min,综合评分为 94.65。结合实际生产情况,优选工艺为药辅比 1∶1.15、乙醇浓度 91%、干燥时间 117 min,按照此工艺进行 3 批验证实验,结果综合评分分别为 94.46,94.62 和 94.58,均值为 94.56,与预测值 94.65 接近,RSD 为 0.09%,表明该方法稳定可行。

取 3 批浸膏(批号:20190123,20190124,20190125),根据上述优选工艺,依次制成 QCC。

## 2 质量标准研究

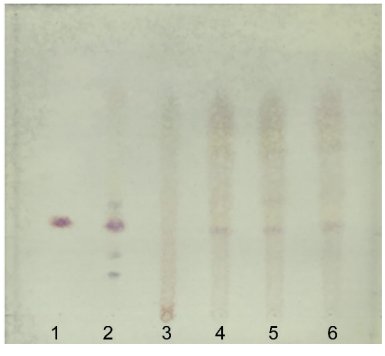
根据中药新药复方制剂质量控制的相关技术要求,本实验对所制备的胶囊进行质量标准研究。

### 2.1 性状

取 3 批胶囊(批号:20190123,20190124,20190125),分别倾出其内容物,观察颜色,嗅闻气味,尝其味道。结果,3 批胶囊内容物为深棕色的颗粒,气微臭,味苦。

### 2.2 TCL 鉴别

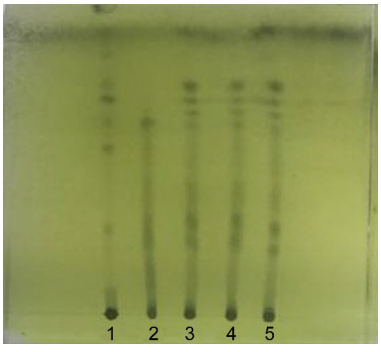
**2.2.1** 干蟾皮的薄层鉴别[8] 称取 QCC 内容物约 1 g,加 50 mL 水超声 40 min,过滤,滤液用水饱和正丁醇萃取 2 次,每次 30 mL,合并正丁醇萃取液,浓缩至干,残渣加 50% 甲醇溶解至 5 mL,即得 QCC 供试品溶液。依法制成对照药材供试品溶液、缺干蟾皮阴性供试品溶液。称取蟾蜍噻吟对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的对照品溶液。分别取各供试品溶液、对照品溶液各 10 μL 点于同一硅胶 G 板上,以正丁醇-36% 乙酸-水(4∶1∶5)上层液作为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 20% 对二甲氨基苯甲醛盐酸溶液,105 ℃ 加热至斑点显色清晰。结果见图 2,QCC 样品与蟾蜍噻吟对照品、对照药材在相同位置显颜色相同的斑点,阴性样品无干扰。




1:蟾蜍噻吟对照品;2:干蟾皮对照药材;
3:阴性对照;4~6:供试品

**图 2** 干蟾皮的薄层鉴别

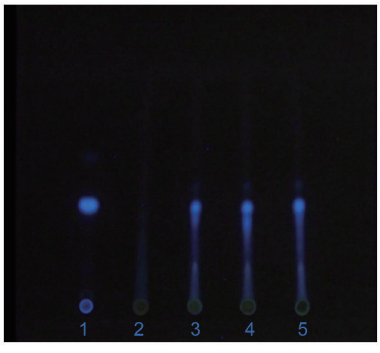
**2.2.2** 金荞麦的鉴别[9] 称取 QCC 内容物约 5 g,加入稀乙醇 50 mL,密塞,放置 1 h,加热回流 1 h,离心,取上清液,浓缩至近干,用 10 mL 水分次洗涤,加于聚酰胺柱(20 cm,湿法装柱),以 200 mL 水洗脱,再用 200 mL 乙醇洗脱,收集乙醇洗脱液,浓缩至干,用甲醇定容至 4 mL,即得 QCC 供试品溶液。依法制成对照药材供试品溶液、缺金荞麦阴性供试品溶液。分别取金荞麦对照药材溶液 2 μL、缺金荞麦阴性样品溶液 1 μL、QCC 内容物供试品溶液 1 μL 点于同一硅胶 G 板上,以石油醚(60~90 ℃)-甲酸乙酯-甲酸(12∶8∶1)上层液作为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 25% 磷钼酸乙醇溶液,105 ℃ 加热至斑点显色清晰。结果见图 3,QCC 样品与对照药材在相同位置显颜色相同的斑点,阴性样品无干扰。




1:金荞麦对照药材;2:阴性对照;3~5:供试品

**图 3** 金荞麦薄层鉴别

**2.2.3** 喜树果的鉴别[10] 称取 QCC 内容物约 1 g,加甲醇 30 mL,超声 60 min,过滤,浓缩,用甲醇定容至 5 mL,即得 QCC 供试品溶液。依法制成缺喜树果阴性供试品溶液。称取喜树碱对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的对照品溶液。分别取各供试品溶液、对照品溶液 10 μL 点于同一硅胶 G 板上,以氯仿-丙酮(7∶3)作为展开剂,取出,晾干,置于紫外灯 366 nm 下进行检视。结果见图 4,供试品与对照品在相同位置上显颜色相同的斑点,阴性样品无干扰。




1:喜树碱对照品;2:缺喜树果阴性样品;3~5:供试品

**图 4** 喜树果的薄层鉴别

## 2.3 检查

**2.3.1** 水分 取 3 批胶囊(批号:20190123,20190124,20190125)参照《中华人民共和国药典》2015 年版四部通则 0832“水分测定法第二法(烘干法)”[9]进行测定,结果见表 5。

**表 5** 检查结果

| 检查项目 | 批号 | | | 标准 |
|---|---|---|---|---|
| | 20190123 | 20190124 | 20190125 | |
| 水分/% | 6.82 | 6.84 | 6.82 | 9 |
| 装量差异/% | 符合规定 | 符合规定 | 符合规定 | 10 |
| 崩解时限/min | 13 | 13 | 12 | 30 |

**2.3.2** 装量差异 取 3 批胶囊(批号:20190123,20190124,20190125),每批 10 粒,参照《中华人民共和国药典》2015 年版四部通则 0103 胶囊剂项下“装量差异”检查法[9]进行测定,结果见表 5。

**2.3.3** 崩解时限 取 3 批胶囊(批号:20190123,20190124,20190125),每批 6 粒,参照《中华人民共和国药典》2015 年版四部通则 0921“崩解时限检查法”[9]进行测定,结果见表 5。

## 2.4 含量测定

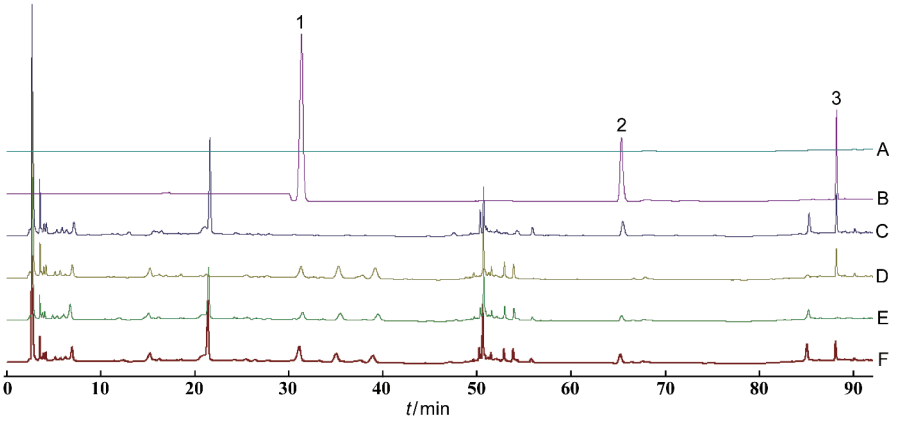
**2.4.1** 色谱条件 Diamonsil $C_{18}$柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);柱温 30 ℃;体积流量 1.0 mL·min$^{-1}$;进样量 10 μL;0~30 min 检测波长 254 nm,30~47 min 检测波长 203 nm(表儿茶素),47~80 min 检测波长 254 nm(喜树碱),80~95 min 检测波长 203 nm(人参皂苷 $Rb_1$);流动相 0.1% 磷酸水(A)-乙腈(B);梯度洗脱(0~10 min,98% A;10~12 min,98% ~93% A;12~20 min,93% ~89% A;20~43 min,89% ~88% A;43~48 min,88% ~76% A;48~75 min,76% A;75~85 min,76% ~65.5% A;85~95 min,65.5% ~59.5% A)。

**2.4.2** 对照品溶液的制备 分别取喜树碱、表儿茶素、人参皂苷 $Rb_1$ 对照品适量,精密称定,加甲醇制成浓度分别为 27.10,20.92,428.98 μg·mL$^{-1}$的对照品储备液。

**2.4.3** 供试品溶液的制备 取 QCC 内容物约 2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 100 mL,称定重量,超声提取 40 min,冷却后补足重量,摇匀,滤过,取续滤液过 0.45 μm 滤膜,即得。

**2.4.4** 方法学考察 取同批次样品(批号:20190123),按“**2.4.3**”项下方法配制供试品溶液和 3 种阴性样品溶液,进样分析。如图 5 所示,阴性样品对检测结果无干扰。表儿茶素、喜树碱、人参皂苷 $Rb_1$ 的线性回归方程(由对照品储备液逐级稀释后测定而得)分别为 $Y=119.010\,0X-10.297\,0$($r=0.999\,6$),$Y=46.474\,0X-0.911\,6$($r=0.999\,9$)和 $Y=3.930\,1X+14.113\,0$($r=0.999\,7$),分别在 0.52~16.74,0.68~21.68 和 6.70~214.49 μg·mL$^{-1}$范围内呈良好的线

性关系,其中,对照品浓度为横坐标($X$),峰面积为纵坐标($Y$)。按《中华人民共和国药典》2015 年版进行了精密度、重复性、稳定性等研究,精密度(同一份对照品溶液连续测定 6 次):3 种对照品峰面积的 RSD 值依次为 0.79%,0.65%,0.66%。重复性(平行制备 6 份供试品溶液进行测定):3 种成分的平均质量分数依次为 0.156 9,0.195 8,3.118 1 mg·g$^{-1}$,对应的 RSD 值依次为 2.80%,1.93%,2.28%。稳定性(0,2,4,8,12,24 h):3 种成分峰面积的 RSD 值依次为 2.76%,1.07%,2.41%。加样回收率($n$ = 6):3 种成分的平均加样回收率依次为 97.11%,99.33%,99.18%,对应的 RSD 值依次为 1.73%,1.68%,2.21%。结果均符合药典要求,表明该方法稳定可行,可以用于 QCC 含量测定。




A:空白溶剂;B:对照品;C:缺金荞麦阴性对照;D:缺喜树果阴性对照;E:缺西洋参阴性对照;F:QCC;1:表儿茶素;2:喜树碱;3:人参皂苷 $Rb_1$

**图 5** HPLC 色谱图

**2.4.5** 样品含量测定 取 3 批 QCC(批号:20190123,20190124,20190125),按“**2.4.3**”项下方法配制供试品溶液,进样分析。结果 3 批 QCC 中表儿茶素、喜树碱、人参皂苷 $Rb_1$ 平均含量分别为 0.158 8(RSD = 3.55%),0.196 7(RSD = 1.90%)和 3.091 3 mg·g$^{-1}$(RSD = 0.49%)。综合上述 3 批样品的测定结果,在平均含量的基础上分别下调 20%,拟暂定每粒胶囊中含指标物质按表儿茶素、喜树碱、人参皂苷 $Rb_1$ 计,分别不得少于 0.03,0.04,0.63 mg。

## 讨 论

本实验在 QCC 制剂工艺参数的优化过程中,不仅以成型率为评价指标,还引入了一系列粉体学评价指标。干燥失重是指颗粒中挥发性成分及水分含量,影响颗粒的润滑性能;吸湿性指颗粒在一定温度和湿度下吸附水分的能力,用以表征颗粒的稳定性;振实密度是指在规定条件下容器中的颗粒经振实后所测得的单位容积的质量,表征颗粒堆积能力;休止角的测定方法常用固定漏斗法,表征颗粒的流动性[11-13]。本实验以颗粒的成型率最大值、干燥失重最小值、吸湿率最小值、振实密度最大值、休止角最小值为参照值分别进行归一化处理,从成型性、稳定性、堆积性、流动性等方面综合评价胶囊内容物的性质,为其他中药固体制剂优选成型工艺提供新思路。

中药制剂应以临床功效为导向构建中药质量控制体系,制定中药标准[14]。QCC 中干蟾皮、壁虎为君药,但两药各占处方量的 4%。干蟾皮抗肿瘤成分为蟾蜍二烯羟酸内酯类化合物[5],前期实验中发现华蟾酥毒基、酯蟾毒配基在胶囊内容物中响应值极低,且蟾蜍噻吟在中国食品药品检定研究院无法购买,故使用本课题组经分离、结构鉴定确定的蟾蜍噻吟[5]进行薄层色谱定性鉴别研究。壁虎抗肿瘤成分为多糖类、蛋白质多肽类化合物[15],西洋参药材中多糖类成分同样具有抗肿瘤作用[16];干蟾皮中同样含有蛋白质多肽类化合物,对壁虎进行氨基酸鉴别时,阴性样品存在干扰,故无法对胶囊内容物中守宫多糖、蛋白质多肽类化合物进行定性定量控制。喜树果、金荞麦两药共为臣药,攻削癌瘤,解毒散结,破血化瘀;佐药西洋参补气养阴,共奏消癥解毒、益气活血、化瘀止痛之效[9,17]。金荞麦中表儿茶素具有抗癌抗氧化等作用[18-19];喜树果中喜树碱具有明显的抗癌抗肿瘤作用[20-21];西洋参中人参皂苷 $Rb_1$

具有抗癌消炎等作用,能抑制肿瘤生长因子及逆转肿瘤细胞耐药性[22-23]。基于中医药理论及相关药理学研究,最终选择复方中响应值较大的有效成分表儿茶素、喜树碱、人参皂苷 $Rb_1$ 作为定量指标。

本实验以药辅比、乙醇浓度和干燥时间为考察因素,以成型率、干燥失重、吸湿率、振实密度、休止角的综合评分为评价指标,采用 Box-Behnken 设计-响应面法结合 G1-熵权组合赋权法优化 QCC 的制剂工艺[24]。结果表明,模型预测值与实测值接近,说明其具有实际利用价值,可用于新药研发工艺优化。优化后的制剂工艺为药辅比 1∶1.15、乙醇浓度 91%、干燥时间 117 min。本实验对 QCC 进行检查,结果均符合药典规定;定性鉴别了 QCC 中干蟾皮、金荞麦和喜树果;通过 HPLC 波长切换法同时测定了 QCC 中表儿茶素、喜树碱、人参皂苷 $Rb_1$ 含量,并初步拟定每粒胶囊中含表儿茶素不得少于 0.03 mg、喜树碱不得少于 0.04 mg、人参皂苷 $Rb_1$ 不得少于 0.63 mg。本实验优选出的 QCC 制剂工艺稳定可行,质量控制方法较为系统全面,可为 QCC 的新药研发及工业化生产奠定基础。

## [ 参 考 文 献 ]


[1] 国家市场监督管理总局. 药品注册管理办法[EB/OL]. [2020-01-22]. http://gkml.samr.gov.cn/nsjg/fgs/202003/t20200330_313670.html.

[2] 康超超, 王学成, 伍振峰, 等. 当归原生粉乙醇灭菌工艺优化及其品质比较研究[J]. 中草药, 2019, 50(6): 1341-1347.

[3] 李俊萍, 张爽, 王谦博, 等. 基于G1-熵权法和正交设计多指标优化刺五加提取工艺[J]. 中国新药杂志, 2019, 28(7): 871-876.

[4] 王继龙, 魏舒畅, 刘永琦, 等. 基于G1-熵权法和正交设计优选黄芪百合颗粒的提取纯化工艺[J]. 中草药, 2018, 49(3): 596-603.

[5] 曾洋. 干蟾皮提取纯化工艺及化学成分研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2012.

[6] 宋艺君, 郭涛, 王民波, 等. 响应面法优化蜜款冬花微波炮制工艺研究[J]. 中国新药杂志, 2020, 29(6): 692-700.

[7] 胡文军, 吴艳萍, 潘卫三, 等. 栀灵复方颗粒的成型工艺优化及其对小鼠自主活动的影响[J]. 中国新药杂志, 2020, 29(6): 710-714.

[8] 庄美芳, 梁桃圣. 干蟾皮质量标准研究[J]. 中国药房, 2008, 19(30): 2363-2365.

[9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 2015 年版. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.

[10] 秦庆芳, 粟本超. 喜树碱及其衍生物定性定量分析方法的研究进展[J]. 中国药房, 2014, 25(25): 2388-2391.

[11] 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.

[12] 李淞明, 周永全, 王玲, 等. 中药浸膏粉物理性质及其表征方法的研究进展[J]. 中成药, 2015, 37(11): 2491-2494.

[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] 张宏, 夏伟, 张磊, 等. 中药应以临床功效为导向进行质量标准研究[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(12): 3686-3688.

[15] 侯新楠. 壁虎抗肿瘤研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2008.

[16] 尚金燕, 李桂荣, 邵明辉, 等. 西洋参的药理作用研究进展[J]. 人参研究, 2016, 28(6): 49-51.

[17] 四川省食品药品监督管理局. 四川省中药材标准[S]. 2010.

[18] GRANADO-SERRANO AB, ANGELES MARTÍN M, GOYA L, *et al*. Time-course regulation of survival pathways by epicatechin on HepG2 cells[J]. *J Nutr Biochem*, 2009, 20(2): 115-124.

[19] 张晓琳, 周跃斌, 刘昌伟. (-)-表儿茶素药理活性及其机制进展研究[J]. 福建茶叶, 2018, 40(9): 3-6.

[20] MARTINO E, DELLA VOLPE S, TERRIBILE E, *et al*. The long story of camptothecin: From traditional medicine to drugs[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27(4): 701-707.

[21] 罗兴训, 李鹏, 陈琴华. 喜树碱及其衍生物药理活性与合成研究进展[J]. 中医药导报, 2017, 23(7): 83-86.

[22] HOANG T, RAMADASS K, LOC TT, *et al*. Novel drug delivery system based on ginsenoside $Rb_1$ loaded to chitosan/alginate nanocomposite films[J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2019, 19(6): 3293-3300.

[23] 贾继明, 王宗权, 吴立军, 等. 人参皂苷 $Rb_1$ 的药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(12): 1371-1377.

[24] 祝宇,余世荣,张晓燕,等.层次分析联合 Box-Behnken 响应面法优选复方肉苁蓉合剂提取工艺[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(23):40-46.


编辑:刘卓越/接受日期:2020-10-19