

# 小儿清热止咳口服液澄清工艺比较

王玲<sup>1</sup>, 周稚川<sup>2</sup>, 高晓黎<sup>1\*</sup>

(1. 新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830022;  
2. 新疆医科大学第一附属医院药剂科, 乌鲁木齐 830022)

**[摘要]** 目的: 优选小儿清热止咳口服液的澄清工艺。方法: 比较高速离心法、乙醇沉淀法、ZTC1 + 1 III 型天然澄清剂法 3 种澄清工艺对小儿清热止咳口服液中收膏率、麻黄碱和黄芩苷相对含量的影响。结果: 乙醇沉淀法为最佳澄清工艺, 其工艺条件为药液浓度比 1:1, 加 95% 乙醇调至含醇量 60%, 冷藏放置 6 h。结论: 优选的澄清工艺稳定, 可行。

**[关键词]** 小儿清热止咳口服液; 澄清工艺; 综合评分法

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0055-05

## Comparison of Clarification Technology for Xiao'er Qingre Zhike Oral Solution

WANG Ling<sup>1</sup>, ZHOU Zhi-chuan<sup>2</sup>, GAO Xiao-li<sup>1\*</sup>

(1. College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830022, China; 2. Department of Pharmacy, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830022, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize clarification technology of Xiao'er Qingre Zhike oral solution. **Method:** To compare effect of three clarification technology (high-speed centrifugation method, ethanol precipitation method and ZTC1 + 1 III adsorption clarify agent method) on yield of extract and relative content of ephedrine and baicalin which were active components in Xiao'er Qingre Zhike oral solution. **Result:** The best clarification technology was ethanol precipitation method, its technology conditions were: the concentration ratio of sample liquid 1:1 with adding 95% ethanol to adjust ethanol concentration to 60%, refrigerated 6 h. **Conclusion:** Optimized clarification technology for Xiao'er Qingre Zhike oral solution was stable and feasible.

**[Key words]** Xiao'er Qingre Zhike oral solution; clarification technology; comprehensive scoring method

小儿清热止咳口服液收载于 2010 年版《中国药典》一部, 原工艺较简单, 但成品的外观质量较差, 长时间存放会产生大量沉淀。本试验考察 3 种澄清工艺对小儿清热止咳口服液中收膏率变化、麻黄碱相对含量、黄芩苷相对含量的影响, 为小儿清热止咳口服液的澄清工艺提供实验依据。

### 1 材料

SCL-10AVP 型高效液相色谱仪 (SPD-10AVP 型检测器, Ver5.33 色谱工作站, 日本岛津), 全自动

LC-20AV 型高效液相色谱仪 (日本岛津公司), BP211D 型精密天平 (德国 Sartorius), SZ-96 型自动超纯水制备仪 (上海亚荣生化仪器厂), ZK-82B 型真空干燥箱 (上海市试验仪器总厂), GB11240-80 型恒温水浴锅 (北京市医疗设备厂), pH S-3 型精密 pH 计 (上海精科雷磁仪器厂), ZBS-6G 型智能崩解仪 (天津大学无线电厂), JCT-C-2 型穿流式热风循环烘箱 (常州范群干燥设备有限公司), TGL-16C 型高速离心机 (上海弗鲁克机电设备有限公司), JN-500 型真空减压浓缩锅 (陕西昌泰实业有限公司), RNLG01-1 型多功能中药液浓缩锅 (陕西昌泰实业有限公司)。

盐酸麻黄碱、黄芩苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号分别为 171241-200303, 110715-200514), ZTC1 + 1 III 型天然澄清剂 (天津正天成澄

**[收稿日期]** 20111230(001)

**[第一作者]** 王玲, 硕士, 讲师, 从事药物新制剂的研究, Tel: 0991-4362442, E-mail: 447673762@qq.com

**[通讯作者]** \* 高晓黎, 博士, 教授, 从事药物新制剂的研究, Tel: 0991-4362442, E-mail: xli\_g@sina.com

清技术有限公司), 甲醇、乙腈为色谱纯, 所用水为双蒸水, 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 收得浸膏变化率** 按处方比例投量煎煮, 提取2次, 合并2次提取液, 滤过, 定容至  $0.1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 精密量取 50 mL, 倾入已干燥恒重的蒸发皿内, 水浴浓缩至干, 移入  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  烘箱干燥 4 h, 取出, 于干燥器中冷却 30 min, 取出称重, 按以下公式计算。

$$\text{浸膏得率} = \text{干燥物} / \text{投料量} \times 100\%$$

$$\text{收得浸膏变化率} = (\text{除杂前出膏率} - \text{除杂后出膏率}) / \text{除杂前出膏率} \times 100\%$$

### 2.2 麻黄碱的相对含量测定<sup>[1]</sup>

**2.2.1 色谱条件** 采用 phenomenex Gemini 5u  $C_{18}$  110A 色谱柱 ( $4.6 \text{ mm} \times 25 \text{ mm}, 5 \text{ } \mu\text{m}$ ), Security Guard<sup>TM</sup> 通用型保护柱, 流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液 (含 0.1% 三乙胺) (3:97), 检测波长 205 nm, 柱温  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , 流速  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 进样量  $20 \text{ } \mu\text{L}$ 。

**2.2.2 样品测定** 精密量取样品液 5 mL, 加水 10 mL 及浓氨试液 0.5 mL, 乙醚提取 5 次 (每次用量分别为 30, 30, 20, 20, 20 mL), 合并乙醚液, 加盐酸乙醇溶液 (1~20) 2 mL, 混匀, 低温回收溶剂至干, 残渣加乙醇 5 mL 使溶解, 转移至 25 mL 量瓶中, 加  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐酸液至刻度, 摇匀, 以  $0.45 \text{ } \mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 进样, 测定, 即为麻黄碱相对含量。

### 2.3 黄芩苷的相对含量测定<sup>[1]</sup>

**2.3.1 色谱条件** 采用 phenomenex Gemini 5u  $C_{18}$  110A 色谱柱 ( $4.6 \text{ mm} \times 25 \text{ mm}, 5 \text{ } \mu\text{m}$ ), Security Guard<sup>TM</sup> 通用型保护柱, 流动相甲醇-水-磷酸 (47:53:0.2), 检测波长 280 nm, 柱温  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ , 流速

$1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 进样量  $20 \text{ } \mu\text{L}$ 。

**2.3.2 样品测定** 精密量取样品 1 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加 60% 甲醇至刻度, 摇匀, 静置, 以  $0.45 \text{ } \mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 进样, 测定, 即得黄芩苷的相对含量。

**2.4 综合评分** 在优化过程中需对各个指标进行综合考虑和权衡, 以综合指标 (overall desirability, OD) 进行直观分析和方差分析<sup>[2-3]</sup>。各指标规格化方程如下:

$$d_i = (Y_i - Y_{min}) / (Y_{max} - Y_{min})$$

$d_i$  为各指标的规格化值;  $Y_{max}$  和  $Y_{min}$  分别为各指标中测得的最大值和最小值;  $Y_i$  为各次试验中各指标的实测值。

根据收得浸膏变化率、麻黄碱及黄芩苷相对含量所作贡献比重大小不同, 分别赋予加权值 20, 40, 40; 即方程变为  $d_{i(\text{收得浸膏变化率})} = (Y_i - Y_{min}) / (Y_{max} - Y_{min}) \times 20$ ;  $d_{i(\text{麻黄碱、黄芩苷相对含量})} = (Y_i - Y_{min}) / (Y_{max} - Y_{min}) \times 40$ 。

**2.5 水提取液制备** 称取处方量药材, 按已优化的提取工艺条件制得提取液并减压浓缩为相应浓度 (如药液浓度为 1:1 即表示 1 mL 药液相当于 1 g 原药材, 以此类推)。

### 2.6 不同澄清工艺样品的制备

#### 2.6.1 高速离心

**2.6.1.1 药液浓度考察** 分别量取提取液 4 份, 每份 40 mL, 药液浓度分别为 4:1, 2:1, 4:3, 1:1; 分别标记为  $C_1, C_2, C_3, C_4$ ,  $15\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  转速下离心 20 min。取上清液, 分别按上述方法测定出膏率、麻黄碱和黄芩苷的含量。结果见表 1。

表 1 不同药液浓度和离心速度对指标成分的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

No.	出膏变化率 /%	相对含量		总分
		麻黄碱	黄芩苷	
$C_1$	$11.12 \pm 0.32$	$2\ 459\ 895 \pm 78\ 963$	$19\ 000\ 753 \pm 486\ 419$	49.10
$C_2$	$13.98 \pm 0.43$	$2\ 756\ 891 \pm 78\ 571$	$16\ 598\ 756 \pm 328\ 655$	44.96
$C_3$	$17.06 \pm 0.70$	$2\ 655\ 562 \pm 94\ 804$	$19\ 989\ 563 \pm 723\ 622$	65.69
$C_4$	$16.32 \pm 0.38$	$2\ 733\ 268 \pm 109\ 604$	$19\ 998\ 978 \pm 703\ 964$	67.60
$V_1$	$12.12 \pm 0.12$	$2\ 179\ 869 \pm 64\ 088$	$18\ 785\ 423 \pm 510\ 964$	39.35
$V_2$	$14.88 \pm 0.58$	$2\ 298\ 765 \pm 77\ 009$	$18\ 896\ 987 \pm 568\ 799$	45.83
$V_3$	$16.02 \pm 0.41$	$2\ 458\ 799 \pm 45\ 980$	$18\ 239\ 581 \pm 625\ 618$	47.35
$V_4$	$18.97 \pm 0.69$	$2\ 587\ 969 \pm 104\ 813$	$18\ 977\ 691 \pm 523\ 784$	58.23

**2.6.1.2 离心转速考察** 分别量取提取液 (药液浓度 1:1) 4 份, 每份 40 mL, 标记为  $V_1, V_2, V_3, V_4$ , 分别在  $11\ 000, 13\ 000, 15\ 000, 17\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  转速下

离心 20 min, 取上清液, 分别测定出膏率、麻黄碱和黄芩苷的相对含量。结果见表 1。

**2.6.1.3 验证试验** 按优化条件取浓度为 1:1 提

取液 50 mL,  $17\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 20 min, 其余操作同前。进行 3 次验证试验, 结果 3 份提取液总评分均值 58.55, RSD 1.68%, 表明优选的除杂工艺稳定、可行。

## 2.6.2 ZTC1 + 1 III 型天然澄清剂

### 2.6.2.1 ZTC1 + 1 III 型天然澄清剂的配制

a 组份: 少量去离子水(蒸馏水)搅成糊状, 加适量去离子水, 溶胀 24 h, 搅拌, 配制成 1% 黏胶液, 用前用去离子水稀释至 0.1%。b 组份: 配制 1% 醋酸, 用少量 1% 醋酸溶解 b 组份并搅成糊状, 加入适量 1% 醋酸, 溶胀 24 h, 搅拌, 配制成 1% 黏胶液。

将提取液浓缩至适当浓度后, 在相应得温度下搅拌加入 1% b 组份溶液, 保温, 期间每隔 30 min 搅

拌一次, 2 h 后同样方法加入 0.1% a 组份溶液, 保温 1 h, 过滤, 得澄清药液, 进行各项指标的测定。

### 2.6.2.2 正交试验

选取 ZTC1 + 1 III 型天然澄清剂的加入量、温度、料液浓度比是影响澄清效果的主要因素, 在此基础上, 进行正交试验, 因水平见表 2, 试验安排见表 3, 方差分析见表 4。

表 2 小儿清热止咳口服液 ZTC1 + 1 III 澄清剂澄清工艺正交试验因素水平

水平	A 浓度比	B 温度/℃	C 澄清剂用量 b: a(mL/100 mL 药液)
1	1:3	60	4:20
2	1:2	70	5:25
3	1:1	80	6:30

表 3 小儿清热止咳口服液 ZTC1 + 1 III 澄清剂澄清工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	出膏率/%	麻黄碱相对含量	黄芩苷相对含量	总分
1	1	1	1	1	19.51	2 596 500	16 927 573	45.51
2	1	2	2	2	20.09	2 543 700	16 821 924	43.50
3	1	3	3	3	23.78	2 733 681	16 814 208	51.93
4	2	1	2	3	24.63	2 334 578	15 537 069	31.36
5	2	2	3	1	22.37	2 424 256	15 816 740	34.60
6	2	3	1	2	25.61	2 459 895	15 915 495	38.48
7	3	1	3	2	19.51	2 442 332	16 406 401	37.17
8	3	2	1	3	27.85	2 407 944	15 948 446	38.47
9	3	3	2	1	25.61	2 465 751	15 318 357	34.78
$K_1$	140.939 7	114.038	122.458	114.89				
$K_2$	104.443 9	116.575	109.647	119.15				
$K_3$	110.425 6	125.196	123.704	121.77				
R	36.495 8	11.158	14.0574	6.88				

表 4 ZTC1 + 1 III 澄清剂澄清工艺方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	255.426 9	2	127.713 5	31.825 2	0.030 5
B	22.806 7	2	11.403 4	2.814 6	0.260 3
C	40.364 6	2	20.182 3	5.029 3	0.165 9
D(误差)	8.025 9	2	4.013 0		

注:  $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ ,  $F_{0.01}(2,2) = 99.00$ (表 7 同)。

由方差分析结果可知, 3 因素中浓度比对于指标的影响具有统计学意义, 经直观分析, 其影响大小的顺序为浓度比 > 澄清剂用量 > 温度, 综合考虑, 得优化处方条件为  $A_1B_1C_1$ , 即浓度比为 1:3, 保温温度为 60℃, 澄清剂加入量为 1% b 组份 4 mL·药液 100 mL<sup>-1</sup>, 0.1% a 组份 20 mL·药液 100 mL<sup>-1</sup>。

### 2.6.2.3 验证试验

取浓度为 1:3 的提取液

50 mL, 在 60℃ 水浴保温下边搅拌边加入 1% b 组份 2 mL, 2 h 后加入 0.1% a 组份 10 mL, 保温 1 h, 过滤, 得澄清药液, 进行各项指标的测定。按优选工艺进行 3 次验证试验, 结果 3 份提取液总分平均值为  $51.51 \pm 1.41$ , RSD 2.74%。表明优选的澄清工艺稳定、可行。

## 2.6.3 醇沉澄清工艺

### 2.6.3.1 处理方法

分别量取不同浓度的提取液 50 mL, 加 95% 乙醇调至含醇量至相应比例, 放置相应时间, 滤过, 滤液减压浓缩至无醇味, 定容至 50 mL, 按前法测定各项指标。

### 2.6.3.2 正交试验

选取料液浓缩比、静置时间及醇沉浓度为醇沉工艺效果的主要因素, 进行  $L_9(3^4)$  正交试验, 其因素水平见表 5, 试验安排见表 6, 方差分

析见表 7。

方差分析结果表明 3 因素对指标均有统计学意义,经直观分析其影响大小的顺序为浓缩比 > 醇沉浓度 > 静置时间,综合考虑,得优化处方条件为  $A_3B_1C_3$ ,即浓缩比为 1:1 的药液,加 95% 乙醇调至含醇量 60%,冷藏放置 6 h。

表 5 小儿清热止咳口服液醇沉工艺正交试验因素水平

水平	A 浓缩比	B 静置时间/h	C 醇沉浓度/%
1	1:3	6	40
2	1:2	12	50
3	1:1	24	60

表 6 小儿清热止咳口服液醇沉工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	出膏率/%	麻黄碱相对含量	黄芩苷相对含量	总分
1	1	1	1	1	30.98	2 332 809	16 668 214	42.75
2	1	2	2	2	28.53	1 935 388	17 541 822	34.09
3	1	3	3	3	11.42	2 546 388	18 372 562	48.06
4	2	1	2	3	14.43	2 633 334	18 830 736	55.78
5	2	2	3	1	23.65	2 667 368	18 131 022	58.29
6	2	3	1	2	26.94	2 550 452	17 319 528	51.37
7	3	1	3	2	8.41	3 180 720	21 284 754	85.43
8	3	2	1	3	17.68	2 645 751	19 211 382	60.76
9	3	3	2	1	11.59	2 837 757	19 403 253	64.23
$K_1$	124.912	183.969	154.883	165.27				
$K_2$	165.440	153.134	154.108	170.9				
$K_3$	210.422	163.671	191.783	164.6				
R	85.510	30.835	37.675	6.3				

表 7 醇沉工艺方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	1 219.764 8	2	609.882 4	152.920 6	0.006 5
B	163.755 5	2	81.877 7	20.529 8	0.046 4
C	309.060 7	2	154.530 3	38.746 6	0.025 2
误差	7.976 5	2	3.988 2		

**2.6.3.3 验证试验** 按优化条件进行 3 次验证试验,取浓度为 1:1 的提取液 50 mL,加 95% 乙醇调至含醇量 60%,冷藏放置 6 h,过滤,减压浓缩至无醇味,定容至 50 mL,按前法测定各项指标。3 份提取液总分的平均值为  $81.14 \pm 1.66$ ,RSD 2.05%。表明优选的澄清工艺稳定、可行。

**2.6.4 3 种澄清方法效果的比较** 按照以上筛选出的 3 种除杂工艺分别处理 3 份样品,指标计算方法和比较方法同前,结果高速离心,ZTC1 + 1 III 型澄清剂,醇沉工艺 3 种澄清方法总分分别为 54.22, 51.72, 86.56; 出膏率分别为 17.99%, 22.13%, 6.21%; 麻黄碱相对含量分别为 2 559 767, 2 745 876, 3 099 878; 黄芩苷相对含量分别为 18 599 875, 16 898 359, 21 699 374。按综合评分法结果比较,澄清方法的效果为醇沉法 > 高速离心法

> ZTC1 + 1 III 型澄清剂;肉眼观察经 3 种澄清工艺后的成型制剂的澄明度为醇沉法 > ZTC1 + 1 III 型澄清剂 > 高速离心法。综合考虑,醇沉工艺效果最好。**2.7 验证试验** 按以上优选工艺进行 3 批中试,结果表明放大生产工艺稳定可行,成品率在  $(96 \pm 1.34)\%$ ,适合工业化大生产。

用 3 批中试样品进行加速试验和长期稳定性试验,按照质量标准项下要求进行检查。加速试验及长期试验结果表明在规定的实验条件下,各项考察指标均未见明显变化,其中在常温条件下放置 6 个月时有部分制剂出现轻摇即散的少量絮状沉淀,即该制剂在规定条件下加速试验 6 个月和常温条件下放置 6 个月是稳定的,证明该制剂的初步稳定性良好、优选工艺可行,长期留样试验仍在进行中。

### 3 讨论

澄清工艺的原理不同导致了澄清效果不同。高速离心是一种借助互不相溶组分间不同的离心力而达到分离的物理方法,在本研究中发现经高速离心后的药液放置一段时间后仍会有较多沉淀出现,考虑可能经多次静置-离心后效果会有所改善。醇沉法是通过加入乙醇改变溶剂的极性而改变组分的溶解度,使得某些成分析出。ZTC1 + 1 澄清剂的作用

原理是第1种组分加入后,在不同的可溶性大分子之间架桥连接,使分子迅速增大,第二种组分在第一种组分形成的复合物的基础上再架桥,使絮体尽快形成沉淀而除去<sup>[4]</sup>。

醇沉对麻黄碱和黄芩苷的影响较其他2种方法都小,同时对出膏率的降低也较少,但对制剂透明度的改善却优于其他2种方法;ZTC1+1III型澄清剂能最大程度的降低出膏率,但同时对于麻黄碱及黄芩苷的含量影响也较大,且其对制剂的透明度改善不如其他2种方法。推测可能是本处方药材所含主要影响制剂透明度成分较易被醇沉除去,而其指标性成分如生物碱、黄酮类成分被较好的保留了下来;ZTC澄清剂可能对影响制剂透明度的成分去除较差,并可能在除去胶体等不稳定成分的同时对生物碱、黄酮类成分去除较多,其虽较大降低出膏率,但对制剂透明度的改善作用不大,造成其处理后的制剂透明度不如经醇沉的制剂。ZTC1+1III型澄清剂用于小儿清热止咳口服液的澄清有文献<sup>[5]</sup>以3个成分(盐酸麻黄碱、甘草次酸、黄芩苷)的定性鉴别、辅以盐酸麻黄碱的定量变化进行考察,认为ZTC1+1III型澄清剂可应用于该制剂的澄清工艺,文献<sup>[6]</sup>表明,采用单一成分的含量变化为指标对中药复方

制剂制备工艺进行评价具有较大的局限性,应尽可能应用多成分指标。

#### [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S]. 2010:496,283.
- [2] 胡容峰,朱家璧,彭代银,等.综合评分法优化复方丹参口腔速溶片制剂处方[J].中国中药杂志,2006,31(5):380.
- [3] Abulzza K A, Contreras L G, Lu D R. Preparation and evaluation of sustained release AZT-Loaded microspheres: optimingion of the release characteristics using response surface methodology [J]. J Pharm Sci, 1996, 85(2):144.
- [4] 孙皎,孙泽沾,康勇. ZTC1+1用于养阴清肺糖浆水提液的絮凝工艺研究[J].中草药,2011,42(3):478.
- [5] 刘鹏翰,韦庚龙,覃泰然,等. 小儿清热止咳口服液澄清工艺的实验研究[J]. 广西中医药,2006,29(1):51.
- [5] 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.

[责任编辑 全燕]

## 欢迎订阅 2012 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物,已成为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)、“中国中文核心期刊”;“中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊;并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创刊于1995年10月,本着提高为主,提高与普及相结合的办刊方针,主要设置:工艺与制剂、化学与分析、资源与鉴定、药物代谢、药理、毒理、临床、综述、学术交流、信息等栏目,交流方剂的药理学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量标准、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究结果与最新进展。本刊的读者对象是从事中医药,尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者,以及中医药院校的高年级学生等。

本刊为半月刊,16开本,288页,标准刊号:ISSN1005-9903;CN11-3495/R。2012年每期定价25元,全年24期定价为600元。国内外公开发行人,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号:2-417;国外由中国国际图书贸易总公司办理发行,代号:BM4655。欢迎订阅。本刊编辑部也办理邮购。地址:北京市东直门内南小街16号,《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)84076882,电子邮件:czd@vip.sina.com,网址:www.syfjxzz.com。