

不同前处理过程的紫苏子配方颗粒生产工艺比较

雷成康, 高琳, 司马磊, 黄萍, 单敏(西安市食品药品检验所, 西安 710054)

摘要: 目的 研究紫苏子不同前处理过程对配方颗粒生产工艺的影响。方法 以有效成分含量、特征图谱、出膏率、工艺的可行性以及成品质量等为指标评价不同前处理过程对配方颗粒的影响。结果 紫苏子经粉碎后的提取物其油脂含量较高, 无法满足配方颗粒制剂要求, 而未经处理直接提取虽然指标成分含量有所下降, 但完全满足相关要求, 可成功制得符合要求的配方颗粒。结论 在研制配方颗粒时, 对果实种子类药材应视具体情况决定是否粉碎, 不能一概而论。

关键词: 中药饮片; 配方颗粒; 紫苏子; 工艺研究

中图分类号: R283.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2022)18-2334-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.18.006

引用本文: 雷成康, 高琳, 司马磊, 等. 不同前处理过程的紫苏子配方颗粒生产工艺比较[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(18): 2334-2338.

Comparison of Process Technology for Perillae Fructus Formula Granules with Different Pretreatment Processes

LEI Chengkang, GAO Lin, SI Malei, HUANG Ping, SHAN Min(Xi'an Institute for Food and Drug Control, Xi'an 710054, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effect of different pretreatment process on production process of Perillae Fructus formula granules. **METHODS** The content of active ingredients, fingerprint, extraction rate, feasibility of the process and quality of finished products were taken as indicators to evaluate the effect of different pretreatment process on formula granules. **RESULTS** The extract of Perillae Fructus after grinding had a lot of fat oil, which could not meet the requirements of formula granule preparation. Although the content of index components in the extract without grinding decreased, but it fully met the relevant requirements, and the formula granules could be successfully prepared. **CONCLUSION** In the development of formula granules, the fruit seed medicinal materials to be comminution or not should according to the specific conditions, which can not be generalized.

KEYWORDS: Chinese herbal pieces; formula granules; Perilla Fructus; technology research

中药配方颗粒是以传统中药饮片为原料, 经过提取、分离、浓缩、干燥、制粒、包装等生产工艺加工制成的统一规格、统一剂量、统一质量标准的新型配方用药, 其有效成分、性味、归经、主治、功效和传统中药饮片完全一致, 既传承了中医传统的君、臣、佐、使和辨证论治、灵活加减的优点, 又免去了煎煮的不便, 在便利性和卫生学方面相比传统饮片具有较大优势。

传统中药调剂学认为, 在煎煮果实种子类或质地坚硬的饮片时, 应适当粉碎^[1]。为加强中药配方颗粒质量管理, 国家药品监督管理局组织起草了《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》(征求意见稿), 其中要求: 待煎饮片除应符合临床汤剂的规格外, 还应视饮片质地, 按中药调剂“逢壳必捣, 逢籽必破”等传统经验对饮片进行必要

的处理。

本研究以出膏率、有效成分含量及特征图谱等为评价指标, 兼顾生产过程的简便性及可操作性, 对紫苏子配方颗粒提取工艺进行提取前破碎与不破碎的对比研究, 以期对相关方面的研究提供一定的借鉴。

1 仪器与材料

1.1 仪器

LC-2030C 高效液相色谱仪(日本岛津, DAD 检测器); BT25S 十万分之一天平(德国赛多利斯); JM-B20002 电子天平(余姚市纪铭称重校验设备有限公司, 分度值 0.01 g)。

1.2 材料

迷迭香酸对照品(批号: 111871-201706; 含量: 90.5%)、咖啡酸对照品(批号: 110885-201703; 含

基金项目: 陕西省创新能力支撑计划项目(2018PT-29)

作者简介: 雷成康, 男, 硕士, 副主任药师 E-mail: cklei168@163.com

量：99.7%)、木犀草素对照品(批号：111520-201605；含量：99.6%)均购自中国食品药品检定研究院。

紫苏子(购自安徽亳州，产地为山西陵川，批号：02-19030101；统货，过1号筛)，经西安市食品药品检验所中药室谢志民主任中药师鉴定为唇形科植物紫苏 *Perilla frutescens* (L.) Britt. 的干燥成熟果实。经笔者所在课题组按中国药典2015年版相关要求检验，结果符合规定。

甲醇、乙腈为色谱纯，甲酸、乙酸为分析纯，试验用水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

2.1.1 含量测定色谱条件 参考中国药典2015年版一部^[2]，采用 SHISEIDO CAPCELL PAK MG II C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm，5 μm)，以甲醇-0.1%甲酸溶液(40：60)为流动相，流速 1 mL·min⁻¹，检测波长为 330 nm，柱温 30 ℃，进样量 10 μL。

2.1.2 特征图谱色谱条件 SHISEIDO CAPCELL PAK MG II C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm，5 μm)，以乙腈为流动相 A，0.5%乙酸溶液为流动相 B，梯度洗脱(0~15 min，0%→10%A；15~40 min，10%→30%A；40~50 min，30%→60%A；50~55 min，60%→0%A；55~60 min，0%A)，流速 1 mL·min⁻¹，检测波长 284 nm，柱温 30 ℃，进样量 10 μL。

2.2 样品配制

2.2.1 对照品溶液制备 精密称取迷迭香酸对照品 16.05 mg，置 50 mL 量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀。精密量取 5 mL，置 20 mL 量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀。

2.2.2 标准汤剂制备 称取紫苏子粉末(过2号筛)100 g，分别加8倍量、6倍量水回流提取2次，时间分别为30、20 min。合并2次滤液，用200目筛滤过，60 ℃减压浓缩至500 mL，规格为0.2 mg·mL⁻¹，备用。

2.2.3 供试品溶液制备 ①称取紫苏子粉末(过2号筛)400 g，分别加8倍量、6倍量、6倍量水回流提取3次，时间分别为1、0.5、0.5 h。合并3次滤液，用200目筛滤过，60 ℃减压浓缩至2000 mL，作为供试品溶液1。②称取紫苏子400 g，按①中方法处理，作为供试品溶液2。

2.2.4 中间体制备 取净紫苏子饮片12000 g，加

8倍量水，浸泡30 min，加热煮沸回流60 min，趁热用200目筛滤过，滤渣加6倍量水，加热煮沸回流30 min，趁热用200目筛滤过，滤渣再加6倍量水，加热煮沸回流30 min，趁热用200目筛滤过，合并3次滤液，60 ℃减压浓缩至原饮片量的0.1倍，60 ℃干燥，粉碎，过6号筛，即得。出膏率为6%~10%。

2.3 色谱分析

2.3.1 含量测定方法学验证

2.3.1.1 色谱条件及系统适用性试验 按“2.1.1”项下色谱条件进行。

2.3.1.2 对照品溶液制备 精密称取迷迭香酸对照品 16.63 mg，置 100 mL 量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻度，作为对照品储备液。精密量取对照品储备液 3 mL 置 50 mL 量瓶中，加甲醇稀释至刻度，制成每 1 mL 含 9 μg 迷迭香酸的溶液，即得。

2.3.1.3 供试品溶液制备 取“2.2.4”项下中间体约 50 mg，精密称定，置 100 mL 量瓶中，加水溶解并稀释至刻度，摇匀，即得。

2.3.1.4 干扰性试验 按“2.1.1”项下色谱条件分别吸取阴性样品溶液(甲醇)、对照品溶液、供试品溶液 10 μL 进样，结果在迷迭香酸色谱峰的相应位置上，供试品检出相应的色谱峰，阴性样品溶液无色谱峰检出，表明溶剂对迷迭香酸的含量测定无干扰。阴性样品溶液色谱图见图1。

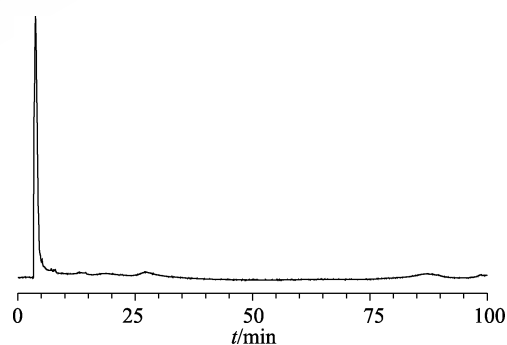


图1 阴性样品溶液高效液相色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of negative sample solution

2.3.1.5 线性考察 精密量取“2.3.1.2”项下对照品储备液适量，用甲醇分别配制成迷迭香酸浓度为3.0、6.0、9.0、15.0、24.1、48.2、82.8 μg·mL⁻¹的系列浓度溶液。精密吸取各浓度溶液10 μL按“2.1.1”项下色谱条件进样，以迷迭香酸的浓度(μg·mL⁻¹)作为横坐标(X)，以迷迭香酸峰面积作为

纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 并进行回归分析。结果回归方程为 $Y=27\,464X+4\,393.7$, $r=0.998$ 。表明该色谱条件下, 迷迭香酸在 $3.0\sim 82.8\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好。

2.3.1.6 检测限与定量限 精密量取“2.3.1.2”项下迷迭香酸对照品溶液, 加甲醇逐步稀释进样, 测得检测限为 $0.015\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($S/N=3.1$), 定量限为 $0.03\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($S/N=10.7$)。

2.3.1.7 仪器精密度试验 吸取质量浓度为 $9.0\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液 $10\ \mu\text{L}$, 连续进样 6 次, 记录迷迭香酸峰面积, 结果 6 次进样迷迭香酸保留时间 RSD 为 0.05%, 峰面积 RSD 为 0.23%, 表明仪器精密度良好。

2.3.1.8 重复性试验 分别取“2.2.4”项下 5 份中间体各 50 mg, 精密称定, 按“2.3.1.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件测定迷迭香酸含量。结果 5 份供试品中迷迭香酸含量 RSD 为 1.48%, 表明本方法重复性良好。

2.3.1.9 稳定性试验 取“2.2.4”项下中间体约 50 mg, 精密称定, 按“2.3.1.3”项下方法制备供试品溶液, 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样测定。样品置于高效液相用棕色 $1.5\ \text{mL}$ 小瓶内, 样品盘温度设定为 $15\ ^\circ\text{C}$, 考察峰面积的变化。结果供试品溶液在 24 h 内峰面积的 RSD 为 1.21%, 表明该溶液在 $15\ ^\circ\text{C}$ 环境下放置 24 h 基本稳定。

2.3.1.10 回收率试验 取已知迷迭香酸含量为 1.76% 的中间体约 18, 25, 32 mg 各 2 份, 精密称定, 分别置 $100\ \text{mL}$ 量瓶中, 依次加入“2.3.1.2”项下对照品储备液 2.2, 2.2, 3.2, 3.2, 3.7, 3.7 mL, 按“2.3.1.3”项下方法制备供试品溶液并测定迷迭香酸含量, 计算回收率, 结果, 低(70%)、中(100%)、高(130%)3 个不同浓度的加样回收率均在 98.40%~101.06%, 平均回收率为 100.17%, RSD 为 1.20%, 证明该方法回收率良好, 结果见表 1。

表 1 回收率测定结果

Tab. 1 Recovery determination results

编号	样品量/ mg	含量/ mg	加入量/ mg	峰面积	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
1	18.62	0.328	0.331	174 031	0.662	101.06	100.17	1.20
2	18.74	0.330	0.331	174 300	0.663	100.73		
3	25.08	0.441	0.482	243 644	0.927	100.87		
4	25.03	0.440	0.482	243 539	0.927	100.97		
5	32.55	0.573	0.557	294 505	1.120	98.40		
6	32.36	0.569	0.557	294 496	1.120	98.99		

2.3.2 含量测定 分别精密吸取“2.2.2”和“2.2.3”项下共 3 种溶液各 $5\ \text{mL}$, 分别置 $25\ \text{mL}$ 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 各精密吸取 $10\ \mu\text{L}$, 注入液相色谱仪, 另精密吸取“2.2.1”项下的对照品溶液 $10\ \mu\text{L}$, 注入液相色谱仪, 按“2.1.1”项下色谱条件分别测定标准汤剂和 2 种供试品溶液中迷迭香酸的含量, 含量测定图谱见图 2。

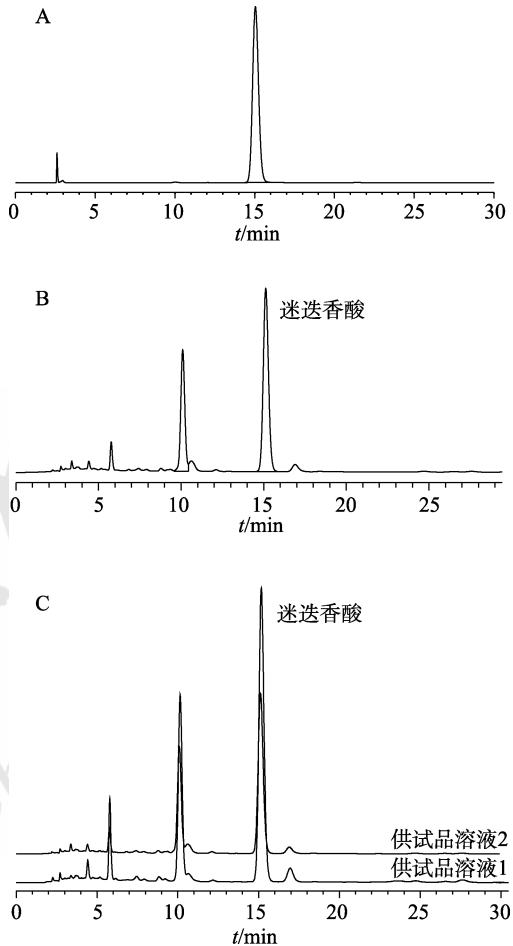


图 2 对照品溶液(A)、标准汤剂(B)和供试品溶液(C)高效液相色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of reference solution(A), standard decoction(B) and sample solution(C)

结果标准汤剂中迷迭香酸含量为 $0.38\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 供试品溶液 1 中迷迭香酸含量为 $0.40\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 为标准汤剂的 105%, 供试品溶液 2 中迷迭香酸含量为 $0.32\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 为标准汤剂的 84%。表明紫苏子粉碎后的提取物中迷迭香酸含量较高。

2.3.3 特征图谱 精密吸取“2.2”项中的 3 种溶液各 $10\ \mu\text{L}$, 按“2.1.2”项下色谱条件, 分别记录标准汤剂和 2 种供试品溶液的特征图谱。结果标准汤剂和 2 种供试品溶液均检出 9 个共有峰, 经

与对照品对比^[3]得知, 4 号峰为咖啡酸峰, 6 号峰为木犀草苷峰, 8 号峰为迷迭香酸峰, 结果见图 3。采用国家药典委员会制订的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 年版)”进行特征图谱的相似度评价, 结果色谱图相似度>0.95。

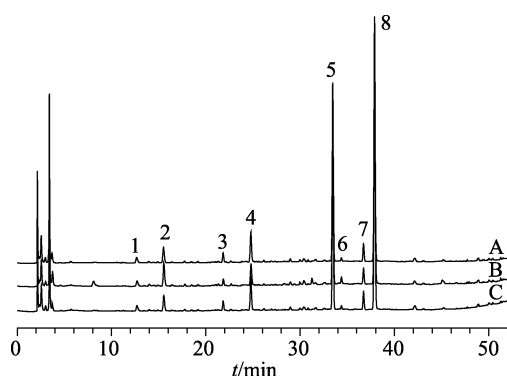


图 3 特征图谱比对

A-标准汤剂; B-供试品溶液 1; C-供试品溶液 2; 4-咖啡酸; 6-木犀草苷; 8-迷迭香酸。

Fig. 3 Comparison of fingerprint chromatograms
A-standard decoction; B-sample solution 1; C-sample solution 2;
4-caffeic acid; 6-galuteolin; 8-rosmarinic acid.

2.4 出膏率

精密量取“2.2.2”项下的标准汤剂和“2.2.3”项下的 2 种不同处理方法的供试品溶液 25 mL 各 3 份, 置已干燥至恒重的蒸发皿中, 水浴蒸干后, 置 105 °C 干燥至恒重, 分别计算 2 种处理方法的出膏率, 结果标准汤剂、供试品溶液 1、供试品溶液 2 出膏率分别为(9.16±0.23)%, (10.01±0.31)%, (7.64±0.42)%。

标准汤剂和供试品溶液 1 均采用了粉碎的紫苏子投料, 故出膏率均较高, 供试品溶液 1 由于提取次数和提取时间均比标准汤剂多, 出膏率最高。供试品溶液 2 中由于原药材未粉碎, 出膏率相对较低。

2.5 浓缩、干燥、粉碎工艺比对

2.5.1 浓缩工艺 取“2.2.3”项下的溶液各 1 500 mL, 在 60 °C 条件下旋转蒸发浓缩至水分不再显著减少。结果供试品溶液 1 所得浓缩物分层明显, 其上层为黄色油状物, 下层为混悬液。而供试品溶液 2 所得浓缩物为均匀的混悬液。

2.5.2 干燥工艺 将“2.5.1”项下的 2 种浓缩物转移至搪瓷盘中, 摊平, 置鼓风干燥箱中 60 °C 干燥 24 h。结果供试品溶液 1 所得浸膏有大量黄色油状物析出, 与浸膏形成两相, 无法计算得率; 供试品溶液 2 所得干膏呈深棕色。按原药材计算, 得率约

为 7.6%。

2.5.3 粉碎工艺 供试品溶液 1 所得浸膏因混有大量黄色油状物, 无法粉碎, 暂将其混合均匀, 备用; 供试品溶液 2 所得干膏经粉碎后过 6 号筛, 为黄棕色细粉, 备用。

从浓缩、干燥、粉碎的过程及结果来看, 将紫苏子饮片粉碎后用水提取的浸膏为不均匀相, 脂肪油的存在对整个过程影响较大, 导致无法彻底干燥和粉碎, 而不经粉碎提取的浸膏为均匀相。

2.6 成型工艺比对

取“2.5.3”中的浸膏适量, 加适量糊精混合均匀, 制软材, 20 目筛制粒。用 1 号筛和 5 号筛整粒, 60 °C 干燥, 得供试品 1。另取“2.5.3”中的干膏粉适量, 加适量糊精混合均匀, 用 50%乙醇为黏合剂, 制软材, 20 目筛制粒。用 1 号筛和 5 号筛整粒, 60 °C 干燥得供试品 2。取 2 种颗粒各 2 g, 置 200 mL 热水中, 搅拌 5 min, 观察结果。以颗粒全部溶化为合格。2 种颗粒对比见表 2。

表 2 2 种颗粒测定结果

Tab. 2 Determination results of 2 granules

参数	供试品 1	供试品 2
辅料量/倍	0.7	0.1
性状	浅棕黄色颗粒, 气微香, 味淡	深棕色颗粒, 气微香, 味淡
溶化性	不合格, 有大量颗粒无法溶化	合格, 颗粒全部溶化
放置 72 h 后	浅棕黄色颗粒, 有败油味	深棕色颗粒, 气微香, 味淡

结果显示, 由于紫苏子饮片粉碎后提取会提取出大量脂肪油, 导致须用大量辅料(0.7 倍糊精)来吸收脂肪油, 且制得的颗粒溶化性不合格(依法操作后, 烧杯底部存在大量未溶化的颗粒, 虽经长时间剧烈搅拌亦不能溶解)。该现象证明提取前的粉碎过程不合理。而未经粉碎提取的浸膏制得的颗粒, 无论在辅料用量(0.1 倍糊精)、颗粒溶化性以及放置后的性状变化方面, 均全面优于前者, 进一步证实了提取前粉碎工艺的不合理性。

3 讨论

本研究旨在对比粉碎和不粉碎 2 种前处理方法在紫苏子配方颗粒研制过程中对工艺的影响, 故主要突出了关键工艺点上的区别。限于篇幅, 研究过程中的各类预试验未描述。

从整个研究过程来看, 将紫苏子粉碎后用水提取, 虽然有效成分含量及出膏率相对较高, 但由此带来的不足也很明显: 首先多了一道粉碎的

工艺,紫苏子由于饮片细小且富含油脂,不便粉碎过筛。其次,提取液十分浑浊,其中混有大量脂肪油及淀粉颗粒等,用 200 目筛基本无法正常滤过,由大量细粉造成的糊状物会立即堵塞筛网,其滤液静置后即析出大量沉淀物及脂肪油,表明该滤液是由水-油-固混合物形成的不均匀相。紫苏子含脂肪油丰富,可达 40%以上^[4],破碎后脂肪油必然会被热水大量提出形成乳浊液,冷却后脂肪油又会析出。再次,在浓缩干燥时,这种不均匀相无法彻底浓缩和干燥粉碎,浓缩成浸膏后,其中的脂肪油继续大量析出。最后,用该浸膏制成的颗粒剂溶化性不合格,浸膏中的油脂是造成不合格的主要原因。该颗粒常温放 3 d 后,脂肪油即会酸败,导致成品有异味。上述研究结果表明粉碎工艺不适合紫苏子配方颗粒的制备。用紫苏子饮片直接水提后过滤、浓缩、干燥、制粒,则基本不存在上述问题。参考国家对配方颗粒研究的相关要求,以标准汤剂为对比,配方颗粒的出膏率、指标成分含量(转移率)在标准汤剂的 70%~130%为宜^[5]。结合本实验结果,用紫苏子饮片直接提取完全符合配方颗粒制备相关要求。

建立合适的评估指标对控制药品质量来说至关重要。这些指标包括技术、经济及社会各方面的综合考虑^[6]。一般来说,中药饮片经水提取后,提取液中主要是水溶性成分,因互溶作用,也有一定的脂溶性成分。在有效成分尚不完全明确的情况下,用特征图谱来控制配方颗粒的质量已经成为一个重要的途径。配方颗粒(包括提取液、中间体)的特征图谱与原饮片图谱相类似,在一定程度上可以认为其具有与原饮片相同的作用^[7-9]。

传统认为中药饮片在调剂时,“逢子必破,遇壳必捣”是完全正确的。因为果实种子类药材在破壳的情况下贮存,会很快产生虫蛀、酸败、发霉、氧化变质等情况,故在采集、加工、贮存时

保留其壳作为最后一道天然屏障。而在调剂时尤其是入煎剂时,破壳有利于有效成分最大程度煎出而发挥药效。但是在现代工业化大生产时,除了考虑到以上条件外,更多的要在保证质量的前提下考虑生产成本,尤其是原材料在整个生产成本中占比不大的情况下,工艺上的简化显然对降低生产成本效果显著。故认为“逢子必破,遇壳必捣”应视具体情况而定,不能一概而论。本研究结果可供中药产业尤其是中成药以及中药饮片配方颗粒生产领域借鉴。

REFERENCES

- [1] CHEN S L, LIU A, LI Q, et al. Research strategies in standard decoction of medicinal slices[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2016, 41(8): 1367-1375.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2015: 338-339.
- [3] 李燕, 刘聪, 许润春, 等. 基于 HPLC 指纹图谱的紫苏子及其炮制品的质量研究[J]. 中药材, 2019, 42(7): 1589-1592.
- [4] 张卫明, 刘月秀, 王红. 紫苏子的化学成分研究[J]. 中国野生植物资源, 1998, 17(1): 42-44.
- [5] 陈士林, 刘昌孝, 刘安, 等. 中药饮片标准汤剂(第一卷)[M]. 科学出版社, 2018: 338-346.
- [6] ZHAO J F, ZHANG W, YU H. Study of drug standards evaluation based on the analytic hierarchy process[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2019, 36(19): 2388-2390.
- [7] HUANG H H, WANG M J, LYU S S, et al. Study on UPLC fingerprint of Citri Reticulatae Pericarpium formula granules[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2020, 37(12): 1454-1458.
- [8] SHI Z Q, MENG H, CHEN G S, et al. HPLC fingerprint analysis of wine-fried Ligustri Lucidi Fructus formula granules based on standard decoction[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2019, 36(15): 1882-1886.
- [9] WANG M Y, LIU L P, ZHU D Q, et al. Rapid determination of multi index components in Glycyrrhiza uralensis formula granule by Near infrared Spectroscopy[J]. Pharm Today(今日药理学), 2020, 30(6): 385-393.

收稿日期: 2021-11-30

(本文责编: 曹粤锋)