

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



# [12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200510003315.2

[51] Int. Cl.

*A61K 36/896 (2006.01)*  
*A61K 36/66 (2006.01)*  
*A61K 36/56 (2006.01)*  
*A61K 36/53 (2006.01)*  
*A61K 36/484 (2006.01)*  
*A61K 36/232 (2006.01)*

[45] 授权公告日 2008 年 9 月 17 日

[11] 授权公告号 CN 100418563C

[51] Int. Cl. (续)

*A61K 36/11 (2006.01)*  
*A61K 35/64 (2006.01)*  
*A61K 35/62 (2006.01)*  
*A61K 35/58 (2006.01)*  
*A61K 35/56 (2006.01)*  
*A61K 35/55 (2006.01)*  
*A61K 35/36 (2006.01)*  
*A61P 7/02 (2006.01)*  
*G01N 30/02 (2006.01)*  
*G01N 33/15 (2006.01)*

[22] 申请日 2005.12.9

[21] 申请号 200510003315.2

[73] 专利权人 贵州益佰制药股份有限公司

地址 550008 贵州省贵阳市白云大道 220  
-1 号

[72] 发明人 叶湘武 王泽坤

[56] 参考文献

CN1325699A 2001.12.12

抗栓胶囊质量标准的研究. 朱蔚玮. 中国  
药品标准, 第 5 卷第 5 期. 2004

部颁标准中药成方制剂. 119. 1998

审查员 张忠会

[74] 专利代理机构 北京华科联合专利事务所

代理人 王 为

权利要求书 9 页 说明书 22 页

[54] 发明名称

一种中药制剂的质量控制方法

[57] 摘要

本发明公开了一种中药制剂的质量控制方法, 针对现有抗栓制剂存在质量控制方法落后, 产品质量不易控制的缺点。我们采用照薄层色谱法对当归尾、地龙、马钱子、麝香、延胡索、蟾蜍和甘草等进行鉴别, 采用高效液相色谱法对丹参酮 IIA 和土的宁成分进行含量测定。该质量控制方法精密度、灵敏度、稳定性均好, 制剂以每日服用生药量的成品量为单位量, 每单位量含丹参以丹参酮 II  $C_{19}H_{18}O_3$  计不得少于  $52 \mu g$ ; 每单位量含马钱子以土的宁  $C_{21}H_{22}N_2O_2$  计为  $47 \sim 86 \mu g$ 。

- 1、一种抗栓制剂的质量控制方法，包括对性状进行观察，根据药典的方法对内容物进行检查，对内容物当归尾、地龙、马钱子、麝香、延胡索、蟾蜍和甘草进行鉴别，对含有的丹参酮IIA和土的宁进行含量测定；其特征在于，所述对内容物当归尾、地龙、马钱子、麝香、延胡索、蟾蜍和甘草进行鉴别，经过以下方法：
- a. 取抗栓制剂内容物 3g，加正己烷 20ml 超声处理 10-20 分钟，滤过，滤液浓缩至 1ml，作为供试品溶液；另取当归尾对照药材 0.1g，同法制成对照药材溶液；照中国药典 2000 年版一部附录VI B 薄层色谱法试验，吸取上述两种溶液各 5 $\mu$ l，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以正己烷-醋酸乙酯 6-13: 0.7-1.4 为展开剂，展开，取出，晾干，置 365nm 紫外光灯下检视；供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点；
- b. 取抗栓制剂内容物 10g，加水 250ml 加热煮沸回流 0.5-1.5 小时，滤过，滤液置水浴上浓缩至浸膏，加甲醇 8ml，搅拌，放置 1 小时，滤过，滤液浓缩至 0.6~0.8ml，加苯 0.6ml，振摇，分取苯层作为供试品溶液；另取地龙对照药材 1g，同法制成对照药材溶液；照中国药典 2000 年版一部附录VI B 薄层色谱法试验，吸取上述两种溶液各 10 $\mu$ l，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以苯-醋酸乙酯 6-12: 0.7-1.3 为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10%硫酸乙醇溶液，热风吹至斑点显色清晰；供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点；
- c. 取抗栓制剂内容物 20g，加 30~60 $^{\circ}$ C 石油醚 50ml 冷浸 30 分钟，时时振摇，弃去石油醚液，药渣挥干，加氯仿 80ml 超声处理 30 分钟，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 40ml 溶解，滤过，滤液浓缩至约 2ml，用 100~200 目中性氧化铝 4g 在水浴上搅拌干燥，装入 1.5 $\times$ 20cm 中性氧化铝柱，用氯仿 50ml 洗脱，收集洗脱液，蒸干，残渣加甲醇溶解，转移至 10ml 量瓶中，并稀释至刻度，摇匀，作为供试品溶液；另取华蟾酥毒基、酯蟾毒配基对照品各适量，加甲醇制成每 1ml 含华蟾酥毒基 7 $\mu$ g、酯蟾毒配基 18 $\mu$ g 的混合溶液，作为对照品溶液；照中国药典 2000 年版一部附录VI D 高效液相色谱法，用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；水-乙腈 48-70: 26-52 为流动相；流速：1.0ml/min；检测波长 296 $\pm$ 3nm；柱温：

20-60℃；理论板数以华蟾酥毒基、酯蟾毒配基峰计，应分别不低于4000；分别吸取上述两种溶液各20μl，注入液相色谱仪，记录色谱图；供试品色谱中，应有与对照品色谱相同保留时间的色谱峰；

d. 取抗栓制剂内容物10g，加水40ml，盐酸3ml加热煮沸回流1-2小时，滤过，弃去滤液，药渣挥干，加乙醚30ml回流提取0.5-1.5小时，弃去乙醚液，药渣挥干，加氯仿30ml回流提取1小时，滤过，滤液蒸干，残渣加无水乙醇1ml使溶解，滤过，滤液作为供试品溶液；另取甘草次酸对照品，加无水乙醇制成每1ml含2mg的溶液，作为对照品溶液；照薄层色谱法试验，吸取上述两种溶液各5μl，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶G薄层板上，以30~60℃石油醚-苯-醋酸乙酯-冰醋酸7-14:11-30:3-11:0.2-1.1为展开剂，展开，取出，晾干，喷以10%磷钼酸乙醇溶液，105℃加热至斑点显色清晰；供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点；

e. 取抗栓制剂内容物5g，加氨水适量搅拌湿润后，加乙醚40ml放置24小时，时时振摇，滤取上清液，置分液漏斗中，用10%醋酸50ml分三次提取，每次20、20、10ml，合并醋酸层，用氨水调pH10~11，再以氯仿50ml分三次提取，每次20、20、10ml，合并氯仿液，用水洗至中性，加适量无水硫酸钠，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇0.5ml使溶解，作为供试品溶液；另取延胡索乙素对照品，加甲醇制成每1ml含0.5ml的溶液，作为对照品溶液；照薄层色谱法试验，吸取上述供试品溶液5μl，对照品溶液1μl，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶G薄层板上，以30~60℃石油醚-醋酸乙酯1.2-2.9:0.9-2.8为展开剂，置氨蒸气饱和的展开缸内，展开，取出，晾干，碘熏数秒后，置365nm紫外光灯下检视；供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点；所述对含有的丹参酮IIA和士的宁进行含量测定包括以下步骤：

照高效液相色谱法测定；

色谱条件与系统适用性试验 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；流动相：甲醇-水64-110:9.5-22；流速：1.0ml/min；柱温：25-55℃；检测波长270±3nm；理论板数以丹参酮IIA  $C_{19}H_{18}O_3$  峰计，应不低于2000；

对照品溶液的制备 精密称取丹参酮IIA对照品10mg，置50ml棕色量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀；精密量取2ml，置25ml棕色量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，

即得每 1ml 中含丹参酮 II A 16 $\mu$ g;

**供试品溶液的制备** 取抗栓制剂内容物 3g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50ml, 密塞, 称定重量, 放置过夜, 超声处理 10-60 分钟, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 取上清液用滤膜 0.45 $\mu$ m 滤过, 即得;

**测定法** 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5 $\mu$ l, 注入液相色谱仪, 测定, 即得。

2、权利要求 1 的方法, 其特征在于, 该方法中的含量测定方法为:

照高效液相色谱法测定;

**色谱条件与系统适用性试验** 用硅胶为填充剂; 氯仿-环己烷-二乙胺 52-94: 16-33: 0.9-3.4 为流动相; 流速: 1.0ml/min; 柱温: 20-60 $^{\circ}$ C; 检测波长为 254 $\pm$ 2nm; 理论板数按士的宁峰计算应不低于 2000;

**对照品溶液的制备** 精密称取士的宁对照品适量, 加醋酸乙酯制成每 1ml 含 0.2mg 的溶液, 即得;

**供试品溶液的制备** 取抗栓制剂内容物 10g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加氯仿 50ml 与浓氨试液 2-8ml, 密塞, 轻轻振摇, 称定重量, 放置 24 小时, 超声处理 0-40 分钟, 放冷, 再称定重量, 用提取液补足减失的重量, 充分振摇, 滤过, 精密量取续滤液 25ml, 置分液漏斗中, 按 3 $\rightarrow$ 100 用硫酸溶液提取 5-9 次, 每次 25ml, 合并硫酸液, 加浓氨试液调节 pH 值至 9~10, 用氯仿提取 5-9 次, 每次 30ml, 合并氯仿液, 蒸干, 残渣加醋酸乙酯溶解, 转移至 5ml 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得;

**测定法** 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5 $\mu$ l, 注入液相色谱仪, 测定, 即得。

3、权利要求 1 所述的方法, 其特征在于, 该方法中含量测定方法为:

照高效液相色谱法测定;

**色谱条件与系统适用性试验** 用硅胶为填充剂; 氯仿-环己烷-二乙胺 75: 25: 2 为流动相; 流速: 1.0ml/min; 柱温: 40 $^{\circ}$ C; 检测波长为 254nm; 理论板数按士的宁峰计算应不低于 2000;

**对照品溶液的制备** 精密称取士的宁对照品适量, 加醋酸乙酯制成每 1ml 含 0.2mg 的溶液, 即得;

供试品溶液的制备 取本品内容物 10g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加氯仿 50ml 与浓氨试液 8ml, 密塞, 轻轻振摇, 称定重量, 放置 24 小时, 超声处理 20 分钟, 放冷, 再称定重量, 用提取液补足减失的重量, 充分振摇, 滤过, 精密量取续滤液 25ml, 置分液漏斗中, 用硫酸溶液 3→100 提取 7 次, 每次 25ml, 合并硫酸液, 加浓氨试液调节 pH 值至 9~10, 用氯仿提取 7 次, 每次 30ml, 合并氯仿液, 蒸干, 残渣加醋酸乙酯溶解, 转移至 5ml 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得;

测定法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5 $\mu$ l, 注入液相色谱仪, 测定, 即得; 每粒含马钱子以士的宁  $C_{21}H_{22}N_2O_2$  计为 47~86 $\mu$ g。

4、权利要求 1 的方法, 其特征在于, 经过以下方法:

鉴别:

- a. 取抗栓制剂内容物 3g, 加正己烷 20ml 超声处理 10-20 分钟, 滤过, 滤液浓缩至 1ml, 作为供试品溶液; 另取当归尾对照药材 0.1g, 同法制成对照药材溶液; 照薄层色谱法试验, 吸取上述两种溶液各 5 $\mu$ l, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-醋酸乙酯 6-13: 0.7-1.4 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯 365nm 下检视; 供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点;
- b. 取抗栓制剂内容物 10g, 加水 250ml 加热煮沸回流 0.5-1.5 小时, 滤过, 滤液置水浴上浓缩至浸膏, 加甲醇 8ml, 搅拌, 放置 1 小时, 滤过, 滤液浓缩至 0.6~0.8ml, 加苯 0.6ml, 振摇, 分取苯层作为供试品溶液; 另取地龙对照药材 1g, 同法制成对照药材溶液; 照薄层色谱法试验, 吸取上述两种溶液各 10 $\mu$ l, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以苯-醋酸乙酯 6-12: 0.7-1.3 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10%硫酸乙醇溶液, 热风吹至斑点显色清晰; 供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点;
- c. 取抗栓胶囊制剂内容物 8g, 置 500ml 圆底烧瓶中, 加水 200ml, 苯 1.0ml, 混匀, 连接挥发油测定器及回流冷凝管, 加热至沸, 并保持煮沸 1.5-2.5 小时, 放冷, 分取苯层作为供试品溶液; 另取麝香酮对照品, 加苯制成每 1ml 含 0.2mg 的溶液, 作为对照品溶液; 照气相色谱法, 用 100%甲基硅酮 OV-1 为固定相; FID 检测器; 弹性石英毛细管色谱柱 30m $\times$ 0.25mm $\times$ 0.32 $\mu$ m; 程序升温: 200 $^{\circ}$ C-1min-3

°C/min-240°C-0min-20°C/min-260°C-5min; 分别吸取上述两种溶液各 4 $\mu$ l, 注入气相色谱仪, 记录色谱图; 供试品色谱中, 应有与对照品色谱相同保留时间的色谱峰;

d. 取抗栓胶囊制剂内容物 20g, 加 30~60°C 石油醚 50ml 冷浸 30 分钟, 时时振摇, 弃去石油醚液, 药渣挥干, 加氯仿 80ml 超声处理 30 分钟, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 40ml 溶解, 滤过, 滤液浓缩至约 2ml, 用中性氧化铝 100~200 目 4g 在水浴上搅拌干燥, 装入中性氧化铝柱 1.5 $\times$ 20cm, 用氯仿 50ml 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加甲醇溶解, 转移至 10ml 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液; 另取华蟾酥毒基、酯蟾毒配基对照品各适量, 加甲醇制成每 1ml 含华蟾酥毒基 7 $\mu$ g、酯蟾毒配基 18 $\mu$ g 的混合溶液, 作为对照品溶液; 照高效液相色谱法, 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 水-乙腈 48-70: 26-52 为流动相; 流速: 1.0ml/min; 检测波长 296 $\pm$ 3nm; 柱温: 20-60°C; 理论板数以华蟾酥毒基、酯蟾毒配基峰计, 应分别不低于 4000; 分别吸取上述两种溶液各 20 $\mu$ l, 注入液相色谱仪, 记录色谱图; 供试品色谱中, 应有与对照品色谱相同保留时间的色谱峰;

e. 取抗栓胶囊制剂内容物 10g, 加水 40ml, 盐酸 3ml 加热煮沸回流 1-2 小时, 滤过, 弃去滤液, 药渣挥干, 加乙醚 30ml 回流提取 0.5-1.5 小时, 弃去乙醚液, 药渣挥干, 加氯仿 30ml 回流提取 1 小时, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加无水乙醇 1ml 使溶解, 滤过, 滤液作为供试品溶液; 另取甘草次酸对照品, 加无水乙醇制成每 1ml 含 2mg 的溶液, 作为对照品溶液; 照薄层色谱法试验, 吸取上述两种溶液各 5 $\mu$ l, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以 30~60°C 石油醚-苯-醋酸乙酯-冰醋酸 7-14: 11-30: 3-11: 0.2-1.1 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 磷钼酸乙醇溶液, 105°C 加热至斑点显色清晰; 供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点;

f. 取抗栓胶囊制剂内容物 5g, 加氨水适量搅拌湿润后, 加乙醚 40ml 放置 24 小时, 时时振摇, 滤取上清液, 置分液漏斗中, 用 10% 醋酸 50ml 分三次提取, 第一次为 20ml, 第二次为 20ml, 第三次为 10ml, 合并醋酸层, 用氨水调 pH10~11, 再以氯仿 50ml 分三次提取, 每次 20、20、10ml, 合并氯仿液, 用水洗至中性, 加适量无水硫酸钠, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 0.5ml 使溶解, 作为供试品溶

液；另取延胡索乙素对照品，加甲醇制成每 1ml 含 0.5ml 的溶液，作为对照品溶液；照薄层色谱法试验，吸取上述供试品溶液 5 $\mu$ l，对照品溶液 1 $\mu$ l，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以 30~60 $^{\circ}$ C 石油醚-醋酸乙酯 1.2-2.9: 0.9-2.8 为展开剂，置氨蒸气饱和的展开缸内，展开，取出，晾干，碘熏数秒后，置紫外光灯 365nm 下检视；供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点；

含量测定：

a. 丹参酮 II A 含量测定：照高效液相色谱法测定；色谱条件与系统适用性试验 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；流动相：甲醇-水 64-110: 9.5-22；流速：1.0ml/min；柱温：25-55 $^{\circ}$ C；检测波长 270 $\pm$ 3nm；理论板数以丹参酮 II A  $C_{19}H_{18}O_3$  峰计，应不低于 2000；对照品溶液的制备 精密称取丹参酮 II A 对照品 10mg，置 50ml 棕色量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀；精密量取 2ml，置 25ml 棕色量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，即得每 1ml 中含丹参酮 II A 16 $\mu$ g；供试品溶液的制备 取抗栓制剂内容物 3g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 50ml，密塞，称定重量，放置过夜，超声处理 10-60 分钟，放冷，再称定重量，用甲醇补足减失的重量，摇匀，取上清液用滤膜 0.45 $\mu$ m 滤过，即得；测定法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5 $\mu$ l，注入液相色谱仪，测定，即得；

b. 士的宁含量测定：照高效液相色谱法测定；色谱条件与系统适用性试验 用硅胶为填充剂；氯仿-环己烷-二乙胺 52-94: 16-33: 0.9-3.4 为流动相；流速：1.0ml/min；柱温：20-60 $^{\circ}$ C；检测波长为 254 $\pm$ 2nm；理论板数按士的宁峰计算应不低于 2000；对照品溶液的制备 精密称取士的宁对照品适量，加醋酸乙酯制成每 1ml 含 0.2mg 的溶液，即得；供试品溶液的制备 取抗栓制剂内容物 10g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加氯仿 50ml 与浓氨试液 2-8ml，密塞，轻轻振摇，称定重量，放置 24 小时，超声处理 0-40 分钟，放冷，再称定重量，用提取液补足减失的重量，充分振摇，滤过，精密量取续滤液 25ml，置分液漏斗中，用硫酸溶液 3 $\rightarrow$ 100 提取 5-9 次，每次 25ml，合并硫酸液，加浓氨试液调节 pH 值至 9~10，用氯仿提取 5-9 次，每次 30ml，合并氯仿液，蒸干，残渣加醋酸乙酯溶解，转移至 5ml 量瓶中，并稀释至刻度，摇匀，即得；测定法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5 $\mu$ l，注入液相色谱仪，测定，即得。

5、权利要求1的方法，其特征在于，经过以下方法：

鉴别：

- a. 取抗栓胶囊制剂内容物 3g，加正己烷 20ml 超声处理 15 分钟，滤过，滤液浓缩至 1ml，作为供试品溶液；另取当归尾对照药材 0.1g，同法制成对照药材溶液；照薄层色谱法试验，吸取上述两种溶液各 5 $\mu$ l，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以正己烷-醋酸乙酯 9：1 为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外光灯 365nm 下检视；供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点；取本品内容物 10g，加水 250ml 加热微沸回流 1 小时，滤过，滤液置水浴上浓缩至浸膏，加甲醇 8ml，搅拌，放置 1 小时，滤过，滤液浓缩至 0.6~0.8ml，加苯 0.6ml，振摇，分取苯层作为供试品溶液；另取地龙对照药材 1g，同法制成对照药材溶液；照薄层色谱法试验，吸取上述两种溶液各 10 $\mu$ l，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以苯-醋酸乙酯 9：1 为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10%硫酸乙醇溶液，热风吹至斑点显色清晰；供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点；
- b. 取抗栓胶囊制剂内容物 10g，加水 250ml 加热微沸回流 1 小时，滤过，滤液置水浴上浓缩至浸膏，加甲醇 8ml，搅拌，放置 1 小时，滤过，滤液浓缩至 0.6~0.8ml，加苯 0.6ml，振摇，分取苯层作为供试品溶液；另取地龙对照药材 1g，同法制成对照药材溶液；照薄层色谱法试验，吸取上述两种溶液各 10 $\mu$ l，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以苯-醋酸乙酯 9：1 为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10%硫酸乙醇溶液，热风吹至斑点显色清晰；供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点；
- c. 取抗栓胶囊制剂内容物 8g，置 500ml 圆底烧瓶中，加水 200ml，苯 1.0ml，混匀，连接挥发油测定器及回流冷凝管，加热至沸，并保持微沸 2 小时，放冷，分取苯层作为供试品溶液；另取麝香酮对照品，加苯制成每 1ml 含 0.2mg 的溶液，作为对照品溶液；照气相色谱法，用 100%甲基硅酮 OV-1 为固定相；FID 检测器；弹性石英毛细管色谱柱 30m $\times$ 0.25mm $\times$ 0.32 $\mu$ m；程序升温：200 $^{\circ}$ C-1min-3 $^{\circ}$ C/min-240 $^{\circ}$ C-0min-20 $^{\circ}$ C/min-260 $^{\circ}$ C-5min；分别吸取上述两种溶液各 4 $\mu$ l，注入气相色谱仪，记录色谱图；供试品色谱中，应有与对照品色谱相同保留时间的色



谱峰；

d. 取抗栓胶囊制剂内容物 20g，加 30~60℃石油醚 50ml 冷浸 30 分钟，时时振摇，弃去石油醚液，药渣挥干，加氯仿 80ml 超声处理 30 分钟，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 40ml 溶解，滤过，滤液浓缩至约 2ml，用中性氧化铝 100~200 目 4g 在水浴上搅拌干燥，装入中性氧化铝柱 1.5×20cm，用氯仿 50ml 洗脱，收集洗脱液，蒸干，残渣加甲醇溶解，转移至 10ml 量瓶中，并稀释至刻度，摇匀，作为供试品溶液；另取华蟾酥毒基、酯蟾毒配基对照品各适量，加甲醇制成每 1ml 含华蟾酥毒基 7μg、酯蟾毒配基 18μg 的混合溶液，作为对照品溶液；照高效液相色谱法，用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；水-乙腈 60:40 为流动相；流速：1.0ml/min；检测波长 296nm；柱温：40℃；理论板数以华蟾酥毒基、酯蟾毒配基峰计，应分别不低于 4000；分别吸取上述两种溶液各 20μl，注入液相色谱仪，记录色谱图；供试品色谱中，应有与对照品色谱相同保留时间的色谱峰；

e. 取抗栓胶囊制剂内容物 10g，加水 40ml，盐酸 3ml 加热煮沸回流 1.5 小时，滤过，弃去滤液，药渣挥干，加乙醚 30ml 回流提取 1 小时，弃去乙醚液，药渣挥干，加氯仿 30ml 回流提取 1 小时，滤过，滤液蒸干，残渣加无水乙醇 1ml 使溶解，滤过，滤液作为供试品溶液；另取甘草次酸对照品，加无水乙醇制成每 1ml 含 2mg 的溶液，作为对照品溶液；照薄层色谱法试验，吸取上述两种溶液各 5μl，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以 30~60℃石油醚-苯-醋酸乙酯-冰醋酸 10:20:7:0.5 为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10%磷钼酸乙醇溶液，105℃加热至斑点显色清晰；供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点；

f. 取抗栓胶囊制剂内容物 5g，加氨水适量搅拌湿润后，加乙醚 40ml 放置 24 小时，时时振摇，滤取上清液，置分液漏斗中，用 10%醋酸 50ml 分三次提取，每次 20、20、10ml，合并醋酸层，用氨水调 pH10~11，再以氯仿 50ml 分三次提取，每次 20、20、10ml，合并氯仿液，用水洗至中性，加适量无水硫酸钠，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 0.5ml 使溶解，作为供试品溶液；另取延胡索乙素对照品，加甲醇制成每 1ml 含 0.5ml 的溶液，作为对照品溶液；照薄层色谱法试验，吸取上述供试品溶液 5μl，对照品溶液 1μl，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以 30~60℃石油醚-醋酸乙酯 2:1.7 为展开剂，置氨蒸

气饱和的展开缸内，展开，取出，晾干，碘熏数秒后，置紫外光灯 365nm 下检视；供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点；

含量测定：

a. 丹参酮 II A 含量测定：照高效液相色谱法测定；色谱条件与系统适用性试验用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；流动相：甲醇-水 85: 15；流速：1.0ml/min；柱温：40℃；检测波长 270nm；理论板数以丹参酮 II A  $C_{19}H_{18}O_3$  峰计，应不低于 2000；对照品溶液的制备 精密称取丹参酮 II A 对照品 10mg，置 50ml 棕色量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀；精密量取 2ml，置 25ml 棕色量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，即得每 1ml 中含丹参酮 II A 16 $\mu$ g；供试品溶液的制备 取本品内容物 3g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 50ml，密塞，称定重量，放置过夜，超声处理 30 分钟，放冷，再称定重量，用甲醇补足减失的重量，摇匀，取上清液用滤膜 0.45 $\mu$ m 滤过，即得；测定法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5 $\mu$ l，注入液相色谱仪，测定，即得；本品每粒含丹参以丹参酮 II A  $C_{19}H_{18}O_3$  计不得少于 52 $\mu$ g；

b. 土的宁的含量测定 照高效液相色谱法测定；色谱条件与系统适用性试验 用硅胶为填充剂；氯仿-环己烷-二乙胺 75: 25: 2 为流动相；流速：1.0ml/min；柱温：40℃；检测波长为 254nm；理论板数按土的宁峰计算应不低于 2000；对照品溶液的制备 精密称取土的宁对照品适量，加醋酸乙酯制成每 1ml 含 0.2mg 的溶液，即得；供试品溶液的制备 取本品内容物 10g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加氯仿 50ml 与浓氨试液 8ml，密塞，轻轻振摇，称定重量，放置 24 小时，超声处理 20 分钟，放冷，再称定重量，用提取液补足减失的重量，充分振摇，滤过，精密量取续滤液 25ml，置分液漏斗中，用硫酸溶液 3 $\rightarrow$ 100 提取 7 次，每次 25ml，合并硫酸液，加浓氨试液调节 pH 值至 9~10，用氯仿提取 7 次，每次 30ml，合并氯仿液，蒸干，残渣加醋酸乙酯溶解，转移至 5ml 量瓶中，并稀释至刻度，摇匀，即得；测定法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5 $\mu$ l，注入液相色谱仪，测定，即得；每粒含马钱子以土的宁  $C_{21}H_{22}N_2O_2$  计为 47~86 $\mu$ g。

6、权利要求 1-5 的任何一项方法，其特征在于，所述抗栓制剂是口服制剂。

7、权利要求 6 的方法，其特征在于，所述口服制剂是胶囊、片剂、口服液、糖浆或颗粒剂。

## 一种中药制剂的质量控制方法

### 技术领域:

本发明涉及一种中药制剂的质量控制方法, 特别涉及抗栓制剂质量控制方法。

### 背景技术:

抗栓制剂原料药是由当归尾、丹参、僵蚕、壁虎、土鳖虫、蜈蚣、水蛭、蜂房、地龙、马钱子、麝香、蟾酥、甘草、土茯苓、延胡索、骨碎补、乌梢蛇、虻虫、穿山甲等十九味中药组成, 国内有多种剂型上市。但经我们研究发现, 现有抗栓制剂存在质量控制方法落后, 产品质量不易控制的缺点。现有质量控制方法中并没有对当归尾、地龙、马钱子、麝香、延胡索、蟾酥和甘草进行鉴别, 或对丹参酮IIA和土的宁成分进行含量测定。故现有质量控制方法不能有效控制抗栓制剂的质量, 从而将影响产品的生产和保证质量。

为有效控制产品质量, 我们建立了抗栓制剂的新的质量控制方法, 该方法采用照薄层色谱法对当归尾、地龙、马钱子、麝香、延胡索、蟾酥和甘草等进行鉴别, 采用高效液相色谱法对丹参酮IIA和土的宁成分进行含量测定。该质量控制方法精密度、灵敏度、稳定性均好, 确保产品质量的“安全、均一、稳定、有效、可控”。

### 发明内容:

本发明目的在于提供抗栓制剂的质量控制方法。

本发明是针对抗栓制剂提出质量控制方法的, 这种抗栓制剂包括胶囊、片剂、口服液、糖浆、颗粒剂等口服制剂。

本发明的所述的抗栓制剂是由如下重量份的中药原料制成的:

当归尾 200g、丹参 200g、僵蚕(麸炒) 100g、壁虎 100g、土鳖虫 200g、蜈蚣 50g、水蛭 200g、蜂房 100g、地龙 100g、马钱子(制) 30g、麝香 3g、蟾酥(酒制) 1g、甘草 100g、土茯苓 200g、延胡索(醋制) 100g、骨碎补(制) 200g、乌梢蛇(酒制) 200g、虻虫(去翅) 50g、穿山甲(沙烫) 50g

以上组成可制成药物制剂 1000 剂, 所述 1000 剂指, 制成的成品药物制剂, 如制成胶囊制剂 1000 粒, 片剂 1000 片, 颗粒剂 1000g, 液体制剂 1000ml 等,

以上组成是按重量份作为配比的, 在生产时可按照相应比例增大或减少, 如大规模生产可以以公斤为单位, 或以吨为单位。

本发明抗栓制剂的制备方法可以采用以下方法:

通过将上述配方的中药原料经过提取或其他方式加工, 制成药物活性物质, 随后, 以该物质为原料, 需要时加入药物可接受的载体, 按照制剂学的常规技术制成胶囊、片剂、口服

液、糖浆、颗粒剂。所述活性物质可以通过选自以下方式的方法得到，如：通过粉碎、压榨、煅烧、研磨、过筛、渗漉、萃取、水提、醇提、酯提、酮提、层析等方法得到，这些活性物质可以是浸膏形式的物质，可以是干浸膏也可以是流浸膏，还可以是高纯度提取物，根据制剂的不同需要决定制成不同的浓度。

本发明的抗栓制剂，在制成制剂时根据需要可以加入药物可接受的载体，这些载体可以是任何适合制成抗栓制剂的载体，如：苯甲酸或钾盐、甘露醇、山梨醇、山梨酸或钾盐、木糖醇、麦芽糖、葡萄糖、果糖、右旋糖苷、甘氨酸、淀粉、蔗糖、乳糖、甘露糖醇、尼泊尔甲酯、尼泊尔乙酯、尼泊尔丙酯、尼泊尔丁酯、焦亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、硫代硫酸钠、盐酸半胱氨酸、巯基乙酸、蛋氨酸、维生素A、维生素C、维生素E、维生素D、氮酮、EDTA二钠、EDTA钙钠，一价碱金属的碳酸盐、醋酸盐、磷酸盐或其水溶液、盐酸、醋酸、硫酸、磷酸、氨基酸、氯化钠、氯化钾、乳酸钠、硅衍生物、纤维素及其衍生物、藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、甘油、丙二醇、乙醇、土温60-80、司盘-80、蜂蜡、羊毛脂、液体石蜡、十六醇、没食子酸酯类、琼脂、三乙醇胺、碱性氨基酸、尿素、尿囊素、表面活性剂、聚乙二醇、环糊精、 $\beta$ -环糊精、磷脂类材料等。

本发明提供的是针对以上抗栓制剂的质量控制方法，为控制抗栓制剂的质量。针对的其特点及本发明配方，我们提供了如下质量控制方法：

本发明所述质量控制方法包括以下步骤：

对性状进行观察，根据药典的方法对内容物进行检查，对内容物当归尾、地龙、马钱子、麝香、延胡索、蟾蜍和甘草进行鉴别，对含有的丹参酮IIA和土的宁进行含量测定。

因此，本发明的质量控制方法主要的步骤是：

- A. 对本发明药物制剂中的当归尾、地龙、马钱子、麝香、延胡索、蟾蜍和甘草进行鉴别；
- B. 测定本发明药物制剂中丹参酮IIA和土的宁的含量；

其中A鉴别的具体步骤如下：

(1) 取抗栓制剂内容物，置显微镜下观察：菌丝体近无色，细长卷曲缠结在体壁中。体壁碎片深棕色或黄色，其上着生短粗或细长刚毛，常可见刚毛脱落后圆形毛窝。纤维束周围薄壁细胞含草酸钙方晶，形成晶纤维；具缘纹孔导管较大。草酸钙针晶束存在于黏液细胞中或散在。糊化淀粉粒团块淡黄色或近无色。角质鳞片近无色或淡黄色；横纹肌纤维可见，淡黄色或近无色，多碎断，侧面观多呈条块状。

(2) 取抗栓制剂内容物3g，加正己烷20ml超声处理10-20分钟，滤过，滤液浓缩至1ml，作为供试品溶液。另取当归尾对照药材0.1g，同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典2000年版一部附录VI B)试验，吸取上述两种溶液各5 $\mu$ l，分别点于同一以羧甲基纤

纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以正己烷-醋酸乙酯 (6-13: 0.7-1.4)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。

(3) 取抗栓制剂内容物 10g,加水 250ml 加热微沸回流 0.5-1.5 小时,滤过,滤液置水浴上浓缩至浸膏,加甲醇 8ml,搅拌,放置 1 小时,滤过,滤液浓缩至 0.6~0.8ml,加苯 0.6ml,振摇,分取苯层作为供试品溶液。另取地龙对照药材 1g,同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述两种溶液各 10 $\mu$ l,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以苯-醋酸乙酯 (6-12: 0.7-1.3)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10%硫酸乙醇溶液,热风吹至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

(4) 取抗栓制剂内容物 8g,置 500ml 圆底烧瓶中,加水 200ml,苯 1.0ml,混匀,连接挥发油测定器及回流冷凝管,加热至沸,并保持微沸 1.5-2.5 小时,放冷,分取苯层作为供试品溶液。另取麝香酮对照品,加苯制成每 1ml 含 0.2mg 的溶液,作为对照品溶液。照气相色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VI E),用 100%甲基硅酮(OV-1)为固定相;FID 检测器;弹性石英毛细管色谱柱(30m $\times$ 0.25mm $\times$ 0.32 $\mu$ m);程序升温:200 $^{\circ}$ C-1min-3 $^{\circ}$ C/min-240 $^{\circ}$ C-0min-20 $^{\circ}$ C/min-260 $^{\circ}$ C-5min。分别吸取上述两种溶液各 4 $\mu$ l,注入气相色谱仪,记录色谱图。供试品色谱中,应有与对照品色谱相同保留时间的色谱峰。

(5) 取抗栓制剂内容物 20g,加石油醚(30~60 $^{\circ}$ C) 50ml 冷浸 30 分钟,时时振摇,弃去石油醚液,药渣挥干,加氯仿 80ml 超声处理 30 分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 40ml 溶解,滤过,滤液浓缩至约 2ml,用中性氧化铝(100~200 目) 4g 在水浴上搅拌干燥,装入中性氧化铝柱(1.5 $\times$ 20cm),用氯仿 50ml 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇溶解,转移至 10ml 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。另取华蟾酥毒基、酯蟾毒配基对照品各适量,加甲醇制成每 1ml 含华蟾酥毒基 7 $\mu$ g、酯蟾毒配基 18 $\mu$ g 的混合溶液,作为对照品溶液。照高效液相色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VI D),用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;水-乙腈(48-70: 26-52)为流动相;流速:1.0ml/min;检测波长 296 $\pm$ 3nm;柱温:20-60 $^{\circ}$ C。理论板数以华蟾酥毒基、酯蟾毒配基峰计,应分别不低于 4000。分别吸取上述两种溶液各 20 $\mu$ l,注入液相色谱仪,记录色谱图。供试品色谱中,应有与对照品色谱相同保留时间的色谱峰。

(6) 取抗栓制剂内容物 10g,加水 40ml,盐酸 3ml 加热微沸回流 1-2 小时,滤过,弃去滤液,药渣挥干,加乙醚 30ml 回流提取 0.5-1.5 小时,弃去乙醚液,药渣挥干,加氯仿 30ml 回流提取 1 小时,滤过,滤液蒸干,残渣加无水乙醇 1ml 使溶解,滤过,滤液作为供试

品溶液。另取甘草次酸对照品，加无水乙醇制成每 1ml 含 2mg 的溶液，作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VI B) 试验，吸取上述两种溶液各 5 $\mu$ l，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)-苯-醋酸乙酯-冰醋酸(7-14: 11-30: 3-11: 0.2-1.1)为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10%磷钼酸乙醇溶液，105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点。

(7) 取抗栓制剂内容物 5g，加氨水适量搅拌湿润后，加乙醚 40ml 放置 24 小时，时时振摇，滤取上清液，置分液漏斗中，用 10%醋酸 50ml 分三次提取(20、20、10ml)，合并醋酸层，用氨水调 pH10~11，再以氯仿 50ml 分三次提取(20、20、10ml)，合并氯仿液，用水洗至中性，加适量无水硫酸钠，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 0.5ml 使溶解，作为供试品溶液。另取延胡索乙素对照品，加甲醇制成每 1ml 含 0.5ml 的溶液，作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VI B) 试验，吸取上述供试品溶液 5 $\mu$ l，对照品溶液 1 $\mu$ l，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)-醋酸乙酯(1.2-2.9: 0.9-2.8)为展开剂，置氨蒸气饱和的展开缸内，展开，取出，晾干，碘熏数秒后，置紫外光灯(365nm)下检视。供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。

其中 B 测定含量的具体步骤如下：

a. 丹参酮 II A 含量测定：

照高效液相色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VI D) 测定。

色谱条件与系统适用性试验 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；流动相：甲醇-水(64-110: 9.5-22)；流速：1.0ml/min；柱温：25-55 $^{\circ}$ C；检测波长 270 $\pm$ 3nm。理论板数以丹参酮 II A ( $C_{19}H_{16}O_3$ ) 峰计，应不低于 2000。

对照品溶液的制备 精密称取丹参酮 II A 对照品 10mg，置 50ml 棕色量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀；精密量取 2ml，置 25ml 棕色量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，即得(每 1ml 中含丹参酮 II A 16 $\mu$ g)。

供试品溶液的制备 取抗栓制剂内容物 3g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 50ml，密塞，称定重量，放置过夜，超声处理 10-60 分钟，放冷，再称定重量，用甲醇补足缺失的重量，摇匀，取上清液用滤膜(0.45 $\mu$ m) 滤过，即得。

测定法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5 $\mu$ l，注入液相色谱仪，测定，即得。

b. 土的宁含量测定：照高效液相色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VI D) 测定。

色谱条件与系统适用性试验 用硅胶为填充剂；氯仿-环己烷-二乙胺(52-94: 16-33:

0.9-3.4) 为流动相; 流速: 1.0ml/min; 柱温: 20-60℃; 检测波长为 254±2nm。理论板数按士的宁峰计算应不低于 2000。

**对照品溶液的制备** 精密称取士的宁对照品适量, 加醋酸乙酯制成每 1ml 含 0.2mg 的溶液, 即得。

**供试品溶液的制备** 取抗栓制剂内容物 10g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加氯仿 50ml 与浓氨试液 2-8ml, 密塞, 轻轻振摇, 称定重量, 放置 24 小时, 超声处理 0-40 分钟, 放冷, 再称定重量, 用提取液补足减失的重量, 充分振摇, 滤过, 精密量取续滤液 25ml, 置分液漏斗中, 用硫酸溶液 (3→100) 提取 5-9 次, 每次 25ml, 合并硫酸液, 加浓氨试液调节 pH 值至 9~10, 用氯仿提取 5-9 次, 每次 30ml, 合并氯仿液, 蒸干, 残渣加醋酸乙酯溶解, 转移至 5ml 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

**测定法** 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5μl, 注入液相色谱仪, 测定, 即得。

以上方法中所述抗栓制剂是指本发明的成品药物如: 胶囊、片剂、口服液、糖浆、颗粒剂。

本发明质量控制方法对产品的质量的控制更为有效, 方法精密度、灵敏度、稳定性均较高。能较好地控制产品质量, 确保了产品质量的“安全、均一、稳定、有效、可控”。

本发明各实验例供试品所用制剂均可采用实施例 1 所述的抗栓胶囊制剂, 也可用与实施例 1 所述的抗栓胶囊剂具有相同原料组成的其他制剂。

#### 实验例 1 丹参酮 II 的含量测定方法研究

##### 1. 仪器与试药

**1.1 仪器** 日本岛津 LC-10ATVP 高效液相色谱仪, LC-10ATvp 输液泵; SPD-M10Avp 二级阵列检测器; SCL-10Avp 系统控制器; CTO-10ASvp 恒温柱箱; CLASS-VP6.1 工作站数据处理系统; 微量进样器 (25μl), HAMILTON 公司; 超声波清洗机 (250W, 北京市医疗设备二厂)。

**1.1.2 试药** 甲醇 (分析纯)、水为二次重蒸馏水、丹参酮 II A 对照品 (中国药品生物制品检定所提供, 供含量测定用, 批号: 0766-9908);

**1.2 色谱条件** 色谱柱: Hypersil C<sub>18</sub> (5μm, 250×5.0i.d.mm) 大连伊利特; 流动相: 甲醇-水 (85: 15); 检测波长: 270nm; 流速: 1.0ml/min; 柱温: 40℃; 进样量: 5μl。

##### 1.3 系统适用性试验

分别取丹参酮 II A 对照品对照品溶液、供试品溶液和缺丹参药材的阴性供试品溶液注入液相色谱仪, 记录色谱。可知丹参酮 II A 的保留时间 (t<sub>R</sub>) 约为 9.2 分钟, 阴性样品色谱图在丹参酮 II A 峰位置处无假阳性峰, 理论塔板数以丹参酮 II A 峰计算为 5200。与其他组分峰分离度 > 1.5。

## 1.4 线性关系考察

### 1.4.1 标准溶液的制备

精密称取丹参酮II A 对照品适量，加甲醇溶解制成每 1ml 含丹参酮II A 0.0245mg 的溶液。

### 1.4.2 标准曲线的绘制

精密量取 0.0245mg 的溶液 2.0ml、4.0ml、6.0ml、8.0ml、10.0ml，分别置 10ml 棕色瓶中，加甲醇定容至刻度，摇匀，分别精密量吸取上述五种溶液 5 $\mu$ l 注入液相色谱仪，记录色谱，见表 1，以峰面积 A ( $\mu$  V · s) 对浓度 C ( $\mu$  g/ml) 进行线性回归计算，得线性回归方程为： $A=328359.82C+6495.9$ ， $r=0.9999$ ，精密量取 0.0245mg/ml 的标准溶液 6.5ml，置 10ml 棕色瓶中，加甲醇定容至刻度，摇匀，得对照品溶液 (0.0245mg/ml)。精密量吸取该对照品溶液 5 $\mu$ l 注入液相色谱仪，所得峰面积为 454684，将一供试品溶液进样分析所得峰面积分别用回归方程和一点法计算含量，结果的相对偏差 0.74%，故本发明质量标准采用一点法计算含量。线性范围：4.9~245  $\mu$  g/ml。

表 1 丹参酮II A 线性关系考察

进样量 ( $\mu$ g/ml)	丹参酮II A 峰面积 ( $\mu$ V · s)
4.9	145964
9.8	282149
14.7	423803
19.6	566312
24.5	698698

1.4.3 供试品溶液提取时间的选择 提取方法：冷浸过夜，超声提取，测定结果见表 2。

表 2 甲醇不同超声时间的考察 (n=3)

超声时间 (min)	10	20	30	45	60
含量 (%)	0.02008	0.02119	0.02227	0.02221	0.02231
RSD (%)	1.79	1.50	1.08	1.44	1.54

从表 2 可知，冷浸过夜，超声提取 30 min 即可将制剂中的丹参酮II A 提取安全，故选择超声处理 30 min。

### 1.4.4 精密度试验

取本品 (批号 20011105) 内容物，按本发明质量标准中含量测定项下供试液的制备方法制备供试液，重复进样 5 次，测定峰面积，计算结果列入表 3，平均含量 0.02108，RSD 为 0.46%，精密度良好。

表 3 制剂供试品中丹参酮II A 的精密度试验



进样次数	1	2	3	4	5	平均值	RSD (%)
峰面积	383539	381228	383073	386195	383333	383473.6	0.46

#### 1.4.5 重现性试验

取本品（批号 20011105）内容物，按本发明质量标准中含量测定项下供试液的制备方法制备 5 份供试液，分别进样，测定峰面积，计算结果列入表 4，平均含量为 0.02209%，RSD 为 1.12%，重现性良好。

表 4 制剂供试品中丹参酮 II A 的重现性试验

测定次数	1	2	3	4	5	平均值	RSD (%)
含量 (%)	0.02180	0.02239	0.02224	0.02188	0.02216	0.02209	1.12

#### 1.4.6 供试品溶液中丹参酮 II A 稳定性试验

取本品（批号 20011105）内容物，按本发明质量标准中含量测定项下供试液的制备方法制备供试液，分别于 0、1、2、4、8 小时测定丹参酮 II A 含量（见表 5），结果表明，供试品溶液中丹参酮 II A 在 8 小时内相对稳定。

表 5 制剂供试品中丹参酮 II A 的稳定性试验

时间 (小时)	0	1	2	4	8	平均值	RSD (%)
峰面积	396073	390829	394430	395469	392762	393912.6	0.54

#### 1.4.7 回收率试验

采用加样回收法，分别精密称取 5 份已测定含量的样品（批号 20011105，平均含量为 0.02209%）适量，置具塞锥形瓶中，精密加入丹参酮 II A 对照品溶液（其中以甲醇为溶剂，0.00808mg/ml）50ml，密塞，称定重量，放置过夜，超声处理 30 分钟，放冷，再称定重量，用甲醇补足减失的重量，摇匀，取上清液用滤膜（0.45um）滤过，制得供试液。分别精密吸取 5ul 注入液相色谱仪，记录色谱，测定含量，计算回收率（结果见表 6），平均回收率为 99.21%，RSD 为 1.34%。

表 6 供试品溶液中丹参酮 II A 测定回收率试验

实验次数	样品量 (g)	含丹参酮 II A (mg)	加入丹参酮 II (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	1.5192	0.3356		0.7438	101.0		
2	1.5835	0.3498		0.7518	99.50		
3	1.7451	0.3855	0.404	0.7823	98.22	99.21	1.34
4	1.8099	0.3998		0.8027	99.73		

---

5	1.7641	0.3897	0.7841	97.62
---	--------	--------	--------	-------

---

#### 1.4.8 样品测定

按质量标准制备供试液和对照品溶液，分别进样  $5\mu\text{l}$ ，记录色谱，测定峰面积，按下式计算含量：

$$\text{含量} (\mu\text{g/粒}) = \frac{50 \times A_i \times C_s \times W_1}{A_s \times W}$$

式中：  $A_i$ ：供试品溶液峰面积  
 $A_s$ ：对照品溶液峰面积  
 $C_s$ ：对照品溶液浓度 ( $\mu\text{g/ml}$ )  
 $W$ ：供试品称样量 (mg)  
 $W_1$ ：平均粒重 (mg)

根据严格按照生产工艺制备的 3 批样品，测定样品中丹参酮 II 含量，测定结果见表 7。

表 7 3 批样品中丹参酮 II 含量测定结果

样品	含量( $\mu\text{g/粒}$ )		平均值( $\mu\text{g/粒}$ )
	1	2	
20020301	65.2	66.0	65.6
20020317	67.4	68.2	67.8
20020324	67.7	66.5	67.1

制剂中丹参酮 II 含量限度计算如下：

丹参酮 II 含量低限=制剂含丹参药材 (g/g)  $\times$  药材含丹参酮 II 量低限 (药典规定)  $\times$  收率=  $(200/2184) \times 0.2\% \times 95\% = 1.740 \times 10^{-4}$ 。每粒含量低限=  $1.740 \times 10^{-4} \times 0.3\text{g/粒} \times 10^6 = 52\mu\text{g/粒}$ 。

故定本品每粒含丹参以丹参酮 II ( $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_3$ ) 不得少于  $52\mu\text{g}$ 。根据样品测定结果，3 批样品中的丹参酮 II ( $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_3$ ) 的含量均大于  $52\mu\text{g/粒}$ 。

#### 实验例 2 土的宁的含量测定方法研究

##### 2. 仪器与试药

2.1 仪器 日本岛津 LC-10ATVP 高效液相色谱仪，LC-10ATvp 输液泵；SPD-M10Avp 二级阵列检测器；SCL-10Avp 系统控制器；CTO-10ASvp 恒温柱箱；CLASS-VP6.1 工作站数据处

理系统；微量进样器(25 $\mu$ l)，HAMILTON 公司；超声波清洗机(250W，北京市医疗设备二厂)。

2.1.2 试药 氯仿(分析纯)、环己烷(分析纯)、乙二胺(分析纯)、氨水(分析纯)、浓硫酸(分析纯)、醋酸乙酯(分析纯)、士的宁对照品(中国药品生物制品检定所提供，供含量测定用，批号：0705-200005)；

2.1.3 色谱条件 色谱柱：Hypersil C<sub>18</sub> (5 $\mu$ m,250 $\times$ 5.0i.d.mm)大连伊利特；流动相：甲醇-水(85:15)；检测波长：270nm；流速：1.0ml/min；柱温：40 $^{\circ}$ C；进样量：5 $\mu$ l。

## 2.2 系统适用性试验

分别取士的宁对照品对照品溶液、供试品溶液和缺马钱子药材的阴性供试品溶液注入液相色谱仪，记录色谱。可知士的宁的保留时间( $t_R$ )约为12.3分钟，阴性样品色谱图在士的宁峰位置处无假阳性峰，士的宁和相近的杂质峰分离完全(分离度 $>$ 1.5)，即本试验条件下与其他组分峰分离完全。理论塔板数以士的宁峰计算为4500。

## 2.3 线性关系考察

## 2.4 标准溶液的制备

精密称取士的宁对照品适量，加醋酸乙酯溶解制成每1ml含士的宁0.206mg的对照品溶液。

## 2.5 标准曲线的绘制

精密量取对照品溶液2、4、6、8、10 $\mu$ l，分别注入液相色谱仪，记录色谱，见表8，以峰面积A( $\mu$ V $\cdot$ s)对质数x( $\mu$ g)进行线性回归计算，得线性回归方程为： $A=1466315.7767 \times X+19673.9000$ ， $r=0.9999$ ，精密量吸取该对照品溶液5 $\mu$ l注入液相色谱仪，所得峰面积为1528781，将一供试品溶液进样分析所得峰面积分别用回归方程和一点法计算含量，结果的相对偏差0.045%，故本发明质量标准采用一点法计算含量。线性范围：0.412~2.06 $\mu$ g。

表8 士的宁线性关系考察

进样量 ( $\mu$ g)	士的宁峰面积 ( $\mu$ V $\cdot$ s)
0.412	6267713
0.824	1230109
1.236	1813003
1.648	2455996
2.06	3034380

2.6 提取选择 根据士的宁在碱性条件下易于被有机溶剂提取的特征，我们在试验中选择了常用于提取生物碱的氯仿-浓氨为提取液，由于制剂成分较多，所含士的宁不易提取完全，分别以氯仿-浓氨(50:2)、氯仿-浓氨(50:5)、氯仿-浓氨(50:8)提取后测含量，结果见

表 9。试验结果表明，用氯仿-浓氨（50：8）为提取剂能将士的宁提取完全，因此本质量标准采用氯仿-浓氨（50：8）为提取剂。

表 9 不同提取溶剂对士的宁含量测定的影响 (n=2)

提取方法	氯仿-浓氨 (50: 2)	氯仿-浓氨 (50: 5)	氯仿-浓氨 (50: 8)
含量 (%)	0.01587	0.01894	0.02079

2.7 超声提取时间的选择 提取方法：放置 24 小时，超声提取，测定结果见表 10。

表 10 不同超声时间的考察 (n=3)

超声时间 (min)	0	130	20	30	40
含量 (%)	0.02008	0.02119	0.02227	0.02221	0.02231
RSD (%)	1.79	1.50	1.08	1.44	1.54

从表 10 可知，放置 24 小时，超声提取 20 min 即可将制剂中的士的宁提取安全，故选择放置 24 小时，超声提取 20 min。

2.8 提取样品溶液的次数与士的宁含量测定的影响结果考察 用硫酸溶液（3→100）提取合并硫酸液，加浓氨试液调解 PH 值至 9-10，再用氯仿提取，其提取次数与士的宁含量测定的结果见表 11。

表 11 提取样品溶液的次数与士的宁含量测定结果 (n=2)

提取次数	5	6	7	8	9
含量 (%)	0.01797	0.01906	0.02076	0.02107	0.02054

从表可知，提取 7 次与 8 次、9 次的结果无显著差异，因此本质量标准选用提取次数为 7 次。

## 2.9 精密度试验

取本品（批号 20011105）内容物，按本发明质量标准中含量测定项下供试液的制备方法制备供试液，重复进样 5 次，测定峰面积，计算结果列入表 12，平均含量 0.02067，RSD 为 0.27%，精密度良好。

表 12 制剂供试品中士的宁的精密度试验

进样次数	1	2	3	4	5	平均值	RSD (%)
峰面积	1547536	1539282	1537274	1544594	1540583	1541854	0.27

## 2.10 重现性试验

取本品（批号 20011105）内容物，按本发明质量标准中含量测定项下供试液的制备方法制备 5 份供试液，分别进样，测定峰面积，计算结果列入表 13，平均含量为 0.02078%，RSD 为 1.72%，重现性良好。

表 13 制剂供试品中士的宁的重现性试验

测定次数	1	2	3	4	5	平均值	RSD(%)
含量(%)	0.02050	0.02029	0.0212	0.02106	0.02031	0.02078	1.72

## 2.11 供试品溶液中士的宁稳定性试验

取本品(批号 20011105)内容物,按本发明质量标准中含量测定项下供试液的制备方法制备供试液,分别于 0、2、4、6、8 小时测定士的宁含量(见表 14),平均含量为 0.02066%,RSD 为 0.36%,结果表明,供试品溶液中士的宁在 8 小时内相对稳定。

表 14 制剂供试品中士的宁的稳定性试验

时间	0	1	2	4	8	平均值	RSD (%)
峰面积	1552736	1554683	1558941	1543872	1549867	1552019.8	0.36

## 2.12 回收率试验

采用加样回收法,分别精密称取 5 份已测定含量的样品(批号 20011105,平均含量为 0.02078%)适量,置具塞锥形瓶中,精密加入士的宁对照品溶液(其中以氯仿为溶剂,0.024mg/ml)50ml 与浓氨试液 8ml,密塞,轻轻振摇,称定重量,放置 24 小时,超声处理 20 分钟,放冷,再称定重量,用提取液补足减失的重量,充分摇匀,滤过,制得供试液。精密量取续滤液 25ml,置分液漏斗中,用硫酸溶液(3→100)提取 7 次,每次 30ml,合并硫酸液,加浓氨试液调解 PH 值至 9-10,再用氯仿提取 7 次,每次 30ml,合并氯仿液,蒸干,残渣加醋酸乙酯溶解,转移至 5ml 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,制得供试液。分别精密吸取 5ul 注入液相色谱仪,记录色谱,测定含量,计算回收率(结果见表 15),平均回收率为 98.34%,RSD 为 1.60%。

表 15 供试品溶液中士的宁测定回收率试验

实验次数	样品量(g)	含士的宁(mg)	加入士的宁(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	4.9931	1.0376		2.2048	97.27		
2	5.2113	1.0829		2.2726	99.14		
3	5.3234	1.1062	1.2	2.3074	100.1	98.34	1.60
4	5.8979	1.2256		2.3801	96.221		
5	5.4226	1.1268		2.3147	98.99		

## 2.13 样品测定

按质量标准制备供试液和对照品溶液,分别进样 5 $\mu$ l,记录色谱,测定峰面积,按下式

计算含量:

$$\text{含量} (\mu\text{g/粒}) = \frac{A_i \times C_s \times 5 \times 50 \times W_1}{A_s \times 2.5 \times W}$$

式中:  $A_i$ : 供试品溶液峰面积  
 $A_s$ : 对照品溶液峰面积  
 $C_s$ : 对照品溶液浓度 ( $\mu\text{g/ml}$ )  
 $W$ : 供试品称样量 (g)  
 $W_1$ : 平均粒重 (g)

根据严格按照生产工艺制备的 3 批样品, 测定样品中土的宁含量, 测定结果见表 16。

表 16 3 批样品中土的宁含量测定结果

样品	含量( $\mu\text{g/粒}$ )		平均值( $\mu\text{g/粒}$ )
	1	2	
20020301	68.1	66.3	67.2
20020317	71.9	70.8	71.4
20020324	71.2	68.5	69.8

制剂中土的宁含量限度计算如下:

土的宁含量低限=制剂含马钱子药材 (g/g)  $\times$  药材含土的宁含量低限 (药典规定)  $\times$  收率 =  $(30/2184) \times 1.2\% \times 95\% = 1.5659 \times 10^{-4}$ 。每粒含量低限 =  $1.5659 \times 10^{-4} \times 0.3\text{g/粒} \times 10^6 = 46.98\mu\text{g/粒}$ ; 土的宁含量高限=制剂含马钱子药材 (g/g)  $\times$  药材含土的宁含量低限 (药典规定)  $\times$  收率 =  $(30/2184) \times 2.2\% \times 95\% = 2.8709 \times 10^{-4}$ 。每粒含量低限 =  $2.8709 \times 10^{-4} \times 0.3\text{g/粒} \times 10^6 = 86.13\mu\text{g/粒}$ 。

故定本品每粒含马钱子以土的宁 ( $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$ ) 计为 47-86 $\mu\text{g}$ 。根据样品测定结果, 3 批样品中的土的宁 ( $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$ ) 的含量均在该限度范围内。

本发明的优点在于: 本发明的质量控制方法保证了本发明的制剂的质量检测标准能够较全面有效控制制剂的质量特征, 具有准确性和先进性, 可作为质量控制和考察工艺的稳定性有效技术手段。对提高产品质量有重大意义。

具体实施方式:

下面结合事实例对本发明作进一步的说明, 下列各事实例仅用于说明本发明, 对本发明并无限制。

以下发明实施例均能实现上述效果。

### 实施例 1 抗栓胶囊

【处方】当归尾 200g、丹参 200g、僵蚕（麸炒）100g、壁虎 100g、土鳖虫 200g、蜈蚣 50g、水蛭 200g、蜂房 100g、地龙 100g、马钱子（制）30g、麝香 3g、蟾酥（酒制）1g、甘草 100g、土茯苓 200g、延胡索（醋制）100g、骨碎补（制）200g、乌梢蛇（酒制）200g、虻虫（去翅）50g、穿山甲（沙烫）50g

【制法】以上原料，除麝香、蟾酥外，其余当归尾等十七味粉碎成细粉，将麝香、蟾酥分别研细，与上述粉末配研，过筛，混匀，装入胶囊，即得。

#### 【鉴别】

（1）取抗栓胶囊内容物 2g，置显微镜下观察：菌丝体近无色，细长卷曲缠结在体壁中。体壁碎片深棕色或黄色，其上着生短粗或细长刚毛，常可见刚毛脱落后圆形毛窝。纤维束周围薄壁细胞含草酸钙方晶，形成晶纤维；具缘纹孔导管较大。草酸钙针晶束存在于黏液细胞中或散在。糊化淀粉粒团块淡黄色或近无色。角质鳞片近无色或淡黄色；横纹肌纤维可见，淡黄色或近无色，多碎断，侧面观多呈条块状。

（2）取抗栓胶囊内容物 3g，加正己烷 20ml 超声处理 15 分钟，滤过，滤液浓缩至 1ml，作为供试品溶液。另取当归尾对照药材 0.1g，同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法（中国药典 2000 年版一部附录 VI B）试验，吸取上述两种溶液各 5 $\mu$ l，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以正己烷-醋酸乙酯（9：1）为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外光灯（365nm）下检视。供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。（3）取本品内容物 10g，加水 250ml 加热煮沸回流 1 小时，滤过，滤液置水浴上浓缩至浸膏，加甲醇 8ml，搅拌，放置 1 小时，滤过，滤液浓缩至 0.6~0.8ml，加苯 0.6ml，振摇，分取苯层作为供试品溶液。另取地龙对照药材 1g，同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法（中国药典 2000 年版一部附录 VI B）试验，吸取上述两种溶液各 10 $\mu$ l，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以苯-醋酸乙酯（9：1）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10%硫酸乙醇溶液，热风吹至斑点显色清晰。供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点。

（4）取抗栓胶囊内容物 8g，置 500ml 圆底烧瓶中，加水 200ml，苯 1.0ml，混匀，连接挥发油测定器及回流冷凝管，加热至沸，并保持微沸 2 小时，放冷，分取苯层作为供试品溶液。另取麝香酮对照品，加苯制成每 1ml 含 0.2mg 的溶液，作为对照品溶液。照气相色谱法（中国药典 2000 年版一部附录 VI E），用 100%甲基硅酮（OV-1）为固定相；FID 检测器；弹性石英毛细管色谱柱（30m $\times$ 0.25mm $\times$ 0.32 $\mu$ m）；程序升温：200 $^{\circ}$ C-1min-3 $^{\circ}$ C/min-240 $^{\circ}$ C-0min-20 $^{\circ}$ C/min-260 $^{\circ}$ C-5min。分别吸取上述两种溶液各 4 $\mu$ l，注入气相色谱仪，记录色谱图。供试品

色谱中，应有与对照品色谱相同保留时间的色谱峰。

(5) 取抗栓胶囊内容物 20g，加石油醚（30~60℃）50ml 冷浸 30 分钟，时时振摇，弃去石油醚液，药渣挥干，加氯仿 80ml 超声处理 30 分钟，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 40ml 溶解，滤过，滤液浓缩至约 2ml，用中性氧化铝（100~200 目）4g 在水浴上搅拌干燥，装入中性氧化铝柱（1.5×20cm），用氯仿 50ml 洗脱，收集洗脱液，蒸干，残渣加甲醇溶解，转移至 10ml 量瓶中，并稀释至刻度，摇匀，作为供试品溶液。另取华蟾酥毒基、酯蟾毒配基对照品各适量，加甲醇制成每 1ml 含华蟾酥毒基 7μg、酯蟾毒配基 18μg 的混合溶液，作为对照品溶液。照高效液相色谱法（中国药典 2000 年版一部附录 VI D），用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；水-乙腈（60：40）为流动相；流速：1.0ml/min；检测波长 296nm；柱温：40℃。理论板数以华蟾酥毒基、酯蟾毒配基峰计，应分别不低于 4000。分别吸取上述两种溶液各 20μl，注入液相色谱仪，记录色谱图。供试品色谱中，应有与对照品色谱相同保留时间的色谱峰。

(6) 取抗栓胶囊内容物 10g，加水 40ml，盐酸 3ml 加热煮沸回流 1.5 小时，滤过，弃去滤液，药渣挥干，加乙醚 30ml 回流提取 1 小时，弃去乙醚液，药渣挥干，加氯仿 30ml 回流提取 1 小时，滤过，滤液蒸干，残渣加无水乙醇 1ml 使溶解，滤过，滤液作为供试品溶液。另取甘草次酸对照品，加无水乙醇制成每 1ml 含 2mg 的溶液，作为对照品溶液。照薄层色谱法（中国药典 2000 年版一部附录 VI B）试验，吸取上述两种溶液各 5μl，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以石油醚（30~60℃）-苯-醋酸乙酯-冰醋酸（10：20：7：0.5）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10%磷钼酸乙醇溶液，105℃加热至斑点显色清晰。供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点。

(7) 取抗栓胶囊内容物 5g，加氨水适量搅拌湿润后，加乙醚 40ml 放置 24 小时，时时振摇，滤取上清液，置分液漏斗中，用 10%醋酸 50ml 分三次提取（20、20、10ml），合并醋酸层，用氨水调 pH10~11，再以氯仿 50ml 分三次提取（20、20、10ml），合并氯仿液，用水洗至中性，加适量无水硫酸钠，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 0.5ml 使溶解，作为供试品溶液。另取延胡索乙素对照品，加甲醇制成每 1ml 含 0.5ml 的溶液，作为对照品溶液。照薄层色谱法（中国药典 2000 年版一部附录 VI B）试验，吸取上述供试品溶液 5μl，对照品溶液 1μl，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以石油醚（30~60℃）-醋酸乙酯（2：1.7）为展开剂，置氨蒸气饱和的展开缸内，展开，取出，晾干，碘熏数秒后，置紫外光灯（365nm）下检视。供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。

#### 【含量测定】

a. 丹参酮 II A 含量测定：照高效液相色谱法（中国药典 2000 年版一部附录 VI D）测定。色谱条件与系统适用性试验 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；流动相：甲醇-水（85：



15); 流速: 1.0ml/min; 柱温: 40℃; 检测波长 270nm。理论板数以丹参酮IIA ( $C_{19}H_{18}O_3$ ) 峰计, 应不低于 2000。

**对照品溶液的制备** 精密称取丹参酮IIA 对照品 10mg, 置 50ml 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀; 精密量取 2ml, 置 25ml 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得 (每 1ml 中含丹参酮IIA 16μg)。

**供试品溶液的制备** 取本品内容物 3g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50ml, 密塞, 称定重量, 放置过夜, 超声处理 30 分钟, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 取上清液用滤膜 (0.45μm) 滤过, 即得。

**测定法** 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5μl, 注入液相色谱仪, 测定, 即得。  
本实施例本品每粒含丹参以丹参酮IIA ( $C_{19}H_{18}O_3$ ) 计不得少于 52μg。

b. 土的宁的含量测定 照高效液相色谱法 (中国药典 2000 年版一部附录VI D) 测定。

**色谱条件与系统适用性试验** 用硅胶为填充剂; 氯仿-环己烷-二乙胺 (75: 25: 2) 为流动相; 流速: 1.0ml/min; 柱温: 40℃; 检测波长为 254nm。理论板数按土的宁峰计算应不低于 2000。

**对照品溶液的制备** 精密称取土的宁对照品适量, 加醋酸乙酯制成每 1ml 含 0.2mg 的溶液, 即得。

**供试品溶液的制备** 取本品内容物 10g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加氯仿 50ml 与浓氨试液 8ml, 密塞, 轻轻振摇, 称定重量, 放置 24 小时, 超声处理 20 分钟, 放冷, 再称定重量, 用提取液补足减失的重量, 充分振摇, 滤过, 精密量取续滤液 25ml, 置分液漏斗中, 用硫酸溶液 (3→100) 提取 7 次, 每次 25ml, 合并硫酸液, 加浓氨试液调节 pH 值至 9~10, 用氯仿提取 7 次, 每次 30ml, 合并氯仿液, 蒸干, 残渣加醋酸乙酯溶解, 转移至 5ml 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

**测定法** 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5μl, 注入液相色谱仪, 测定, 即得。  
每粒含马钱子以土的宁 ( $C_{21}H_{22}N_2O_2$ ) 计为 47~86μg。

#### 实施例 2 抗栓片

**【处方】** 当归尾 200g、丹参 200g、僵蚕 (麸炒) 100g、壁虎 100g、土鳖虫 200g、蜈蚣 50g、水蛭 200g、蜂房 100g、地龙 100g、马钱子 (制) 30g、麝香 3g、蟾酥 (酒制) 1g、甘草 100g、土茯苓 200g、延胡索 (醋制) 100g、骨碎补 (制) 200g、乌梢蛇 (酒制) 200g、虻虫 (去翅) 50g、穿山甲 (沙烫) 50g

**【制法】** 以上原料, 除麝香、蟾酥外, 其余当归尾等十七味粉碎成细粉, 将麝香、蟾酥分别研细, 与上述粉末配研, 过筛, 混匀, 整粒, 经常规制成片剂, 0.4g / 片, 即得。

【质量控制方法】鉴别、含量测定方法同实施例 1，其中含量每片含丹参以丹参酮IIA ( $C_{19}H_{18}O_3$ ) 计不得少于  $52\mu\text{g}$ ；每片含土的宁 ( $C_{21}H_{22}N_2O_2$ ) 计为  $47\sim 86\mu\text{g}$ 。

### 实施例 3 抗栓颗粒

【处方】当归尾 200g、丹参 200g、僵蚕（麸炒）100g、壁虎 100g、土鳖虫 200g、蜈蚣 50g、水蛭 200g、蜂房 100g、地龙 100g、马钱子（制）30g、麝香 3g、蟾酥（酒制）1g、甘草 100g、土茯苓 200g、延胡索（醋制）100g、骨碎补（制）200g、乌梢蛇（酒制）200g、虻虫（去翅）50g、穿山甲（沙烫）50g

【制法】以上原料，除麝香、蟾酥外，其余当归尾等十七味粉碎成细粉，将麝香、蟾酥分别研细，与上述粉末配研，过筛，混匀，经常规制成颗粒剂，5g / 袋。即得。

【质量控制方法】鉴别、含量测定方法同实施例 1，其中含量每袋含丹参以丹参酮IIA ( $C_{19}H_{18}O_3$ ) 计不得少于  $52\mu\text{g}$ ；每袋含土的宁 ( $C_{21}H_{22}N_2O_2$ ) 计为  $47\sim 86\mu\text{g}$ 。

### 实施例 4 抗栓胶囊

【处方】当归尾 200g、丹参 200g、僵蚕（麸炒）100g、壁虎 100g、土鳖虫 200g、蜈蚣 50g、水蛭 200g、蜂房 100g、地龙 100g、马钱子（制）30g、麝香 3g、蟾酥（酒制）1g、甘草 100g、土茯苓 200g、延胡索（醋制）100g、骨碎补（制）200g、乌梢蛇（酒制）200g、虻虫（去翅）50g、穿山甲（沙烫）50g

【制法】以上原料，除麝香、蟾酥外，其余当归尾等十七味粉碎成细粉，将麝香、蟾酥分别研细，与上述粉末配研，过筛，混匀，装入胶囊，即得。

#### 【鉴别】

(1) 取抗栓胶囊内容物，置显微镜下观察：菌丝体近无色，细长卷曲缠结在体壁中。体壁碎片深棕色或黄色，其上着生短粗或细长刚毛，常可见刚毛脱落后圆形毛窝。纤维束周围薄壁细胞含草酸钙方晶，形成晶纤维；具缘纹孔导管较大。草酸钙针晶束存在于黏液细胞中或散在。糊化淀粉粒团块淡黄色或近无色。角质鳞片近无色或淡黄色；横纹肌纤维可见，淡黄色或近无色，多碎断，侧面观多呈条块状。

(2) 取抗栓胶囊内容物 3g，加正己烷 20ml 超声处理 10 分钟，滤过，滤液浓缩至 1ml，作为供试品溶液。另取当归尾对照药材 0.1g，同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法（中国药典 2000 年版一部附录 VI B）试验，吸取上述两种溶液各  $5\mu\text{l}$ ，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以正己烷-醋酸乙酯（6：0.7）为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外光灯（365nm）下检视。供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。

(3) 取抗栓制剂内容物 10g, 加水 250ml 加热微沸回流 0.5 小时, 滤过, 滤液置水浴上浓缩至浸膏, 加甲醇 8ml, 搅拌, 放置 1 小时, 滤过, 滤液浓缩至 0.6~0.8ml, 加苯 0.6ml, 振摇, 分取苯层作为供试品溶液。另取地龙对照药材 1g, 同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述两种溶液各 10 $\mu$ l, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以苯-醋酸乙酯 (6: 0.7) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 热风吹至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。

(4) 取抗栓胶囊内容物 8g, 置 500ml 圆底烧瓶中, 加水 200ml, 苯 1.0ml, 混匀, 连接挥发油测定器及回流冷凝管, 加热至沸, 并保持微沸 1.5 小时, 放冷, 分取苯层作为供试品溶液。另取麝香酮对照品, 加苯制成每 1ml 含 0.2mg 的溶液, 作为对照品溶液。照气相色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VI E), 用 100% 甲基硅酮 (OV-1) 为固定相; FID 检测器; 弹性石英毛细管色谱柱 (30m  $\times$  0.25mm  $\times$  0.32 $\mu$ m); 程序升温: 200 $^{\circ}$ C-1min-3 $^{\circ}$ C/min-240 $^{\circ}$ C-0min-20 $^{\circ}$ C/min-260 $^{\circ}$ C-5min。分别吸取上述两种溶液各 4 $\mu$ l, 注入气相色谱仪, 记录色谱图。供试品色谱中, 应有与对照品色谱相同保留时间的色谱峰。

(5) 取抗栓胶囊内容物 20g, 加石油醚 (30~60 $^{\circ}$ C) 50ml 冷浸 30 分钟, 时时振摇, 弃去石油醚液, 药渣挥干, 加氯仿 80ml 超声处理 30 分钟, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 40ml 溶解, 滤过, 滤液浓缩至约 2ml, 用中性氧化铝 (100~200 目) 4g 在水浴上搅拌干燥, 装入中性氧化铝柱 (1.5 $\times$ 20cm), 用氯仿 50ml 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加甲醇溶解, 转移至 10ml 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。另取华蟾酥毒基、酯蟾毒配基对照品各适量, 加甲醇制成每 1ml 含华蟾酥毒基 7 $\mu$ g、酯蟾毒配基 18 $\mu$ g 的混合溶液, 作为对照品溶液。照高效液相色谱法 (中国药典 2000 年版一部附录 VI D), 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 水-乙腈 (48: 26) 为流动相; 流速: 1.0ml/min; 检测波长 293nm; 柱温: 20 $^{\circ}$ C。理论板数以华蟾酥毒基、酯蟾毒配基峰计, 应分别不低于 4000。分别吸取上述两种溶液各 20 $\mu$ l, 注入液相色谱仪, 记录色谱图。供试品色谱中, 应有与对照品色谱相同保留时间的色谱峰。

(6) 取抗栓胶囊内容物 10g, 加水 40ml, 盐酸 3ml 加热微沸回流 1 小时, 滤过, 弃去滤液, 药渣挥干, 加乙醚 30ml 回流提取 0.5 小时, 弃去乙醚液, 药渣挥干, 加氯仿 30ml 回流提取 1 小时, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加无水乙醇 1ml 使溶解, 滤过, 滤液作为供试品溶液。另取甘草次酸对照品, 加无水乙醇制成每 1ml 含 2mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述两种溶液各 5 $\mu$ l, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以石油醚 (30~60 $^{\circ}$ C) -苯-醋酸乙酯-冰醋酸 (7:

11: 3: 0.2)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10%磷钼酸乙醇溶液, 105℃加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。

(7) 取抗栓胶囊内容物 5g, 加氨水适量搅拌湿润后, 加乙醚 40ml 放置 24 小时, 时时振摇, 滤取上清液, 置分液漏斗中, 用 10%醋酸 50ml 分三次提取 (20、20、10ml), 合并醋酸层, 用氨水调 pH10~11, 再以氯仿 50ml 分三次提取 (20、20、10ml), 合并氯仿液, 用水洗至中性, 加适量无水硫酸钠, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 0.5ml 使溶解, 作为供试品溶液。另取延胡索乙素对照品, 加甲醇制成每 1ml 含 0.5ml 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述供试品溶液 5 $\mu$ l, 对照品溶液 1 $\mu$ l, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以石油醚 (30~60℃)-醋酸乙酯 (1.2: 0.9) 为展开剂, 置氨蒸气饱和的展开缸内, 展开, 取出, 晾干, 碘熏数秒后, 置紫外光灯 (365nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点。

#### 【含量测定】

a. 丹参酮 II A 含量测定: 照高效液相色谱法 (中国药典 2000 年版一部附录 VI D) 测定。色谱条件与系统适用性试验 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 流动相: 甲醇-水 (64: 9.5); 流速: 1.0ml/min; 柱温: 25℃; 检测波长 273nm。理论板数以丹参酮 II A ( $C_{19}H_{18}O_3$ ) 峰计, 应不低于 2000。

对照品溶液的制备 精密称取丹参酮 II A 对照品 10mg, 置 50ml 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀; 精密量取 2ml, 置 25ml 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得 (每 1ml 中含丹参酮 II A 16 $\mu$ g)。

供试品溶液的制备 取抗栓胶囊内容物 3g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50ml, 密塞, 称定重量, 放置过夜, 超声处理 10 分钟, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 取上清液用滤膜 (0.45 $\mu$ m) 滤过, 即得。

测定法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5 $\mu$ l, 注入液相色谱仪, 测定, 即得。本品每粒含丹参以丹参酮 II A ( $C_{19}H_{18}O_3$ ) 计不得少于 52 $\mu$ g。

b. 土的宁的含量测定 照高效液相色谱法 (中国药典 2000 年版一部附录 VI D) 测定。色谱条件与系统适用性试验 用硅胶为填充剂; 氯仿-环己烷-二乙胺 (52: 16: 0.9) 为流动相; 流速: 1.0ml/min; 柱温: 20℃; 检测波长为 252nm。理论板数按土的宁峰计算应不低于 2000。

对照品溶液的制备 精密称取土的宁对照品适量, 加醋酸乙酯制成每 1ml 含 0.2mg 的溶液, 即得。

**供试品溶液的制备** 取抗栓胶囊内容物 10g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加氯仿 50ml 与浓氨试液 2ml, 密塞, 轻轻振摇, 称定重量, 放置 24 小时, 超声处理 20 分钟, 放冷, 再称定重量, 用提取液补足减失的重量, 充分振摇, 滤过, 精密量取续滤液 25ml, 置分液漏斗中, 用硫酸溶液 (3→100) 提取 5 次, 每次 25ml, 合并硫酸液, 加浓氨试液调节 pH 值至 9~10, 用氯仿提取 5 次, 每次 30ml, 合并氯仿液, 蒸干, 残渣加醋酸乙酯溶解, 转移至 5ml 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

**测定法** 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5 $\mu$ l, 注入液相色谱仪, 测定, 即得。本品每粒含马钱子以土的宁 ( $C_{21}H_{22}N_2O_2$ ) 计为 47~86 $\mu$ g。

### 实施例 5 抗栓胶囊

**【处方】** 当归尾 200g、丹参 200g、僵蚕 (麸炒) 100g、壁虎 100g、土鳖虫 200g、蜈蚣 50g、水蛭 200g、蜂房 100g、地龙 100g、马钱子 (制) 30g、麝香 3g、蟾酥 (酒制) 1g、甘草 100g、土茯苓 200g、延胡索 (醋制) 100g、骨碎补 (制) 200g、乌梢蛇 (酒制) 200g、虻虫 (去翅) 50g、穿山甲 (沙烫) 50g

**【制法】** 以上原料, 除麝香、蟾酥外, 其余当归尾等十七味粉碎成细粉, 将麝香、蟾酥分别研细, 与上述粉末配研, 过筛, 混匀, 装入胶囊, 即得。

### 【鉴别】

(1) 取抗栓胶囊内容物, 置显微镜下观察: 菌丝体近无色, 细长卷曲缠结在体壁中。体壁碎片深棕色或黄色, 其上着生短粗或细长刚毛, 常可见刚毛脱落后圆形毛窝。纤维束周围薄壁细胞含草酸钙方晶, 形成晶纤维; 具缘纹孔导管较大。草酸钙针晶束存在于黏液细胞中或散在。糊化淀粉粒团块淡黄色或近无色。角质鳞片近无色或淡黄色; 横纹肌纤维可见, 淡黄色或近无色, 多碎断, 侧面观多呈条块状。

(2) 取抗栓胶囊内容物 3g, 加正己烷 20ml 超声处理 20 分钟, 滤过, 滤液浓缩至 1ml, 作为供试品溶液。另取当归尾对照药材 0.1g, 同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法 (中国药典 2000 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述两种溶液各 5 $\mu$ l, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-醋酸乙酯 (13: 1.4) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯 (365nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点。

(3) 取抗栓胶囊内容物 10g, 加水 250ml 加热煮沸回流 1.5 小时, 滤过, 滤液置水浴上浓缩至浸膏, 加甲醇 8ml, 搅拌, 放置 1 小时, 滤过, 滤液浓缩至 0.6~0.8ml, 加苯 0.6ml, 振摇, 分取苯层作为供试品溶液。另取地龙对照药材 1g, 同法制成对照药材溶液。照薄层色

谱法(中国药典 2000 年版一部附录VI B)试验, 吸取上述两种溶液各 10 $\mu$ l, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以苯-醋酸乙酯 12: 1.3 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10%硫酸乙醇溶液, 热风吹至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。

(4) 取抗栓胶囊内容物 8g, 置 500ml 圆底烧瓶中, 加水 200ml, 苯 1.0ml, 混匀, 连接挥发油测定器及回流冷凝管, 加热至沸, 并保持微沸 2.5 小时, 放冷, 分取苯层作为供试品溶液。另取麝香酮对照品, 加苯制成每 1ml 含 0.2mg 的溶液, 作为对照品溶液。照气相色谱法(中国药典 2000 年版一部附录VI E), 用 100%甲基硅酮(OV-1)为固定相; FID 检测器; 弹性石英毛细管色谱柱(30m $\times$ 0.25mm $\times$ 0.32 $\mu$ m); 程序升温: 200 $^{\circ}$ C-1min-3 $^{\circ}$ C/min-240 $^{\circ}$ C-0min-20 $^{\circ}$ C/min-260 $^{\circ}$ C-5min。分别吸取上述两种溶液各 4 $\mu$ l, 注入气相色谱仪, 记录色谱图。供试品色谱中, 应有与对照品色谱相同保留时间的色谱峰。

(5) 取抗栓胶囊内容物 20g, 加石油醚(30~60 $^{\circ}$ C) 50ml 冷浸 30 分钟, 时时振摇, 弃去石油醚液, 药渣挥干, 加氯仿 80ml 超声处理 30 分钟, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 40ml 溶解, 滤过, 滤液浓缩至约 2ml, 用中性氧化铝(100~200 目) 4g 在水浴上搅拌干燥, 装入中性氧化铝柱(1.5 $\times$ 20cm), 用氯仿 50ml 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加甲醇溶解, 转移至 10ml 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。另取华蟾酥毒基、酯蟾毒配基对照品各适量, 加甲醇制成每 1ml 含华蟾酥毒基 7 $\mu$ g、酯蟾毒配基 18 $\mu$ g 的混合溶液, 作为对照品溶液。照高效液相色谱法(中国药典 2000 年版一部附录VI D), 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 水-乙腈(70: 52)为流动相; 流速: 1.0ml/min; 检测波长 299nm; 柱温: 60 $^{\circ}$ C。理论板数以华蟾酥毒基、酯蟾毒配基峰计, 应分别不低于 4000。分别吸取上述两种溶液各 20 $\mu$ l, 注入液相色谱仪, 记录色谱图。供试品色谱中, 应有与对照品色谱相同保留时间的色谱峰。

(6) 取抗栓胶囊内容物 10g, 加水 40ml, 盐酸 3ml 加热微沸回流 2 小时, 滤过, 弃去滤液, 药渣挥干, 加乙醚 30ml 回流提取 1.5 小时, 弃去乙醚液, 药渣挥干, 加氯仿 30ml 回流提取 1 小时, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加无水乙醇 1ml 使溶解, 滤过, 滤液作为供试品溶液。另取甘草次酸对照品, 加无水乙醇制成每 1ml 含 2mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录VI B)试验, 吸取上述两种溶液各 5 $\mu$ l, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)-苯-醋酸乙酯-冰醋酸(14: 30: 11: 1.1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10%磷钼酸乙醇溶液, 105 $^{\circ}$ C加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。

(7) 取抗栓胶囊内容物 5g, 加氨水适量搅拌湿润后, 加乙醚 40ml 放置 24 小时, 时时

振摇，滤取上清液，置分液漏斗中，用 10%醋酸 50ml 分三次提取（20、20、10ml），合并醋酸层，用氨水调 pH10~11，再以氯仿 50ml 分三次提取（20、20、10ml），合并氯仿液，用水洗至中性，加适量无水硫酸钠，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 0.5ml 使溶解，作为供试品溶液。另取延胡索乙素对照品，加甲醇制成每 1ml 含 0.5ml 的溶液，作为对照品溶液。照薄层色谱法（中国药典 2000 年版一部附录 VI B）试验，吸取上述供试品溶液 5 $\mu$ l，对照品溶液 1 $\mu$ l，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以石油醚（30~60 $^{\circ}$ C）-醋酸乙酯（2.9: 2.8）为展开剂，置氨蒸气饱和的展开缸内，展开，取出，晾干，碘熏数秒后，置紫外光灯（365nm）下检视。供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。

### 【含量测定】

a. 丹参酮 II A 含量测定：照高效液相色谱法（中国药典 2000 年版一部附录 VI D）测定。

色谱条件与系统适用性试验 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；流动相：甲醇-水（110: 22）；流速：1.0ml/min；柱温：55 $^{\circ}$ C；检测波长 273nm。理论板数以丹参酮 II A（ $C_{19}H_{18}O_3$ ）峰计，应不低于 2000。

对照品溶液的制备 精密称取丹参酮 II A 对照品 10mg，置 50ml 棕色量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀；精密量取 2ml，置 25ml 棕色量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，即得（每 1ml 中含丹参酮 II A 16 $\mu$ g）。

供试品溶液的制备 取抗栓胶囊内容物 3g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 50ml，密塞，称定重量，放置过夜，超声处理 60 分钟，放冷，再称定重量，用甲醇补足减失的重量，摇匀，取上清液用滤膜（0.45 $\mu$ m）滤过，即得。

测定法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5 $\mu$ l，注入液相色谱仪，测定，即得。

本品每粒含丹参以丹参酮 II A（ $C_{19}H_{18}O_3$ ）计不得少于 52 $\mu$ g。

b. 士的宁的含量测定 照高效液相色谱法（中国药典 2000 年版一部附录 VI D）测定。

色谱条件与系统适用性试验 用硅胶为填充剂；氯仿-环己烷-二乙胺（94: 33: 3.4）为流动相；流速：1.0ml/min；柱温：60 $^{\circ}$ C；检测波长为 256nm。理论板数按士的宁峰计算应不低于 2000。

对照品溶液的制备 精密称取士的宁对照品适量，加醋酸乙酯制成每 1ml 含 0.2mg 的溶液，即得。

供试品溶液的制备 取抗栓胶囊内容物 10g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加氯仿 50ml 与浓氨试液 8ml，密塞，轻轻振摇，称定重量，放置 24 小时，超声处理 40 分钟，放冷，再称定重量，用提取液补足减失的重量，充分振摇，滤过，精密量取续滤液 25ml，置分液漏

斗中，用硫酸溶液(3→100)提取9次，每次25ml，合并硫酸液，加浓氨试液调节pH值至9~10，用氯仿提取9次，每次30ml，合并氯仿液，蒸干，残渣加醋酸乙酯溶解，转移至5ml量瓶中，并稀释至刻度，摇匀，即得。

测定法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各5μl，注入液相色谱仪，测定，即得。

本品每粒含马钱子以士的宁( $C_{21}H_{22}N_2O_2$ )计为47~86μg。