

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.17.013

儿舒平颗粒制备工艺优选*

严文利,周德勇,龚 韬,朱 青,宋京美,王 夏,杨 薇,李蜀平[△]

(北京市临床药理学研究所,北京 100035)

摘要:目的 优选儿舒平颗粒的制备工艺。方法 以柴胡皂苷 a、龙胆苦苷、芍药苷为指标性成分,以加水量、提取次数、提取时间为考察因素,以上述 3 种成分的转移率为评价指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验法优选儿舒平颗粒的水提取工艺;以颗粒的吸湿性、流动性和成型性为评价指标,比较湿法制粒和喷雾制粒工艺的成品效果。结果 最佳水提取工艺为加 10 倍量水,提取 3 次,每次 1.0 h。喷雾制粒法制得颗粒的吸湿性、流动性和成型性优于湿法制粒。最终确定颗粒成型条件为喷雾制粒,底料为糊精与甘露醇(3:1, m/m)的混合物,底料和干膏的比例为 2:1(m/m),加入 0.5% 阿斯巴甜作为矫味剂。结论 优选得到的儿舒平颗粒工艺稳定可行,可应用于工业化生产。

关键词:儿舒平颗粒;提取工艺;成型工艺;柴胡皂苷 a;龙胆苦苷;芍药苷

中图分类号:R932;TQ460.6

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)17-0050-05

Optimization of Preparation Process of Ershuping Granules

YAN Wenli, ZHOU Deyong, GONG Tao, ZHU Qing, SONG Jingmei, WANG Xia, YANG Wei, LI Shuping

(Beijing Institute of Clinical Pharmacy, Beijing, China 100035)

Abstract: **Objective** To optimize the preparation process of Ershuping Granules. **Methods** Saikosaponin a, gentiopicroside and paeoniflorin were taken as the index components, and the $L_9(3^4)$ orthogonal test was used to optimize the water extraction process of Ershuping Granules with the amount of water addition, extraction times and extraction time as the investigation factors, and with transfer rates of the above three components as the evaluation indexes. The hygroscopicity, fluidity and formability of granules were taken as the evaluation indexes to compare the effects of the wet granulation and the spraying granulation. **Results** The optimal water extraction process was as follows: adding 10 times the amount of water, and extracting three times with 1.0 h each time. The hygroscopicity, fluidity and formability of granules prepared by the spraying granulation were better than those by the wet granulation. The determined forming condition of granules was spraying granulation, the base material was the mixture of dextrin and mannitol (3:1, m/m), the ratio of base material to dry extract was 2:1 (m/m), and aspartame with the dosage of 0.5% of the final granules was added as the flavoring agent. **Conclusion** The optimal process of Ershuping Granules is stable and feasible, which can be used for industrial production.

Key words: Ershuping Granules; extraction process; forming process; saikosaponin a; gentiopicroside; paeoniflorin

儿舒平颗粒是由北柴胡、白芍、泽泻、龙胆、玄参、夏枯草等 12 味中药制成的制剂,具有疏肝清热、滋阴凉血、软坚散结等功效,主治儿童肝经郁热、肾阴不足。其中,北柴胡、白芍为君药,北柴胡具有解热、镇痛、保肝、利胆等作用^[1],柴胡皂苷 a 为北柴胡的主要成分之一。白芍具有保肝、镇痛、镇静、解痉等作用^[2],芍药苷为白芍的主要成分之一。泽泻、龙胆、玄参、夏枯草为臣药,龙胆具有保肝利胆、抗炎、抗病原微生物等作用^[3],龙胆苦苷为龙胆的主要成分之一。本研究中以柴胡皂苷 a、龙胆苦苷、芍药苷为指标性成分,通过 $L_9(3^4)$ 正交试验优选儿舒平颗粒的提取工艺,并对成型工艺进行考察,为其新药开发奠定基础。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

UltiMate3000 型高效液相色谱仪(赛默飞世尔科技有限公司);XP150DR 型电子天平(梅特勒-托利多有

限公司,精度为十万分之一);控温电热套(北京中兴伟业仪器有限公司);FL-30 型沸腾制粒干燥机(常州力马干燥机械有限公司)。

1.2 试剂

柴胡皂苷 a 对照品(批号为 110777-201912,含量以 91.1% 计),芍药苷对照品(批号为 110736-202044,含量以 97.4% 计),龙胆苦苷对照品(批号为 110770-201918,含量以 97.6% 计),均购自中国食品药品检定研究院;乙腈、甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 柴胡皂苷 a 含量测定

色谱条件与系统适用性试验:色谱柱为 Agilent HC-C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-水溶液(梯度洗脱,洗脱程序见表 1);流速为 1.0 mL/min;检测波长为 210 nm;柱温为 40 °C;进样量为 10 μL。理论

*基金项目:国家科技重大专项课题重大新药创制项目[2018ZX09721003-009-006]。

第一作者:严文利,男,大学本科,副研究员,研究方向为中药制剂工艺,(电话)010-83227445(电子信箱)ywl-1123@sohu.com。

[△]通信作者:李蜀平,女,硕士研究生,研究员,研究方向为新药研发和药理毒理学,(电话)010-83286446(电子信箱)lishuping1966@sina.com。

板数按柴胡皂苷 a 峰计不低于 10 000。

表 1 柴胡皂苷 a 含量测定流动相梯度洗脱程序 (%)

Tab. 1 Procedure of mobile phase gradient elution for content determination of saikosaponin a (%)		
时间 (min)	乙腈 (A)	水 (B)
0 ~ 20	25 ~ 35	75 ~ 65
20 ~ 30	35 ~ 40	65 ~ 60
30 ~ 40	40 ~ 80	60 ~ 20

溶液制备:取柴胡皂苷 a 对照品 5.22 mg,精密称定,置 25 mL 容量瓶中,加甲醇稀释并定容,即得对照品溶液。取正交试验的提取液少量,以 12 000 r/min 的速率离心,取上清液,即得供试品溶液。

标准曲线绘制:取柴胡皂苷 a 对照品 5.22 mg,精密称定,置 25 mL 容量瓶中,加甲醇稀释并定容,分别精密吸取对照品溶液(质量浓度为 0.190 2 mg/mL)1, 2, 3, 4, 5 mL,置 10 mL 容量瓶中,用甲醇定容,作为供试品溶液 1, 2, 3, 4, 5, 分别进样 10 μ L,测定峰面积,以柴胡皂苷 a 进样量(X, μ g)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 0.1363X + 0.0115$, $r = 0.9996$ ($n = 5$)。结果表明,柴胡皂苷 a 的进样量在 0.190 2 ~ 0.951 0 μ g 范围内与峰面积线性关系良好。

样品含量测定:精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μ L,进样测定峰面积,并计算样品含量。

2.1.2 芍药苷及龙胆苦苷含量测定

色谱条件与系统适用性试验:色谱柱为 Agilent HC - C₁₈ 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m);流动相为乙腈 - 0.1% 磷酸水溶液(梯度洗脱,洗脱程序见表 2);流速为 1.0 mL/min;检测波长为 230 nm;柱温为 35 $^{\circ}$ C。理论板数按芍药苷峰计不低于 2 000,按龙胆苦苷峰计不低于 3 000。

表 2 芍药苷及龙胆苦苷含量测定流动相梯度洗脱程序 (%)

Tab. 2 Procedure of mobile phase gradient elution for content determination of paeoniflorin and gentiopicoside (%)		
时间 (min)	乙腈 (A)	0.1% 磷酸水溶液 (B)
0 ~ 10	5 ~ 10	95 ~ 90
10 ~ 15	10 ~ 14	90 ~ 86

溶液制备:取芍药苷对照品 18.08 mg,精密称定,置 25 mL 容量瓶中,加甲醇稀释并定容,即得芍药苷对照品溶液。取龙胆苦苷对照品 26.10 mg,精密称定,置 25 mL 容量瓶中,加甲醇稀释并定容,即得龙胆苦苷对照品溶液。取正交试验的提取液少量,以 12 000 r/min 的速率离心,取上清液,即得供试品溶液。

标准曲线绘制:取芍药苷对照品 18.08 mg,精密称定,置 25 mL 容量瓶中,加甲醇稀释并定容,分别精密吸取对照品溶液(质量浓度为 0.704 mg/mL)1, 2, 3, 4, 5 mL,

置 10 mL 容量瓶中,用甲醇定容,作为供试品溶液 1, 2, 3, 4, 5, 分别进样 10 μ L,测定峰面积,以芍药苷进样量(X, μ g)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 0.05454X + 0.01596$, $r = 0.9999$ ($n = 5$)。结果表明,芍药苷进样量在 0.704 ~ 3.520 μ g 范围内与峰面积线性关系良好。取龙胆苦苷对照品 26.10 mg,精密称定,置 25 mL 容量瓶中,加甲醇稀释并定容,分别精密吸取对照品溶液(质量浓度为 1.019 mg/mL)1, 2, 3, 4, 5 mL,置 10 mL 容量瓶中,用甲醇定容,作为供试品溶液 1, 2, 3, 4, 5, 分别进样 10 μ L,测定峰面积,以龙胆苦苷进样量(X, μ g)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 0.06931X - 0.003193$, $r = 0.99995$ ($n = 5$)。结果表明,龙胆苦苷进样量在 1.019 ~ 5.095 μ g 范围内与峰面积线性关系良好。

样品含量测定:精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μ L,进样测定峰面积,并计算样品含量。

2.2 水提工艺优选

正交试验设计:根据预试验结果,选取加水量(因素 A)、提取时间(因素 B)、提取次数(因素 C)^[4-5]作为考察因素,以柴胡皂苷 a、龙胆苦苷、芍药苷转移率为评价指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验筛选最佳工艺条件,并进行综合评价。按处方比例,称取处方量药材饮片,置 1 000 mL 圆底烧瓶中,按正交试验条件进行提取。因素与水平见表 3。

表 3 水提工艺正交试验因素与水平

Tab. 3 Factors and their levels of the orthogonal test of the water extraction process			
水平	因素 A(倍)	因素 B(h)	因素 C(次)
1	8	1.0	1
2	10	1.5	2
3	12	2.0	3

结果与分析:结果见表 4 和表 5, $P < 0.05$ 为对结果有显著影响, $P < 0.01$ 为对结果有极显著影响。可见,因素 C 对柴胡皂苷 a、龙胆苦苷、芍药苷 3 种成分的转移率均有极显著影响,其中 C₃ 条件下 3 种成分的转移率均最高,故选择 C₃;因素 A 对龙胆苦苷的转移率有极显著影响,其中 A₂ 和 A₃ 条件下 3 种成分的转移率基本一致且均高于 A₁,基于成本和效率考虑选择 A₂;因素 B 对龙胆苦苷的转移率有极显著影响,其中 B₂ 和 B₃ 条件下的转移率基本一致且均高于 B₁。但柴胡皂苷 a 在 B₁ 条件下的转移率最高,故对 A₂B₁C₃ 和 A₂B₂C₃ 进行单独考察,结果见表 6。可见,在 A₂B₁C₃ 与 A₂B₂C₃ 提取条件下,3 种成分的转移率差异不显著。综合考虑,选取提取方式 A₂B₁C₃,即加 10 倍量水,提取 3 次,每次 1.0 h。

验证试验:按优选的提取工艺条件制备样品 3 批,测定样品中柴胡皂苷 a、龙胆苦苷、芍药苷的转移率,并计算 RSD。结果 3 种指标性成分转移率的 RSD 均小于

表4 水提工艺正交试验设计与结果

Tab. 4 Design and results of the orthogonal test of the water extraction process							
序号	因素				转移率(%)		
	A	B	C	D(空白)	柴胡皂苷 a	龙胆苦苷	芍药苷
1	1	1	1	1	2.91	51.20	53.60
2	1	2	2	2	19.80	67.16	75.46
3	1	3	3	3	31.70	79.18	84.21
4	2	1	2	3	28.21	66.15	78.98
5	2	2	3	1	39.52	81.98	88.42
6	2	3	1	2	4.39	58.47	68.79
7	3	1	3	2	39.93	79.13	84.75
8	3	2	1	3	5.10	59.99	64.04
9	3	3	2	1	27.20	71.68	80.35
柴胡	K ₁	54.42	71.05	12.41	69.63		
皂苷	K ₂	72.12	64.42	75.21	64.12		
a	K ₃	72.23	63.29	111.15	65.01		
	R	5.94	2.59	32.91	1.84		
龙胆	K ₁	197.54	196.47	169.66	204.86		
苦苷	K ₂	206.60	209.13	204.99	204.75		
	K ₃	210.79	209.33	240.28	205.32		
	R	4.42	4.29	23.54	0.19		
芍药	K ₁	213.27	217.33	186.43	222.37		
苷	K ₂	236.19	227.92	234.79	229.00		
	K ₃	229.14	233.35	257.38	227.23		
	R	7.64	5.34	23.65	2.21		

表5 方差分析结果

Tab. 5 Results of the ANOVA					
方差来源	离差平方和	自由度	均方	F值	P值
柴胡皂苷 a	A	70.05	2	35.03	12.02
	B	11.73	2	5.86	2.01
	C	1 665.12	2	832.56	285.60
	误差	23.97	2	2.92	0.003 5
龙胆苦苷	A	30.58	2	15.29	501.64
	B	36.19	2	18.09	593.68
	C	831.20	2	415.60	13 636.12
	误差	0.06	2	0.03	0.000 1
芍药苷	A	91.88	2	45.94	11.69
	B	44.25	2	22.13	5.63
	C	875.88	2	437.94	111.48
	误差	7.86	2	3.93	0.009

表6 最佳工艺筛选结果(%)

Tab. 6 Results of the optimal process screening (%)			
工艺	转移率		
	柴胡皂苷 a	龙胆苦苷	芍药苷
A ₂ B ₁ C ₃	40.90	78.34	85.42
A ₂ B ₂ C ₃	40.68	77.81	87.65

2.0%,符合相关规定,表明优选的水提工艺的稳定性
和重复性均良好,工艺合理。详见表7。

表7 3批样品中柴胡皂苷 a、龙胆苦苷、芍药苷转移率测定结果(%)

Tab. 7 Results of transfer rate determination of saikosaponin a, gentiopicrin and paeoniflorin in the three batches of samples					
成分	1	2	3	$\bar{X}$	RSD
柴胡皂苷 a	40.29	39.65	39.52	39.82	1.04
龙胆苦苷	82.10	81.77	81.74	81.87	0.24
芍药苷	87.37	86.89	87.35	87.20	0.31

2.3 成型工艺优选

2.3.1 湿法制粒考察

干燥方法考察:选用FZG-15型蒸汽真空干燥箱,
工艺参数设置为干燥温度不高于80℃,真空度-0.09~
-0.08 MPa。取600个处方用量(28.8 kg)药材,按提取
工艺提取,浓缩,真空干燥,可得干膏8.64 kg。

制粒条件考察:取水提工艺验证试验中的一个临床
汤剂处方量饮片,按提取工艺,加10倍量水,提取3次,
每次1.0 h,可得干膏约14 g,按加辅料21 g进行制粒计
算,可加辅料约7 g,干膏与辅料比为2:1(m/m)。选用
湿法制粒中最常用的辅料糊精作为辅料,选用乙醇作
为润湿剂,对乙醇体积分数进行考察。分别称取400 g
浸膏粉末(80目)、200 g糊精(80目),各3份,采用85%
、90%、95%乙醇对制粒条件进行考察。结果见表8。可见,
90%乙醇制粒容易,成品率高,故确定湿法制粒条件为
90%乙醇适量。

表8 不同乙醇体积分数考察结果

Tab. 8 Results of investigation of ethanol with different volume fractions			
乙醇体积分数	含水量(%)	成品率(%)	结果
85%	3.0	45.1	制粒易结块,成型差
90%	3.0	91.2	制粒容易,成型好,成品深褐色
95%	3.0	85.4	制粒容易,成型颗粒易松散,成品深褐色

2.3.2 喷雾制粒考察

选用FL-30型沸腾制粒干燥机进行制粒。以干膏-
辅料(2:1,m/m),将喷雾制粒常用辅料糊精和甘露醇
按比例混合,作为底料。通过预试验,确定喷雾制粒的工
艺参数,进风口温度低于100℃,物料温度为45~55℃,
鼓风频率为30~50 Hz,出风口温度为40~50℃,抖袋
间隔为1.5~2.5 min,时间为30 s,药液相对密度为
1.20~1.25(50℃)。取600个处方用量(28.8 kg)药材,
按提取工艺提取,提取液经浓缩得相对密度为1.24
(50℃)的清膏2 600 g,折合得干膏1 000 g。以不同比例
的糊精和甘露醇为底料制粒(只抖袋1次,抖下细粉加
水溶解重新喷入),结果见表9。可见,以糊精-甘露醇
(3:1,m/m)喷雾制成的颗粒形状和成品率均最佳。

2.3.3 颗粒吸湿性考察

取干燥器10个,底层分别加入蒸馏水或不同盐饱
和溶液,以保持一定相对湿度。分别精密称定湿法制粒

表9 不同糊精和甘露醇比例考察结果

Tab. 9 Results of different ratios investigation of dextrin to mannitol

糊精(g)	甘露醇(g)	成品(g)	成品率(%)	结果
333	167	1 326	88.4	制粒容易,成型好,制粒时易粘壁,成品深褐色
375	125	1 385	92.3	制粒容易,成型好,不易结块,成品深褐色
400	100	1 352	90.1	制粒容易,成型好,制粒时易粘壁,成品深褐色
500	0	1 203	80.2	制粒较容易,成型较好,容易结块,成品深褐色

样品(90%乙醇制粒)和喷雾制粒样品[糊精-甘露醇(3:1, m/m)]各30份,每种样品各取3份,装入恒定质量的称量瓶中,打开瓶盖,放入上述干燥器中,密闭,置室温环境中保持7 d,打开干燥器,盖严称量瓶盖,精密称定质量。计算干重和湿重,并由此计算颗粒的吸湿率,绘制吸湿平衡曲线,详见表10和图1。可见,湿法制粒和喷雾制粒在不同相对湿度条件下的吸湿率基本无差异。临界相对湿度均在85%。

表10 喷雾制粒和湿法制粒制得颗粒的吸湿率(%, $n=3$)

Tab. 10 Moisture absorption rate of granules prepared by the spraying granulation and the wet granulation (%, $n=3$)

底层溶液	相对湿度	吸湿率		底层溶液	相对湿度	吸湿率	
		喷雾制粒	湿法制粒			喷雾制粒	湿法制粒
饱和盐溶液	11	-0.09	0.30	65	19.42	17.36	
	22	0.35	4.27	75	27.15	25.47	
	32	0.92	4.51	85	39.41	36.86	
	42	4.46	5.96	95	67.80	71.96	
	54	13.56	11.31	蒸馏水	100	77.41	69.71

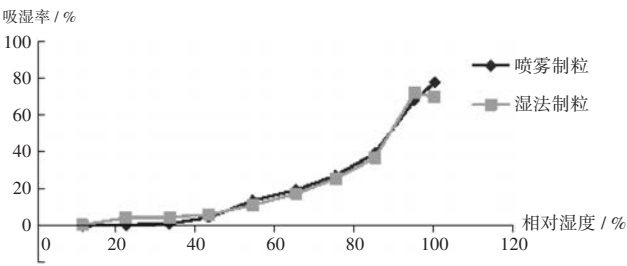


图1 喷雾制粒和湿法制粒制得颗粒的吸湿率平衡曲线

Fig. 1 Balance curve of moisture absorption rate of granules prepared by the spraying granulation and the wet granulation

2.3.4 颗粒流动性考察

通过固定漏斗法测定湿法制粒样品和喷雾制粒样品的休止角,结果湿法制粒样品、喷雾制粒样品的休止角分别为 $38^{\circ}26'14''$ 和 $37^{\circ}11'32''$ 。可见,2种制粒方法的流动性均能满足生产要求(休止角小于 40°),喷雾制粒样品的流动性优于湿法制粒样品。

2.3.5 颗粒含量考察

分别取湿法制粒样品(90%乙醇制粒)和喷雾制粒样品[糊精-甘露醇(3:1, m/m)],测定柴胡皂苷a、龙

胆苦苷、芍药苷的转移率。结果见表11。可见,喷雾干燥的效率更高,且各指标成分的损失相对较小。湿法制粒和喷雾制粒在不同相对湿度条件下的吸湿率基本无差异,临界相对湿度均在85%左右。但喷雾制粒效率高、速度快、成型好、颜色均一、成品率高、流动性好,且成品中3个指标成分的转移率均高于湿法制粒的成品。故确定成型条件为喷雾制粒,底料为糊精-甘露醇(3:1, m/m)的混合物,底料-干膏(2:1, m/m)。

表11 不同制粒方法颗粒的3种成分转移率测定结果(%)

Tab. 11 Results of transfer rate determination of three components in Ershuping Granules prepared by the different granulation methods (%)

制粒方法	转移率		
	柴胡皂苷a	龙胆苦苷	芍药苷
湿法制粒	16.90	55.15	61.02
喷雾制粒	21.45	58.42	61.28

2.4 矫味剂品种和用量选择

选择甜叶菊苷、阿斯巴甜、蛋白糖作为矫味剂,并对甜味感觉进行比较,最后确定阿斯巴甜作为本品的矫味剂,对其用量进行考察。选择阿斯巴甜的用量分别为0.2%,0.5%,1.0%,2.0%,按上述优选工艺制备儿舒平颗粒,并包装成7 g/袋,200 mL水冲服,采用单盲法提供给志愿者品尝,根据志愿者的口感确定矫味剂的用量。结果见表12。可见,0.5%阿斯巴甜用量志愿者认可度最高,甜度较合适,口感较好,故最终选择0.5%阿斯巴甜作为儿舒平颗粒的矫味剂。

表12 矫味剂阿斯巴甜的用量选择结果

Tab. 12 Results of dosage selection of flavoring agent aspartame

阿斯巴甜用量(%)	苦	甜	志愿者认可度
0.2	++++	+	+++
0.5	++	+	++++
1.0	++	++	+++
2.0	+	+++	++

3 讨论

本试验处方中的药材有效成分多为苷类、多糖类等水溶性成分,故采用水提法进行提取。参考文献[4-5],以柴胡皂苷a、龙胆苦苷、芍药苷转移率为评价指标,选取加水量、提取次数、提取时间为考察因素进行正交试验。通过高效液相色谱法测定,最终确定最佳水提方法为加10倍量水,提取3次,每次1.0 h。选取的最佳条件通过重复试验进行验证,确定为最佳水提工艺。

柴胡皂苷a水提取率低,且能转换为柴胡皂苷 b_1 ,故正交试验提取工艺中柴胡皂苷a的转移率相对较低[6-7],而且制成成品后其转移率进一步下降。而此药为儿童用药,故加入一定量的矫味剂,以改善其苦涩味道,便于儿童服用。采用单盲法提供给志愿者品尝,根据志愿者的口感,最终确定0.5%阿斯巴甜作为矫味剂。