

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

徐冰^{1,2}, 崔向龙¹, 杨婵¹, 王馨¹, 史新元^{1,2*}, 乔延江^{1,2*}

(1. 北京中医药大学 中药信息工程研究中心, 北京 100029;

2. 北京市科委 中药生产过程控制与质量评价北京市重点实验室, 北京 100029)

[摘要] 质量源于设计(QbD)强调“以终为始”,即首先对目标产品质量进行透彻理解,进而指导药品工艺开发和生产质量控制的全过程。该文以银杏叶片颗粒中间体为对象,以片剂抗张强度要求为目标,建立了颗粒物理关键质量属性(CQAs)辨识及其限度范围制定的方法。首先采用正交偏最小二乘法(OPLS)建立29批颗粒粉体学性质和银杏叶片抗张强度关联模型,以变量投影重要性(VIP)筛选颗粒潜在关键质量属性(pCQAs)。按照VIP由小到大逐一删减OPLS模型中的pCQAs变量,发现模型校正和预测性能无降低趋势,结合pCQAs共线性和易测性,确定颗粒中值粒径(D_{50})和松装密度(D_a)为关键质量属性。采用多元线性回归模型建立 D_{50} 和 D_a 与片剂抗张强度的关系模型,基于模型开发颗粒关键质量属性设计空间。由设计空间确定颗粒CQAs目标控制区域为 $170\ \mu\text{m} < D_{50} < 500\ \mu\text{m}$ 和 $0.30\ \text{g} \cdot \text{cm}^{-3} < D_a < 0.44\ \text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$,研究结果为银杏叶片湿法制粒工艺控制和优化提供了依据。

[关键词] 关键质量属性; 设计空间; 正交偏最小二乘法; 变量投影重要性; 中药湿法制粒

Application of quality by design in granulation process for ginkgo leaf tablet (II): identification of critical quality attributes

XU Bing^{1,2}, CUI Xiang-long¹, YANG Chan¹, WANG Xin¹, SHI Xin-yuan^{1,2*}, QIAO Yan-jiang^{1,2*}

(1. *Research Center of Traditional Chinese Medicine Information Engineering, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;*

(2. *Beijing Key Laboratory for Production Process Control and Quality Evaluation of Traditional Chinese Medicine, Beijing Municipal Science & Technology Commission, Beijing 100029, China)*

[Abstract] Quality by design (QbD) highlights the concept of "begin with the end", which means to thoroughly understand the target product quality first, and then guide pharmaceutical process development and quality control throughout the whole manufacturing process. In this paper, the *Ginkgo biloba* granules intermediates were taken as the research object, and the requirements of the tensile strength of tablets were treated as the goals to establish the methods for identification of granules' critical quality attributes (CQAs) and establishment of CQAs' limits. Firstly, the orthogonal partial least square (OPLS) model was adopted to build the relationship between the micromeritic properties of 29 batches of granules and the tensile strength of ginkgo leaf tablets, and thereby the potential critical quality attributes (pCQAs) were screened by variable importance in the projection (VIP) indexes. Then, a series of OPLS models were rebuilt by reducing pCQAs variables one by one in view of the rule of VIP values from low to high in sequence. The model performance results demonstrated that calibration and predictive performance of the model had no decreasing trend after variables reduc-

[收稿日期] 2016-09-28

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81403112);北京市自然科学基金项目(7154217);中药生产过程控制与质量评价北京市重点实验室2015年度科技创新基地培育与发展专项(Z151100001615065);北京中医药大学自主选题项目(2016-JYB-XS051)

[通信作者] *史新元,教授,研究方向为中药制药过程分析与控制, Tel: (010)84738620, E-mail: shixinyuan01@163.com; *乔延江,教授,博士生导师,主要从事中药信息学研究, Tel: (010)84738661, E-mail: yjqiao@263.net

[作者简介] 徐冰,主要研究方向为中药质量与先进工艺控制, Tel:(010)84738650, E-mail: xubing@bucm.edu.cn

tion. In consideration of the results from variables selection as well as the collinearity test and testability of the pCQAs, the median particle size (D_{50}) and the bulk density (D_a) were identified as critical quality attributes (CQAs). The design space of CQAs was developed based on a multiple linear regression model established between the CQAs (D_{50} and D_a) and the tensile strength. The control constraints of the CQAs were determined as $170 \mu\text{m} < D_{50} < 500 \mu\text{m}$ and $0.30 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3} < D_a < 0.44 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ according to the design space, which provided a basis for controlling and optimizing the wet granulation process of the ginkgo leaf tablet.

[Key words] critical quality attribute; design space; orthogonal partial least square; variable importance in the projection; Chinese materia medica wet granulation

质量源于设计(quality by design, QbD)^[1]应用于药品研发或生产质量控制,包括以下步骤:①定义产品目标质量概况(quality target product profile, QTPP)^[2];②辨识产品关键质量属性(critical quality attributes, CQAs)和关键工艺参数(critical process parameters, CPPs)^[3];③建立反映关键原料属性(critical material attribute, CMA)、关键工艺参数和产品关键质量属性之间的多维相互作用的数学模型,并在此基础上开发工艺设计空间^[4];④建立过程控制策略,开展过程持续质量改进。由上述步骤可知,QbD方法强调“以终为始”,即对产品的质量特性要有透彻的理解。产品关键质量属性的辨识及其限度范围的制定是进行工艺开发的首要步骤,并在相当大程度上决定了工艺开发或生产质量控制工作的有效性。

ICH Q8(R2)将关键质量属性定义为:一种物理的、化学的、生物的或者微生物的性质或特征,其应当具有合适的限度、范围或分布,以确保获得预期的产品质量^[5]。对银杏叶片湿法制粒过程而言,过程输出为颗粒。颗粒质量属性众多,如密度、粒径、孔径、吸湿性、含水量、流动性等^[6],但并非都具备关键性(criticality)的特点。判断某颗粒质量属性是否关键,要看其对后续工艺,以及对终产品质量的影响。鉴于银杏叶片活血化瘀通络的临床功效,其关键质量属性应包括有效成分含量、含量均匀度、崩解时限或溶出度、片剂稳定性、硬度等,他们共同决定了银杏叶片是否安全有效、稳定可控。在系统的QbD研究中,需要结合风险管理工具理解中间体颗粒对每一项产品关键质量属性的影响。本文以银杏叶片抗张强度为目标,采用QbD“以终为始”的研究思路,从满足片剂成型性和机械强度的需求出发,反推颗粒中间体应具备的关键质量属性,为银杏叶片湿法制粒工艺控制和优化明确目标和方向,同时也为其他中药产品的工艺研究提供新的思路。

1 材料

银杏叶颗粒自制,羧甲基淀粉钠(台湾永日化

学工业股份有限公司,批号SSG0014065),氢氧化铝(石家庄五岳制药厂,批号15120101),硬脂酸镁(国药集团化学试剂有限公司,批号20121010)。

三维混合机(ZNW-10,北京兴时利和科技发展有限公司),旋转压片机(ZP-10,上海信源制药机械有限公司),片剂硬度仪(YD-II,天津精拓仪器有限公司),厚度计(547-401,日本Mitutoyo公司)。

2 方法

2.1 颗粒中间体和片剂制备 采用高剪切制粒工艺制备29批颗粒样品,分别将硬脂酸镁(1%)、氢氧化铝(3%)和羧甲基淀粉钠(3%)外加入颗粒样品中,并置入ZNW-10型三维混合机中进行总混,混合时间20 min,转动频率38.13 Hz。将各批混合好的颗粒样品采用ZP-10型旋转压片机在相同条件下压片:以12号冲模压片,最大主压力55 kN,预压厚度2.8 mm,压片厚度2.4 mm,旋转转速 $12 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,制备片剂(素片)密封遮光保存。

2.2 片剂机械强度测定 采用抗张强度(tensile strength, TS)表征片剂的机械性能^[7],TS计算公式如下。

$$TS = \frac{2P}{\pi DT} \quad (1)$$

上式中, P 为药片破碎力(N),采用YD-II型片剂硬度仪测定; D 为药片直径(mm), T 为药片厚度(mm),均采用547-401型厚度计测定。从每批颗粒样品制备的片剂中,随机选择3片进行TS测试,并取平均值。

2.3 颗粒关键质量属性设计空间构建 运用多变量统计方法从银杏叶颗粒物理指纹谱中筛选关键质量属性,其中颗粒物理指纹谱由16个物理指标构成^[8]。以银杏叶颗粒CQAs为输入变量,片剂抗张强度为输出变量(即响应变量),采用多元线性回归方法建立输入变量和输出变量之间的关系模型。基于模型在输入变量空间内搜索满足TS目标范围的CQAs空间子集,由该子集构成了银杏叶颗粒CQAs设计空间。设计空间内中间体颗粒的性质可满足片

剂成型性和机械强度的需求。而 CQAs 设计空间也决定了颗粒关键质量属性限度范围。

3 数据分析软件

采用 Matlab(version 2009a, 美国 Math Works 公司)软件进行变量共线性检查和相关性分析。采用 SIMCA-P(version 12.0, 瑞典 MKS Umetrics 公司)软件建立正交偏最小二乘(OPLS)模型。银杏叶颗粒关键质量属性设计空间的构建采用 Design Expert(version 8.0, 美国 Stat-Ease 公司)软件实现。

4 结果与讨论

4.1 银杏叶片 TS 分析 对 29 批次颗粒制备的银杏叶片剂抗张强度进行测定,结果见表 1。第 4,6,12,20,26,27 批颗粒无法压缩成型。其余 23 批颗粒压制的银杏叶片抗张强度分布在 $0.03 \sim 0.52 \text{ N} \cdot \text{mm}^{-2}$,均值为 $0.31 \text{ N} \cdot \text{mm}^{-2}$ 。

表 1 片剂的抗张强度

Table 1 Tensile strength of tablets

No.	抗张强度 / $\text{N} \cdot \text{mm}^{-2}$	No.	抗张强度 / $\text{N} \cdot \text{mm}^{-2}$
1	0.264	16	0.031
2	0.470	17	0.438
3	0.506	18	0.304
4	-	19	0.345
5	0.292	20	-
6	-	21	0.158
7	0.522	22	0.104
8	0.500	23	0.093
9	0.502	24	0.434
10	0.396	25	0.457
11	0.479	26	-
12	-	27	-
13	0.320	28	0.158
14	0.185	29	0.056
15	0.089		

注: - . 无法压缩成型。

4.2 颗粒潜在关键质量属性筛选 用多变量统计建模方法分析颗粒粉体学性质对片剂抗张强度的影响,从众多颗粒属性指标中辨识潜在关键质量属性(potential critical quality attributes, pCQAs)。以 23 批次颗粒的物理指纹谱为自变量,以片剂抗张强度为因变量,将自变量数据均值标准化处理后,采用正交偏最小二乘模型建立“颗粒-片”关联模型。采用模型校正决定系数 $R_{(x)}^2$ 、预测决定系数 $R_{(y)}^2$ 和交叉验证决定系数 Q^2 评价模型质量,其中 $R_{(x)}^2$ 和 $R_{(y)}^2$ 越接近 1 表示模型拟合效果越好, $Q^2 > 0.5$ 表示模

型预测性能较高。本研究中,潜变量因子数选取 1,模型的 $R_{(x)}^2 = 0.640$, $R_{(y)}^2 = 0.769$, $Q^2 = 0.734$ 表明所建模型具有较好的解释性和预测性。

提取 OPLS 模型中各输入变量回归系数,见图 1,片剂抗张强度与颗粒相对均齐度指数($I\theta$)、纵横比(AR)、豪斯纳比(IH)、休止角(α)、颗粒间孔隙率(I_e)、卡尔指数(IC)、比表面积(SSA)、孔体积(PV)、中值孔径(P_{50})、干燥失重(%HR)和吸湿性(%H)呈正相关,与颗粒 D_{10} 、 D_{50} 、 D_{90} 、松装密度(D_a)、振实密度(D_c)、粒径分布宽度(Span)、粒径分布范围(Width)、颗粒流动时间(t'')呈负相关。其中颗粒粒度减小提高了粒子间的结合能力^[9]。颗粒的密度和卡尔指数是粒子间摩擦力的体现,反映了粉体的松软状态和凝聚性^[10]。粉体呈松软状态时,粒子间的结合位点较多,机械嵌合作用越大,压缩时粉体变形空间大,易发生塑性形变形成密实状态,制备的片剂抗张强度较大。颗粒的流动性在一定程度上影响颗粒的填充性,流动性好的颗粒其在模槽中填充比较均一,压缩成型性提高。粒径分布均匀,提高流动性,利于压片。进一步采用变量投影重要性(variable importance in the projection, VIP)指数评价各输入变量重要程度,见图 2。由 VIP 值排序图可知 D_c 、 D_a 、 t'' 、 D_{10} 、 D_{50} 、 D_{90} 、 I_e 、IC、Width、IH、SSA、 α 和 $I\theta$ 的 VIP 值均大于 1,可作为颗粒中间体 pCQAs。

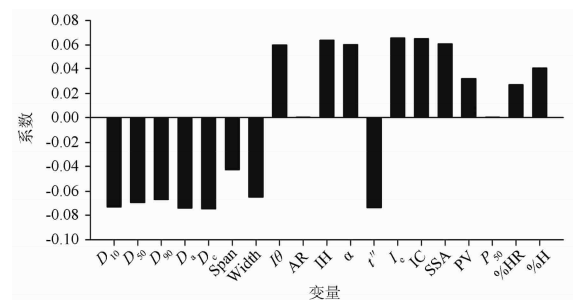


图 1 模型自变量回归系数

Fig. 1 Regression coefficients of the OPLS model

4.3 潜在关键质量属性相关性分析 使用方差膨胀因子(variance inflation factor, VIF)评价 13 个 pCQAs 指标的共线性程度,结果见表 2。一般来说, VIF 低于 10 时表明弱共线性;在 10 ~ 100 表明较强的共线性; > 100, 存在严重多重共线性^[11]。由表 3 可知,除颗粒的比表面积外其余性质指标的 VIF 均大于 10,表明各潜在关键质量属性之间存在较强的

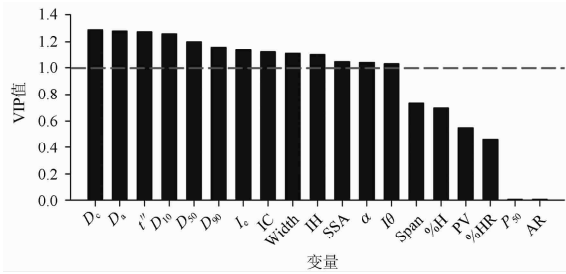


图2 模型的VIP分布

Fig. 2 VIP indexes for independent variables of the OPLS model

多重共线性。由中值粒径和比表面积的散点图可知第2批和第3批颗粒为离群样本,剔除离群值后,中值粒径和比表面积决定系数 $R^2 = 0.76$,亦存在线性相关,见图3。

表2 颗粒粉体学性质组建联合矩阵的共线性检验

Table 2 Collinearity diagnostics of granules' properties

变量	VIF
D_{10}	1.588×10^{14}
D_{50}	6.307×10^2
D_{90}	3.495×10^{15}
D_a	3.724×10^3
D_c	1.68×10^3
Width	2.252×10^{15}
l_0	13.18
IH	2.327×10^3
α	19.97
t''	14.20
I_c	4.949×10^2
IC	2.781×10^3
SSA	3.893

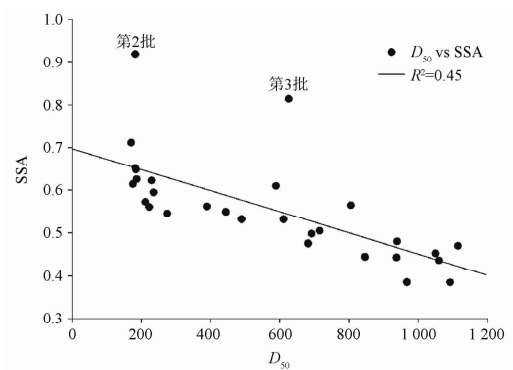


图3 中值粒径和比表面积的散点图

Fig. 3 Scatter plot of D_{50} and SSA

4.4 颗粒关键质量属性辨识 银杏叶片制粒过程中,无法对13个pCQAs作为目标同时进行控制。考虑到pCQAs之间的共线性关系,本文进一步通过

逐渐删减变量建立OPLS模型并进行性能评价进行CQAs的辨识。按照pCQAs的VIP小到大的顺序,依次删减并重新建立OPLS模型。每删减一个pCQA建立OPLS模型后,对相应的模型性能评价指标进行记录,见图4。

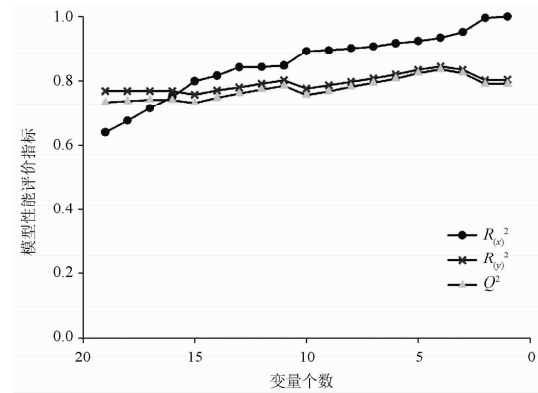


图4 随变量数递减模型的性能变化趋势

Fig. 4 The performance change trend of the model with decreasing number of variables

由图4可见,随着自变量的减少,模型的校正和预测性能指标呈上升趋势。此结果提示对少数潜在关键质量属性进行控制,仍可以满足对片剂机械性能的预测力。综合考虑各潜在关键质量属性指标的重要性和易测性,选择颗粒中值粒径和松装密度作为颗粒中间体CQAs。以成型性良好的第7批颗粒和无法压制成药片的第27批颗粒为例,由其电子扫描显微镜图,见图5,可看出第7批颗粒粒度小,表面糙度且有裂缝、空洞和凹陷等,比表面积较大,利于颗粒间的机械咬合^[12],片剂成型性高,抗拉强度大;第27批颗粒的粒度大,粒子间孔隙少,表面光滑,受压变形时相互嵌合产生的机械结合力小,导致其压片时无法成型。

4.5 关键质量属性限度范围的确定 以23批银杏叶颗粒关键质量属性中值粒径 D_{50} 和松装密度 D_a 为自变量,以相应的银杏叶片关键质量属性 TS 为因变量,对自变量标准化处理后,建立自变量和因变量之间的二元线性回归模型 $TS = 0.24 - 0.034D_{50} - 0.25D_a$ 。

模型的决定系数 $R^2 = 0.879$ 、校正决定系数 $R_{adjust}^2 = 0.869$ 、预测决定系数 $R_{pred}^2 = 0.838$,表明模型的解释和预测能力良好。模型的 $P < 0.0001$,表明模型具有统计学意义。上式中, D_{50} 和 D_a 的回归系数均为负值,表明颗粒的中值粒径和松装密度与

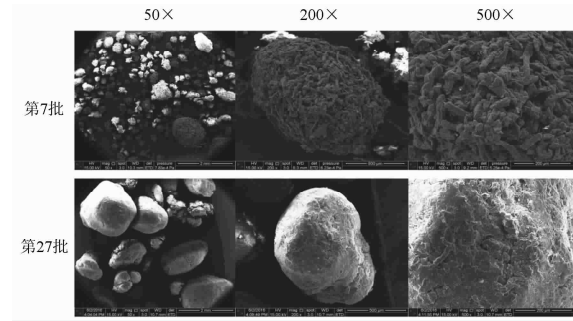
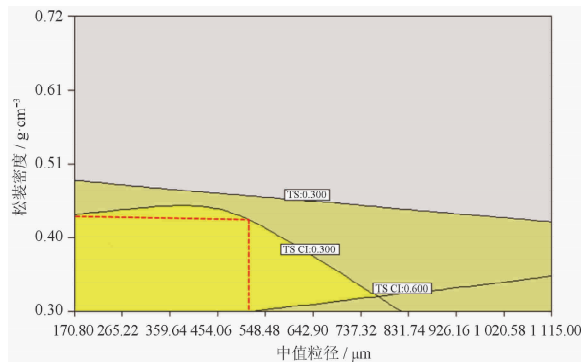


图5 银杏叶颗粒电镜图

Fig. 5 Scanning electron microscope of *Ginkgo biloba* granules

银杏叶片的机械强度呈负相关。

将银杏叶片抗张强度约束在 $0.30 \sim 0.60 \text{ N} \cdot \text{mm}^{-2}$, 在 D_{50} 和 D_a 参数空间内搜索满足约束条件的空间子集, 即构成银杏叶颗粒关键质量属性二维设计空间。考虑到设计空间边界不确定性, 向设计空间边界加入 95% 的置信区间缩减其区域范围, 见图 6。设计空间内所有 CQAs 的估计值都符合片剂抗张强度目标要求。



暗黄色区域为置信区间决定的设计空间边界, 亮黄色区域为优化后的颗粒关键质量属性设计空间; 红色矩形窗口为控制空间。

图6 银杏叶颗粒关键质量属性设计空间

Fig. 6 Design space of two critical quality attributes of *Ginkgo biloba* granules

在银杏叶湿法制粒工艺中, 应控制工艺参数使颗粒关键质量属性落在所建颗粒关键质量属性设计空间内。为方便颗粒 CQAs 控制, 可在 CQAs 设计空间内选定一控制空间, 并明确颗粒 CQAs 限度范围为 $170 \mu\text{m} < \text{中值粒径} < 500 \mu\text{m}$ 和 $0.30 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3} < \text{松装密度} < 0.44 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ 。

5 结论

在中药湿法制粒实践中, 颗粒质量控制多依赖经验。如中药挤压制粒中“手握成团、轻压即散”是

软材评价金标准, 并影响颗粒性质。本研究通过银杏叶片制粒工艺颗粒中间体和片剂抗拉强度之间关联性分析, 辨识中值粒径和松装密度为银杏叶颗粒 CQAs, 并由片剂抗拉强度范围确定颗粒 CQAs 控制范围, 为银杏叶片制粒工艺提供可量化的控制目标。在生产过程中, 对于中间体 CQA 测定方法的选择需要兼顾速度和可靠性。本文中, 松装密度的测定方法较为便捷; 而中值粒径的测定耗时较长, 后续研究可考虑采用合适的过程分析技术 (process analytical technology, PAT) 工具替代图像粒度分析方法, 提高中间体的分析放行效率。

[参考文献]

- [1] 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.
- [2] FDA. Draft guidance for industry and review staff; target product profile—a strategic development process tool [S]. 2007.
- [3] 崔雅华, 王茜, 徐冰, 等. 质量源于设计: 基于知识组织的中药生产潜在关键工艺参数的辨识[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(12): 1.
- [4] Pallagi E, Karimi K, Ambrus R, et al. New aspects of developing a dry powder inhalation formulation applying the quality-by-design approach [J]. Int J Pharm, 2016, 511(1): 151.
- [5] International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Pharmaceutical development. Q8(R2) [EB/OL]. [2016-12-28]. http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q8_R1/Step4/Q8_R2_Guideline.pdf.
- [6] Oka S, Kašpar O, Tokárová V, et al. A quantitative study of the effect of process parameters on key granule characteristics in a high shear wet granulation process involving a twocomponent pharmaceutical blend [J]. Adv Powder Tech, 2015, 26(1): 315.
- [7] Podczeczek F, Drake K R, Newton J M. Investigations into the tensile failure of doubly-convex cylindrical tablets under diametral loading using finite element methodology [J]. Int J Pharm, 2013, 454(1): 412.
- [8] 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.
- [9] 李晓海, 赵立杰, 冯怡, 等. 物理性质对微晶纤维素可压缩性和成型性的影响[J]. 中国药理学杂志, 2013, 48(2): 116.
- [10] 蔡光先. 中药粉体工程学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 107.
- [11] O'Brien R M. A caution regarding rules of thumb for variance inflation factors [J]. Qual Quant, 2007, 41: 673.
- [12] Bolhuis G K, Engelhart J J P, Eissens A C. Compaction properties of isomalt [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2009, 72(3): 621.

[责任编辑 孔晶晶]