

# 三种提取物对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用及其复方软胶囊制备工艺

徐丛玥<sup>1</sup>, 林款<sup>1</sup>, 熊琪<sup>1</sup>, 张琨<sup>2</sup>, 茹琴<sup>1</sup>

(1. 江汉大学武汉生物医学研究院, 湖北武汉 430056) (2. 良品铺子营养食品有限责任公司, 湖北武汉 430056)

**摘要:**为促进降血糖功能食品的开发, 本研究确定了降糖软胶囊中绿茶提取物、葛根提取物、苦瓜提取物的最佳配伍, 优选软胶囊制备工艺并分析其稳定性。在单因素试验基础上通过  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性试验确定三种天然提取物的最佳配伍; 以均匀性、流动性和沉降体积比为考察指标, 考察内容物的性状; 以色泽和透光率为判断指标, 考察囊壳性状。通过稳定性试验考察软胶囊是否具有稳定的性质。当绿茶提取物、葛根提取物、苦瓜提取物的比例为 1:3:30 时抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的效果最佳,  $IC_{50}$  值为 0.92 mg/mL; 以该比例配制复合物, 并发现复合物:大豆油:蜂蜡:大豆磷脂=1:1.5:0.025:0.07, 制得的内容物混悬效果最好; 根据 1:0.45:1 的明胶、甘油、水比例制备胶皮, 并加入甘油用量 2% 的苋菜红色素和 0.30% 的二氧化钛, 得到具有遮光效果好、硬度及黏性适中的红色囊壳。经过 6 个月的加速试验, 发现软胶囊的性状、装量差异、崩解时限均符合中国药典要求, 且抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的  $IC_{50}$  值仅降低 5.33%。综上所述, 含三种天然提取物的复方软胶囊具有良好抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶功效, 且性质稳定, 所得工艺参数可为后期该胶囊的生产提供依据。

**关键词:** 绿茶提取物; 葛根提取物; 苦瓜提取物;  $\alpha$ -葡萄糖苷酶; 软胶囊; 稳定性

文章编号: 1673-9078(2020)10-260-267

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.10.0384

## Inhibitory Effects of Three Kinds of Extracts on $\alpha$ -glucosidase and the Preparation of Compound Soft Capsules

XU Cong-yue<sup>1</sup>, LIN Kuan<sup>1</sup>, XIONG Qi<sup>1</sup>, ZHANG Kun<sup>2</sup>, RU Qin<sup>1</sup>

(1. Wuhan Institutes of Biomedical Sciences, Jiangnan University, Wuhan 430056, China)

(2. Bestore Nutrition Food co., ltd, Wuhan 430056, China)

**Abstract:** In order to promote the development of anti-diabetic functional food, this research determined the optimal formula of green tea (*Camellia sinensis*) extract, kudzu root (*Puerariae lobatae* Radix) extract and bitter melon (*Momordica charantia* L) extract for soft capsules, the optimal processing process, and the stability of soft capsules. Based on the single factor tests, the optimal formula of the three natural extracts was determined by the  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity assay, based on the indicators like uniformity, fluidity and sedimentation volume ratio, and the properties of the capsule shell like the color and light transmittance. The stability of the soft capsules was investigated by a stability test. The inhibition of  $\alpha$ -glucosidase was the greatest when the ratio of green tea extract, kudzu root extract and bitter melon extract was 1:3:30, with the  $IC_{50}$  value being 0.92 mg/mL. The compound was prepared according to this ratio. It was found that the content of the prepared compound led to the most desirable suspension, when the three extracts were at the optimal ratio and the ratio of soybean oil: beeswax: soybean phospholipid was 1:1.5:0.025:0.07. The capsule shell was prepared at a ratio of 1:0.45:1 for gelatin, glycerin and water, with the addition of the

引文格式:

徐丛玥, 林款, 熊琪, 等. 三种提取物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用及其复方软胶囊制备工艺[J]. 现代食品科技, 2020, 36(10): 260-267

XU Cong-yue, LIN Kuan, XIONG Qi, et al. Inhibitory effects of three kinds of extracts on  $\alpha$ -glucosidase and the preparation of compound soft capsules [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(10): 260-267

收稿日期: 2020-04-26

基金项目: 欧阳康乐产学研用创新基金项目 (201601003)

作者简介: 徐丛玥 (1989-), 女, 实验师, 研究方向: 天然产物提取、功能性食品开发

通讯作者: 茹琴 (1984-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 中药药理学研究

amaranth red pigment containing 2.00% of glycerin and 0.30% of titanium dioxide. As a result, a red capsule shell with good light-blocking effect and moderate hardness and viscosity. The 6-month accelerated test revealed that the properties, loading difference, and disintegration time of the soft capsules all met the requirements of the Chinese Pharmacopoeia, with the  $IC_{50}$  value for the inhibition of  $\alpha$ -glucosidase activity decreased only by 5.33%. In summary, the compound soft capsules containing the three natural extracts had a significant inhibitory effect on  $\alpha$ -glucosidase and were stable in nature. The obtained technological parameters can provide a basis for the production of the capsules in the future.

**Key words:** green tea extract; kudzu root extract; bitter melon extract;  $\alpha$ -glucosidase; soft capsule; stability

2019年国际糖尿病联盟IDF发布了第九版全球糖尿病地图<sup>[1]</sup>,显示目前全球有4.63亿糖尿病患者,其中我国糖尿病发病人数高达1.16亿,位居世界第一。预计到2045年,全球将会有近七亿糖尿病患者。 $\alpha$ -葡萄糖苷酶是糖分解代谢中的关键酶,其抑制剂能有效延迟糖尿病患者餐后血糖升高的时间、延缓发病进程、控制并发症的发生<sup>[2,3]</sup>。目前 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂的种类少、价格高、且有一定的副作用<sup>[4]</sup>,因此针对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的降糖作用,开发相关降糖保健品是当前的热点之一。软胶囊是继片剂、针剂之后发展起来的一种新剂型,具有比片剂、颗粒剂起效快,生物利用率高,携带方便,外观形式多样化等特点<sup>[5]</sup>。国家食品药品监督管理局数据显示,目前我国已批准的国产辅助降血糖保健品有307款,其中软胶囊只有54款,占比不足20%,说明软胶囊型的保健品还具有巨大的发展空间。

葛根素和苦味皂苷是目前公认的天然降糖物质<sup>[6,7]</sup>,茶多酚又是一种强抗氧化剂<sup>[8]</sup>。徐婷<sup>[9]</sup>等人探讨了葛根素抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的机理,发现葛根素是一种可逆的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂,其半抑制浓度(half inhibitory concentration,  $IC_{50}$ )值为4.32  $\mu$ M,能显著抑制大鼠血糖水平增长;吴玥霖<sup>[10]</sup>等人研究了苦味、绞股蓝和山药三种提取物对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用,发现苦味提取物的 $IC_{50}$ 值为56.90 mg/mL,且抑制作用呈明显的剂量依赖性;费群勤<sup>[11]</sup>等人的研究表明表没食子儿茶素没食子酸酯[(-)-epigallocatechin gallate, EGCG]对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制是非竞争抑制,且具有较强的抑制作用, $IC_{50}$ 值为0.04 mg/mL。目前保健品的设计趋势是将多种天然活性物质进行配伍,以达到提供多作用靶点、增强功能活性、减少使用剂量和降低毒性等目的,而将这三种天然物质复配后对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用还未曾见到报道。

本实验基于前期开发的一款辅助降血糖营养粉,并根据现有降糖保健品常用原料,对葛根提取物、苦味提取物、山药提取物、燕麦 $\beta$ -葡聚糖、白芸豆提取物、人参提取物、绿茶提取物等原料的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶

抑制活性进行预实验,最终选取绿茶提取物、葛根提取物和苦味提取物3种食物活性物质进行复配,通过对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶体外抑制活性实验确定配伍比例,并将其作为内容物制备成软胶囊,考察软胶囊的理化性质和稳定性,为研发相应降糖软胶囊提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

绿茶提取物(水提物,含95% EGCG)、葛根提取物(水提物,含40%葛根素)、苦味提取物(水提物,含10%苦味皂苷)均购自南京泽朗有限公司。

对硝基苯基- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖苷(4-nitrophenyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside, PNPG)、阿卡波糖,上海源叶生物有限公司; $\alpha$ -葡萄糖苷酶,美国SIGMA公司;大豆油,湖北中昌植物油有限公司;蜂蜡,沧州东方蜂蜡胶业有限公司;大豆磷脂,上海康诺执信食品有限公司;二氧化钛,北京东方凯尔经贸有限公司;明胶,青海明胶股份有限公司;甘油,广州升月有限公司。

### 1.2 主要仪器设备

生化培养箱(SPX-150B III),天津市泰斯特仪器有限公司;酶标仪(MULTISKAN GO),美国Thermo公司;软胶囊机(RGY2-15),北京长征天民高科技有限公司;胶体磨(JTM-84),浙江富昌机械有限公司;高效胶囊定型干燥机(RJNGZ-4)、软胶囊揩丸抛光机(KWPG-2),温州荣吉公司。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性抑制试验

试验采用参考文献<sup>[12]</sup>的方法并稍作调整。准确移取50  $\mu$ L 50 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 6.80),加入96孔板后,依次加10  $\mu$ L  $\alpha$ -葡萄糖苷酶溶液(2 U/mL,用磷酸缓冲液配制)和20  $\mu$ L 样品溶液。将混合溶液在37  $^{\circ}$ C恒温培养箱中预热15 min。然后加入20  $\mu$ L 底物(PNPG)溶液(1 mmol/L),摇匀,37  $^{\circ}$ C恒温

培养箱中反应 30 min, 然后加入 100  $\mu$ L 1 mol/L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液终止反应。酶标仪在 405 nm 处测定其吸光度值。3 次重复, 取平均值, 按下列公式计算样品对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制率:

$$\text{抑制率}/\% = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100\%$$

式中:  $A_1$ 、 $A_2$  分别为空白对照和样品在 405 nm 波长处的吸光度。

先分别用 5% DMSO 溶液配制绿茶提取物、葛根提取物、苦瓜提取物的样品溶液进行单独抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性试验, 再根据单因素试验的  $\text{IC}_{50}$  值确定绿茶提取物与葛根提取物、绿茶提取物与苦瓜提取物、葛根提取物与苦瓜提取物两两物质的组合比例, 最后筛选出三种物质的最优比值。同时配制浓度为 0.40、0.80、1.60、2.46、3.20 和 6.40 mg/mL 的阿卡波糖溶液作阳性对照, 用 5% DMSO 溶液代替样品作为空白对照。

### 1.3.2 联合指数

多种药物配伍后, 其相互作用可分为协同和拮抗。根据药物相互作用原理, 可将联合指数 (Combination Index, CI) 作为几种药物相互作用的判断指标,  $\text{CI} < 1$ 、 $= 1$ 、 $> 1$  分别表示协同、叠加和拮抗作用<sup>[13]</sup>。联合指数计算方法为:

$$\text{CI} = \frac{(D)_1}{(Dx)_1} + \frac{(D)_2}{(Dx)_2} + \frac{(D)_3}{(Dx)_3}$$

式中:  $(D)_1$  表示药物联合作用后抑制率为 50% 时药物 1 的作用浓度,  $(Dx)_1$  表示药物 1 单独作用时抑制率为 50% 时的作用浓度。

### 1.3.3 软胶囊的性状分析

#### 1.3.3.1 内容物及囊壳的感官性状

根据上述  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性抑制试验优选出的三种天然提取物复配比例, 加入大豆油、蜂蜡和大豆磷脂制作成内容物, 通过检测均匀性、流动性和沉降体积比来综合评判内容物的感官性状, 具体测定方法参见文献<sup>[14]</sup>, 其中均匀性和流动性的评分各占综合评分的 30%, 沉降体积比的评分占 40%。综合评分是百分制, 为三项指标之和。本试验的胶囊壳选用明胶、甘油和水制成, 并添加二氧化钛和苋菜红色素, 通过色泽和透光率评判囊壳的感官性状, 测定方法见参考文献<sup>[15]</sup>。

#### 1.3.3.2 软胶囊的稳定性试验

根据《中国药典》的方法<sup>[16]</sup>对制成的软胶囊进行稳定性加速试验, 考察性状、装量、崩解时限和  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性, 其中装量差异和崩解时限的检测方法参考《中国药典》。

### 1.3.4 数据处理方法

运用 SPSS 17.0 和 ORIGIN 软件进行数据分析, 实验结果以平均值  $\pm$  标准差表示, 采用单因素方差分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的抑制试验

#### 2.1.1 单因素试验

设葛根提取物的质量浓度梯度为 0.50、1、2.50、5、10、20、40 和 50 mg/mL、绿茶提取物的质量浓度梯度为 0.05、0.10、0.50、1、5、10、20 和 50 mg/mL、苦瓜提取物的质量浓度为 1、2、4、8、16、24、32 和 64 mg/mL, 用 PNPG 法检测三种提取物的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性, 以质量浓度为横坐标, 抑制率为纵坐标作抑制率曲线, 结果见图 1。

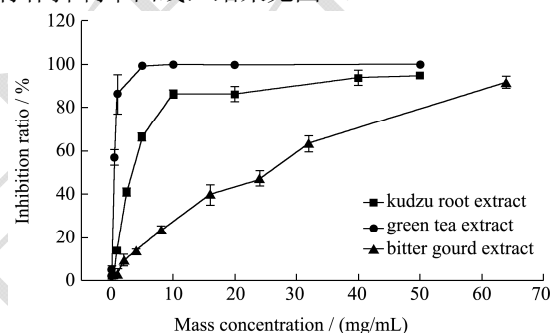


图 1 三种不同提取物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制效果

Fig.1 Inhibitory effect of three different extracts on  $\alpha$ -glucosidase activity

由图 1 可知, 三种提取物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制率随着浓度的增加而显著上升。葛根提取物在 0.50~10 mg/mL 内呈明显的剂量依赖关系, 绿茶提取物在 5~50 mg/mL 范围内对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用趋于平缓, 而苦瓜提取物在 1~64 mg/mL 区间内随浓度的升高抑制效果明显增强。通过 SPSS 软件分析得到阿卡波糖、葛根提取物、绿茶提取物、苦瓜提取物的半数抑制浓度  $\text{IC}_{50}$  分别为 2.02、3.63、0.42 和 19.63 mg/mL, 说明四种物质抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的效果由强到弱为: 绿茶提取物 > 阿卡波糖 > 葛根提取物 > 苦瓜提取物。

陈程<sup>[17]</sup>等人研究葛根素与黄连素在不同配比下对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性, 发现配伍后的活性优于单个使用 (葛根素为 10 mg/mL 时抑制率为 15.21%), 且在葛根素与黄连素之比为 3:8 的最佳配伍时, 抑制能力最强 ( $\text{IC}_{50}$  值为 9.65 mg/mL); 费群勤<sup>[11]</sup>等人发现乌龙茶粗多酚和 EGCG 标准品对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶具有较强的非竞争性抑制作用, 且为可逆型, 其  $\text{IC}_{50}$  值分别为 0.17 mg/mL 和 0.04 mg/mL, 与本试验中绿茶提

取物的抑制效果有所不同,这可能与提取方式、纯度有关;吴玥霖<sup>[10]</sup>等人也研究了苦瓜提取物(苦瓜皂苷10%)对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用,发现苦瓜提取物的IC<sub>50</sub>值为56.90 mg/mL,抑制效果弱于本次试验中使用的苦瓜提取物。

虽然绿茶提取物抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的IC<sub>50</sub>值最低,但有文献报道称EGCG活性不稳定<sup>[18]</sup>,因此根据《中国药典》的方法<sup>[16]</sup>对绿茶提取物进行稳定性试验,结果发现经过一个月的稳定加速试验后,绿茶提取物对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制效果明显降低,其IC<sub>50</sub>值下降了47.33%。多篇文献<sup>[19-21]</sup>报道,将几种物质或单体联合使用能起到协同作用,抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的效果强于单独使用,故通过三种提取物的复配并制备成软胶囊,一方面希望优化出最佳配伍,一方面期待能稳定绿茶提取物抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的效果。

统计葛根提取物、绿茶提取物、苦瓜提取物两两物质之间的IC<sub>50</sub>比值,结果见表1,初步确定绿茶提取物与葛根提取物(E:G)、绿茶提取物与苦瓜提取物(E:K)、葛根提取物与苦瓜提取物(G:K)的组合比例。

表1 两两提取物之间的IC50 比值

Table 1 Ratio of IC <sub>50</sub> values between two extracts			
成分	E:G	E:K	G:K
IC <sub>50</sub> 比值	1:8.70	1:46.86	1:5.40

由表1可知, E:G $\approx$ 1:8.70, E:K $\approx$ 1:46.86, G:K $\approx$ 1:5.40。在联合药物应用中,当两种药物的效能越近似,越能反映联合用药后的相互作用<sup>[22]</sup>。因此根据提取物之间的效价比,设定E+G和G+K的组合比均为1:5、1:10和1:15, E+K的组合比为1:30、1:45和1:60。

### 2.1.2 复合物最适配比的优选

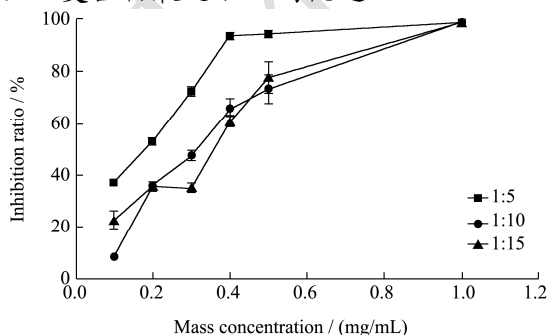


图2 绿茶提取物与葛根提取物组合对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制效果

Fig.2 Inhibitory effect of the combinations of green tea extract and kudzu root extract on  $\alpha$ -glucosidase activity

设E+G(1:5、1:10、1:15)的质量浓度梯度为0.10、0.20、0.30、0.40、0.50、1 mg/mL, G+K(1:5、1:10、

1:15)的质量浓度梯度为2、4、8、16、32、64 mg/mL, E+K(1:30、1:45、1:60)的质量浓度为0.50、1、2、4、8、16 mg/mL,分别检测它们对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制效果,结果见图2~4。

由图2可知,三个组合比例在质量浓度为1 mg/mL时,对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制率均超过98%,但随着葛根提取物质量的增加,抑制曲线在往下移。经分析,绿茶提取物与葛根提取物的组合比例1:5、1:10和1:15的IC<sub>50</sub>值分别为0.15、0.29、0.28 mg/mL;经计算绿茶提取物与葛根提取物的三种组合CI值均小于1,表明在这三种配比下绿茶提取物和葛根提取物复配使用对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶具有协同抑制作用。综合考虑,选择1:5为绿茶提取物与葛根提取物的组合比例进行下一步研究。

由图3所示,随着浓度的增加,葛根提取物与苦瓜提取物的组合物对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制效果升高。经分析,按IC<sub>50</sub>值由小到大排序,葛根提取物与苦瓜提取物的组合物1:10组(16.21 mg/mL)<1:5组(27.27 mg/mL)<1:15组(28.27 mg/mL),因此选1:10为葛根提取物与苦瓜提取物的组合比例进行下一步研究。

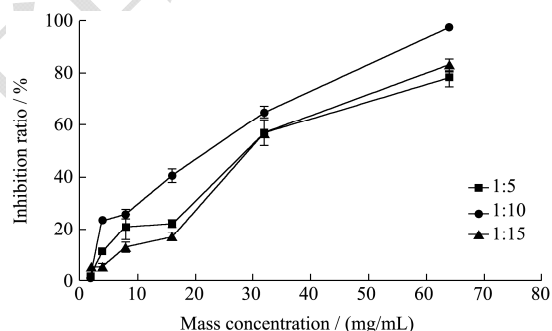


图3 葛根提取物与苦瓜提取物组合对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制效果

Fig.3 Inhibitory effect of the combinations of kudzu root extract and bitter melon extract on  $\alpha$ -glucosidase activity

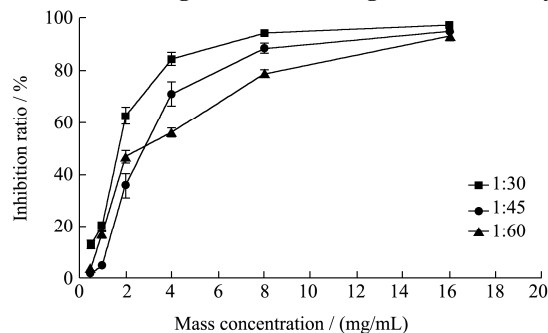


图4 绿茶提取物与苦瓜提取物组合对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制效果

Fig.4 Inhibitory effect of the combinations of green tea extract and bitter melon extract on  $\alpha$ -glucosidase activity



由图 4 可知,当浓度大于 8 mg/mL 后抑制曲线变得平缓,三个组合比例在浓度为 16 mg/mL 时抑制率均超过 90%。经分析,绿茶提取物与苦瓜提取物(1:30)的 IC<sub>50</sub> 值最小,为 1.70 mg/mL,其次为 1:45 组,最后是 1:60 组,且绿茶提取物与苦瓜提取物的联合作用指数也均小于 1,说明绿茶提取物与苦瓜提取物复配具有协同抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的作用。综上选择 1:30 为绿茶提取物与苦瓜提取物的组合比例进行下一步研究。

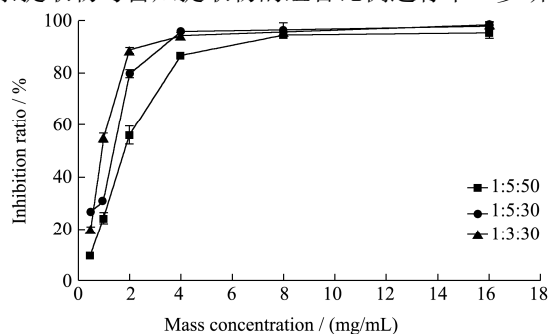


图 5 绿茶提取物、葛根提取物、苦瓜提取物的组合对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制效果

Fig.5 Inhibitory effect of the combinations of green tea extract/kudzu root extract/bitter gourd extract on  $\alpha$ -glucosidase activity

经上述实验结果综合考虑,绿茶提取物:葛根提取物:苦瓜提取物的组合有三种,分别为 1:5:50、1:5:30

和 1:3:30。统一浓度阶梯,分别测定三种配伍对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性,结果见图 5。

由图 5 可知,三种配比均有抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的作用,在浓度大于 8 mg/mL 时抑制率变化趋于平稳,且抑制率均超过 94%。经分析,三种配比 1:5:50、1:5:30 和 1:3:30 的半数抑制浓度分别为 1.76、1.11 和 0.92 mg/mL,均低于阿卡波糖,说明三种提取配伍后对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶具有良好的抑制作用。此外,三种配比的联合指数分别为 0.20、0.16 和 0.13,均小于 1,说明三种天然提取物复配后对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制具有协同效应。综上所述绿茶提取物:葛根提取物:苦瓜提取物的配比为 1:3:30。

## 2.2 软胶囊的性状分析

按照优选的复配比例将三种天然提取物与大豆油、蜂蜡和 大豆磷脂混合均质制成内容物,再将明胶、甘油和水加热搅拌溶解,并添加二氧化钛和苋菜红色素。内容物和胶皮液分别放置在 35 °C 和 50 °C 的保温罐中,连接胶囊机,压丸装量设置为 850 mg/粒,囊皮厚度为 0.8 mm,定型干燥转笼温度为 25 °C,冷风干燥 24 h 使胶皮水分为 7%~10%,得到成品软胶囊。

### 2.2.1 内容物及囊壳的感官性质

表 2 内容物的性状评价

Table 2 Appearance evaluation of content

项目	比例	均匀性/分	流动性/分	沉降体积比/%	综合评分/分
复合物: 大豆油	1:0.50	6.00	5.00	0.71	61.40
	1:1.00	7.00	7.00	0.83	75.20
	1:1.50	8.00	8.00	0.91	84.40
	1:2.00	8.00	8.00	0.86	82.40
	1:2.50	8.00	8.00	0.80	80.00
复合物: 蜂蜡	1:0.01	8.00	9.00	0.89	86.60
	1:0.015	8.00	9.00	0.89	86.60
	1:0.02	8.00	9.00	0.90	87.00
	1:0.025	8.00	9.00	0.94	88.60
	1:0.03	8.00	8.00	0.98	87.20
复合物: 大豆磷脂	1:0.03	8.00	9.00	0.94	88.60
	1:0.04	8.00	9.00	0.94	88.60
	1:0.05	8.00	9.00	0.95	89.00
	1:0.06	8.00	9.00	0.98	90.20
	1:0.07	8.00	9.00	1.00	91.00

软胶囊在成型前内容物的物理性质要稳定、混合要均匀,最终成为一种不分层、分散均匀、流动性好的混悬液。一般常用的分散介质是植物油或 PEG 系列,由于 PEG 对胶皮有硬化作用,且极易含甲醛和乙

醛<sup>[23]</sup>,因此本实验选食用大豆油作为稀释剂,并添加助悬剂蜂蜡以提高溶液稳定性;同时为了避免复合物的下沉,保证其均匀分散在大豆油中,还添加了润湿剂大豆磷脂。内容物中辅料的添加量根据原料性质的

不同而有所差别,必须通过内容物的性状确定添加量,因此本试验观察内容物的均匀性、流动性和沉降体积比,其试验结果见表2。

由表2可知,大豆油的比例 $\geq 1$ 后整体混悬液均匀分布,加入复合物1.50倍量的大豆油,制得的内容物均匀性好,流动性适中,沉降比最大,药液状态较稳定。添加蜂蜡后药液的整体流动性有所提高,其中以复合物:蜂蜡为1:0.025的比例最稳定,不易分层,助悬效果最好,制得的内容物状态最好。当复合物与大豆磷脂比例为1:0.07时,药液3天后都没有出现沉降现象,说明药液非常稳定,因此软胶囊内容物辅料的合适配方为复合物:大豆油:蜂蜡:大豆磷脂=1:1.50:0.025:0.07,此时内容物状态最佳,均匀稳定,流动性好。

表3 色素用量的确定

Table 3 Determination on the dosage of pigment

试验号	苋菜红色素占甘油的百分比/%	囊壳色泽
1	1.00	色泽很淡
2	1.50	色泽偏淡
3	2.00	色泽较好
4	2.50	色泽偏红
5	3.00	色泽深红

复方软胶囊初期的囊壳配方为干明胶:甘油:水=1:0.45:1,与文献<sup>[23]</sup>报道的基础配方类似。后因为

表5 软胶囊加速试验结果

Table 5 The result of the accelerated test of soft capsules

留样时间/月	性状	检测指标		
		装量/mg	崩解时限/min	抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的IC <sub>50</sub> 值/(mg/mL)
0	外表为光滑红色,无变形,无粘结,无渗漏; 内容物均匀分散,流动性好,无结块	840 $\pm$ 15.00	25 $\pm$ 1.31	0.92 $\pm$ 0.23
1	外表为光滑红色,无变形,无粘结,无渗漏; 内容物均匀分散,流动性好,无结块	836 $\pm$ 8.00	26 $\pm$ 2.10	0.94 $\pm$ 0.16
2	外表为光滑红色,无变形,无粘结,无渗漏; 内容物均匀分散,流动性好,无结块	830 $\pm$ 10.00	27 $\pm$ 2.58	0.94 $\pm$ 0.31
3	外表为光滑红色,无变形,无粘结,无渗漏; 内容物均匀分散,流动性好,无结块	832 $\pm$ 6.00	27 $\pm$ 1.92	0.96 $\pm$ 0.19
6	外表为光滑红色,无变形,无粘结,无渗漏; 内容物均匀分散,流动性好,无结块	825 $\pm$ 9.00	29 $\pm$ 3.35	0.97 $\pm$ 0.11

通过6个月的稳定性考察,发现软胶囊均呈红色,光滑无发粘,不变形,接缝处无渗漏现象,表明软胶囊囊壳配方稳定,制备工艺优良,能满足大批量生产。根据国家市场监督管理总局出台的《保健食品卫生学理化检验规范》,其中规定装量差异小于7.50%,符合中国药典的规定,每粒装有323.69 mg复合物,

EGCG的不稳定性,而软胶囊内容物呈棕红色,因此在囊壳配方中添加辅料苋菜红色素和遮光剂二氧化钛,结果见表3、表4。试验发现苋菜红色素用量为甘油用量的2.00%最适宜,囊壳呈红色;遮光剂的用量越大,囊壳的透光率越低,但用量过大会影响囊壳的崩解时间,因此二氧化钛用量选择0.30%。

表4 二氧化钛用量的确定

Table 4 Determination on the dosage of TiO<sub>2</sub>

试验号	二氧化钛占甘油的百分比/%	囊壳透光率/%
1	0.10	12.2
2	0.20	6.80
3	0.30	1.60
4	0.40	0.40
5	0.50	0.20

## 2.2.2 软胶囊的稳定性试验结果

为考察制剂稳定性进行中试放大实验,投入3.27 kg复合物,4.91 kg大豆油,0.09 kg蜂蜡,0.23 kg大豆磷脂,5 kg明胶,2.25 kg甘油,5 kg水,45 g苋菜红色素,6.75 g二氧化钛,制备出软胶囊约9300粒,成型率约为93%。将成品放入37℃,湿度75%的恒温恒湿培养箱中,在试验期间第1个月、2个月、3个月、6个月末分别取样一次,考察整体性状、装量、崩解时限和 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性,结果见表5。

517.92 mg大豆油,8.63 mg蜂蜡和24.17 mg大豆磷脂。在崩解时限上,随着时间的延长,崩解时限有所增加,但都在60 min内,符合药典规定。崩解时限的延长可能是胶皮老化、明胶与二氧化钛产生交联反应及含水量等原因造成<sup>[24]</sup>。加速稳定性试验发现,与刚生产完毕的软胶囊相比,其内容物抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的IC<sub>50</sub>

值仅下降 5.33%，表明将复合物加工成软胶囊能改善原材料稳定性差的缺点，有效延缓生物活性的降低。

### 3 结论

3.1 本试验测定了绿茶提取物、葛根提取物、苦瓜提取物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制效果，发现三种提取物及其两两之间都具有一定的抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶作用，且复合物的联合指数小于 1，说明它们具有协同效应；根据  $IC_{50}$  值的结果，优选出三组小于阿卡波糖的配比，并发现绿茶提取物：葛根提取物：苦瓜提取物为 1:3:30 时对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制效果最好。

3.2 同时按照最优比例配制绿茶提取物、葛根提取物、苦瓜提取物的复合物，加工成软胶囊并考察了内容物与囊壳的感官性状，和 6 个月加速稳定性试验。发现投入复合物 1.50 倍量的大豆油、0.025 倍量的蜂蜡和 0.07 倍量的大豆磷脂能制成均匀性好，流动性适中，沉降比最大的内容物，内容物呈深棕褐色，性状稳定；囊壳由明胶、甘油和水组成，其比例为 1:0.45:1，还加入甘油用量 2.00% 的苋菜红色素和 0.30% 的二氧化钛，具备一定的遮光性。中试的软胶囊装量约为 0.84 g，每粒相当于含有 9.60 mg 绿茶提取物、28.90 mg 葛根提取物、289 mg 苦瓜提取物。稳定性试验考察了性状、装量、崩解时限和抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶作用，结果发现性状、装量、崩解时限均符合药典规定，在抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶方面，成品软胶囊比绿茶提取物更稳定，说明制成软胶囊有利于原料物更好的发挥抑制效果。稳定性试验表明本品具有稳定可靠的性质。

3.3 本试验为研发绿茶提取物、葛根提取物和苦瓜提取物相关降糖产品提供研究基础，下一步可进行有关动物或临床试验，深入探讨降糖机制。

### 参考文献

- [1] International Diabetes Federation. Diabetes Atlas [M]. 9th ed. Brussels, Belgium, 2019: 1-10
- [2] Avogaro A, Fadini GP. The effects of dipeptidyl peptidase-4 inhibition on microvascular diabetes complications [J]. Diabetes Care, 2014, 37(10): 2884-2894
- [3] Lyann S, Kumarasamy J, Sankar M, et al. New glucosidase inhibitors from an ayurvedic herbal treatment for type 2 diabetes: structures and inhibition of human intestinal maltase-glucoamylase with compounds from *Salacia reticulata* [J]. Biochemistr, 2010, 49(3): 443-451
- [4] LIU Qing-bo, CHENG Zhuo-yang, YAN Zhi-yang, et al. *Prunus tomentosa* seed waste as a source of aromatic glycosides: valuable phytochemicals with  $\alpha$ -glucosidase inhibitory and hepatoprotective properties [J]. Industrial Crops and Products, 2018, 111: 590-596
- [5] 夏鸿林,胡翔.心脉通软胶囊制备工艺及芦丁含量测定方法的确立[J].基因组学与应用生物学,2017,36(12): 4893-4898
- [6] XIA Hong-lin, HU Xiang. Preparation technology of xinmaitong soft capsule and determination of rutin content [J]. Genomics and Applied Biology, 2017, 36(12): 4893-4898
- [7] Sandra D H, Veronika K, Silvia R, et al. Quantification of antidiabetic extracts and compounds in bitter gourd varieties [J]. Food Chemistry, 2011, 126(1): 172-176
- [8] PARK Mi-hwa, KANG Ji-hye, HAN Ji-Sook. The hypoglycemic effect of fermented *Pueraria thunbergiana* extract in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. Food Science and Biotechnology, 2015, 24(6): 2199-2203
- [9] ZHAO Xin, SONG Jia-le, YI Ruo-kun, et al. Comparison of antioxidative effects of insect tea and its raw tea (kuding tea) polyphenols in Kunming mice [J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2018, 23(204): 1-18
- [10] 徐婷,褚江洪,丁萍英,等.葛根素对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制作用机理的探讨[J].中国生化药物杂志,2015,35(1):43-45,48
- [11] XU Ting, CHU Jiang-hong, DING Ping-ying, et al. Study of the inhibitive mechanism of puerarin on  $\alpha$ -glucosidase [J]. Chinese Journal of Biochemical and Pharmaceutics, 2015, 35(1): 43-45, 48
- [12] 吴玥霖,魏然,曾里,等.四种天然产物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制作用的研究[J].食品工业科技,2010,31(9):130-131,134
- [13] WU Yue-lin, WEI Ran, ZENG Li, et al. Inhibition of 4 kinds of natural products on  $\alpha$ -glucosidase [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(9): 130-131, 134
- [14] 费群勤,秦一禾,杨孟伽,等.乌龙茶粗多酚、EGCG 和 EGCG3'Me 体外抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性[J].食品科学,2014, 35(21):10-15
- [15] FEI Qun-qin, QIN Yi-he, YANG Meng-jia, et al. *In vitro* inhibitory effects of oolong tea polyphenols, EGCG and EGCG3'Me on  $\alpha$ -glucosidase activity [J]. Food Science, 2014, 35(21): 10-15
- [16] James W, Peter J, Muhammad Waseem M, et al. Antioxidant activity,  $\alpha$ -glucosidase inhibition and phytochemical profiling of *Hyophorbe lagenicaulis* leaf extracts [J]. Peer J, 2019, 7: 1-16
- [17] Ting-Chao Chou. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies [J]. Pharmacological Reviews, 2006, 58(3): 621-681
- [18] 王健,张壮丽,杨海燕,等.艾附暖宫软胶囊制备工艺研究[J].

- 天津中医药,2018,35(10):783-788
- WANG Jian, ZHANG Zhuang-li, YANG Hai-yan, et al. Study on preparation technology of aifu nuangong soft capsule [J]. Tianjin Journal of Traditional Chinese Medicine, 2018, 35(10): 783-788
- [15] 张锦中,肖美添,叶静,等.响应面法优化普鲁兰多糖-卡拉胶软胶囊囊皮配方[J].食品工业科技,2018,39(7): 162-167
- ZHANG Jin-zhong, XIAO Mei-tian, YE Jing, et al. Optimization of the preparation process of the prouran-carrageena-soft capsule by response surface method [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(7): 162-167
- [16] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[M].北京:中国医药科技出版社,2015:118,354
- Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Publishing House, 2015: 118, 354
- [17] 陈程,罗国平,闫梦茹,等.基于体外抗糖尿病活性优选葛根素-黄连素最佳配比[J].现代中药研究与实践,2018,32(3): 35-38,53
- CHEN Cheng, LUO Guo-ping, YAN Meng-ru, et al. Study on the optimum proportion of puerarin-berberinein by anti-diabetic activity *in vitro* [J]. Chin. Med. J. Res. Prac, 2018, 32(3): 35-38, 53
- [18] Naniek W, Achmad F, Sudarsono. Stability of epigallocatechin gallate (EGCG) from green tea (*Camellia sinensis*) and its antibacterial activity against staphylococcus epidermidis ATCC 35984 and propionibacterium acnes ATCC 6919 [J]. Asian Journal of Biological Sciences, 2015, 8(2): 93-101
- [19] Hyeong-u Son, Eun-kyeong Yoon, Chi-yeol Yoo, et al. Effects of synergistic inhibition on  $\alpha$ -glucosidase by phytoalexins in soybeans [J]. Biomolecules, 2019, 9(828): 1-13
- [20] Juntao Kan, Velliquette Rodney A, Grann Kerry, et al. A novel botanical formula prevents diabetes by improving insulin resistance [J]. BMC Complementary & Alternative Medicine, 2017, 17: 1-10
- [21] 靳晓明. 苦瓜皂苷、南瓜多糖和苦荞黄酮提取物降糖降脂功效及联合作用研究[D].天津:天津农学院,2014
- JIN Xiao-ming. Research on hypolipidemic and hpyerglycemic effects and combined effects of *Momordica charantia* saponins, pumpkin polysaccharides and buckwheat flavonoids extracts [D]. Tianjin: Tianjin Agricultural University, 2014
- [22] 顾嘉林,康宁,李德海,等.酸性黑木耳多糖协同抗凝血作用分析[J].现代食品科技,2017,33(6): 45-52
- GU Jia-lin, KANG Ning, LI De-hai, et al. Synergistic effect of acidic *Auricularia auricular* polysaccharide on anticoagulant activity [J]. Modern Food Science & Technology, 2017, 33(6): 45-52
- [23] 刘宝书,王如伟.中药软胶囊的辅料与制备工艺研究进展[J].医药导报,2010,6:764-767
- LIU Bao-shu, WANG Ru-wei. Research progress of Chinese medicin soft capsule's excipients and preparation technology [J]. Herald of Medicine, 2010, 6: 764-767
- [24] 刘群,王丽英,王磊,等.维生素 E 软胶囊的崩解时限与破裂试验的统计分析[J].药学研究,2016,35(9):532-534
- LIU Qun, WANG Li-ying, WANG Lei, et al. Statistical analysis of rupture test and disintegration time on vitamin E soft capsules [J]. Journal of Pharmaceutical Research, 2016, 35(9): 532-534
- 
- (上接第 199 页)
- [25] Maule A J. Plasmodesmata: structure, function and biogenesis [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2008, 11(6): 680-686
- [26] Barbagallo R N, Chisari M, Caputa G. Effects of calcium citrate and ascorbate as inhibitors of browning and softening in minimally processed 'Birgah' eggplants [J]. Postharvest Biology and Technology, 2012, 73: 107-114
- [27] Aguayo E, Requejo-Jackman C, Stanley R, et al. Hot water treatment in combination with calcium ascorbate dips increases bioactive compounds and helps to maintain fresh-cut apple quality [J]. Postharvest Biology and Technology, 2015, 110: 158-165