

基于危害及可操作性分析的设计空间 法优化红参醇提工艺

赵芳, 龚行楚, 瞿海斌*

(浙江大学药学院药物信息学研究所, 浙江 杭州 310058)

[摘要] 基于质量源于设计理念,采用危害及可操作性分析法与设计空间法对红参醇提工艺进行优化。首先采用危害及可操作性分析法结合实际生产对醇提工艺进行风险评估,确定乙醇浓度、醇料比和提取时间为关键工艺参数,然后采用 Box-Behnken 设计法建立关键工艺参数和工艺评价指标间的数学模型,在此基础上计算设计空间,最终选取的操作空间为:醇浓度 90.3%~90.7%,醇料比 2.5~3.1 mL·g⁻¹,每次提取时间 124~130 min。结果表明,该研究方法能降低红参醇提工艺各参数的风险水平,为提高工艺控制水平提供了新思路。

[关键词] 红参;提取;质量源于设计;危害及可操作性分析;设计空间

Optimization of ethanol reflux extraction process of red ginseng using a design space approach based on hazard and operability analysis

ZHAO Fang, GONG Xing-chu, QU Hai-bin*

(Pharmaceutical Informatics Institute, College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

[Abstract] Quality by design principle was used as a guideline in this study to optimize ethanol reflux extraction of red ginseng. Firstly, hazard and operability analysis (HAZOP) was used as a risk assessment tool to evaluate the hazard degree of process parameters. Ethanol concentration, the ratio of alcohol and herbal material (A/M ratio), and extraction time were identified as the critical process parameters (CPPs) according to HAZOP method. Secondly, Box-Behnken experimental design was applied to establish regression models between CPPs and the process indices. Finally, the design space was calculated. The recommended operation space of parameters is as follows: alcohol concentration of 90.3%~90.7%, A/M ratio of 2.5~3.1 mL·g⁻¹ and extraction time of 124~130 min. The study shows that the design space approach combined with the risk assessment using HAZOP has the potential to reduce the risk of red ginseng extraction process, which might ultimately improve the process control.

[Key words] red ginseng; extraction; quality by design; hazard and operability analysis; design space

近年来,在美国 FDA 倡导下,质量源于设计 (quality by design, QbD) 理念在国际制药领域产品和工艺的开发和优化中得到大力推行^[1]。QbD 理念基于质量风险管理技术,强调理解药品及其生产过程,重视生产过程控制,建立能够确保产品质量的生产过程输入(如物料性质)和过程参数组合的范围,即设计空间。俞翔等较早将 QbD 理念应用于中

药生产过程质量控制^[2],有助于理解中药生产工艺,提高质量控制水平。随后多位研究者报道了利用风险分析和试验设计等手段在中药提取^[3-5]、醇沉^[6-7]、水沉^[8]、色谱^[9]、脱色^[10]等工艺环节建立设计空间的案例。

危害及可操作性分析 (hazard and operability analysis, HAZOP) 是常用的风险分析方法^[11]。

[收稿日期] 2017-01-03

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81373893)

[通信作者] * 瞿海斌,教授,主要从事中药制药过程质量控制研究,Tel:(0571)88208428,E-mail:quhb@zju.edu.cn

[作者简介] 赵芳,博士研究生,E-mail:z_fang@zju.edu.cn

HAZOP法假设生产中的风险事件是由设计或操作产生了偏差而导致的,已在石油、化工、食品和医药等领域得到了广泛应用^[12]。将HAZOP应用于辨识中药生产过程中的潜在危害参数(potential hazardous parameter, PHP),有助于提升中药生产过程的质控水平。

参麦注射液是在中医古方“生脉散”基础上研制的中药制剂,在临床上主要用于心力衰竭、心律不齐等心血管疾病的治疗,另外也常用作抗肿瘤药的辅助用药,由红参和麦冬2味药材经醇提水沉工艺制得^[13-14]。本研究以红参乙醇回流提取为例,采用HAZOP法对工艺参数进行风险评估,辨识高风险的PHP,将可控性强的PHP作为关键工艺参数(critical process parameters, CPP)。在此基础上采用试验设计方法建立CPP与评价指标之间的定量模型,构建提取工艺设计空间并进行验证,达到降低工艺风险的目的。

1 材料

分析天平(AB204-N, XS105, 梅特勒-托利多上海有限公司)、电子天平(SE6001, 奥豪斯仪器有限公司)、超纯水机(Milli-Q, 美国 Millipore 公司)、电热恒温鼓风干燥箱(DHG-9123A, 上海精宏实验设备有限公司)、高效液相色谱仪(Agilent 1100型, Agilent 科技有限公司, 配四元梯度泵、自动进样器、柱温箱、紫外检测器、ELSD检测器、ChemStation工作站)、恒温槽(THD-1008W, 宁波天恒仪器厂)、紫外可见分光光度计(Cary60, Agilent 公司)。

红参(产地吉林,批号20141014,大理药业股份有限公司提供)。果糖对照品[批号B1625030,阿拉丁试剂(上海)有限公司],蔗糖对照品[批号WXBB0906V,西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司],麦芽糖对照品[批号SLBL5443V,西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司]。人参皂苷Rg₁对照品(批号140729),人参皂苷Re对照品(批号140721),人参皂苷Rb₁对照品(批号140723),人参皂苷Rc对照品(批号160507),人参皂苷Rb₂对照品(批号160323),人参皂苷Rd对照品(批号140719),均购自上海融禾医药科技有限公司;人参皂苷Rf对照品由吉林大学陈燕萍教授提供。无水乙醇购自上海凌峰化学试剂有限公司,去离子水由水纯化系统(Milli-Q, Milford 公司)制备,色谱纯乙腈购自Merck公司。

• 1068 •

2 方法

2.1 HAZOP 风险评估

根据项目风险可接受标准的要求,对红参的乙醇回流提取所使用的工艺参数进行系统评估。HAZOP法进行风险分析的步骤包括^[15]:①组成由研究人员、车间技术人员和操作人员形成的评价小组,确定分析对象;②整理出工艺所涉及的所有参数,分析存在的危害及程度,辨识出PHP,当易控时将其作为CPP;③选择引导词(guide-words),如多余、过大、过小、部分、其他等,对相应参数的偏差进行描述;④按关键词逐一分析每个操作步骤可能产生的偏差,确认实际生产中所存在的可能产生偏的参数;⑤参照现有的生产过程,分析可能造成的结果,包括设备损坏、质量波动、经济损失等。

2.2 样品制备

准确称取30g红参饮片,置于玻璃夹套提取罐中,加入一定量乙醇,加热回流提取一定时间,滤过,收集滤液。相同条件下,1份饮片共回流提取6次,所用单次提取时间及溶剂均相同,合并滤液,密封后常温放置。

2.3 试验设计

2.3.1 工艺评价指标的确定 选择单位药材中的总糖提出量,总固体提出量,以及人参皂苷Rg₁, Re, Rf, Rb₁, Rc, Rb₂, Rd等7种皂苷的提出量,共计9个质量参数为工艺评价指标。

2.3.2 Box-Behnken 设计 采用Box-Behnken设计方法研究红参乙醇回流提取PHP和工艺评价指标之间的定量关系。工艺参数水平范围见表1,工艺设计见表2。

表1 红参乙醇回流提取的Box-Behnken设计的因素及水平
Table 1 Designed factors and levels of Box-Behnken experiment for the extraction process

水平	X ₁ 醇浓度 /%	X ₂ 单次提取时间 /min	X ₃ 醇料比 /mL · g ⁻¹
-1	85	100	2.5
0	90	120	3
1	95	140	3.5

2.4 分析方法

总固体含量的测定采用干燥失重法^[16],计算公式如下。

表2 红参乙醇回流提取的 Box-Behnken 设计

Table 2 The Box-Behnken experiment design table for the extraction process

No.	醇浓度/%	提取时间/min	醇料比/mL · g ⁻¹
1	85	100	3.0
2	95	100	3.0
3	85	140	3.0
4	95	140	3.0
5	85	120	2.5
6	95	120	2.5
7	85	120	3.5
8	95	120	3.5
9	90	100	2.5
10	90	140	2.5
11	90	100	3.5
12	90	140	3.5
13	90	120	3.0
14	90	120	3.0
15	90	120	3.0
16	90	120	3.0
17	90	120	3.0

$$\text{总固体质量分数} = \frac{\text{恒重后固体质量}}{\text{样品质量}} \quad (1)$$

7 个人参皂苷浓度的测定采用高效液相色谱与紫外检测器联用法 (HPLC-UV)^[17]。分析条件: 色谱柱为 Agilent Zorbax SB C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 以 0.05% 磷酸-水为流动相 A, 以 0.05% 磷酸-乙腈为流动相 B, 梯度洗脱 (0 min, 18% B; 0 ~ 26 min, 18% ~ 20% B; 26 ~ 35 min, 20% ~ 30% B; 35 ~ 50 min, 30% ~ 32% B; 50 ~ 57 min, 32% ~ 33% B; 57 ~ 65 min, 33% ~ 40% B); 流速 1.5 mL · min⁻¹; 检测波长 203 nm; 柱温 35 °C; 进样量 10 μL。

红参醇提液中含有的糖类主要为果糖、蔗糖及麦芽糖^[18-19], 本研究以果糖浓度、蔗糖浓度及麦芽糖浓度之和来表征提取液中总糖浓度。糖类浓度的测定采用高效液相色谱与蒸发光散射检测器联用法 (HPLC-ELSD)^[19], 分析条件: 色谱柱为 Grace Prevail Carbohydrate ES (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水 (70:30); 流速 1 mL · min⁻¹; 柱温 30 °C; 进样量 10 μL。ELSD 检测器条件为: 氮气流量 2.0 L · min⁻¹; 漂移管温度 100 °C; 增益 2.0; 碰撞器关。

2.5 数据处理

单位药材的总固体提出量、总糖提出量及 7 个人参皂苷的提出量的计算如下。

$$\text{总固体提出量} = \frac{\text{提取液固含量} \times \text{提取液总质量}}{\text{药材用量}} \quad (2)$$

$$\text{总糖提出量} = \frac{\text{提取液总糖浓度} \times \text{提取液总体积}}{\text{药材用量}} \quad (3)$$

$$\text{人参皂苷提出量} = \frac{\text{提取液中人参皂苷浓度} \times \text{提取液总体积}}{\text{药材用量}} \quad (4)$$

为描述红参醇提关键工艺参数和工艺关键评价指标的关系, 采用多元线性回归法建立数学模型。数学模型的基本形式如下。

$$Y = a_0 + \sum_{i=1}^3 a_i X_i + \sum_{i=1}^3 a_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 a_{ij} X_i X_j \quad (5)$$

其中, a_0 为常数, a_i, a_{ii} 与 a_{ij} 表示各项回归系数, Y 表示红参醇提工艺评价指标, X_i 为关键工艺参数。在此基础上采用 MODDE 软件提供的 Monte Carlo 方法计算获得设计空间。参数设置: 分辨率为 64, 每个点计算模拟次数为 3 万次, 每个工艺指标以 2% 作为失败概率的最大值, 小于等于该概率的工艺参数组合属于设计空间之内。

所有计算由 Microsoft Office Excel 2013 (Microsoft, USA) 和 MODDE Pro 11.0.1 (MKS Umetrics, Sweden) 软件完成。

3 结果

3.1 HAZOP 风险分析结果

利用鱼刺图分析可以找到影响提取过程的工艺参数和设备监测参数, 见图 1。这些参数主要涉及 5 个方面: 药材、环境因素、设备、溶剂和提取工艺操作条件 HAZOP 风险分析结果见表 3。

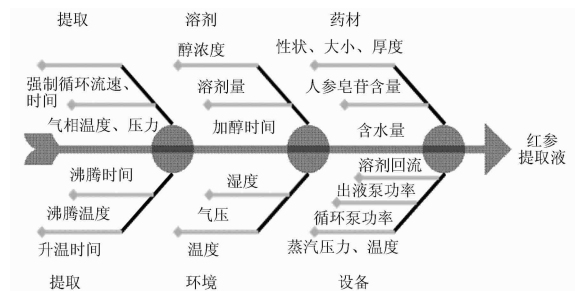


图 1 红参乙醇回流提取工艺参数鱼刺图

Fig. 1 Fishbone chart of process parameters for the extraction process

表 3 所列的中、高风险的潜在危害参数如控制不当, 单位红参饮片对应的溶剂量、溶剂醇含量、提取时间等参数可能出现偏差, 进而导致不同批次的提取液某些化学组分的提出量产生差异。综上所述, HAZOP 分析结果符合实际生产情况, 本研究将溶剂醇含量、单次提取时间、醇料比设定为需要进一

表3 红参乙醇回流提取工艺 HAZOP 风险评估

Table 3 The risk assessment using HAZOP for the extraction process

潜在危害参数	引导词	偏差	原因	风险分析	整改措施
饮片质量	其他	皂苷含量、糖含量等无法精确控制,仅有药典规定的指标性成分最低含量	饮片的收获季节、生长年份、加工贮藏等不同导致批次间饮片质量水平有差异,企业一般根据实际生产水平制定采购标准	高风险	建立与生产线的生产能力和生产效率相匹配的饮片质量标准,采购饮片时严格执行此标准
浸泡时间	其他	不同批次生产过程中,饮片浸泡时间会略有不同	此设定是为了使溶剂充分浸润饮片,并不严格控制	低风险	无须整改
升温时间	过大或过小	每次回流提取升温时间不一定完全一样	初始温度、设备状态、气压等的不同导致的每次升温至沸腾所需时间不同,饮片实际在热溶剂中浸泡的时间比2 h要长,且该时间段的长短较难控	中等风险	考虑优选提取时间等易控工艺参数范围,抵消升温时间批次间不同的不良影响
醇浓度	过大或过小	每批次所用乙醇浓度一般在90%左右波动,并不精确等于90%	90%乙醇的配置由人工操作来完成,每次配置的乙醇浓度较难精确控制	高风险	优选实际操作时醇浓度的范围,严格按照优化范围进行生产
醇料比	过大或过小	醇料比可能在3:1左右波动,并不精确等于3:1	①每批次红参饮片称量时的精度可能不同;②每批次红参饮片含水量可能不同;③每批次使用的溶剂量取时由于工人操作、量具失效等都可能形成误差	高风险	优选实际操作时醇料比的范围,严格按照优化范围进行生产
提取时间	过大或过小	实际沸腾时间在2 h左右波动,并不精确等于2 h	①滤网等设备的失效导致出液时间较长,体系降温慢,实际的沸腾时间可能会超过2 h;②热循环设备的失效导致实际提取罐中溶剂沸腾时间可能不足2 h	高风险	优选实际操作时提取时间的范围,严格按照优化范围进行生产
溶剂回流能力	其他	每次回流提取过程得到的提取液量并不每次相同	冷循环装置状态、溶剂醇浓度等不同,可能导致的每次提取有不定量的乙醇挥发,但溶剂挥发量非常少,正常范围内的挥发不影响提取液质量	低风险	无须整改

步通过工艺设计来优化的 CPP。

3.2 关键工艺参数和工艺评价指标之间回归模型的建立

根据优化要求,需要建立 CPP 的设计空间,在此基础上给出操作空间。本研究采用 Box-Behnken 法进行工艺设计,结果见表4。1 g 红参药材能提出 97.0 ~ 315.5 mg 的总固体;糖类提出量为 57.3 ~ 198.3 mg · g⁻¹ 生药。提出物中,总糖质量约占总固体质量的 50% ~ 70%, 7 个人参皂苷的总质量约占总固体质量的 5% ~ 8%。其中,人参皂苷 Rb₁ 提出量最高,为 2.039 ~ 5.137 mg · g⁻¹ 生药,人参皂苷 Rg₁ 和人参皂苷 Rc 次之,人参皂苷 Rd 的提出量最少。

采用 MODDE 软件建立多元线性回归模型,经模型及系数显著性分析,得到模型的回归系数、R² 以及调整 R² 见表5。

大部分模型的调整 R² 大于 0.8, 提取量较少的 Rc 和 Rd, 其调整 R² 接近 0.8, 说明模型能解释大部分变异。对所有指标, X₁ 的系数均 P < 0.001, 说明乙醇浓度对醇提工艺影响显著。对大部分指标, X₂ 的系数均 P < 0.001, 说明提取时间对醇提工艺的影

响也较为显著。X₃ 仅对总固体提出量与总糖提出量影响显著, 相应系数均 P < 0.1。

在工艺参数的设计范围内, 从所有人参皂苷提出量的回归模型可以看出, X₁ 和 X₁² 系数均为负值, X₂ 系数均为正值, 说明随着醇浓度的降低和单次提取时间的延长, 人参皂苷提出量均变大; X₃ 在人参皂苷提出量模型中无统计学意义, 这说明在固定醇浓度和提取时间时, 人参皂苷提出量不受醇料比变化而变化。从总固体和总糖提出量的回归模型可以看出, X₁ 系数为负值, X₂ 与 X₃ 的系数为正值, 说明随着醇浓度的降低、提取时间的延长及醇料比的变大, 总固体和总糖的提出量变大。

以上规律为红参醇提工艺参数优化提供了思路: 在精准控制醇浓度、采取较长的提取时间的情况下, 使用较低的醇料比有利于在提取工艺中获得更多的人参皂苷, 同时可以尽可能减少糖类的提出。

3.3 设计空间的计算和验证

3.3.1 工艺评价指标范围设置

人参皂苷 Rg₁, Re, Rf, Rb₁, Rc, Rb₂, Rd 等作为参麦注射液的有效成分, 具有抗氧化, 抗衰老, 抗肿瘤等生物活性^[13],

表4 Box-Behnken 设计结果

Table 4 Box-Behnken designed experiments and results

No.	总糖	总固体	Rg ₁	Re	Rf	Rb ₁	Rc	Rb ₂	Rd
1	178.0	273.2	2.554	1.286	1.201	4.492	2.314	1.775	0.916 3
2	60.70	97.00	1.194	0.537 3	0.795 3	2.039	1.422	0.931 0	0.504 0
3	198.3	315.5	3.088	1.328	1.433	4.950	2.566	2.032	0.951 3
4	70.23	131.8	1.871	0.683 3	0.999 0	2.997	1.999	1.355	0.634 7
5	177.8	290.2	2.960	1.422	1.386	4.549	2.577	1.867	0.938 3
6	57.33	105.0	1.195	0.578 0	0.861 3	2.238	1.388	0.958 0	0.558 3
7	189.3	299.6	2.983	1.388	1.455	5.137	3.070	2.213	1.120
8	64.77	114.8	1.402	0.676 7	0.925 3	2.522	1.551	1.058	0.541 0
9	130.4	207.9	2.261	1.123	1.123	3.653	2.012	1.476	0.774 7
10	135.5	227.1	2.603	1.453	1.284	4.293	2.614	1.865	1.010
11	154.5	219.7	2.445	1.208	1.149	3.668	2.024	1.506	0.719 3
12	161.3	246.1	2.664	1.529	1.291	4.260	2.538	1.842	0.952 0
13	154.5	229.2	2.308	1.113	1.126	3.390	1.907	1.330	0.624 0
14	120.5	195.4	2.134	1.122	1.042	3.746	1.962	1.390	0.805 0
15	129.1	209.0	2.174	1.113	1.017	3.318	1.888	1.382	0.693 3
16	138.9	224.9	2.686	1.323	1.162	3.995	2.201	1.553	0.833 3
17	136.1	226.7	2.381	1.183	1.161	3.830	2.174	1.558	0.799 3

表5 各工艺指标模型的回归系数

Table 5 Partial regression coefficients of the coefficients for the regression models

指标	常量	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁ ²	R ²	R ² _{adj}
总固体提出量	3.307(0.000) ¹⁾	-1.368(0.000)	0.230(0.001)	0.094(0.099)	-0.259(0.004)	0.984	0.978
总糖提出量	3.086(0.000)	-1.351(0.000)	0.156(0.146)	0.190(0.025)	-0.342(0.004)	0.967	0.956
Rg ₁	4.117(0.000)	-1.267(0.000)	0.379(0.004)	-	-0.429(0.013)	0.923	0.905
Re	3.941(0.000)	-1.171(0.000)	0.333(0.013)	-	-0.804(0.000)	0.912	0.892
Rf	5.990(0.000)	-1.242(0.000)	0.485(0.002)	-	-	0.889	0.873
Rb ₁	4.154(0.000)	-1.306(0.000)	0.371(0.004)	-	-	0.921	0.910
Rc	4.703(0.000)	-1.150(0.000)	0.537(0.006)	-	-	0.806	0.778
Rb ₂	4.209(0.000)	-1.229(0.000)	0.482(0.003)	-	-	0.872	0.853
Rd	4.393(0.000)	-1.178(0.000)	0.442(0.023)	-	-	0.839	0.786

注: ¹⁾ 括号内为各回归系数相应的 P。

所以希望在生产过程的各个环节中保证其有尽可能大的转移率。果糖、蔗糖及麦芽糖在制剂时会部分转化生成 5-羟甲基糠醛, 可能对人体横纹肌和内脏有损害^[20], 所以将这几种糖类作为需要限制的成分。在工艺参数优化时, 为进一步提升工艺品质, 设定以下提取工艺评价指标标准: 对单位药材的人参皂苷提出量不设上限, 对总糖提出量设置上限, 对总固体提出量设置上下限, 见表 6。据此标准, 采用 3.2 项所得回归模型, 用 MODDE 软件计算得到设计空间。

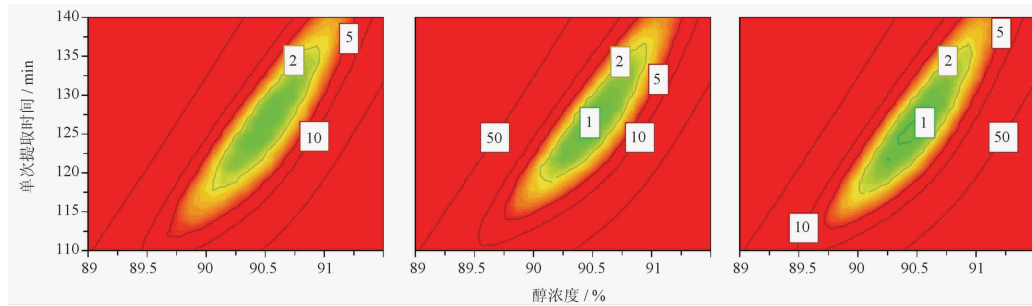
3.3.2 设计空间 根据表 6 计算得到的不同醇料比下的概率设计空间见图 2。图片中数字为工艺参数落在相应区域时, 工艺评价指标未能达标的概率。

表6 红参醇提工艺指标上下限及达标概率要求

Table 6 Bounds of process evaluation indexes and the acceptable probability

工艺评价指标	最小值	最大值
总固体	200	230
总糖	-	160
Rg ₁	2.10	-
Re	1.10	-
Rf	1.00	-
Rb ₁	3.30	-
Rc	1.85	-
Rb ₂	1.35	-
Rd	0.65	-

注: 提取液质量达标概率 ≥ 98%。



a. 醇料比 = $2.5 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$; b. 醇料比 = $2.8 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$; c. 醇料比 = $3.1 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$; 颜色由绿至红的渐变表示相应工艺条件下, 响应值不符合要求的概率(失败概率)由1%逐渐增大。

图2 红参醇提工艺概率设计空间图

Fig. 2 Design spaces for the extraction process

在工艺指标达标概率均 $\geq 98\%$ 的设计空间范围内选择最合适的操作空间。结合3.2项中提出的关键工艺参数对红参醇提工艺指标的影响规律, 最终选择的操作空间为: 乙醇浓度 $90.3\% \sim 90.7\%$, 醇料比 $2.5 \sim 3.1 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$, 每次提取时间 $124 \sim 130 \text{ min}$ 。

3.3.3 设计空间的验证 为验证设计空间的准确

性, 在设计空间内、外取点进行验证。具体验证点及验证结果见表7。从验证结果可知, 预测值和实测值接近, 说明所建模型有较好的预测性能; 设计空间内验证点所得提取液指标均达标, 而设计空间外验证点所得提取液中总固体提出量及个别人参皂苷提出量未达到最低标准, 说明在设计空间内操作能保证较好的工艺品质。

表7 红参醇提工艺设计空间验证的条件及结果

Table 7 Conditions and results of verification experiments for the design spaces

条件及工艺指标	验证点 1	验证点 2
是否在设计空间内	否	是
醇浓度/%	91.7	90.5
提取时间/min	120	127
醇料比/ $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$	2.8	3.1
失败概率	85%	0.05%
总固体提出量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	$188.0 \pm 7.7(194.0)^{1)}$	$216.7 \pm 7.7(225.6)$
总糖提出量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	$114.0 \pm 7.3(137.3)$	$135.7 \pm 7.3(147.0)$
Rg ₁ 提出量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	$2.131 \pm 0.132(2.195)$	$2.408 \pm 0.132(2.532)$
Re 提出量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	$1.089 \pm 0.072(1.010)$	$1.238 \pm 0.072(1.263)$
Rf 提出量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	$1.064 \pm 0.039(1.154)$	$1.151 \pm 0.039(1.232)$
Rb ₁ 提出量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	$3.322 \pm 0.156(3.528)$	$3.711 \pm 0.156(3.803)$
Rc 提出量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	$1.959 \pm 0.125(2.022)$	$2.164 \pm 0.125(2.515)$
Rb ₂ 提出量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	$1.387 \pm 0.081(1.422)$	$1.552 \pm 0.081(1.592)$
Rd 提出量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	$0.7170 \pm 0.0507(0.7143)$	$0.7937 \pm 0.0507(0.7477)$

注: ¹⁾ 括号内为预测值。

4 讨论

本研究以 QbD 理念为指导原则, 以参麦注射液生产过程中红参的乙醇提取工艺优化为例展开研究。首先通过 HAZOP 法分析红参醇提工艺中涉及的各个工艺参数, 确定乙醇浓度、醇料比及提取时间

为关键工艺参数; 接着选取总糖提出量、总固体提出量、7 个在参麦注射液中含量较高的人参皂苷提出量为工艺评价指标。然后采用 Box-Behnken 设计法建立关键工艺参数和工艺评价指标间的数学模型, 最后计算获得设计空间。根据计算结果, 参麦注射

液生产过程中红参醇提工艺的推荐操作空间为 90.3% ~ 90.7% 乙醇,醇料比在 2.5 ~ 3.1 mL · g⁻¹,每次提取时间 124 ~ 130 min。总体来看,选择较低的醇料比和醇浓度,以及较长的提取时间,有利于获得人参皂苷含量较高而糖类含量较低的红参提取液。

HAZOP 法相比其他基于理论分析和文献调研的风险分析方法,对中药的生产过程优化有更好的适用性和实用性。通过理论分析与科学设计,基于 HAZOP 法建立的设计空间能够将人工经验转化为过程知识和标准操作规范。在研究过程中,HAZOP 法有助于提高设计水平,避免无效的设计因子,使得后续设计与实际生产的契合度更高,从而有效地节约研究成本。

此外,从本研究对参麦注射液生产过程中红参醇提工艺的 HAZOP 风险评估结果来看,筛选出的中、高风险危害参数与实际生产中重点控制的工艺参数较为一致,说明我国药品标准对参麦注射液中红参提取工艺的规定是较为科学的。在工业生产中,企业需要提高对各潜在高危害工艺参数的控制水平,如保证乙醇配制工序和计量工具的精度、提取罐设备等良好运行等,进而提高提取工艺质控水平。

[参考文献]

- [1] Yu L X, Amidon G, Khan M A, et al. Understanding pharmaceutical quality by design[J]. AAPS J,2014,16(4):771.
- [2] 俞翔. 丹参提取和醇沉过程的质量控制技术[D]. 杭州:浙江大学,2008.
- [3] Gong X, Zhang Y, Pan J, et al. Optimization of the ethanol recycling reflux extraction process for saponins using a design space approach[J]. PLoS ONE,2014,9(12):e114300.
- [4] Gong X, Chen H, Pan J, et al. Optimization of *Panax notoginseng* extraction process using a design space approach[J]. Sep Purif Technol,2015,14(1):197.
- [5] Gong X, Li Y, Chen H, et al. Design space development for the extraction process of Danhong injection using a monte carlo simulation method[J]. PLoS ONE,2015,10:e01282365.
- [6] Gong X, Li Y, Guo Z, et al. Control the effects caused by noise parameter fluctuations to improve pharmaceutical process robustness: a case study of design space development for an ethanol precipitation process[J]. Sep Purif Technol,2014,13(2):126.
- [7] Zhang L, Yan B, Gong X, et al. Application of quality by design to the process development of botanical drug products: a case study[J]. AAPS Pharmscitech,2013,14(1):277.
- [8] Gong X, Chen H, Chen T, et al. Unit operation optimization for the manufacturing of botanical injections using a design space approach: a case study of water precipitation[J]. PLoS ONE, 2014,9(8):e104493.
- [9] Chen T, Gong X, Chen H, et al. Chromatographic elution process design space development for the purification of saponins in *Panax notoginseng* extract using a probability-based approach [J]. J Sep Sci,2016,39(2):306.
- [10] Chen T, Gong X, Chen H, et al. Process development for the decoloration of *Panax notoginseng* extracts: a design space approach[J]. J Sep Sci,2014,38(2):346.
- [11] Vishal Gupta N C H Y. Hazard operability analysis (HAZOP): a quality risk management tool[J]. Int J Chem Tech Res,2016,9(3):366.
- [12] Dunj6 J, Fthenakis V, V6lchez J A, et al. Hazard and operability (HAZOP) analysis. A literature review[J]. J Hazard Mater, 2010, 173(1):19.
- [13] 余健,辛艳飞,宣尧仙. 参麦注射液药理作用的物质基础研究进展[J]. 医药导报,2013(4):497.
- [14] 张建军. 参麦注射液的临床研究进展[J]. 中国现代药物应用,2015(8):266.
- [15] 李荣宗,刘明,谭强,等. HAZOP 技术在某化学品码头装卸作业职业病危害防控中的应用[J]. 中国卫生工程学,2016(1):1.
- [16] 中国药典. 四部[S]. 2015.
- [17] 潘坚扬,程翼宇,王毅,等. 9 种人参皂苷同时测定方法及在人参质量鉴别中的应用[J]. 分析化学,2005(11):1565.
- [18] 凌益平,徐兵勇,刘武,等. HPLC-ELSD 测定红参、麦冬及其制剂中糖的含量[J]. 中国现代应用药学,2014(11):1395.
- [19] 曹树萍,聂黎行,刘丽娜,等. HPLC-ELSD 及 GC-MS 法分析参麦注射液及中间体糖类成分[J]. 药物分析杂志,2014(10):1741.
- [20] 谭俊杰,柴建国,张善飞,等. 参麦注射液中 5-羟甲基糠醛含量的高效液相色谱测定[J]. 时珍国医国药,2010(7):1624.

[责任编辑 孔晶晶]