

群的需要。

文献 [15] 报道, 对于同一种中药而言, 不同提取方法造成提取物成分的差异可最终影响其疗效。因此, 在对中药 (尤其是有效物质基础不明确者) 提取工艺进行优化时, 为保证药效, 并全面反映提取工艺优劣, 应尽可能涉及药效学评价指标。

### 参考文献:

[1] 刘筱琴, 邵鉴魁, 王伯初, 等. 响铃草药材质量控制研究[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2011, 36(4): 159-163.

[2] 夏勇兵, 李林珍, 马琳, 等. 响铃草抗炎镇痛活性部位的确定及其质量控制方法的建立[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(9): 1599-1603.

[3] 陆安梅. 猪腰豆和响铃草化学成分及抗氧化活性研究[D]. 大理: 大理大学, 2018.

[4] 张旭. 响铃草、松针、甘松有效成分研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2006.

[5] 上海中医学院耳聋研究组, 上海第四制药厂. 响铃草对双氢链霉素中毒性耳聋疗效的初步观察(摘要)[J]. 医学研究通讯, 1975(3): 42-43.

[6] 唐倩, 杨宪, 刘应杰, 等. 响铃草药材中总黄酮和 3

种黄酮苷元的测定方法及含量变化研究[J]. 林产化学与工业, 2010, 30(4): 93-98.

[7] 叶敏, 邵艳萍. 响铃草总黄酮清除自由基及抑制亚硝化作用的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(5): 667-671.

[8] 吴贞建, 周英, 卢国峰, 等. 响铃草黄酮提取物体外抗菌活性研究[J]. 贵州农业科学, 2009, 37(5): 83-85.

[9] 薛天乐, 王庆, 丁锐. 纤维素酶法提取响铃草总黄酮的工艺研究[J]. 甘肃中医药大学学报, 2017, 34(3): 28-32.

[10] 周英, 王慧娟, 段震, 等. 民族药响铃草的体外抑菌活性研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(1): 67-69.

[11] 那溪元, 刘毅, 殷明阳, 等. 麻杏止咳平喘颗粒剂成型工艺研究[J]. 中草药, 2016, 47(5): 767-770.

[12] 周光皎, 黄翔, 冯学花. 复方五花颗粒制备工艺的优化[J]. 中成药, 2019, 41(6): 1389-1391.

[13] 刁艳玲, 班俊峰, 谢清春, 等. 2种制备工艺对复方芪术颗粒成型性的影响[J]. 中成药, 2017, 39(2): 414-417.

[14] 孙爱萍, 袁波, 李娜, 等. 温肾壮骨颗粒的干法制粒工艺研究[J]. 中草药, 2018, 49(6): 1324-1330.

[15] 何志超, 李剑芳, 李国成, 等. 正交试验结合抗菌活性实验优选野菊花的提取工艺[J]. 中成药, 2015, 37(2): 302-306.

## 人参口服液澄清工艺的优化

章国磊<sup>1</sup>, 王静<sup>2</sup>, 李珺铭<sup>1</sup>, 焦丽丽<sup>1</sup>, 李慧<sup>1\*</sup>, 吴巍<sup>1\*</sup>

(1. 长春中医药大学, 吉林省人参科学研究院, 吉林 长春 130117; 2. 辽宁海思科制药有限公司, 辽宁 沈阳 110168)

**摘要:** 目的 优化人参口服液澄清工艺。方法 以总皂苷、冻干粉含量为评价指标, 比较冻融法、醇沉法及壳聚糖絮凝法对澄清效果的影响。结果 壳聚糖絮凝法在质量分数为 1%、用量为 6% 时澄清效果最佳, 总皂苷、冻干粉保留率分别为 88.78%、83.13%; 采用冻融法、醇沉法时, 总皂苷保留率分别为 91.19%、86.57%, 冻干粉保留率分别为 97.70%、89.65%。壳聚糖絮凝法可在有效保留总皂苷、皂苷单体、冻干粉含量的前提下改善澄明度, 提高稳定性, 口服液在 90 d 内性质稳定。结论 壳聚糖絮凝法可作为人参口服液最佳澄清工艺。

**关键词:** 人参口服液; 澄清工艺; 冻融法; 醇沉法; 壳聚糖絮凝法

**中图分类号:** R284.2

**文献标志码:** B

**文章编号:** 1001-1528(2021)11-3121-04

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.11.034

口服液是以汤剂为基础发展起来的无菌或半无菌口服液体剂<sup>[1]</sup>, 不但保留了汤剂原有特色, 而且具有吸收

快、奏效迅速、服用方便等优点。人参是我国名贵中药材, 具有增强记忆力、提高免疫力、抗衰老、抗肿瘤等作

收稿日期: 2020-02-27

基金项目: 吉林省自然科学基金项目(20180520062JH); 吉林省科技发展计划基金项目(20180201079YY); 吉林省教育厅“十三五”科学技术项目(JJKH20190473KJ)

作者简介: 章国磊(1998—), 男, 硕士生, 研究方向为中药分析学。E-mail: 2084153663@qq.com

\* 通信作者: 李慧(1984—), 女, 助理研究员, 从事中药制剂学研究。E-mail: lihuiterisa@163.com

吴巍(1974—), 女, 研究员, 从事质谱分析研究。E-mail: 925404063@qq.com

用<sup>[2-6]</sup>,是市场上常见补益品,其口服液在增强机体免疫力、抗疲劳、调节血压等方面均表现出很好的疗效<sup>[7-8]</sup>,近年来获得了快速发展,并且在保健食品市场上占有很大份额,具有广阔的发展前景。但人参口服液大多以水为提取溶剂,通过加热回流的方式制备,其间容易提取出淀粉、蛋白质、黏液质等可溶性高分子成分,常呈胶体分散或相互增溶状态<sup>[9]</sup>,在贮存中出现浑浊、沉淀,造成澄明度较差等问题。目前,改善液体制剂澄明度的方法主要有醇沉法<sup>[10]</sup>、壳聚糖絮凝法<sup>[11]</sup>、冻融法<sup>[12]</sup>,本实验以人参皂苷、冻干粉含量为评价指标,对这3种澄清工艺进行比较筛选,以期为其他中药口服液澄清工艺的研究提供理论依据。

### 1 材料

1.1 仪器 四极杆-飞行时间质谱仪(Q-TOF)(美国Agilent公司);N-1100型旋转蒸发仪、FDU-1100型冻干机(东京理化器械株式会社);KQ-3200B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);RCT-3200型超纯水机(长春市莱博帕特有限公司);902-ULTS型超低温冰箱(美国赛默飞世尔科技公司);Synergy 2多功能微孔板检测仪(美国Bio-Tek公司)。

1.2 试剂与药物 4年生全须生晒参(吉林省集安益盛药业股份有限公司),经长春中医药大学姜大成教授鉴定为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Meyer 的干燥根茎。香草醛(萨恩化学技术上海有限公司)。甲醇、甲酸、乙腈为色谱纯(美国Tedia公司);冰醋酸、高氯酸等均为分析纯(北京化学试剂公司)。

### 2 方法与结果

2.1 提取液制备 将生晒参粉碎后过40目筛,称取50g,加500mL超纯水加热回流提取3次,时间分别为2、2、1h,料液比分别为1:10、1:8、1:8,合并滤液,在60℃下减压浓缩至1000mL,过滤,即得。

2.2 冻干粉制备 精密量取“2.1”项下提取液50mL,置于-80℃超低温冰箱中预冻24h后再放到低温冷冻干燥机中冻干36h,即得,称定质量。

#### 2.3 总皂苷及皂苷单体含量测定

2.3.1 对照品溶液制备 精密称定人参皂苷Re对照品2mg,置于2mL量瓶中,甲醇溶解后定容至2mL,过0.22μm微孔滤膜,即得(质量浓度为1mg/mL)。

2.3.2 供试品溶液制备 精密量取“2.1”项下提取液5mL,置于分液漏斗中,加入5mL超纯水,乙醚脱脂3次,每次20mL,收集合并下层水相,加水饱和正丁醇萃取3次,每次20mL,合并正丁醇层,60℃水浴蒸干,甲醇定容至10mL量瓶中,过0.22μm微孔滤膜,即得。

2.3.3 线性关系考察 精密量取人参皂苷Re对照品溶液40、80、120、160、200、240μL,置于10mL具塞刻度试管中,氮气吹干,加入5%香草醛-冰醋酸溶液0.2mL、高氯酸溶液0.8mL,混匀,60℃水浴加热15min,流水冷却,冰醋酸5mL终止反应,在550nm波长处测吸光度。

以人参皂苷Re质量浓度为横坐标(X),吸光度为纵坐标(A)进行回归,得方程为 $A = 12.769X + 0.0403$  ( $r = 0.9991$ ),在5.46~36.40μg/mL范围内呈良好的线性关系。

2.3.4 总皂苷含量测定 按“2.3.3”项下方法检测吸光度,根据回归方程测定总皂苷含量。

2.3.5 皂苷单体含量测定 采用四极杆-飞行时间质谱仪(Q-TOF)法测定。

2.3.5.1 色谱条件 C<sub>18</sub>色谱柱(50mm×3mm,2.7μm);流动相0.1%甲酸(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0~5min,15%~19%B;5~10min,19%B;10~28min,19%~26%B;28~38min,26%~60%B;38~42min,60%~100%B);体积流量0.5mL/min;检测波长550nm;柱温35℃;进样量5μL。

2.3.5.2 质谱条件 电喷雾电离源(ESI),负离子模式;扫描范围m/z 200~1500;雾化器温度300℃;干燥气(N<sub>2</sub>)体积流量9L/min;干燥气温度350℃;雾化器压力45psi(1psi=6.895kPa)。

#### 2.4 澄清工艺考察

2.4.1 冻融法 精密量取5份“2.1”项下提取液,每份50mL,置于-80℃超低温冰箱中冷冻,每次24h,在4℃下避光静置24h,滤过,观察澄明度,测定总皂苷、冻干粉含量,结果见表1。

表1 冻融法对澄清效果的影响

次数/次	总皂苷/(mg·mL <sup>-1</sup> )	冻干粉/(mg·mL <sup>-1</sup> )	澄明度
0	1.5225	41.1055	—
1	1.4152	40.2026	+ -
2	1.4036	40.1608	+
3	1.3952	39.1975	+
4	1.3901	38.7839	+
5	1.4096	38.6613	+

注:—表示浑浊,+表示微澄清,++表示较澄清。

谭蔚等<sup>[13]</sup>报道,冻融可使蚕砂提取液中的粒子产生明显凝聚而沉淀,在保留有效成分的同时改善提取液澄明度;表1显示,冻融法虽能有效保留总皂苷、冻干粉含量,但无法有效改善口服液澄明度,可能是由于该方法不能有效去除淀粉、蛋白质、黏液质等可溶性杂质,而且冻融次数的增加会造成生产成本提高,故不予考虑。

2.4.2 醇沉法 参考文献[14]报道,精密量取5份“2.1”项下提取液,每份50mL,分别加入一定量乙醇使其体积分数达到20%、30%、40%、50%,4℃避光静置24h,过滤,在60℃下浓缩至无醇味,观察澄明度,测定总皂苷、冻干粉含量,结果见表2。

表2 醇沉法对澄明效果的影响

乙醇/%	总皂苷/(mg·mL <sup>-1</sup> )	冻干粉/(mg·mL <sup>-1</sup> )	澄明度
0	1.5225	41.1055	—
20	1.2632	32.5226	+ -
30	1.2974	34.6673	+ -
40	1.3180	36.8492	++
50	1.3663	37.4271	++

注:—表示浑浊,+表示微澄清,++表示澄清。

由此可知,当乙醇体积分数达到40%时,在有效提高总皂苷、冻干粉的含量前提下,口服液澄明度也得到了改善,但少量淀粉、蛋白质、黏液质等可溶性杂质可能未有效除去,导致冻干粉含量增加,并且该工艺增加了乙醇的用量,操作复杂。王柏强等<sup>[15]</sup>在优化杜仲叶水提液除杂工艺过程中发现,醇沉法除杂后药液中杂质沉淀速度慢,导致醇沉法生产周期较长,生产成本提高,故不予考虑。

### 2.4.3 壳聚糖絮凝法

#### 2.4.3.1 壳聚糖质量分数筛选

壳聚糖是虾壳、蟹壳经酸处理后得到的阳离子碱性多糖,无毒无味,可生物降解<sup>[16]</sup>,可通过电中和吸附等作用将体系中的悬浮物及胶体粒子去除,使其澄明度提高<sup>[17]</sup>,并且对于大部分药材提取液均能起到一定的澄清作用,可充分保留有效成分,明显提高转移率<sup>[18-22]</sup>。取1g壳聚糖,1%醋酸分别制成0.5%、1%、2%絮凝剂,磁力搅拌后静置24h,加入3份“2.1”项下提取液中,每份50mL,在4℃下避光静置24h,滤过,观察澄明度,结果见表3。由此可知,1%壳聚糖对提取液中杂质有较强的吸附作用,析出沉淀量较多,同时沉淀物较大的比表面积也将不溶微粒一同除去,而且澄清速度快,澄明度明显改善。

表3 壳聚糖质量分数对澄明效果的影响

质量分数/%	澄明度	沉淀状况
0.5	+-	絮状,少
1	++	絮状,多
2	++	絮状,多

注:+-表示微澄清,++表示澄清。

#### 2.4.3.2 壳聚糖用量筛选

壳聚糖对淀粉、蛋白质、黏液质等可溶性杂质具有较强的吸附作用,形成不溶于水的高分子复合物沉淀,沉淀物较大的表面积也能吸附中药提取液中不溶性的微粒,使得药液澄清<sup>[23]</sup>。精密量取5份“2.1”项下提取液,每份50mL,置于100mL锥形瓶中,1%壳聚糖絮凝剂分别以4%、5%、6%、7%、8%用量加入,在4℃下避光静置24h,滤过,观察澄明度,测定总皂苷、冻干粉含量,结果见表4。由此可知,用量为6%时总皂苷损失较小,澄明速度较快,冻干粉含量较低,可能是壳聚糖的除杂效果较好,同时提取液澄明度显著改善,放置后溶液稳定性良好。

表4 壳聚糖用量对澄明效果的影响

用量/%	总皂苷/(mg·mL <sup>-1</sup> )	冻干粉/(mg·mL <sup>-1</sup> )	澄明度
0	1.522 5	41.105 5	—
4	1.425 6	37.788 5	-
5	1.387 9	36.684 9	+-
6	1.351 6	34.170 1	++
7	1.292 4	33.587 9	++
8	1.268 7	30.723 6	++

注:—表示浑浊,-表示微浑浊,+-表示微澄清,++表示澄清。

#### 2.4.4 壳聚糖用量对皂苷单体含量影响

取质量分数为1%、用量为6%的壳聚糖,加到50mL提取液中,在4℃下避光静置24h,滤过,测定皂苷单体含量,结果见表5、

图1。由此可知,各皂苷单体含量在加入壳聚糖的变化较小,表明壳聚糖絮凝法处理不会对其产生明显破坏作用。

表5 壳聚糖用量对皂苷单体含量的影响

皂苷单体	t <sub>R</sub> /min	m/z	提取液/ (mg·mL <sup>-1</sup> )	6%壳聚糖/ (mg·mL <sup>-1</sup> )
R1	10.26	977.52	0.192 3	0.161 8
Rg1	12.75	845.49	2.658 9	2.377 3
Re	12.96	991.56	1.522 5	1.351 6
Rf	17.32	845.49	0.628 5	0.527 6
Rg2	20.12	829.49	0.243 0	0.207 0
Rc	20.17	1 123.59	0.210 3	0.187 7
Rb1	22.75	1 107.59	0.509 2	0.415 2
F1	24.24	683.44	0.003 2	0.002 5
Rb2	25.09	1 123.59	0.203 2	0.161 3
Rb3	25.24	1 123.59	0.047 9	0.038 9
Rd	26.32	991.55	0.420 5	0.328 2
20-(S)-Rg3	32.59	829.49	0.097 6	0.059 0
20-(R)-Rg3	32.72	829.49	0.074 5	0.043 0

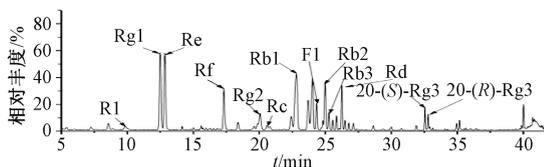


图1 皂苷单体总离子流图

#### 2.4.5 澄清方法比较

表6显示,3种澄清方法均能在有效保证总皂苷、冻干粉含量的前提下,不同程度地改善口服液的澄明度,其中冻融法下两者含量相对较高,但澄明度不理想,可能是由于该方法未能实现对可溶性杂质微粒的有效聚集、沉淀、去除;醇沉法下人参总皂苷保留率降低,冻干粉保留率升高,澄明度不理想,可能是因为该工艺对可溶性杂质的去除率较低;壳聚糖絮凝法下总皂苷含量较高,冻干粉含量降低,表明壳聚糖可实现对可溶性杂质有效去除,并且澄明度也得到显著改善。另外,壳聚糖不破坏有效成分,本身不产生药理作用,用量少,不残留,与人体有良好的生物相容性和降解性<sup>[24]</sup>,而且相关工艺简便,成本较低,生产周期短,是一种理想的澄清剂。

表6 3种澄清方法比较结果

方法	总皂苷/ (mg·mL <sup>-1</sup> )	总皂苷保留 率/%	冻干粉/ (mg·mL <sup>-1</sup> )	冻干粉保留 率/%	澄明 度
无(处理前)	1.522 5	100.00	41.105 5	100.00	—
冻融法	1.403 6	91.19	40.160 8	97.70	+
醇沉法	1.318 0	86.57	36.849 2	89.65	++
壳聚糖絮凝法	1.351 6	88.78	34.170 1	83.13	++

注:—表示浑浊,+表示较澄清,++表示澄清。

#### 2.4.6 澄明度稳定性试验

澄明度稳定性是口服液制备过程中的关键问题,可反映其外观性状和内在质量<sup>[25]</sup>。精密量取12份质量分数为1%、用量为6%的壳聚糖,采用壳聚糖絮凝法处理后的口服液,每份50mL,封装于12个无色玻璃瓶中,分为4组,每组3份,在4℃下避光静置90d,观察澄明度,测定总皂苷、冻干粉含量,结果见表7。由

此可知,总皂苷、冻干粉含量无明显变化,口服液澄清,长时间放置无可视沉淀产生,表明该工艺稳定可行。

表7 澄明度稳定性试验结果 (n=3)

时间/d	总皂苷/(mg·mL <sup>-1</sup> )	冻干粉/(mg·mL <sup>-1</sup> )	澄明度
0	1.358 1	35.732 6	++
30	1.362 5	35.105 5	++
60	1.359 6	34.788 5	++
90	1.353 9	34.904 1	++

注:++表示澄清。

### 3 讨论

人参口服液含有多糖等成分,在乙醇沉淀过程中会有一定损失,而它作为以水为溶剂提取获得的制剂,该方法效果较差。冻融法是通过反复冻融过程改变溶液中分子形态,使其产生沉淀析出的一种方法,它不仅生产周期较长、沉淀效果有限,而且容易影响产品的稳定性,也不适合澄清人参口服液。壳聚糖是一种天然阳性离子碱性多糖,可作为阳离子絮凝剂发挥电中和凝聚、粘结架桥絮凝的双重作用,对人参提取液具有很好的澄清效果,其口服液长时间贮存时能保持较高的澄明度,而且无可视沉淀产生,具有用量少、生产周期短、成本低、澄明度高,稳定性好等优势,应用前景广阔,可为其他中药口服液澄清研究提供理论依据。

### 参考文献:

[1] 朱磊,刘婉莹,付利新,等.提高中药口服液澄明度方法的研究进展[J].药物评价研究,2013,36(4):315-318.

[2] 邢楠楠,赵雨,杨菲,等.人参生长季根中几种氧化还原酶的活力变化研究[J].辽宁中医杂志,2012,39(8):1586-1588.

[3] Reay J L, Scholey A B, Kennedy D O. *Panax ginseng* (G115) improves aspects of working memory performance and subjective ratings of calmness in healthy young adults [J]. *Human Psychopharmacol*, 2010, 25(6): 462-471.

[4] Shergis J L, Zhang A L, Zhou W Y, et al. *Panax ginseng* in randomised controlled trials: a systematic review[J]. *Phytother Res*, 2013, 27(7): 949-965.

[5] 宋齐.人参化学成分和药理作用研究进展[J].人参研究,2017,29(2):47-54.

[6] 于学涛,王淑萍.人参皂苷Rg3联合化疗治疗对胃癌术后患者的临床观察[J].中华肿瘤防治杂志,2010,17(10):779-781.

[7] 朱晓丽.人参皂苷药理作用研究进展[J].中国药物经济学,2017,12(12):152-154.

[8] 于晨.人参皂苷对心血管系统药理作用的研究[J].天津药学,2010,22(4):45-47.

[9] 郑琴,徐德生,冯怡.改善中药口服液澄明度的思路[J].中成药,2006,28(10):1502-1505.

[10] 余琰,魏舒畅,马立新,等.超滤和醇沉纯化当归补血口服液对比研究[J].中国中医药信息杂志,2014,21(5):81-83.

[11] 陈青,林桂涛,盛华刚,等.壳聚糖对解酒保肝口服液澄清工艺的研究[J].中华中医药学刊,2011,29(11):2452-2454.

[12] 郑爱霞,赵小强,赵潜龙,等.牡丹花粉口服液及其制备方法:中国,CN101647871[P].2010-02-17.

[13] 谭蔚,汪露,苏艳霞,等.冻融对蚕砂提取液澄清效果的影响研究[J].中国中药杂志,2011,36(17):2338-2341.

[14] 周跃华,李忠如,姜志勇.玉屏风口服液醇沉乙醇用量的优选[J].中国中药杂志,1994,19(4):229-230.

[15] 王柏强,刘福,何效平,等.杜仲叶水提液除杂工艺的优化[J].中成药,2016,38(6):1418-1421.

[16] 董方言.现代实用中药新剂型新技术(精)[M].2版.北京:人民卫生出版社,2007.

[17] 王学军,徐恒,程敏,等.以壳聚糖为絮凝剂的杜仲叶水提液澄清工艺优化[J].国际药学研究杂志,2018,45(2):150-153;162.

[18] 张俊侠,魏灿英,焦小珂,等.壳聚糖对小儿解表止咳口服液澄清效果的影响[J].中国药房,2014,25(15):1389-1391.

[19] 陈悦.壳聚糖在当归补血口服液澄清工艺中的应用[J].中国民族民间医药,2015,24(9):11.

[20] 黄秉南,杨义雄.壳聚糖澄清剂用于中药提取液澄清工艺的实验[J].海峡药学,2002,14(4):11-12.

[21] 楚笑辉,唐路梅,夏新华.壳聚糖絮凝澄清工艺与醇沉工艺纯化乙肝宁复方水提液的对比[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(21):1-4.

[22] 朱海涛,黄志利,袁胜浩,等.壳聚糖用于风湿II号合剂澄清工艺探讨[J].中国医院药学杂志,2010,30(14):1190-1193.

[23] 王龙虎,吴国良,程翼宇.壳聚糖及其衍生物在中药制药工业中的应用[J].中国中药杂志,2004,29(4):289-292.

[24] 李赛荣,曹玉明,卜令斌.蓝芩口服液絮凝澄清工艺研究[J].中国药业,2005,14(2):51-52.

[25] 常桂娟,白雪媛,孙立霞,等.参精口服液的澄清工艺考察[J].中国中医药杂志,2014,29(9):2792-2796.