

## 参玉口服液澄清工艺优选

孙立霞, 常桂娟, 李秋萌, 张楠楠, 白雪媛\*, 赵大庆  
(长春中医药大学, 长春 130117)

**[摘要]** 目的: 优选参玉口服液的澄清工艺。方法: 以人参皂苷含量、总多糖含量、澄明度和稳定性为评价指标, 考察 KBT-ZTC 絮凝澄清法、酶解法、微滤法、酶解-微滤法及絮凝澄清-微滤法对参玉口服液质量的影响。结果: 最佳澄清处理方法为絮凝澄清-微滤法, 参玉口服液澄清稳定、有效成分保留率得以提高, 人参皂苷 Re、人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、总多糖质量分数分别为 0.331 1, 0.282 8, 0.098 4, 96.33 mg·g<sup>-1</sup>。结论: KBT-ZTC 絮凝澄清法与微滤法联用能有效除去杂质, 保留有效成分, 且工艺稳定, 可作为参玉口服液的澄清工艺。

**[关键词]** 参玉口服液; 澄清工艺; 人参皂苷; 多糖; 澄明度; 稳定性

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0004-04

**[doi]** 10.11653/syfy2013170004

## Optimization of Clarification Process of Shenyu Oral Liquid

SUN Li-xia, CHANG Gui-juan, LI Qiu-meng, ZHANG Nan-nan, BAI Xue-yuan\*, ZHAO Da-qing

**[收稿日期]** 20130327(017)

**[基金项目]** 国家科技重大专项(2011ZX09401-305); 国家科技支撑计划(2012BAI29B05); 吉林省医药产业发展专项(YYZX201134)

**[第一作者]** 孙立霞, 硕士, 从事中药有效成分开发与研究, Tel: 0431-81660061, E-mail: slxytu@126.com

**[通讯作者]** \*白雪媛, 硕士, 副教授, 从事中药有效成分开发及产品研究, Tel: 0431-81660061, E-mail: baixy1212@163.com

99%, 易红等<sup>[11]</sup>对厚朴采用微乳提取时, 含水量 99% 的微乳仍能对厚朴酚有理想的提取率, 对于含水量较高的自微乳液对蛇床子素提取率的影响有待进一步研究。

### [参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 295.

[2] 连其深. 中药蛇床子的药理作用研究进展[J]. 赣南医学院学报, 2003, 23(2): 213.

[3] 周则卫, 刘培勋. 蛇床子化学成分及抗肿瘤活性的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(17): 1309.

[4] 李坤平, 高崇凯, 李卫民. UPLC/ESI-TOF-MS/MS 分析蛇床子提取物中香豆素类化合物[J]. 中成药, 2009, 31(4): 98.

[5] 闫志芳, 刘必旺, 赵水平. CO<sub>2</sub> 超临界萃取蛇床子中蛇床子素的工艺研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2009, 4(1): 20.

[6] 弥宏, 曲莉莉, 任玉林. 超临界萃取蛇床子中香豆素类化合物的工艺优选及成分分离的研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(14): 1080.

[7] 何琳, 刘意, 郑冬梅, 等. 盐酸小檗碱自微乳剂的处方设计及体外评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18

(10): 26.

[8] ZHOU J, SUN X L, WANG S W. Micelle-mediated extraction and cloud-point preconcentration of osthole and imperatorin from *Cnidium monnieri* with analysis by high performance liquid chromatography [J]. J Chromatogr A, 2008, 1200(2): 93.

[9] 高进, 易红, 杨华, 等. O/W 型微乳由于提取中药当归[J]. 中国新药杂志, 2011, 20(6): 503.

[10] 王金玲, 孙进, 何仲贵. 微乳及其在药学中应用[J]. 中国药理学杂志, 2009, 7(4): 356.

[11] 易红, 孙立亚, 高进, 等. O/W 型微乳用于厚朴提取的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 1.

[12] 欧晓霞, 汪证明, 封亮. 熊果酸自微乳的制备及其生物利用度[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1): 36.

[13] 孔繁晟, 严春艳, 贲永光, 等. 鸦胆子油自微乳的体外释放度考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(12): 21.

[14] 游秀华, 王荣昌, 汤文星, 等. 自微乳化系统提高广藿香醇大鼠口服生物利用度[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(6): 694.

[责任编辑 仝燕]

(Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize clarification technology of Shenyu oral liquid. **Method:** Effects of KBT-ZTC flocculation, enzymatic, microfiltration, enzymatic-microfiltration and flocculation-microfiltration on quality of Shenyu oral liquid were investigated with the contents of ginsenoside and total polysaccharides, clarity and stability as evaluation indexes. **Result:** Optimum clarification method was flocculation-microfiltration which could improve retention rate of effective ingredients of Shenyu oral liquid and make this oral liquid clear and stable. The contents of ginsenoside Re, Rg<sub>1</sub>, Rb<sub>1</sub> were 0.331 1, 0.282 8, 0.098 4 mg·g<sup>-1</sup> and the content of total polysaccharides was 96.33 mg·g<sup>-1</sup>. **Conclusion:** Impurities could removed effectively and effective ingredients were retained by KBT-ZTC flocculation-microfiltration method, this process was stable and could be used as clarification technology of Shenyu oral liquid.

**[Key words]** Shenyu oral liquid; clarification process; ginsenosides; polysaccharides; clarity; stability

参玉口服液是由人参 2 g, 玉竹 5 g, 枸杞子 3 g, 白芍 3 g 配伍组成的复方制剂, 为我校院内制剂, 具有增加免疫力、降血糖、生津补气等功效, 多用于辅助治疗 II 型糖尿病, 疗效确切。口服液的澄明度和稳定性一直是亟待解决的难题, 传统澄清方法为水提醇沉法, 该方法成本高、周期长、有效成分损失高, 且存在药液澄明度差、易沉淀析出等系列不稳定情况。本实验采用絮凝澄清法、酶解法、微滤法、酶解-微滤法及絮凝澄清-微滤法, 以人参皂苷含量、总多糖含量、澄明度和稳定性为综合评价指标, 筛选参玉口服液的最佳澄清工艺, 为参玉口服液的二次开发提供理论依据。

## 1 材料

TDL-5-A 型离心机(上海安亭科学仪器厂), ALC-2100-2 型电子天平(METTLER TOLEDO 公司), UV-2550 型紫外分光光度计(日本岛津), 1100 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司), DZF-6050 型真空干燥箱(上海一恒科技有限公司), 中空纤维过滤系统(0.45 μm 中空纤维滤膜, WATSON MARLOW 323 型蠕动泵, 美国 CTE)。

KBT-ZTC 型中药澄清剂(上海科立尔生物技术有限公司), 木瓜蛋白酶(Sigma 公司, 批号 20130203658), 人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、D-无水葡萄糖对照品(中国药品生物制品鉴定所, 批号分别为 110754-201123, 110704-201122, 110703-201027, 110833-200904), 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。人参购自吉林抚松, 玉竹、枸杞子、白芍均购自吉林省宏检药业, 经长春中医药大学姜大成教授分别鉴定为五加科植物 *Panax ginseng* C. A. Meyer 的干燥根茎, 百合科植物玉竹 *Polygonatum odoratum* (Mill.) Durce 的干燥根

茎, 茄科植物宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 的干燥成熟果实, 毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根。

## 2 方法与结果

**2.1 提取液的制备** 按处方比例称取药材共 130 g, 人参用 60% 乙醇提取后, 药渣和其他几味药材一起水煎煮, 加 15 倍量水煎煮 2 次, 每次 1.5 h, 合并水煎液, 于 4 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min(下同), 取上清液。人参醇提液挥干乙醇后加水溶解, 离心, 取上清液。合并 2 次上清液, 搅拌均匀, 于 4 ℃ 冰箱中放置过夜, 离心, 取上清液, 浓缩, 均分成 5 份, 待澄清处理。

### 2.2 澄清工艺考察

**2.2.1 絮凝澄清法** 采用 KBT-ZTC 天然澄清剂按说明书配制。称取 A 组分 10.0 g, 加入 190 g 水搅拌溶解, 即得 5% A 组分溶液; 称取 B 组分 10.0 g, 加 190 g 水搅拌溶解, 即得 5% B 组分溶液。取 **2.1** 项下提取液浓缩至药材-提取液 0.1 g·mL<sup>-1</sup>, 得浓缩液 260 mL, 加入 5% A 组分溶液 16 mL, 搅拌均匀, 55 ℃ 保温静置 60 min, 于搅拌下加入 5% B 组分溶液 16 mL, 搅拌 2 min, 静置 30 min, 离心, 取上清液加水定容至 400 mL, 搅拌均匀, 于 121 ℃ 高压蒸汽灭菌锅中灭菌 30 min, 常温放置观察澄明度和稳定性。

**2.2.2 酶解法** 取 1 份提取液浓缩至药材-提取液 0.1 g·mL<sup>-1</sup>, 得浓缩液 260 mL, 调 pH 至 6.0, 水浴加热至 65 ℃, 加入木瓜蛋白酶 2 g, 搅拌均匀, 保温 30 min, 取出, 放凉, 离心, 取上清液于 100 ℃ 水浴中灭酶 30 min, 取出, 放凉, 离心, 取上清液加水定容至 400 mL, 其余操作同 **2.2.1** 项。

**2.2.3 微滤法**<sup>[1]</sup> 将 1 份提取液倒入储水器中, 运行中空纤维系统, 收集滤出液, 加水定容至 400 mL,

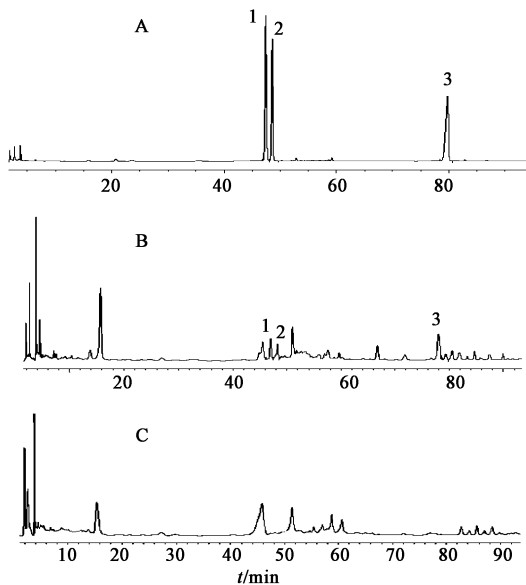
其余操作同 2.2.1 项。

**2.2.4 絮凝澄清-微滤法** 取 1 份提取液按 2.2.1 项下方法操作得到的溶液,再经过中空纤维滤膜处理,所得澄清液加水定容至 400 mL,其余操作同 2.2.1 项。

**2.2.5 酶解-微滤法** 取 1 份提取液按 2.2.2 项下方法操作得到的溶液,再经过中空纤维滤膜的澄清处理,所得澄清液体加水定容至 400 mL,其余操作同 2.2.1 项。

### 2.3 人参皂苷含量测定<sup>[2-3]</sup>

**2.3.1 色谱条件** Alltima C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~35 min, 19% A; 35~55 min, 19%~29% A; 55~70 min, 29%~40% A),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 203 nm,柱温 18 °C,进样量 20 μL,见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品;

1. 人参皂苷 Re; 2. 人参皂苷 Rg<sub>1</sub>; 3. 人参皂苷 Rb<sub>1</sub>

图 1 参玉口服液 HPLC

**2.3.2 对照品溶液的制备** 分别精密称取人参皂苷 Re、人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 对照品适量,加甲醇溶解并定容,制成质量浓度分别为 2.36, 1.22, 2.45 g·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

**2.3.3 供试品溶液的制备<sup>[4-5]</sup>** 取分别按上述澄清工艺处理后药液,浓缩至 50 mL,用乙醚振摇提取 2 次,每次 50 mL,水层加水饱和正丁醇振摇提取 3 次,第 1 次 100 mL,其余 2 次每次 50 mL,合并正丁醇提取液,用氨试液洗涤 2 次,每次 50 mL,弃去水层,正丁醇液蒸干,残渣加水 2 mL 使溶解,通过预处理好的 D101 型大孔树脂,加 200 mL 水洗脱,弃去

洗脱液,用 80% 乙醇 200 mL 洗脱,收集洗脱液,置蒸发皿中,于水浴上蒸干,残渣加少量甲醇溶解并定量转移至 2 mL 量瓶中,摇匀,用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

**2.3.4 阴性样品溶液的制备** 照 2.1 项下方法制备处方中不含人参的样品溶液,经不同澄清工艺处理后,按 2.3.3 项下方法制备阴性样品溶液。

**2.4 多糖的含量测定方法<sup>[6]</sup>** 采用苯酚-硫酸法测定。

**2.4.1 苯酚试剂的配制** 称取苯酚 6.0 g,加水 94 g 水使溶解,避光待用。

**2.4.2 对照品溶液的制备** 精密称取于 105 °C 干燥至恒重的 D-无水葡萄糖 10 mg,置于 100 mL 量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

**2.4.3 标准曲线的制备** 精密量取对照品溶液 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL 于干燥试管中,加水补足至 1.0 mL,加 6% 苯酚溶液 1.0 mL 和浓硫酸 5.0 mL,摇匀,沸水浴 15 min,置冰水浴中 10 min,室温放置 15 min,于 485 nm 处测定吸光度(A),以 A 为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程  $Y = 0.0116X - 0.0285 (r = 0.9992)$ ,表明 D-无水葡萄糖在 10.011~100.11 mg·L<sup>-1</sup> 线性关系良好。

**2.4.4 样品测定** 照 2.1 项下方法制备提取液,平均分为 5 份,分别照上述澄清工艺处理,浓缩至 50 mL,各加 95% 乙醇醇沉至乙醇体积分数 80%,边加边搅拌,置 4 °C 冰箱中醇沉 24 h,于 4 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,沉淀依次用无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤,干燥,精密称取干燥粗多糖 10 mg,置 100 mL 量瓶中,加水定容,配成 100 mg·L<sup>-1</sup> 的待测液。量取待测溶液 0.4 mL,加 6% 苯酚溶液 1.0 mL 和浓硫酸 5.0 mL,摇匀,沸水浴 15 min,置冰水浴中冷却 10 min,室温放置 15 min,于 485 nm 处测定 A,根据回归方程计算总多糖含量。

**2.5 含量测定和澄明度观察** 采用综合评分法,选取人参皂苷 Re、人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、总多糖含量为评价指标,权重系数分别为 0.3, 0.2, 0.2, 0.3,结果见表 1。

由表 1 可知,澄清效果顺序为微滤法 > 絮凝澄清法 > 絮凝澄清-微滤法 > 酶解法 > 酶解-微滤法,絮凝澄清法与絮凝澄清-微滤法的综合评分结果差别不大,说明 2 种方法对有效成分的保留率几乎相同。不同澄清方法对沉淀量和澄明度影响较大,对其他指标影响较小,浑浊的口服液易产生沉淀,絮凝澄清与微滤法联用时药液澄明稳定,结合有效成分

表1 人参皂苷和总多糖含量测定结果

除杂方式	人参皂苷 Re /mg·g <sup>-1</sup>	人参皂苷 R <sub>g<sub>1</sub></sub> /mg·g <sup>-1</sup>	人参皂苷 R <sub>b<sub>1</sub></sub> /mg·g <sup>-1</sup>	总多糖 /mg·g <sup>-1</sup>	综合评分	澄明度	稳定性(1个月)			
							沉淀量	色泽	pH	多糖含量
絮凝澄清	0.331 0	0.283 5	0.100 2	97.24	92.23	-	**	基本无变化	略降低	基本无变化
酶解	0.250 7	0.214 0	0.075 1	88.96	73.93	--	**			
微滤	0.355 7	0.303 6	0.108 3	107.52	100	+	*			
絮凝澄清-微滤	0.328 5	0.280 4	0.095 2	96.55	90.66	++	+			
酶解-微滤	0.241 1	0.205 8	0.073 4	84.45	71.0	+	*			

注:--浑浊,-较浑浊,+较澄清,++澄清,\*\*较多沉淀,\*少量沉淀。

的含量综合评分结果,确定采用絮凝澄清-微滤法。

**2.6 验证试验** 据提取液3份,每份溶液均分为2组,其中1组澄清处理,分别取原溶液和澄清处理溶液,测定指标成分含量,结果澄清处理后人参皂苷 Re、人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>、人参皂苷 R<sub>b<sub>1</sub></sub> 及总多糖平均质量分数分别为0.331 1,0.282 8,0.098 4,96.33 mg·g<sup>-1</sup>,保留率分别为76.13%,75.74%,94.2%,88.87%,表明该澄清工艺稳定可行。

**2.7 稳定性试验** 按优选的工艺制备3批参玉口服液,室温放置3个月,观察澄明度、色泽,测定pH及人参皂苷 Re、人参皂苷 R<sub>g<sub>1</sub></sub>、人参皂苷 R<sub>b<sub>1</sub></sub>、总多糖含量,结果与同批号零天样品比较,各指标基本无变化。

### 3 讨论

研究表明人参多糖、玉竹多糖、枸杞多糖的降血糖作用显著,能明显降低高血糖大鼠的空腹血糖<sup>[7-11]</sup>。人参为君药,人参皂苷为有效成分之一,能降低空腹血糖和改善糖尿病早期的心肌损伤<sup>[12-13]</sup>,故选择总多糖和人参皂苷含量为评价指标。

絮凝澄清法是在混悬的中药提取液中加入絮凝剂(澄清剂),通过电中和、吸附架桥、网捕和卷扫作用,使体系中悬浮物及胶体粒子絮凝沉淀,以达到分离纯化的一种方法。传统的水提醇沉法对多糖损失率极高,而微滤法既能最大程度地保留有效成分又能澄清药液,与KBT-ZTC絮凝澄清法联用能在提高口服液澄清度、有效成分保留率的基础上保证制剂的稳定性。

### [参考文献]

[1] 黄维菊,魏小泉,陈文梅. 国内膜微滤技术应用于中

成药制备的研究[J]. 中成药,2004,26(4):329.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:8.

[3] 胥秀英,郑一敏,傅善权,等. HPLC同时测定人参药材中12种人参皂苷的含量[J]. 中国中药杂志,2011,36(11):1463.

[4] 张崇禧,郑友兰,张春红,等. 大孔树脂吸附人参皂苷工艺及再生使用的研究[J]. 中国药学杂志,2003,38(9):661.

[5] 崔红,张丽云,李勇,等. HPLC测定补肾斑龙片中人参皂苷 Re 含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(15):103.

[6] 宋利华,萧伟,鹿丽丽,等. 正交试验优选人参多糖的提取工艺[J]. 中草药,2012,43(2):283.

[7] 雷定超,张兰兰,周水平,等. 中药治疗糖尿病现状与研究进展[J]. 中国医药导报,2012,9(21):8.

[8] 陈艳. 人参水提物降血糖作用的研究[D]. 长春:东北师范大学,2010.

[9] 许丽丽,展晓日,曾昭武,等. 玉竹多糖的研究进展[J]. 中药材,2011,34(1):154.

[10] 刘燊,胡彦君. 玉竹提取物玉竹多糖对I型糖尿病小鼠的作用[J]. 广州医药,2009,40(6):49.

[11] 黄云兰,梁耿,韦凯东. 枸杞多糖对大鼠糖尿病的作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(22):275.

[12] 高钧,卢守四,张蕾,等. 人参皂苷 Re 促进胰高血糖素样肽-1分泌的研究[J]. 中国药物与临床,2011,11(12):1383.

[13] 张丽英. 人参皂苷 Re 对糖尿病早期抗氧化和抗细胞凋亡作用的研究[D]. 长春:吉林大学,2012.

[责任编辑 仝燕]