



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1954868 B

(45) 授权公告日 2010. 11. 24

(21) 申请号 200610150423. 7

中成药地方标准上升国家标准部分耳鼻喉科分册 . 2002, 153-154.

(22) 申请日 2006. 10. 27

审查员 王静

(66) 本国优先权数据

200510116943. 1 2005. 10. 27 CN

(73) 专利权人 贵州百祥制药有限责任公司

地址 550004 贵州省贵阳市北京路 27 号新都财富大厦 13 楼 A 座

(72) 发明人 于文风

(51) Int. Cl.

G01N 30/90 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1686484 A, 2005. 10. 26, 说明书第 2 页第 2 - 21 行 .

CN 1387890 A, 说明书第 1 页第 8 - 13 行 .

国家药品监督管理局 . 国家中成药标准汇编

权利要求书 4 页 说明书 31 页

(54) 发明名称

治疗虚火上炎所致疾病的银菊清咽制剂的检测方法

(57) 摘要

本发明公开了一种治疗虚火上炎所致疾病的银菊清咽制剂及制法和质控方法,属于中药的技术领域。它由地黄、麦冬、玄参、菊花、金银花、胖大海、甘草等药组成,加入辅料分别制成滴丸、分散片、微丸剂等药剂学上允许的剂型。本发明制剂具有生津止渴、清凉解热的功效,用于虚火上炎所致的暑热烦渴,咽喉肿痛等病症;本发明制剂稳定性好,生物利用度高,服用方便,外观美洁,易于患者接受;所提供的制备方法能够有效制备需要的制剂、保证得到的制剂生产工艺科学合理;所提供的质量控制方法,能够向相关的生产、检测机构提供检测标准与技术方法,能更好的控制制剂的生产工艺与质量。

1. 一种治疗虚火上炎所致疾病的银菊清咽制剂,它是取地黄 36g、麦冬 36g、玄参 24g、甘草 12g、金银花 4.2g、菊花 6g、胖大海 1.8g 制作而成的,所述制剂的检测方法,其特征在于:

(A) 该方法包括以下鉴别方法的全部或部分内容:

a. 制剂中麦冬药材的薄层色谱法鉴别

取本品适量,加甲醇超声提取,提取液蒸干,残渣加水使溶解,加强酸适量,加热回流,放冷,用醋酸乙酯或三氯甲烷振摇提取,合并提取液,蒸干,残渣加甲醇或乙醇使溶解,作为供试品溶液;另取麦冬对照药材,加水煎煮,加强酸适量,参照供试品溶液制法,制成对照药材溶液;照薄层色谱法试验,分别吸取上述两种溶液适量,点于同一硅胶薄层板上,以甲苯-甲醇-冰醋酸=70~90:4~6:0.05~0.2为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯下检视;供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;

b. 制剂金银花药材、菊花药材、绿原酸中一种或几种的薄层色谱法鉴别

取本品适量,加甲醇提取,提取液蒸干,残渣加水溶解,滤过,滤液加酸调节至酸性,用醋酸乙酯或三氯甲烷振摇提取,提取液蒸干,残渣加甲醇或乙醇使溶解,作为供试品溶液;另取金银花对照药材、菊花对照药材中的一种或两种,参照供试品溶液制法,分别制成对照药材溶液;再取绿原酸对照品,制成对照品溶液;照薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液、对照药材溶液中的一种或两种及供试品溶液适量,分别点于同一硅胶薄层板上,以醋酸丁酯-甲酸-水=6~8:2~3:2~3的溶液或上层液为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯下检视;供试品色谱中,在与对照色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点;

c. 制剂中甘草药材、甘草次酸中一种或两种的薄层色谱法鉴别

取本品适量,加甲醇超声提取,提取液蒸干,残渣加水使溶解,加强酸适量,加热回流,放冷,用醋酸乙酯或三氯甲烷振摇提取,合并提取液,蒸干,残渣加甲醇或乙醇使溶解,作为供试品溶液;取甘草药材,参照供试品溶液制法,制成对照药材溶液;取甘草次酸对照品,制成对照品溶液;照薄层色谱法试验,分别吸取上述对照品溶液、对照药材溶液中的一种或两种及供试品溶液适量,点于同一硅胶薄层板上,以石油醚-苯-醋酸乙酯-甲酸=9~11:13~17:6~8:0.2~1为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯下检视;供试品色谱中,在与对照色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;

d. 制剂中地黄药材、梓醇中一种或两种的薄层色谱法鉴别

取本品适量,加甲醇或乙醇超声提取,提取液浓缩,作为供试品溶液;取梓醇对照品,制成对照品溶液;取地黄药材,同法制成对照药材溶液;照薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液、对照药材溶液中的一种或两种及供试品溶液适量,分别点于同一硅胶薄层板上,以二氯甲烷或三氯甲烷-甲醇-水=14~18:5~7:0.5~2为展开剂,展开,取出,晾干,喷以茴香醛试液,加热至斑点清晰;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. 制剂中玄参药材、哈巴苷、哈巴俄苷中一种或几种的薄层色谱法鉴别

取本品粉末适量,加甲醇超声提取,提取液浓缩,作为供试品溶液;取玄参对照药材,同法制成对照药材溶液;取哈巴苷、哈巴俄苷对照品中的一种或两种,加甲醇制成对照品溶液;照薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液、对照药材溶液中的一种或两种及供试品溶液适量,分别点于同一硅胶G薄层板上,以正丁醇-甲酸-水=6~8:0.6~1:1.5~

2.5 为展开剂,展开,取出,晾干,喷以香草醛硫酸试液,加热至斑点清晰;供试品色谱中,在与对照色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;

(B) 该方法包括以下含量测定方法的全部或部分内容:

a. 制剂中甘草酸的高效液相色谱法含量测定

取本品粉末适量,精密称定,精密加入甲醇或流动相,超声提取,放冷后补足损失的溶剂,摇匀,滤过,作为供试品溶液;另甘草酸或甘草酸单铵盐或甘草酸铵对照品,制成对照品溶液;照高效液相色谱法试验,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈-0.01mol/L~0.05mol/L 醋酸铵溶液加或不加冰醋酸以调节 pH 值=30~40:70~60 为流动相,检测波长为 240~260nm;分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液适量,注入液相色谱仪,测定,即得;以外标一点法或标准曲线法计算,本品每日用剂量含甘草以甘草酸计,不得少于 3.0mg;

b. 制剂中梓醇的高效液相色谱法含量测定

取本品粉末适量,精密称定,精密加入甲醇或流动相,超声提取,放冷后补足损失的溶剂,摇匀,滤过,作为供试品溶液;取梓醇对照品,制成对照品溶液;采用液相色谱法,色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈-水=1~3:99~97 为流动相,检测波长为 200~220nm;分别吸取上述供试溶液与对照溶液适量,注入液相色谱仪,以外标一点法或标准曲线法进行计算,本品每日用剂量含地黄以梓醇计,不得少于 1.0mg;

c. 制剂中绿原酸的高效液相色谱法含量测定

取本品粉末适量,精密称定,加水超声使溶解,水液加稀盐酸酸化,用醋酸乙酯振摇提取,醋酸乙酯液蒸干,残渣加 50% 甲醇或水使溶解并定容,作为供试品溶液;取绿原酸对照品,加 50% 甲醇或水制成对照品溶液;采用液相色谱法,色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈-0.1~0.4% 磷酸=10~14:90~86 为流动相,检测波长为 325~329nm;分别吸取上述供试溶液与对照溶液适量,注入液相色谱仪,以外标一点法或标准曲线法进行计算,本品每日用剂量含绿原酸不得少于 0.6mg。

2. 按照权利要求 1 所述的治疗虚火上炎所致疾病的银菊清咽制剂的检测方法,其特征在于:该方法包括以下鉴别方法的全部或部分内容:

a. 制剂中麦冬药材的薄层色谱法鉴别

取本品粉末适量,加甲醇超声提取,滤过,滤液蒸干,残渣加水使溶解,加盐酸适量,加热回流,放冷,用醋酸乙酯振摇提取,醋酸乙酯液蒸干,残渣加甲醇使溶解,作为供试品溶液;另取麦冬对照药材,加水煎煮,放冷,滤过,滤液加盐酸适量,加热回流,放冷,用醋酸乙酯振摇提取,醋酸乙酯液蒸干,残渣加甲醇使溶解,制成对照药材溶液;照薄层色谱法试验,分别吸取上述两种溶液适量,点于同一硅胶 GF254 薄层板上,以甲苯-甲醇-冰醋酸=80:5:0.1 为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯下检视;供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;

b. 制剂金银花药材、菊花药材、绿原酸中一种或几种的薄层色谱法鉴别

取本品粉末适量,加甲醇加热回流,滤过,滤液蒸干,残渣加水使溶解,滤过,滤液加稀盐酸酸化,用醋酸乙酯振摇提取,醋酸乙酯液蒸干,残渣加甲醇使溶解,作为供试品溶液;另取金银花对照药材、菊花对照药材中的一种或两种,分别加甲醇超声处理,参照供试品溶液制法,分别制成对照药材溶液;再取绿原酸对照品,加甲醇制成对照品溶液;照薄层色谱法

试验,吸取上述对照品溶液、对照药材溶液中的一种或两种及供试品溶液适量,分别点于同一硅胶 H 薄层板上,以醋酸丁酯-甲酸-水=7:2.5:2.5 的上层液为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯 365nm 下检视;供试品色谱中,在与对照色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点;

c. 制剂中甘草药材、甘草次酸中一种或两种的薄层色谱法鉴别

取本品粉末适量,加甲醇超声提取,滤过,滤液蒸干,残渣加水使溶解,加盐酸适量,加热回流,放冷,用醋酸乙酯振摇提取,醋酸乙酯液蒸干,残渣加甲醇使溶解,作为供试品溶液;取甘草药材,同法制成对照药材溶液;取甘草次酸对照品,加氯仿制成对照品溶液;照薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液、对照药材溶液中的一种或两种及供试品溶液适量,分别点于同一硅胶 GF254 薄层板上,以 30~60℃石油醚-苯-醋酸乙酯-甲酸=10:15:7:0.5 为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯 254nm 下检视;供试品色谱中,在与对照色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;

d. 制剂中地黄药材、梓醇中一种或两种的薄层色谱法鉴别

取本品粉末适量,加乙醇超声提取,提取液浓缩,作为供试品溶液;取地黄药材,同法制成对照药材溶液;取梓醇对照品,加乙醇制成对照品溶液;照薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液、对照药材溶液中的一种或两种及供试品溶液适量,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以二氯甲烷-甲醇-水=16:6:1 为展开剂,展开,取出,晾干,喷以茴香醛试液,于 105℃加热至斑点清晰;供试品色谱中,在与对照色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;

e. 制剂中玄参药材、哈巴苷、哈巴俄苷中一种或几种的薄层色谱法鉴别

取本品粉末适量,加甲醇超声提取,提取液浓缩,作为供试品溶液;取玄参对照药材,同法制成对照药材溶液;取哈巴苷、哈巴俄苷对照品中的一种或两种,加甲醇制成对照品溶液;照薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液、对照药材溶液中的一种或两种及供试品溶液适量,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正丁醇-甲酸-水=7:0.8:2 为展开剂,用展开剂预饱和 15 分钟,展开,取出,晾干,喷以香草醛硫酸试液,加热至斑点清晰;供试品色谱中,在与对照色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

3. 按照权利要 1 所述的治疗虚火上炎所致疾病的银菊清咽制剂的检测方法,其特征在于:该方法包括以下含量测定方法的全部或部分內容:

a. 制剂中甘草酸的高效液相色谱法含量测定

取本品粉末适量,精密称定,精密加入流动相,超声提取,放冷后补足损失的溶剂,摇匀,滤过,作为供试品溶液;另甘草酸单铵盐或甘草酸铵对照品,加甲醇或流动相制成对照品溶液;照高效液相色谱法试验,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈-0.02mol/L 醋酸铵溶液=35:65 为流动相,用冰醋酸调该流动相 pH 值至 3.0,检测波长为 250nm;分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ l,注入液相色谱仪,测定,即得;以外标一点法计算,本品每日常剂量含甘草酸不得少于 6.0mg;

b. 制剂中梓醇的高效液相色谱法含量测定

取本品粉末适量,精密称定,精密加入甲醇,超声提取,放冷后补足损失的溶剂,摇匀,滤过,作为供试品溶液;取梓醇对照品,加甲醇制成对照品溶液;采用液相色谱法,色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈-水=2:98 为流动相,检测波长为 210nm;分别吸取上述供试溶液与对照溶液适量,注入液相色谱仪,以外标一点法进行计算,本品每日常

剂量含地黄以梓醇计,不得少于 2.0mg;

c. 制剂中绿原酸的高效液相色谱法含量测定

取本品粉末适量,精密称定,加水超声使溶解,水液加稀盐酸使 $\text{pH} = 1 \sim 2$,用醋酸乙酯振摇提取 4 次,合并醋酸乙酯液,蒸干,残渣加 50% 甲醇使溶解并定容,作为供试品溶液;取绿原酸对照品,加 50% 甲醇制成对照品溶液;采用液相色谱法,色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈-0.4% 磷酸 = 12 : 88 为流动相,检测波长为 327nm;分别吸取上述供试溶液与对照溶液适量,注入液相色谱仪,以外标一点法进行计算,本品每日用剂量含绿原酸不得少于 1.2mg。

治疗虚火上炎所致疾病的银菊清咽制剂的检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种治疗虚火上炎所致疾病的银菊清咽制剂及制法和质控方法,属于中药的技术领域。

[0002] 技术背景

[0003] 咽喉肿痛是口咽和喉咽部病变的主要症状,以咽喉部红肿疼痛、吞咽不适为特征,又称“喉痹”。本证相当于现代医学的急慢性咽炎、扁桃体炎、喉炎等。引起咽喉肿痛的原因有很多。一般而言,口腔的炎症可以引起咽喉肿痛,此外工作紧张以及睡眠不足也可以引起咽喉肿痛。咽喉肿痛也是咽喉癌的一种症状,吞咽困难及声音嘶哑等,必须引起注意。因此,临床治疗必须及时准确,选择适宜的药物制剂与治疗方法。

[0004] 银菊清咽颗粒,由地黄、麦冬、玄参、菊花、金银花、胖大海、甘草制成;用于虚火上炎所致的暑热烦渴、咽喉肿痛疗效较好。其中地黄、麦冬、玄参养阴清热,菊花、金银花、胖大海清热解毒,甘草调合诸药。该药用于治疗虚火上炎所致的暑热烦渴、咽喉肿痛等症,临床上疗效确切,深受广大患者欢迎。但在长期的临床应用中也发现了一些问题,比如剂型落后,服用量大,产品质量不够理想,剂型品种不够丰富,适用人群范围窄,服用不便等。鉴于这些情况,优化工艺、改进剂型、提高质量控制方法成为银菊清咽颗粒急需解决的事情。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于:提供一种治疗虚火上炎所致疾病的银菊清咽制剂及其制备方法与质量控制方法;本发明针对现有技术,提供的滴丸、分散片等剂型,不仅解决了颗粒剂服用不便与口感较差的问题,而且崩解性好,生物利用度高;本发明所提供的制备方法能够有效制备需要的制剂、保证得到的制剂生产工艺科学合理;所提供的质量控制方法,能够向相关的生产、检测机构提供了检测的指标、检测的手段、技术方法等,以便更好的控制该制剂的质量,保证用药的安全性,能够更好的指导生产,使生产工艺控制更加严格合理,使消费者能全面认识产品质地。

[0006] 本发明是这样构成的:按照重量计算,它是由地黄 36g、麦冬 36g、玄参 24g、菊花 6g、金银花 4.2g、胖大海 1.8g、甘草 12g 加适量的辅料制作而成的制剂,包括:注射液、粉针、冻干粉针、凝胶剂、片剂、分散片、胶囊剂、软胶囊剂、微囊剂、颗粒剂、丸剂、微丸、散剂、滴丸剂、缓释制剂、控释制剂、凝胶剂、口服液体制剂、煎膏剂、浸膏剂和膜剂等药剂学上所有可以接受的剂型。准确的说:所述的制剂是滴丸、微丸或分散片。所述的治疗虚火上炎所致疾病的银菊清咽制剂的制法:取金银花、菊花、胖大海用热浸法煮沸后保持 80℃,温浸三次,每次 30 分钟,水用量分别为 8、6、6 倍,滤过,合并滤液;其余地黄等四味药材,加水煎煮三次,每次 1 小时,滤过,与上述滤液合并,浓缩至相对密度 50℃时为 1.20 的清膏,加 2 倍量 75%乙醇,拌匀,静置 24 小时,取上清液,在 80℃以下减压浓缩,再制成其他制剂。取金银花、菊花、胖大海用热浸法煮沸后保持 80℃,温浸三次,每次 30 分钟,水用量分别为 8、6、6 倍,滤过,合并滤液;其余地黄等四味药材,加水煎煮三次,每次 1 小时,水用量均为 8 倍,滤过,与上述滤液合并,浓缩至相对密度 50℃时为 1.20 的清膏,加 2 倍量 75%乙醇,拌匀,静

置 24 小时,取上清液,在 80℃以下减压浓缩,干燥,粉碎,按浸膏粉:基质=1:1~3 加入聚乙二醇 4000,混合均匀,加热至 80~90℃,待全部熔融后,滴入 10~20℃的二甲基硅油中,滴距 4~8cm,滴速 20~40 滴/分,将形成的滴丸沥尽并擦除二甲基硅油,制丸,即得滴丸剂。取金银花、菊花、胖大海用热浸法煮沸后保持 80℃,温浸三次,每次 30 分钟,水用量分别为 8、6、6 倍,滤过,合并滤液;其余地黄等四味药材,加水煎煮三次,每次 1 小时,水用量均为 8 倍,滤过,与上述滤液合并,浓缩至相对密度 50℃时为 1.20 的清膏,加 2 倍量 75%乙醇,拌匀,静置 24 小时,取上清液,在 80℃以下减压浓缩至相对密度 50℃为 1.20 的清膏,干燥,粉碎,按浸膏粉:基质=1:2 加入聚乙二醇 4000,混合均匀,加热至 80~90℃,待全部熔融后,滴入 10~20℃的二甲基硅油中,滴距 5~6cm,滴速 30 滴/分,将形成的滴丸沥尽并擦除二甲基硅油,制丸,即得滴丸剂。取金银花、菊花、胖大海用热浸法煮沸后保持 80℃,温浸三次,每次 30 分钟,水用量分别为 8、6、6 倍,滤过,合并滤液;其余地黄等四味药材,加水煎煮三次,每次 1 小时,水用量均为 8 倍,滤过,与上述滤液合并,浓缩至相对密度 50℃时为 1.20 的清膏,加 2 倍量 75%乙醇,拌匀,静置 24 小时,取上清液,在 80℃以下减压浓缩至相对密度 50℃为 1.20 的清膏,干燥,粉碎,加入 5%交联聚乙烯吡咯烷酮、10%微晶纤维素,混匀,加入浓度为 25%乙醇,过 24 目筛制粒,60℃干燥 2 小时后过 24 目筛整粒,再与 0.2%硬脂酸镁混匀,压片,即得分散片。取金银花、菊花、胖大海用热浸法煮沸后保持 80℃,温浸三次,每次 30 分钟,水用量分别为 8、6、6 倍,滤过,合并滤液;其余地黄等四味药材,加水煎煮三次,每次 1 小时,水用量均为 8 倍,滤过,与上述滤液合并,浓缩至相对密度 50℃时为 1.20 的清膏,加 2 倍量 75%乙醇,拌匀,静置 24 小时,取上清液,在 80℃以下减压浓缩至相对密度 50℃为 1.20 的清膏,干燥,粉碎,加入与主药的比例为 1:1.8 的枸橼酸,混合均匀,加入无水乙醇作润湿剂制软材,过 24 目筛制得湿颗粒,随即投入转速为 80~100r/min 的半自动包衣制粒机中,制备 8~10 小时,并置于 40℃烘箱中干燥后取出,包衣:流化风量:120~125m³·h⁻¹;进风温度 50℃、物料温度 30℃、雾化压力 0.2Mpa、喷嘴直径 1.2mm、喷液速率 8~10g·min⁻¹,出风温度 30℃,采用欧巴代 2 包衣液,即得微丸制剂。

[0007] 所述的治疗虚火上炎所致疾病的银菊清咽制剂的质量控制方法包括以下鉴别方法的全部内容:

[0008] a. 制剂中麦冬药材的薄层色谱法鉴别

[0009] 取本品适量,加甲醇超声提取,提取液蒸干,残渣加水使溶解,加强酸适量,加热回流,放冷,用醋酸乙酯或三氯甲烷振摇提取,合并提取液,蒸干,残渣加甲醇或乙醇使溶解,作为供试品溶液;另取麦冬对照药材,加水煎煮,加强酸适量,参照供试品溶液制法,制成对照药材溶液;照薄层色谱法试验,分别吸取上述两种溶液适量,点于同一硅胶薄层板上,以甲苯-甲醇-冰醋酸=70~90:4~6:0.05~0.2 为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯下检视;供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;

[0010] b. 制剂金银花药材、菊花药材、绿原酸中一种或几种的薄层色谱法鉴别

[0011] 取本品适量,加甲醇提取,提取液蒸干,残渣加水溶解,滤过,滤液加酸调节至酸性,用醋酸乙酯或三氯甲烷振摇提取,提取液蒸干,残渣加甲醇或乙醇使溶解,作为供试品溶液;另取金银花对照药材、菊花对照药材中的一种或两种,参照供试品溶液制法,分别制成对照药材溶液;再取绿原酸对照品,制成对照品溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液、对照药材溶液中的一种或两种及供试品溶液适量,分别点于同一硅胶薄层板上,以

醋酸丁酯-甲酸-水=6~8:2~3:2~3的溶液或上层液为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯下检视;供试品色谱中,在与对照色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点;

[0012] c. 制剂中甘草药材、甘草次酸中一种或两种的薄层色谱法鉴别

[0013] 取本品适量,加甲醇超声提取,提取液蒸干,残渣加水使溶解,加强酸适量,加热回流,放冷,用醋酸乙酯或三氯甲烷振摇提取,合并提取液,蒸干,残渣加甲醇或乙醇使溶解,作为供试品溶液;取甘草药材,参照供试品溶液制法,制成对照药材溶液;取甘草次酸对照品,制成对照品溶液;照薄层色谱法试验,分别吸取上述对照品溶液、对照药材溶液中的一种或两种及供试品溶液适量,点于同一硅胶薄层板上,以石油醚-苯-醋酸乙酯-甲酸=9~11:13~17:6~8:0.2~1为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯下检视;供试品色谱中,在与对照色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

[0014] d. 制剂中地黄药材、梓醇中一种或两种的薄层色谱法鉴别

[0015] 取本品适量,加甲醇或乙醇超声提取,提取液浓缩,作为供试品溶液;取梓醇对照品,制成对照品溶液;取地黄药材,同法制成对照药材溶液;照薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液、对照药材溶液中的一种或两种及供试品溶液适量,分别点于同一硅胶薄层板上,以二氯甲烷或三氯甲烷-甲醇-水=14~18:5~7:0.5~2为展开剂,展开,取出,晾干,喷以茴香醛试液,加热至斑点清晰;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;

[0016] e. 制剂中玄参药材、哈巴苷、哈巴俄苷中一种或几种的薄层色谱法鉴别

[0017] 取本品粉末适量,加甲醇超声提取,提取液浓缩,作为供试品溶液;取玄参对照药材,同法制成对照药材溶液;取哈巴苷、哈巴俄苷对照品中的一种或两种,加甲醇制成对照品溶液;照薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液、对照药材溶液中的一种或两种及供试品溶液适量,分别点于同一硅胶G薄层板上,以正丁醇-甲酸-水=6~8:0.6~1:1.5~2.5为展开剂,展开,取出,晾干,喷以香草醛硫酸试液,加热至斑点清晰;供试品色谱中,在与对照色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

[0018] 准确的说:该方法包括以下鉴别方法的全部或部分内容:

[0019] a. 制剂中麦冬药材的薄层色谱法鉴别

[0020] 取本品粉末适量,加甲醇超声提取,滤过,滤液蒸干,残渣加水使溶解,加盐酸适量,加热回流,放冷,用醋酸乙酯振摇提取,醋酸乙酯液蒸干,残渣加甲醇使溶解,作为供试品溶液;另取麦冬对照药材,加水煎煮,放冷,滤过,滤液加盐酸适量,加热回流,放冷,用醋酸乙酯振摇提取,醋酸乙酯液蒸干,残渣加甲醇使溶解,制成对照药材溶液;照薄层色谱法试验,分别吸取上述两种溶液适量,点于同一硅胶GF₂₅₄薄层板上,以甲苯-甲醇-冰醋酸=80:5:0.1为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯下检视;供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;

[0021] b. 制剂金银花药材、菊花药材、绿原酸中一种或几种的薄层色谱法鉴别

[0022] 取本品粉末适量,加甲醇加热回流,滤过,滤液蒸干,残渣加水使溶解,滤过,滤液加稀盐酸酸化,用醋酸乙酯振摇提取,醋酸乙酯液蒸干,残渣加甲醇使溶解,作为供试品溶液;另取金银花对照药材、菊花对照药材中的一种或两种,分别加甲醇超声处理,参照供试品溶液制法,分别制成对照药材溶液;再取绿原酸对照品,加甲醇制成对照品溶液。照薄层

色谱法试验,吸取上述对照品溶液、对照药材溶液中的一种或两种及供试品溶液适量,分别点于同一硅胶 H 薄层板上,以醋酸丁酯-甲酸-水=7:2.5:2.5 的上层液为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯 365nm 下检视;供试品色谱中,在与对照色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点;

[0023] c. 制剂中甘草药材、甘草次酸中一种或两种的薄层色谱法鉴别

[0024] 取本品粉末适量,加甲醇超声提取,滤过,滤液蒸干,残渣加水使溶解,加盐酸适量,加热回流,放冷,用醋酸乙酯振摇提取,醋酸乙酯液蒸干,残渣加甲醇使溶解,作为供试品溶液;取甘草药材,同法制成对照药材溶液;取甘草次酸对照品,加氯仿制成对照品溶液;照薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液、对照药材溶液中的一种或两种及供试品溶液适量,分别点于同一硅胶 GF254 薄层板上,以 30~60℃石油醚-苯-醋酸乙酯-甲酸=10:15:7:0.5 为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯 254nm 下检视;供试品色谱中,在与对照色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

[0025] d. 制剂中地黄药材、梓醇中一种或两种的薄层色谱法鉴别

[0026] 取本品粉末适量,加乙醇超声提取,提取液浓缩,作为供试品溶液;取地黄药材,同法制成对照药材溶液;取梓醇对照品,加乙醇制成对照品溶液;照薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液、对照药材溶液中的一种或两种及供试品溶液适量,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以二氯甲烷-甲醇-水=16:6:1 为展开剂,展开,取出,晾干,喷以茴香醛试液,于 105℃加热至斑点清晰;供试品色谱中,在与对照色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;

[0027] e. 制剂中玄参药材、哈巴苷、哈巴俄苷中一种或几种的薄层色谱法鉴别

[0028] 取本品粉末适量,加甲醇超声提取,提取液浓缩,作为供试品溶液;取玄参对照药材,同法制成对照药材溶液;取哈巴苷、哈巴俄苷对照品中的一种或两种,加甲醇制成对照品溶液;照薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液、对照药材溶液中的一种或两种及供试品溶液适量,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正丁醇-甲酸-水=7:0.8:2 为展开剂,用展开剂预饱和 15 分钟,展开,取出,晾干,喷以香草醛硫酸试液,加热至斑点清晰;供试品色谱中,在与对照色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

[0029] 包括以下含量测定方法的全部或部分內容:

[0030] a. 制剂中甘草酸的高效液相色谱法含量测定

[0031] 取本品粉末适量,精密称定,精密加入甲醇或流动相,超声提取,放冷后补足损失的溶剂,摇匀,滤过,作为供试品溶液;另甘草酸或甘草酸单铵盐或甘草酸铵对照品,制成对照品溶液;照高效液相色谱法试验,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈-0.01mol/L~0.05mol/L 醋酸铵溶液加或不加冰醋酸以调节 pH 值=30~40:70~60 为流动相,检测波长为 240~260nm;分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液适量,注入液相色谱仪,测定,即得;以外标一点法或标准曲线法计算,本品每日用剂量含甘草以甘草酸计,不得少于 3.0mg。

[0032] b. 制剂中梓醇的高效液相色谱法含量测定

[0033] 取本品粉末适量,精密称定,精密加入甲醇或流动相,超声提取,放冷后补足损失的溶剂,摇匀,滤过,作为供试品溶液;取梓醇对照品,制成对照品溶液;采用液相色谱法,色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈-水=1~3:99~97 为流动相,检测波

长为 200 ~ 220nm ;分别吸取上述供试溶液与对照溶液适量,注入液相色谱仪,以外标一点法或标准曲线法进行计算,本品每日用剂量含地黄以梓醇计,不得少于 1.0mg。

[0034] c. 制剂中绿原酸的高效液相色谱法含量测定

[0035] 取本品粉末适量,精密称定,加水超声使溶解,水液加稀盐酸酸化,用醋酸乙酯振摇提取,醋酸乙酯液蒸干,残渣加 50% 甲醇或水使溶解并定容,作为供试品溶液;取绿原酸对照品,加 50% 甲醇或水制成对照品溶液;采用液相色谱法,色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈 -0.1 ~ 0.4% 磷酸 = 10 ~ 14 : 90 ~ 86 为流动相,检测波长为 325 ~ 329nm ;分别吸取上述供试溶液与对照溶液适量,注入液相色谱仪,以外标一点法或标准曲线法进行计算,本品每日用剂量含绿原酸不得少于 0.6mg。

[0036] 准确的说:该方法包括以下含量测定方法的全部或部分内容:

[0037] a. 制剂中甘草酸的高效液相色谱法含量测定

[0038] 取本品粉末适量,精密称定,精密加入流动相,超声提取,放冷后补足损失的溶剂,摇匀,滤过,作为供试品溶液;另甘草酸单铵盐或甘草酸铵对照品,加甲醇或流动相制成对照品溶液;照高效液相色谱法试验,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈 -0.02mol/L 醋酸铵溶液(用冰醋酸调至 pH 值至 3.0) = 35 : 65 为流动相,检测波长为 250nm ;分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ l,注入液相色谱仪,测定,即得;以外标一点法计算,本品每日用剂量含甘草酸不得少于 6.0mg。

[0039] b. 制剂中梓醇的高效液相色谱法含量测定

[0040] 取本品粉末适量,精密称定,精密加入甲醇,超声提取,放冷后补足损失的溶剂,摇匀,滤过,作为供试品溶液;取梓醇对照品,加甲醇制成对照品溶液;采用液相色谱法,色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈 - 水 = 2 : 98 为流动相,检测波长为 210nm ;分别吸取上述供试溶液与对照溶液适量,注入液相色谱仪,以外标一点法进行计算,本品每日用剂量含地黄以梓醇计,不得少于 2.0mg。

[0041] c. 制剂中绿原酸的高效液相色谱法含量测定

[0042] 取本品粉末适量,精密称定,加水超声使溶解,水液加稀盐酸使 pH = 1 ~ 2,用醋酸乙酯振摇提取 4 次,合并醋酸乙酯液,蒸干,残渣加 50% 甲醇使溶解并定容,作为供试品溶液;取绿原酸对照品,加 50% 甲醇制成对照品溶液;采用液相色谱法,色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈 -0.4% 磷酸 = 12 : 88 为流动相,检测波长为 327nm ;分别吸取上述供试溶液与对照溶液适量,注入液相色谱仪,以外标一点法进行计算,本品每日用剂量含绿原酸不得少于 1.2mg。

[0043] 所述的制剂用于在制备治疗虚火上炎所致的暑热烦渴、咽喉肿痛等症药物中的应用。

[0044] 与现有剂型与技术相比,本发明解决了剂型适用人群范围窄,服用不便、药物稳定性不理想的问题。其制剂剂型服用方便、生物利用度高、稳定性好、携带方便、口感良好、吸收快、适用人群广;所提供的制备方法能够有效制备需要的制剂、保证得到的制剂品种效果显著,生产工艺科学合理,克服了现有产品存在的问题;所提供的质量控制方法,能够更全面的控制该制剂的质量;达到了本发明的目的。

[0045] 本申请人在研制过程中发现,为保证产品质量,辅料、工艺条件的筛选,以及质量控制方法诸条件的筛选至关重要。本申请人进行了一系列实验,以选择本发明提供的药物

制剂的制备工艺、使用的辅料种类及用量与比例、质量控制的方法与参数等；以保证发明的科学性、合理性、可行性。

[0046] 实验例 1 提取工艺研究

[0047] 1. 温浸提取条件筛选

[0048] (1) 因素选择温浸提取效果受到水用量、提取时间、提取次数等因素的影响。现有技术对温浸水用量未有研究，本申请人重点考察因素的不同水平对温浸提取效果的影响。结合生产成本、能源等方面进行综合考虑，选择因素水平。

[0049] (2) 指标确定选择浸膏收得率为评价指标。浸膏是固体制剂发挥疗效的物质基础，其收率高低直接影响制剂工艺，故选择为提取指标是合理、有效的控制手段。测定方法：称取金银花 42g、菊花 60g、胖大海 18g，不同用量的水 80℃温浸提取，温浸三次，每次 30 分钟，滤过，合并提取液，调整定容至 1000ml，再从中取 50ml，倾入已干燥称重的蒸发皿内，水浴浓缩至干，移入 105℃烘箱干燥 3 小时，取出，置干燥器中冷却 30 分钟后，取出称重，计算。

[0050] (3) 试验：试验安排及结果见下表。

[0051] 水用量考察结果表

[0052]

试验号	水用量（倍）			膏重（g）	出膏率（%）
	第一次	第二次	第三次		
1	6	6	4	21.57	17.98
2	6	6	6	21.62	18.02
3	8	6	4	22.40	18.67
4	8	6	6	23.00	19.17
5	8	8	6	23.02	19.18

[0053] 由上表可知，水用量为 8、6、6 倍与水用量为 8、8、6 倍的浸膏收得率差别不大，从节约能源和成本来考虑，温浸提取的最佳工艺为提取三次，水用量为 8、6、6 倍。并根据此条件进行验证实验。

[0054] 2. 药材煎煮提取条件筛选

[0055] (1) 因素选择 重点考察因素的不同水平对煎煮提取效果的影响。结合生产成本、能源等方面进行综合考虑，选择因素水平。

[0056] (2) 指标确定选择浸膏收得率、甘草酸含量为评价指标，其原由及测定方法如下：

[0057] ①浸膏收得率：浸膏是固体制剂发挥疗效的物质基础，其收率高低直接影响制剂工艺，故选择为提取指标是合理、有效的控制手段。煎煮测定方法：称取地黄 36g、麦冬 36g、玄参 24g、甘草 12g 加水煎煮，合并提取液，滤过，调整定容至 1000ml，再从中取 50ml，倾入已干燥称重的蒸发皿内，水浴浓缩至干，移入 105℃烘箱干燥 3 小时，取出，置干燥器中冷却 30 分钟后，取出称重，计算。

[0058] ②甘草酸含量：浸出物收率高低并不能完全反映有效成份提取情况，故同时选择处方中甘草所含主要成分甘草酸作为煎煮筛选指标；参考有关文献，采用反相高效液相法测定甘草酸含量。

[0059] (3) 考察试验 煎煮试验安排及结果见下表；

[0060] 煎煮加水量考察结果表

[0061]

试验号	加水量 (倍)			浸膏收得率 (%)	甘草酸含量 (mg/g)
	第一次	第二次	第三次		
1	6	6	6	21.75	4.701
2	8	8	8	23.06	4.639
3	10	10	10	23.47	4.518

[0062] 由上表可知,每次加 10 倍量水所得的浸膏收得率与甘草酸含量最高,每次加 8 倍量水所得的浸膏收得率、甘草酸含量与加 10 倍量水相差不多,每次加 6 倍量水最低,因此从节约能源和成本来考虑,加水量的最佳工艺为加水煎煮三次,每次加 8 倍量。并根据此条件进行验证实验。

[0063] (4) 验证实验按以上提取工艺条件进行验证实验,实验结果列表如下：

[0064] 温浸提取水用量验证实验结果

[0065]

方案	试验号	浸膏收得率 (%)
煮沸后保持 80℃,温浸三次,水用量为第一次 8 倍量,第二次 6 倍量,第三次 6 倍量,每次 30min,	1	19.02
	2	19.95
	3	19.04

[0066] 备注:考察量 100g

[0067] 由重复性验证实验的结果可见温浸提取优化组合条件提取结果浸膏收率波动不大,可见该提取工艺条件是合理、可行及稳定的。

[0068] 煎煮加水量验证实验结果

[0069]

方案	试验号	浸膏收得率 (%)	甘草酸含量 (mg/g)
煎煮 3 次,每次 8 倍量	1	23.04	4.689
	2	23.05	4.586
	3	23.02	4.678

[0070] 备注:考察量 180g

[0071] 由验证实验的结果可见煎煮优化组合条件提取结果浸膏收率和甘草酸含量波动不大,可见该提取工艺条件是合理、可行及稳定的。

[0072] 综上所述,方中金银花、菊花、胖大海用热浸法煮沸后保持 80℃,温浸提取三次,水

用量为 8、6、6 倍,每次 30 分钟;其余地黄等四味药材,水煎煮三次,每次加 8 倍水,每次 1 小时。

[0073] 实验例 2 回收乙醇工艺研究

[0074] 为了便于生产操作控制和避免有效成分损失,采取减压回收乙醇,并减压浓缩,得膏,备用。醇提药液减压浓缩的条件为:温度为 60℃,真空度为 0.08 ~ 0.1Mpa。

[0075] 实验例 3 分离、浓缩及干燥工艺研究

[0076] 分离工艺研究:为了便于生产操作控制,提取液采用 200 目滤布滤过。

[0077] 浓缩工艺研究:浓缩采用三效浓缩罐浓缩,提取液浓缩至相对密度为 1.30 ~ 1.35(50℃)的稠膏,浓缩条件为:温度为一效 84℃、二效 80℃、三效 70℃,真空度为一效 -0.025 Mpa、二效 -0.045 Mpa、三效 -0.065Mpa。

[0078] 干燥工艺研究:真空干燥条件为:60 ~ 70℃, -0.08Mpa。

[0079] 实验例 4:成型工艺研究

[0080] 4.1 分散片剂成型工艺研究

[0081] 分散片遇水可迅速崩解形成均匀的粘性悬液的水分散片,解决了原剂型崩解性差,溶出缓慢的缺点,本申请人制得的分散片在 19℃~ 21℃水中 3min 内完全崩解,混悬性好、生物利用度高、分散均匀。

[0082] 崩解时限检查:采用转篮法,升降式崩解仪,取 6 片,观察通过筛网的情况,通过率高则崩解性好,更宜人体吸收。

[0083] 辅料筛选

[0084]

组别	交联聚乙烯吡咯烷酮%	微晶纤维素%	乙醇%	崩解时间 s
1	3	10	0	108
2	3	15	25	113
3	3	20	50	78
4	5	10	25	68
5	5	15	50	135
6	5	20	0	99
7	8	10	50	167
8	8	15	0	156
9	8	20	25	90

[0085] 结果表明,最佳工艺条件为加入 5%交联聚乙烯吡咯烷酮、10%微晶纤维素,混匀,加入浓度为 25%乙醇制粒。

[0086] 4.2 微丸剂成型工艺研究

[0087] 4.2.1 制备工艺

[0088]

制备设备	主机转速 $r \cdot \min^{-1}$	制备时间 h	外观	收得率 %	水分 %
包衣锅	40 ~ 50	10 ~ 11	圆整、均匀,微丸外层粘有细粉	65	10.9
半自动包衣造粒机	80 ~ 100	8 ~ 10	圆整、均匀,光洁	87	9.7

[0089] 结果表明,本发明制备微丸的工艺合理可行。

[0090] 4.2.2 包衣工艺

[0091]

组别	外观		
	0 月	6 月	12 月
未包衣微丸	圆整、均匀、光洁	圆整、均匀、光洁	圆整、均匀、少许潮结
本发明微丸	圆整、均匀、光洁	圆整、均匀、光洁	圆整、均匀、光洁

[0092] 结果表明,包衣后有效成分稳定性增强。

[0093] 4.3 滴丸成型工艺研究

[0094] 4.3.1 基质的初步选择 滴丸要求制剂应迅速发挥疗效,加之药物含有挥发性成分,故选择熔点低,具有良好分散力和较大内聚力的 PEG4000 作基质来满足临床治疗和药效成分性质的要求。初步研究表明,以 PEG4000 作基质时,滴丸的硬度、流动性均好,结果见下表。

[0095] 基质筛选实验结果

[0096]

基质种类	硬度	圆整度	拖尾
PEG4000	+++	+++	不托尾
PEG6000	+++	+	少许托尾

[0097] 注:+++ 示很好; ++ 示较好; + 示一般

[0098] 4.3.2 药物与基质配比

[0099] 以药物与基质混合后情况及滴制难易程度,确立药物与基质的配比。见下表。结果表明,药物与聚乙二醇 4000 的比例为 1 : 2 时,药物与基质融合性较好,硬度、圆整度适宜,并且易于滴制。

[0100] 药物与基质的配比实验结果

[0101]

药物与基质的配比	硬度	圆整度	拖尾
1 : 1	+	-	明显
1 : 1.2	++	-	明显
1 : 1.5	++	++	不拖尾
1 : 2	+++	+++	不拖尾
1 : 3	+++	+	不拖尾

[0102] 注 :+++ 示很好 ;++ 示较好 ;+ 示一般 ; - 示差

[0103] 4.3.3 冷却剂选择

[0104] 先以药物 : 聚乙二醇 4000 = 1 : 2 的比例, 从甲基硅油、液状石蜡、大豆油、花生油、菜子油中选择合适的冷凝剂。以滴丸的下降速度、成型情况为指标, 将各指标的考察结果由好至差依次用“+++”, “++”, “+”, “-”表示, 结果见下表。

[0105] 冷却剂的选择实验结果

[0106]

冷凝剂	下降速度	成型情况
二甲基硅油	+++	+++
液状石蜡	-	++
大豆油	++	-
菜子油	++	+

[0107] 注 :+++ 示很好 ;++ 示较好 ;+ 示一般

[0108] 由上表可知, 冷却剂选择二甲基硅油为佳。

[0109] 4.3.4 滴制温度选择

[0110] 聚乙二醇类受热温度过高会出现色泽加深不易凝固。通过预试试验可知滴制温度在 80℃ 左右时, 滴速很慢, 成型不好。选择滴制温度在 85℃ 左右, 滴速适中, 成型良好。按优选的药物与基质配比, 将浸膏与基质置水浴上加热, 熔融, 加入滴丸机中, 不同温度保温, 以丸型圆整度, 滴出状态为指标, 结果见下表。

[0111] 滴制温度的选择实验结果

[0112]

滴制温度 (°C)	圆整度	滴出状态
70	-	滴不出
80	+	较慢
85	+++	易滴出
90	+	太快

[0113] 注 :+++ 示很好 ;++ 示较好 ;+ 示一般 ; - 示差

[0114] 4.3.5 冷却剂温度考察

[0115] 按优选的药物与基质配比, 混合均匀, 加热至 80-90℃, 待全部熔融后, 取适量, 分别滴入不同温度的二甲基硅油冷却剂中, 观察滴丸成型情况, 结果见下表。

[0116] 冷却剂温度选择

[0117]

冷却剂温度	滴距	滴速	料温	滴丸成型情况
10℃	6cm	30 ~ 40d/min	85℃	圆整度好,成型好
20℃	6cm	30 ~ 40d/min	85℃	圆整度好,成型好
梯度冷却	6cm	30 ~ 40d/min	85℃	圆整度好,成型好

[0118] 注:梯度冷却方法为:上部为 10 ~ 20℃,下部为 5 ~ 10℃。

[0119] 上表表明,在上述三种冷却温度下,本品的成型性均良好,为简便操作,故选择冷却剂温度为 10 ~ 20℃。

[0120] 4.3.6 丸重考察

[0121] 按以上优选条件,选择不同口径的滴管,滴制成丸,以丸型圆整度,硬度、拖尾为指标,结果见下表。

[0122] 丸重考察实验结果

[0123]

口径(内/外 mm/mm)	丸重(mg)	圆整度	硬度	拖尾
3.0/4.0	40	+++	+	不托尾
4.0/5.0	60	+++	+++	不托尾
5.0/6.0	70	-	+	托尾

[0124] 注:+++ 示很好;++ 示较好;+ 示一般;- 示差

[0125] 上述结果表明,滴头口径为 4.0/5.0(内/外 mm/mm)的滴头所滴制的滴丸圆整度和硬度等外观指标较好,故选择滴头口径为 4.0/5.0(内/外 mm/mm)。

[0126] 4.3.7 滴速考察

[0127] 按以上优选条件,选择不同的滴速,滴制成丸,以丸型圆整度,硬度,拖尾为指标,结果见下表。

[0128] 滴速考察实验结果

[0129]

滴速(d/min)	圆整度	硬度	拖尾
20	+++	+	不拖尾
30	+++	+++	不拖尾
40	-	+++	拖尾

[0130] 注:+++ 示很好;++ 示较好;+ 示一般;- 示差

[0131] 故由上表可确定滴速为 30d/min。

[0132] 4.3.8 滴距考察

[0133] 按以上优选条件,选择不同的滴距,滴制成丸,以丸型圆整度,硬度、拖尾为指标,结果见下表。

[0134] 滴距考察实验结果

[0135]

滴距 (cm)	重量差异	滴丸外观
2	-----	滴丸粘连, 圆整度差
4	6%	滴丸外观圆整, 表面光滑
8	8%	滴丸外观圆整, 表面光滑
12	17%	滴丸外观圆整, 表面光滑

[0136] 上表表明, 当滴距在 4 ~ 8cm 时, 滴丸外观圆整, 表面光滑, 重量差异小, 故选择滴距为 4 ~ 8cm。

[0137] 实验例 5: 抗炎作用的研究

[0138] 5.1 对二甲基苯所致小鼠耳炎的影响

[0139] 取小鼠 50 只, 雌雄兼用, 体重 18 ~ 22g, 随机分为: 对照组、银菊清咽颗粒组、本发明制剂组, 每组 10 只。银菊清咽颗粒组及本发明制剂组分别按表 4 中的剂量灌胃给药, 对照组给以等体积的生理盐水, 给药后 1h, 每鼠右耳涂以 0.3ml 二甲基苯, 致炎后 4 小时, 用 8mm 打孔器取下双耳相同位置的耳片, 称重, 以 2 耳重量差为肿胀指标, 结果见下表。

[0140]

组别	剂量 (g/kg)	左右耳重量差 (mg)
对照组	-	21.3 ± 1.7
银菊清咽颗粒组	6	17.2 ± 1.5
本发明滴丸组	6	16.9 ± 2.5
本发明分散片组	6	16.5 ± 3.0
本发明微丸组	6	16.2 ± 0.1

[0141] 5.2 对大鼠踝关节肿胀的影响

[0142] 取大鼠 50 只, 雌雄兼用、体重 180 ~ 220g, 随机分为: 对照组、银菊清咽颗粒组、本发明制剂组, 每组 10 只。银菊清咽颗粒组及本发明制剂组分别按表 5 中的剂量灌胃给药, 每日 1 次, 连续 3d。于末次给药后 1h, 在大鼠右后足跖皮下注射 1% 角叉菜胶溶液 0.1ml/只致炎, 并于致炎前及致炎后 1、2、5h, 分别用无弹性的软尺测量大鼠右后踝关节的周长, 并以致炎前后踝关节的周长之差作为肿胀度, 结果见下表。

[0143]

组别	剂量 (g/kg)	大鼠踝关节肿胀度 (mm)		
		1h	2h	5h
对照组	-	3.34 ± 1.23	9.89 ± 2.11	13.21 ± 1.57
银菊清咽颗粒组	6	1.78 ± 0.11	6.21 ± 0.33	7.92 ± 2.10
本发明滴丸组	6	1.69 ± 0.21	5.66 ± 1.23	7.85 ± 3.21
本发明分散片组	6	1.70 ± 0.14	5.52 ± 1.37	7.74 ± 0.87
本发明微丸组	6	1.68 ± 0.62	5.64 ± 1.17	7.80 ± 2.03

[0144] 以上 2 个实验结果显示,本发明制剂能明显减轻二甲基苯所致的小鼠耳肿胀和角叉菜胶所致的大鼠踝关节肿胀,作用强度不低于相同剂量的银菊清咽颗粒。

[0145] 实验例 6 滴丸剂中麦冬药材的薄层色谱鉴别方法研究

[0146] 为了突出麦冬的特征,选择了麦冬药材中的特征成分斑点作为其对照,但是由于制剂中存在较多与麦冬药材中的特征成分结构相近或极性相似的成分,例如地黄中的多糖,甘草中的皂苷类成分。只有排除这些成分的干扰,才能获得理想的色谱效果。薄层色谱法效果优劣的关键因素为展开条件,特别是展开剂的组成。因此,试验筛选了多种展开条件,部分展开条件与结果如下:

[0147] 滴丸剂中麦冬药材的薄层色谱鉴别方法研究

[0148]	条件	结果
[0149]	苯 - 醋酸乙酯 = 18 : 1	
[0150]		Rf 值偏低
[0151]	硅胶 H 薄层板	
[0152]	石油醚 (30 ~ 60°C) - 乙醇 = 15 : 4	
[0153]		分离不清晰
[0154]	硅胶 H 薄层板	
[0155]	三氯甲烷 - 丙酮 - 冰醋酸 = 10 : 1 : 1 硅胶 GF254 薄层板	
[0156]		阴性有干扰
[0157]	苯 - 醋酸乙酯 = 10 : 0.1 硅胶 G 薄层板	Rf 值偏低
[0158]	醋酸乙酯 - 乙醇 = 13 : 7 硅胶 H 薄层板	Rf 值偏高
[0159]	甲苯 - 甲醇 - 冰醋酸 = 60 : 5 : 1 硅胶 GF254 薄层板	阴性有干扰
[0160]	甲苯 - 甲醇 - 冰醋酸 = 90 : 6 : 0.2 硅胶 GF254 薄层板	分离较清晰, Rf 值适中, 阴性无干扰
[0161]	甲苯 - 甲醇 - 冰醋酸 = 70 : 4 : 0.05 硅胶 G 薄层板	分离清晰, Rf 值稍低, 阴性无干扰
[0162]	甲苯 - 甲醇 - 冰醋酸 = 80 : 5 : 0.1 硅胶 GF254 薄层板	分离最清晰, Rf 值适中, 阴性无干扰

[0163] 经过筛选,确定了最佳条件:以硅胶 GF254 薄层板为固定相,甲苯 - 甲醇 - 冰醋酸 = 80 : 5 : 0.1 展开剂,在此条件下,麦冬药材特征斑点的 Rf 值适中,和其它斑点分离最清晰,阴性无干扰。

[0164] 实验例 7 分散片剂中金银花药材、菊花药材、绿原酸的薄层色谱鉴别方法研究:

[0165] 为了突出金银花、菊花的特征,选择了这两味药材中的特征成分斑点以及绿原酸作为其对照,但是由于制剂中存在较多与这两味药材中的特征成分以及绿原酸结构相近或极性相似的成分,例如甘草中的甘草酸类成分等。只有排除这些成分的干扰,才能获得理想的色谱效果。薄层色谱法效果优劣的关键因素为展开条件,特别是展开剂的组成。因此,试验筛选了多种展开条件,部分展开条件与结果如下:

[0166] 分散片剂中金银花药材、菊花药材、绿原酸的薄层色谱鉴别方法研究

[0167] 条件

结果

[0168] 苯 - 醋酸乙酯 - 甲醇 = 7 : 1 : 1

- [0169] 分离不清晰
- [0170] 硅胶 H 薄层板
- [0171] 三氯甲烷 - 乙醇 = 8 : 3
- [0172] 分离不清晰
- [0173] 硅胶 H 薄层板
- [0174] 醋酸乙酯 - 丙酮 - 冰醋酸 = 10 : 1 : 1 硅胶 H 薄层板
- [0175] 阴性有干扰
- [0176] 苯 - 醋酸乙酯 = 10 : 1 硅胶 G 薄层板 Rf 值偏低
- [0177] 醋酸乙酯 - 冰醋酸 = 8 : 1 硅胶 H 薄层板 Rf 值偏高
- [0178] 醋酸丁酯 - 甲酸 - 水 = 8 : 2.5 : 0.5 硅胶 G 薄层板 阴性有干扰
- [0179] 醋酸丁酯 - 甲酸 - 水 = 8 : 3 : 2 的上层液
- [0180] 分离清晰, Rf 值稍低, 阴性无干扰
- [0181] 硅胶 H 薄层板
- [0182] 醋酸丁酯 - 甲酸 - 水 = 6 : 2 : 3 的上层液
- [0183] 分离清晰, Rf 值稍高, 阴性无干扰
- [0184] 硅胶 H 薄层板
- [0185] 醋酸丁酯 - 甲酸 - 水 = 7 : 2.5 : 2.5 的上层液
- [0186] 分离最清晰, Rf 值适中, 阴性无干扰
- [0187] 硅胶 H 薄层板
- [0188] 经过筛选, 确定了最佳条件: 以硅胶 H 薄层板为固定相, 醋酸丁酯 - 甲酸 - 水 = 7 : 2.5 : 2.5 的上层液为展开剂, 在此条件下, 金银花药材、菊花药材、绿原酸特征斑点的 Rf 值适中, 和其它斑点分离最清晰, 阴性无干扰。
- [0189] 实验例 8 滴丸剂中甘草药材、甘草次酸的薄层色谱鉴别方法研究
- [0190] 为了突出甘草的特征, 选择了甘草次酸作为其特征成分斑点, 但是由于制剂中存在较多与甘草次酸结构相近或极性相似的成分, 例如金银花与菊花中的咖啡酸等成分。只有排除这些成分的干扰, 才能获得理想的色谱效果。薄层色谱法效果优劣的关键因素为展开条件, 特别是展开剂的组成。因此, 试验筛选了多种展开条件, 部分展开条件与结果如下:
- [0191] 滴丸剂中甘草次酸的薄层色谱鉴别方法研究
- [0192] 条件 结果
- [0193] 石油醚 (30 ~ 60°C) - 醋酸乙酯 = 85 : 15
- [0194] 分离不清晰
- [0195] 硅胶 H 薄层板
- [0196] 三氯甲烷 - 丙酮 - 冰醋酸 = 10 : 3 : 1 硅胶 GF254 薄层板 阴性有干扰
- [0197] 苯 - 醋酸乙酯 = 10 : 1 硅胶 G 薄层板 Rf 值偏低
- [0198] 三氯甲烷 - 乙醇 = 13 : 7 硅胶 H 薄层板 Rf 值偏高
- [0199] 甲苯 - 甲醇 - 冰醋酸 = 60 : 5 : 1 硅胶 GF254 薄层板 阴性有干扰
- [0200] 甲苯 - 甲醇 = 8 : 1 硅胶 GF254 薄层板 阴性有干扰
- [0201] 苯 - 醋酸乙酯 - 甲酸 = 13 : 8 : 1 硅胶 G 薄层板 分离不清晰

- [0202] 石油醚 (30 ~ 60℃) - 苯 - 醋酸乙酯 - 甲酸 = 9 : 13 : 8 : 1
- [0203] 分离清晰, Rf 值适中, 阴性无干扰
- [0204] 硅胶 G 薄层板
- [0205] 石油醚 (60 ~ 90℃) - 苯 - 醋酸乙酯 - 甲酸 = 11 : 17 : 6 : 0.2
- [0206] 分离清晰, Rf 值适中, 阴性无干扰
- [0207] 硅胶 GF254 薄层板
- [0208] 石油醚 (30 ~ 60℃) - 苯 - 醋酸乙酯 - 甲酸 = 10 : 15 : 7 : 0.5
- [0209] 分离最清晰, Rf 值适中, 阴性无干扰
- [0210] 硅胶 GF254 薄层板
- [0211] 经过筛选, 确定了最佳条件: 以硅胶 GF254 薄层板为固定相, 石油醚 (30 ~ 60℃) - 苯 - 醋酸乙酯 - 甲酸 = 10 : 15 : 7 : 0.5 为展开剂, 在此条件下, 甘草次酸特征斑点的 Rf 值适中, 和其它斑点分离最清晰, 阴性无干扰。
- [0212] 实验例 9 分散片剂中地黄药材、梓醇的薄层色谱鉴别方法研究:
- [0213] 为了突出地黄的特征, 选择了以梓醇作为其对照, 但是由于制剂中存在较多与梓醇结构相近或极性相似的成分, 例如甘草与麦冬中的皂苷类成分等。只有排除这些成分的干扰, 才能获得理想的色谱效果。薄层色谱法效果优劣的关键因素为展开条件, 特别是展开剂的组成。因此, 试验筛选了多种展开条件, 部分展开条件与结果如下:
- [0214] 分散片剂中梓醇的薄层色谱鉴别方法研究
- | [0215] 条件 | 结果 |
|--|----------------------|
| [0216] 正丁醇 - 醋酸乙酯 - 水 = 5 : 1 : 0.2 硅胶 H 薄层板 | 分离不清晰 |
| [0217] 三氯甲烷 - 丙酮 = 9 : 2 硅胶 H 薄层板 | 阴性有干扰 |
| [0218] 醋酸乙酯 - 丙酮 - 冰醋酸 = 10 : 1 : 1 硅胶 H 薄层板 | 阴性有干扰 |
| [0219] 正己烷 - 醋酸乙酯 = 4 : 1 硅胶 G 薄层板 | Rf 值偏低 |
| [0220] 三氯甲烷 - 甲醇 - 水 = 8 : 5 : 1 硅胶 G 薄层板 | Rf 值偏高 |
| [0221] 醋酸丁酯 - 甲酸 = 8 : 1 硅胶 G 薄层板 | 分离不清晰 |
| [0222] 三氯甲烷 - 甲醇 - 水 = 18 : 5 : 2 硅胶 G 薄层板 | 分离清晰, Rf 值适中, 阴性无干扰 |
| [0223] 二氯甲烷 - 甲醇 - 水 = 14 : 7 : 0.5 硅胶 G 薄层板 | 分离清晰, Rf 值适中, 阴性无干扰 |
| [0224] 二氯甲烷 - 甲醇 - 水 = 16 : 6 : 1 硅胶 G 薄层板 | 分离最清晰, Rf 值适中, 阴性无干扰 |
- [0225] 经过筛选, 确定了最佳条件: 以硅胶 G 薄层板为固定相, 二氯甲烷 - 甲醇 - 水 = 16 : 6 : 1 为展开剂, 在此条件下, 梓醇特征斑点的 Rf 值适中, 和其它斑点分离最清晰, 阴性无干扰。
- [0226] 实验例 10 滴丸剂中玄参药材、哈巴苷、哈巴俄苷的薄层色谱法鉴别
- [0227] 为了突出玄参的特征, 选择了以哈巴苷、哈巴俄苷作为其特征斑点, 但是由于制剂中存在较多与哈巴苷、哈巴俄苷结构相近或极性相似的成分, 例如甘草苷、麦冬皂苷 B、麦冬皂苷 D 等成分。只有排除这些成分的干扰, 才能获得理想的色谱效果。薄层色谱法效果优劣的关键因素为展开条件, 特别是展开剂的组成。因此, 试验筛选了多种展开条件, 部分展

开条件与结果如下：

- [0228] 滴丸剂中玄参药材、哈巴昔、哈巴俄昔的薄层色谱法鉴别
- [0229] 条件 结果
- [0230] 正丁醇 - 醋酸乙酯 - 水 = 10 : 2 : 1 硅胶 H 薄层板 分离不清晰
- [0231] 三氯甲烷 - 丙酮 = 9 : 2 硅胶 H 薄层板 Rf 值偏低
- [0232] 正己烷 - 醋酸乙酯 - 甲醇 = 4 : 1 : 2 硅胶 G 薄层板 Rf 值偏低
- [0233] 三氯甲烷 - 甲醇 - 水 = 10 : 5 : 0.2 硅胶 G 薄层板 Rf 值偏高
- [0234] 正丁醇 - 甲酸 = 9 : 1 硅胶 G 薄层板 阴性有干扰
- [0235] 正丁醇 - 甲酸 - 水 = 8 : 0.6 : 2.5 硅胶 G 薄层板 分离清晰, 阴性无干扰
- [0236] 正丁醇 - 甲酸 - 水 = 6 : 1 : 1.5 硅胶 G 薄层板 分离清晰, 阴性无干扰
- [0237] 正丁醇 - 甲酸 - 水 = 7 : 0.8 : 2 硅胶 G 薄层板 分离最清晰, 阴性无干扰
- [0238] 经过筛选, 确定了最佳条件: 以硅胶 G 薄层板为固定相, 正丁醇 - 甲酸 - 水 = 7 : 0.8 : 2 为展开剂, 在此条件下, 哈巴昔、哈巴俄昔特征斑点的 Rf 值适中, 和其它斑点分离最清晰, 阴性无干扰。

[0239] 实验例 11 滴丸剂中甘草酸的高效液相色谱法含量测定研究：

[0240] 1 仪器与试药

[0241] 1.1 主要仪器

- [0242] 高效液相色谱仪 Agilent 1100
- [0243] 电子分析天平 BP211D SARTORIUS
- [0244] 紫外 / 可见分光光度计 TU-1810SPC 北京普析通用仪器有限责任公司
- [0245] 超声波清洗仪 KQ250DB 昆山超声仪器有限公司

[0246] 1.2 试药

- [0247] 乙腈 色谱纯 迪马公司
- [0248] 醋酸铵 分析纯 汕头市西陇化工厂
- [0249] 冰醋酸 分析纯 上海化学试剂有限公司

[0250] 2 检测波长的选择精密称取甘草酸铵盐对照品适量, 加甲醇制成每 1ml 含 50 μ g 的溶液, 在 200 ~ 400nm 波长范围内扫描。结果表明, 甘草酸在 250nm 处有最大吸收, 因此选择 250nm 作为测定银菊清咽滴丸中甘草酸含量的检测波长。

[0251] 3 色谱条件

- [0252] 色谱柱: DIKMAD C₁₈ 250 × 4.6mm 5 μ m ;
- [0253] 流动相: 乙腈 - 0.02mol/L 醋酸铵溶液 (用冰醋酸调 pH 值 3.0) (35 : 65) ;
- [0254] 检测波长: 250nm ;
- [0255] 流速: 1.0ml/min ;
- [0256] 进样量: 10 μ l。

[0257] 试验选择了甘草酸作为其指标成分, 但是由于制剂中存在较多与甘草酸结构相近或极性相似的成分, 例如金银花与菊花中的咖啡酸、绿原酸, 玄参中的氨基酸等成分。只有排除这些成分的干扰, 才能获得理想的色谱效果。高效液相色谱法效果优劣的关键因素为洗脱条件, 特别是流动相的组成。因此, 试验筛选了多种流动相, 部分流动相与结果如下：

[0258] 色谱条件的考察

- [0259] 流动相条件 结果
- [0260] 乙腈 - 水 = 60 : 20 分离不完全
- [0261] 乙腈 -0.05mol/L 磷酸二氢钠 = 10 : 90 出峰时间较长
- [0262] 甲醇 - 水 = 30 : 70 分离不完全
- [0263] 乙腈 -0.05mol/L 醋酸铵溶液 = 30 : 70 保留时间稍长, 分离清晰, 阴性
- [0264] 无干扰
- [0265] 乙腈 -0.01mol/L 醋酸铵溶液 (用冰醋酸调 pH 值 3.0) 保留时间适中, 分离清晰, 阴性
- [0266] = 40 : 60 无干扰
- [0267] 乙腈 -0.02mol/L 醋酸铵溶液 (用冰醋酸调 pH 值 3.0) 保留时间适中, 分离最清晰, 阴性
- [0268] = 35 : 65 性无干扰
- [0269] 经过筛选, 确定了以十八烷基硅烷键合硅胶为固定相, 乙腈 -0.02mol/L 醋酸铵溶液 (用冰醋酸调 pH 值 3.0) (35 : 65) 为流动相, 在此条件下, 甘草酸保留时间适中, 峰行尖锐, 对称, 与相邻峰分离最清晰, 阴性无干扰。

[0270] 4 测定法

[0271] 对照品溶液的制备 取甘草酸单铵盐对照品适量, 精密称定, 加流动相制成每 1ml 含 0.16mg 的溶液, 即得。

[0272] 供试品溶液的制备取重量差异项下本品, 研细, 取约 2.5g, 精密称定, 置 100ml 具塞锥形瓶中, 精密加入流动相 25ml, 称定重量, 超声处理 (功率 250W, 频率 20kHz) 30 分钟, 取出, 放冷, 再称定重量, 用流动相补足减失的重量摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

[0273] 测定法分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ l, 注入液相色谱仪, 测定, 即得。

[0274] 5 线性关系的考察精密称取甘草酸铵盐对照品适量, 加流动相制成每 1ml 含 1.644mg (以甘草酸计) 的溶液, 从中精密量取 0.2ml、0.4ml、0.6ml、0.8ml、1.0ml, 分置 5ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 配制成 0.06576mg/ml、0.13152mg/ml、0.19728mg/ml、0.26304mg/ml、0.3288mg/ml 的对照品溶液, 分别从中精密吸取 10 μ l, 注入液相色谱仪, 照高效液相色谱法测定。以峰面积为横坐标, 甘草酸的量 (μ g) 为纵坐标做图, 绘制标准曲线。结果如下:

[0275] 甘草酸线性关系

[0276]

编号	峰面积	甘单酸量 (μ g)
1	501.51	0.6576
2	997.34	1.3152
3	1477.61	1.9728
4	1979.37	2.6304
5	2483.29	3.2880

[0277] 回归方程： $Y = 0.0013X + 0.0054$

[0278] 相关系数： $r = 0.9999$

[0279] 结果表明，甘草酸进样量在 $0.6576 \mu\text{g} \sim 3.288 \mu\text{g}$ 之间线性关系良好。

[0280] 经过计算，甘草酸标准曲线为一过原点的直线，因此选择外标一点法测定银菊清咽滴丸中甘草酸的含量。

[0281] 6 精密度试验精密吸取同一份对照品溶液 $10 \mu\text{l}$ ，注入液相色谱仪，记录峰面积，重复测定 5 次，考察对照品溶液精密度，测定结果如下：

[0282] 精密度试验

[0283]

试验次数	1	2	3	4	5	平均值	RSD(%)
峰面积	1239.59	1243.78	1229.72	1245.66	1237.06	1239.16	0.51

[0284] 结果表明，对照品溶液精密度良好。

[0285] 7 稳定性试验

[0286] 精密吸取同一份供试品 $10 \mu\text{l}$ ，注入液相色谱仪，分别在 0、2、4、8、24 小时进样测定，测定结果如下：

[0287] 供试品溶液稳定性试验结果

[0288]

时间 (h)	0	2	4	8	24	平均值	RSD(%)
峰面积	1374.83	1384.62	1385.97	1362.15	1379.47	1377.41	0.70

[0289] 结果表明，供试品溶液在 24 小时内稳定性良好。

[0290] 8 重复性试验 取同一批号的本品，研细，取约 2.5g(共 5 份)，精密称定，按按色谱条件与测定法进行操作。结果如下：

[0291] 重复性试验

[0292]

编号	1	2	3	4	5	平均值	RSD(%)
含量 (mg/粒)	0.1194	0.1177	0.1164	0.1185	0.1196	0.1183	1.10

[0293] 结果表明，重复性良好。

[0294] 9 加样回收率试验 取同一批号的本品，研细，取约 1.2g(共 6 份)，精密称定，分置 100ml 具塞锥形瓶中；精密量取甘草酸铵盐对照品(折合成甘草酸 $0.794\text{mg}/\text{ml}$) 3.0ml (共 6 份)，分置上述具塞锥形瓶中，加流动相至 25ml ，称定重量，超声处理(功率 250W ，频率 20kHz)，取出，放至室温，再称定重量，用流动相补足减失的重量，摇匀，滤过，精密吸取续滤液 $10 \mu\text{l}$ ，注入液相色谱仪，测定，即得。测定结果如下：

[0295] 甘草酸加样回收率试验

[0296]

编号	供试品称量 (g)	供试品中纯品量 (mg)	甘草酸加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)
1	1.23567	2.40066	2.382	4.7955	100.54
2	1.24053	2.41010	2.382	4.8186	101.11
3	1.17942	2.29138	2.382	4.6453	98.82
4	1.19031	2.31253	2.382	4.6840	99.56
5	1.20776	2.34644	2.382	4.7287	100.01
6	1.22037	2.37093	2.382	4.7492	99.84

[0297] 平均回收率 = 99.98%，RSD = 0.79%。

[0298] 10 样品含量测定 按按色谱条件与测定法进行操作，测定十批样品，结果如下：

[0299] 十批样品含量测定结果

[0300]

批号	甘草酸 (mg/粒)
1	0.1192
2	0.1736
3	0.1247
4	0.1493
5	0.1628
6	0.1064
7	0.1305
8	0.1155
9	0.1217
10	0.1178

[0301] 实验例 12 分散片剂中梓醇的高效液相色谱法含量测定研究：

[0302] 1 仪器与试药

[0303] 1.1 主要仪器

[0304] 高效液相色谱仪 Agilent 1100

[0305] 电子分析天平 BP211D SARTORIUS

[0306] 紫外/可见分光光度仪 TU-1810SPC 北京普析通用仪器有限责任公司

[0307] 超声波清洗仪 KQ250DB 昆山超声仪器有限公司

[0308] 1.2 试药

[0309] 乙腈 色谱纯 迪马公司

[0310] 醋酸铵 分析纯 汕头市西陇化工厂

[0311] 冰醋酸 分析纯 上海化学试剂有限公司

[0312] 2 检测波长的选择精密称取梓醇铵盐对照品适量，加流动相制成每 1ml 含 10 μg 的溶液，在 200 ~ 400nm 波长范围内扫描。结果表明，梓醇在 210nm 处有最大吸收，因此选择 210nm 作为测定银菊清咽滴丸中梓醇含量的检测波长。

[0313] 3 色谱条件

[0314] 色谱柱 :DIKMAD C₁₈ 250×4.6mm 5 μ m ;

[0315] 流动相 :乙腈 - 水 = 2 : 98

[0316] 检测波长 :210nm ;

[0317] 流速 :1.0ml/min ;

[0318] 进样量 :10 μ l。

[0319] 试验选择了梓醇作为其指标成分,但是由于制剂中存在较多与梓醇结构相近或极性相似的成分,例如甘草与麦冬中的皂苷类成分。只有排除这些成分的干扰,才能获得理想的色谱效果。高效液相色谱法效果优劣的关键因素为洗脱条件,特别是流动相的组成。因此,试验筛选了多种流动相,部分流动相与结果如下:

[0320] 色谱条件的考察

[0321] 流动相条件	结果
[0322] 乙腈 - 水 = 10 : 90	分离不完全
[0323] 甲醇 - 0.05mol/L 磷酸二氢钠 = 10 : 90	分离不完全
[0324] 甲醇 - 水 = 30 : 70	分离不完全
[0325] 甲醇 - 水 = 5 : 95	阴性有干扰
[0326] 乙腈 - 水 = 3 : 97	保留时间稍长,分离清晰,阴性无干扰
[0327] 乙腈 - 水 = 1 : 99	保留时间适中,分离清晰,阴性无干扰
[0328] 乙腈 - 水 = 2 : 98	保留时间适中,分离最清晰,阴性无干扰

[0329] 经过筛选,确定了以十八烷基硅烷键合硅胶为固定相,乙腈 - 水 = 2 : 98 为流动相,在此条件下,梓醇保留时间适中,峰行尖锐,对称,与相邻峰分离最清晰,阴性无干扰。

[0330] 4 测定法

[0331] 对照品溶液的制备 取梓醇对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1ml 含 10 μ g 的溶液,即得。

[0332] 供试品溶液的制备 取重量差异项下本品,研细,取约 0.2g,精密称定,置 100ml 具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25ml,称定重量,超声处理 15 分钟,取出,放冷,再称定重量,用流动相补足减失的重量摇匀,滤过,取续滤液,即得。

[0333] 测定法分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ l,注入液相色谱仪,测定,即得。

[0334] 5 线性关系的考察精密吸取不同浓度的梓醇对照品溶液 10 μ l,注入液相色谱仪,照高效液相色谱法测定。以峰面积为纵坐标,梓醇的量 (ng) 为横坐标做图,绘制标准曲线。结果如下:

[0335] 梓醇线性关系

[0336]

编号	峰面积	梓醇量 (ng)
1	481.678	53.52
2	720.721	80.28
3	970.089	107.04
4	1211.16	133.80
5	1442.78	160.56

[0337] 回归方程 : $y = 9.0159x + 0.2265$

[0338] 相关系数 : $r = 0.9999$

[0339] 结果表明,梓醇进样量在 53.52mg ~ 160.56ng 之间线性关系良好。

[0340] 经过计算,梓醇标准曲线为一过原点的直线,因此选择外标一点法测定银菊清咽分散片中梓醇的含量。

[0341] 6 精密度试验精密吸取同一份对照品溶液 10 μ l,注入液相色谱仪,记录峰面积,重复测定 5 次,考察对照品溶液精密度,测定结果如下:

[0342] 精密度试验

[0343]

试验次数	1	2	3	4	5	平均值	RSD(%)
峰面积	815.6	817.5	825.9	805.1	821.4	817.1	0.85

[0344] 结果表明,对照品溶液精密度良好。

[0345] 7 稳定性试验

[0346] 精密吸取同一份供试品 10 μ l,注入液相色谱仪,分别在 0、2、4、8、24 小时进样测定,测定结果如下:

[0347] 供试品溶液稳定性试验结果

[0348]

时间 (h)	0	2	4	8	24	平均值	RSD(%)
峰面积	856.4	847.6	865.9	870.2	854.1	858.84	0.95

[0349] 结果表明,供试品溶液在 24 小时内稳定性良好。

[0350] 8 重复性试验 取同一批号的本品,研细,取约 0.2g(共 5 份),精密称定,按正文供试品溶液制备和测定项下进行操作。结果如下:

[0351] 重复性试验

[0352]

编号	1	2	3	4	5	平均值	RSD(%)
含量 (mg/片)	0.214	0.225	0.217	0.223	0.219	0.220	1.81

[0353] 结果表明,重复性良好。

[0354] 9 加样回收率试验 取同一批号的本品,研细,取约 0.1g(共 6 份),精密称定,分

置具塞锥形瓶中；分别精密加入梓醇对照品溶液适量，使加入的梓醇与样品实际所含梓醇的量相当。精密加入甲醇 25ml，称定重量，超声处理，放冷，再称定重量，用甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，作为供试品溶液。依法测定，结果梓醇平均回收率 = 99.1%，RSD = 2.25%。

[0355] 结果表明，回收率良好。

[0356] 10 样品含量测定 按色谱条件和测定法项下操作，测定样品，结果如下：

[0357] 十批样品含量测定结果

[0358]

批号	梓醇 (mg/片)
1	0.220
2	0.215
3	0.238
4	0.195
5	0.218
6	0.254
7	0.257
8	0.241
9	0.231
10	0.239

[0359] 实验例 13 滴丸剂中绿原酸的高效液相色谱法含量测定研究：

[0360] 1 仪器与试药

[0361] 1.1 主要仪器

[0362] 高效液相色谱仪 Agilent 1100

[0363] 电子分析天平 BP211D SARTORIUS

[0364] 紫外 / 可见分光光度计 TU-1810SPC 北京普析通用仪器有限责任公司

[0365] 超声波清洗仪 KQ250DB 昆山超声仪器有限公司

[0366] 1.2 试药

[0367] 乙腈 色谱纯 迪马公司

[0368] 磷酸 分析纯 北京化工厂

[0369] 2 检测波长的选择精密称取绿原酸对照品适量，加 50% 甲醇制成每 1ml 含 50 μ g 的溶液，在 200 ~ 400nm 波长范围内扫描。结果表明，绿原酸在 327nm 处有最大吸收，因此选择 327nm 作为测定银菊清咽滴丸中绿原酸含量的检测波长。

[0370] 3 色谱条件

[0371] 色谱柱：DIKMAD C₁₈ 250 × 4.6mm 5 μ m；

[0372] 流动相：乙腈 - 0.4% 磷酸 = 12 : 88；

[0373] 检测波长：327nm；

[0374] 流速：1.0ml/min；

[0375] 进样量：10 μ l。

[0376] 试验选择了绿原酸作为其指标成分，但是由于制剂中存在较多与绿原酸结构相近

或极性相似的成分,例如甘草中的甘草酸等成分。只有排除这些成分的干扰,才能获得理想的色谱效果。高效液相色谱法效果优劣的关键因素为洗脱条件,特别是流动相的组成。因此,试验筛选了多种流动相,部分流动相与结果如下:

[0377]	色谱条件的考察	
[0378]	流动相条件	结果
[0379]	乙腈-水=60:20	分离不完全
[0380]	乙腈-0.05mol/L 磷酸二氢钠=20:90	分离不完全
[0381]	甲醇-0.1%磷酸=14:86	分离不完全,阴性有干扰
[0382]	甲醇-0.1%磷酸=12:88	阴性有干扰
[0383]	甲醇-水=10:90	分离不完全
[0384]	乙腈-0.1%磷酸=14:86	分离清晰,阴性无干扰
[0385]	乙腈-0.4%磷酸=10:90	分离清晰,阴性无干扰
[0386]	乙腈-0.4%磷酸=12:88	保留时间适中,分离最清晰,阴性无干扰

[0387] 经过筛选,确定了以十八烷基硅烷键合硅胶为固定相,乙腈-0.4%磷酸=12:88为流动相,在此条件下,绿原酸保留时间适中,峰行尖锐,对称,与相邻峰分离最清晰,阴性无干扰。

[0388] 4 测定法

[0389] 对照品溶液的制备取绿原酸对照品适量,精密称定,加50%甲醇制成每1ml含0.04mg的溶液,即得。

[0390] 供试品溶液的制备 取本品,研细,取约1g,精密称定,加水10ml超声10分钟,水液加稀盐酸使 $\text{pH} = 1 \sim 2$,用醋酸乙酯振摇提取4次(15ml、10ml、10ml、10ml),合并醋酸乙酯液,蒸干,残渣加50%甲醇使溶解并定容至10ml,作为供试品溶液。

[0391] 测定法分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 $10 \mu\text{l}$,注入液相色谱仪,测定,即得。

[0392] 5 线性关系的考察精密吸取不同浓度的绿原酸对照品溶液 $10 \mu\text{l}$,注入液相色谱仪,照高效液相色谱法测定。以绿原酸的量(μg)为横坐标,峰面积为纵坐标做图,绘制标准曲线。结果如下:

[0393] 绿原酸线性关系

[0394]

编号	绿原酸量 (μg)	峰面积
1	0.2460	249.7
2	0.3689	379.1
3	0.4919	503.8
4	0.6149	624.5
5	0.7379	749.7

[0395] 回归方程: $y = 1012.8x + 3.1759$

[0396] 相关系数: $r = 0.9999$

[0397] 结果表明,绿原酸进样量在 $0.2460 \mu\text{g} \sim 0.7379 \mu\text{g}$ 之间线性关系良好。

[0398] 经过计算,绿原酸标准曲线为一过原点的直线,因此选择外标一点法测定银菊清咽滴丸中绿原酸的含量。

[0399] 6 精密度试验精密吸取同一份对照品溶液 $10 \mu\text{l}$,注入液相色谱仪,记录峰面积,重复测定 5 次,考察对照品溶液精密度,测定结果如下:

[0400] 精密度试验

[0401]

试验次数	1	2	3	4	5	平均值	RSD(%)
峰面积	486.5	485.3	479.8	492.1	487.2	486.2	0.81

[0402] 结果表明,对照品溶液精密度良好。

[0403] 7 稳定性试验

[0404] 精密吸取同一份供试品 $10 \mu\text{l}$,注入液相色谱仪,分别在 0、2、4、8、24 小时进样测定,测定结果如下:

[0405] 供试品溶液稳定性试验结果

[0406]

时间 (h)	0	2	4	8	24	平均值	RSD(%)
峰面积	467.5	475.4	468.5	472.9	470.1	470.9	0.62

[0407] 结果表明,供试品溶液在 24 小时内稳定性良好。

[0408] 8 重复性试验 取同一批号的本品,研细,取约 1.0g(共 5 份),精密称定,按色谱条件与测定法进行操作。结果如下:

[0409] 重复性试验

[0410]

编号	1	2	3	4	5	平均值	RSD(%)
含量 (mg/粒)	0.0224	0.0216	0.0215	0.0221	0.0217	0.0219	1.55

[0411] 结果表明,重复性良好。

[0412] 9 加样回收率试验 取同一批号的本品,研细,取约 0.5g(共 6 份),精密称定,分置 100ml 具塞锥形瓶中;精密加入绿原酸对照品溶液,绿原酸加入量样品实际所含量相当,加水 10ml 超声 10 分钟,水液加稀盐酸使 $\text{pH} = 1 \sim 2$,用醋酸乙酯振摇提取 4 次 (15ml、10ml、10ml、10ml),合并醋酸乙酯液,蒸干,残渣加 50% 甲醇使溶解并定容至 10ml,作为供试品溶液。按色谱条件与测定法进行操作,结果:平均回收率 = 98.9%,RSD = 2.13%。

[0413] 10 样品含量测定 取样品十批,按按色谱条件与测定法进行操作,测定样品,结果如下:

[0414] 十批样品含量测定结果

[0415]

批号	绿原酸 (mg/粒)
1	0.0235
2	0.0247
3	0.0234
4	0.0246
5	0.0258
6	0.0268
7	0.0247
8	0.0258
9	0.0240
10	0.0235

[0416] 具体的实施方式

[0417] 本发明的实施例 1:地黄 36g、麦冬 36g、玄参 24g、菊花 6g、金银花 4.2g、胖大海 1.8g、甘草 12g

[0418] 取金银花、菊花、胖大海用热浸法煮沸后保持 80℃,温浸三次,每次 30 分钟,水用量分别为 8、6、6 倍,滤过,合并滤液;其余地黄等四味药材,加水煎煮三次,每次 1 小时,水用量均为 8 倍,滤过,与上述滤液合并,浓缩至相对密度 50℃时为 1.20 的清膏,加 2 倍量 75%乙醇,拌匀,静置 24 小时,取上清液,在 80℃以下减压浓缩至相对密度 50℃为 1.20 的清膏,干燥,粉碎,按浸膏粉:基质=1:2 加入聚乙二醇 4000,混合均匀,加热至 85℃,待全部熔融后,滴入 10℃的二甲基硅油中,滴距 5cm,滴速 30 滴/分,将形成的滴丸沥尽并擦除二甲硅油,制丸,即得滴丸剂,口服,一日三次,60mg/粒,25 粒/次。

[0419] 本发明的实施例 2:地黄 36g、麦冬 36g、玄参 24g、菊花 6g、金银花 4.2g、胖大海 1.8g、甘草 12g

[0420] 取金银花、菊花、胖大海用热浸法煮沸后保持 80℃,温浸三次,每次 30 分钟,水用量分别为 8、6、6 倍,滤过,合并滤液;其余地黄等四味药材,加水煎煮三次,每次 1 小时,水用量均为 8 倍,滤过,与上述滤液合并,浓缩至相对密度 50℃时为 1.20 的清膏,加 2 倍量 75%乙醇,拌匀,静置 24 小时,取上清液,在 80℃以下减压浓缩至相对密度 50℃为 1.20 的清膏,干燥,粉碎,按浸膏粉:基质=1:2 加入聚乙二醇 4000,混合均匀,加热至 85℃,待全部熔融后,滴入 20℃的二甲基硅油中,滴距 6cm,滴速 30 滴/分,将形成的滴丸沥尽并擦除二甲硅油,制丸,即得滴丸剂。

[0421] 本发明的实施例 3:地黄 36g、麦冬 36g、玄参 24g、菊花 6g、金银花 4.2g、胖大海 1.8g、甘草 12g

[0422] 取金银花、菊花、胖大海用热浸法煮沸后保持 80℃,温浸三次,每次 30 分钟,水用量分别为 8、6、6 倍,滤过,合并滤液;其余地黄等四味药材,加水煎煮三次,每次 1 小时,水用量均为 8 倍,滤过,与上述滤液合并,浓缩至相对密度 50℃时为 1.20 的清膏,加 2 倍量 75%乙醇,拌匀,静置 24 小时,取上清液,在 80℃以下减压浓缩至相对密度 50℃为 1.20 的清膏,干燥,粉碎,加入 5%交联聚乙烯吡咯烷酮、10%微晶纤维素,混匀,加入浓度为 25%乙醇,过 24 目筛制粒,60℃干燥 2 小时后过 24 目筛整粒,再与 0.2%硬脂酸镁混匀,压片,即得分

散片。

[0423] 本发明的实施例 4：地黄 36g、麦冬 36g、玄参 24g、菊花 6g、金银花 4.2g、胖大海 1.8g、甘草 12g

[0424] 取金银花、菊花、胖大海用热浸法煮沸后保持 80℃，温浸三次，每次 30 分钟，水用量分别为 8、6、6 倍，滤过，合并滤液；其余地黄等四味药材，加水煎煮三次，每次 1 小时，水用量均为 8 倍，滤过，与上述滤液合并，浓缩至相对密度 50℃时为 1.20 的清膏，加 2 倍量 75% 乙醇，拌匀，静置 24 小时，取上清液，在 80℃以下减压浓缩，干燥，粉碎，按浸膏粉：基质 = 1：1 加入聚乙二醇 4000，混合均匀，加热至 80℃，待全部熔融后，滴入 10℃的二甲基硅油中，滴距 4cm，滴速 20 滴 / 分，将形成的滴丸沥尽并擦除二甲基硅油，制丸，即得滴丸剂。

[0425] 本发明的实施例 5：地黄 36g、麦冬 36g、玄参 24g、菊花 6g、金银花 4.2g、胖大海 1.8g、甘草 12g

[0426] 取金银花、菊花、胖大海用热浸法煮沸后保持 80℃，温浸三次，每次 30 分钟，水用量分别为 8、6、6 倍，滤过，合并滤液；其余地黄等四味药材，加水煎煮三次，每次 1 小时，水用量均为 8 倍，滤过，与上述滤液合并，浓缩至相对密度 50℃时为 1.20 的清膏，加 2 倍量 75% 乙醇，拌匀，静置 24 小时，取上清液，在 80℃以下减压浓缩，干燥，粉碎，按浸膏粉：基质 = 1：3 加入聚乙二醇 4000，混合均匀，加热至 90℃，待全部熔融后，滴入 20℃的二甲基硅油中，滴距 8cm，滴速 40 滴 / 分，将形成的滴丸沥尽并擦除二甲基硅油，制丸，即得滴丸剂。

[0427] 本发明的实施例 6：地黄 36g、麦冬 36g、玄参 24g、菊花 6g、金银花 4.2g、胖大海 1.8g、甘草 12g

[0428] 取金银花、菊花、胖大海用热浸法煮沸后保持 80℃，温浸三次，每次 30 分钟，水用量分别为 8、6、6 倍，滤过，合并滤液；其余地黄等四味药材，加水煎煮三次，每次 1 小时，水用量均为 8 倍，滤过，与上述滤液合并，浓缩至相对密度 50℃时为 1.20 的清膏，加 2 倍量 75% 乙醇，拌匀，静置 24 小时，取上清液，在 80℃以下减压浓缩至相对密度 50℃为 1.20 的清膏，干燥，粉碎，加入与主药的比例为 1：1.8 的枸橼酸，混合均匀，加入无水乙醇作润湿剂制软材，过 24 目筛制得湿颗粒，随即投入转速为 80 ~ 100r/min 的半自动包衣制粒机中，制备 8 ~ 10 小时，并置于 40℃烘箱中干燥后取出，包衣：流化风量：120 ~ 125m³ · h⁻¹；进风温度 50℃、物料温度 30℃、雾化压力 0.2Mpa、喷嘴直径 1.2mm、喷液速率 8 ~ 10g · min⁻¹，出风温度 30℃，采用欧巴代 2 包衣液，即得微丸制剂。

[0429] 实施例 7 滴丸剂中麦冬药材的薄层色谱法鉴别

[0430] 取本品粉末 2g，加甲醇 100ml，超声处理 30 分钟，滤过，滤液蒸干，残渣加水 15ml 使溶解，加盐酸 4ml，加热回流 1 小时，放冷，用醋酸乙酯振摇提取 2 次，每次 20ml，合并醋酸乙酯液，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 1ml 使溶解，作为供试品溶液；另取麦冬对照药材 1g，加水 30ml，加热至沸并保持微沸 30 分钟，放冷，滤过，滤液加盐酸 4ml，加热回流 1 小时，放冷，用醋酸乙酯振摇提取 2 次，每次 20ml，合并醋酸乙酯液，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 1ml 使溶解，制成对照药材溶液；照薄层色谱法试验，吸取上述两种溶液 5μl，分别点于同一硅胶 GF254 薄层板上，以甲苯 - 甲醇 - 冰醋酸 = 80：5：0.1 为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外灯 254nm 下检视；供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点。

[0431] 实施例 8 分散片剂中麦冬药材的薄层色谱法鉴别

[0432] 取本品粉末 1g,加甲醇 100ml,超声处理 30 分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加水 15ml 使溶解,加盐酸 4ml,加热回流 1 小时,放冷,用醋酸乙酯振摇提取 2 次,每次 20ml,合并醋酸乙酯液,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1ml 使溶解,作为供试品溶液;另取麦冬对照药材 1g,加水 30ml,加热至沸并保持微沸 30 分钟,放冷,滤过,滤液加硫酸 2ml,加热回流 1 小时,放冷,用醋酸乙酯振摇提取 2 次,每次 20ml,合并醋酸乙酯液,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1ml 使溶解,制成对照药材溶液;照薄层色谱法试验,吸取上述两种溶液 5 μ l,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上,以甲苯-甲醇-冰醋酸=70:6:0.05 为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯下检视;供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

[0433] 实施例 9 微丸剂中麦冬药材的薄层色谱法鉴别

[0434] 取本品粉末 2g,加甲醇 100ml,超声处理 30 分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加水 15ml 使溶解,加盐酸 4ml,加热回流 1 小时,放冷,用三氯甲烷振摇提取 2 次,每次 20ml,合并三氯甲烷液,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇 1ml 使溶解,作为供试品溶液;另取麦冬对照药材 1g,加水 30ml,加热至沸并保持微沸 30 分钟,放冷,滤过,滤液加盐酸 4ml,加热回流 1 小时,放冷,用醋酸乙酯振摇提取 2 次,每次 20ml,合并醋酸乙酯液,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1ml 使溶解,制成对照药材溶液;照薄层色谱法试验,吸取上述两种溶液 5 μ l,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上,以甲苯-甲醇-冰醋酸=90:4:0.2 为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯下检视;供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

[0435] 实施例 10 分散片剂中金银花药材、菊花药材、绿原酸的薄层色谱法鉴别

[0436] 取本品粉末 2g,研细,加甲醇 50ml,超声使溶散,加热回流 30 分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20ml 使溶解,滤过,滤液加稀硫酸 1ml,用三氯甲烷振摇提取 4 次,每次 20ml,合并三氯甲烷液,蒸干,残渣加甲醇 5ml 使溶解,作为供试品溶液;另取金银花对照药材 0.2g、菊花对照药材 1g,分别加甲醇 20ml 和 40ml,超声处理 30 分钟,滤过,滤液蒸干,残渣分别加水 20ml 使溶解,滤过,滤液加稀硫酸 1ml,用三氯甲烷振摇提取 4 次,每次 20ml,合并三氯甲烷,蒸干,残渣加甲醇 5ml 使溶解,分别制成金银花对照药材溶液和菊花对照药材溶液;再取绿原酸对照品,加甲醇制成每 1ml 含 0.3mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液、对照药材溶液及供试品溶液各 5 μ l,分别点于同一高效硅胶 H 薄层板上,以醋酸丁酯-甲酸-水=6:2:3 的上层液为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯 254nm 下检视;供试品色谱中,分别在对照药材和对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。

[0437] 实施例 11 微囊剂中绿原酸的薄层色谱法鉴别

[0438] 取本品粉末 1g,研细,加甲醇 30ml,超声使溶散,加热回流 60 分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20ml 使溶解,滤过,滤液加稀盐酸 1ml,用三氯甲烷振摇提取 4 次,每次 20ml,合并三氯甲烷液,蒸干,残渣加甲醇 5ml 使溶解,作为供试品溶液;取绿原酸对照品,加甲醇制成每 1ml 含 0.5mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液及供试品溶液各 3 μ l,分别点于同一高效硅胶 G 薄层板上,以醋酸丁酯-甲酸-水=8:3:2 的上层液为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯 365nm 下检视;供试品色谱中,分别在对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。

[0439] 实施例 12 滴丸剂中金银花药材、菊花药材、绿原酸的薄层色谱法鉴别

[0440] 取本品粉末 2g,研细,加甲醇 50ml,超声使溶散,加热回流 30 分钟,滤过,滤液蒸

干,残渣加水 20ml 使溶解,滤过,滤液加稀盐酸 1ml,用醋酸乙酯振摇提取 4 次,每次 20ml,合并醋酸乙酯液,蒸干,残渣加甲醇 5ml 使溶解,作为供试品溶液;另取金银花对照药材 0.2g、菊花对照药材 1g,分别加甲醇 20ml 和 40ml,超声处理 30 分钟,滤过,滤液蒸干,残渣分别加水 20ml 使溶解,滤过,滤液加稀盐酸 1ml,用醋酸乙酯振摇提取 4 次,每次 20ml,合并醋酸乙酯液,蒸干,残渣加甲醇 5ml 使溶解,分别制成金银花对照药材溶液和菊花对照药材溶液;再取绿原酸对照品,加甲醇制成每 1ml 含 0.5mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液、对照药材溶液各 $3\mu\text{l}$,供试品溶液 $5\mu\text{l}$,分别点于同一高效硅胶 H 薄层板上,以醋酸丁酯-甲酸-水=7:2.5:2.5 的上层液为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯 365nm 下检视;供试品色谱中,分别在对照药材和对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。

[0441] 实施例 13 分散片剂中甘草次酸的薄层色谱法鉴别

[0442] 取本品粉末 2g,加甲醇 100ml,超声处理 30 分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加水 15ml 使溶解,加盐酸 4ml,加热回流 1 小时,放冷,用醋酸乙酯振摇提取 2 次,每次 20ml,合并醋酸乙酯液,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1ml 使溶解,作为供试品溶液;取甘草次酸对照品,加氯仿制成每 1ml 含 1mg 的溶液,作为对照品溶液;照薄层色谱法试验,分别吸取上述两种溶液各 $3\mu\text{l}$,点于同一硅胶 GF254 薄层板上,以石油醚(30~60℃)-苯-醋酸乙酯-甲酸=10:15:7:0.5 为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯 254nm 下检视;供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

[0443] 实施例 14 分散片剂中甘草次酸的薄层色谱法鉴别

[0444] 取本品粉末 2g,加甲醇 100ml,超声处理 30 分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加水 15ml 使溶解,加盐酸 4ml,加热回流 1 小时,放冷,用醋酸乙酯振摇提取 2 次,每次 20ml,合并醋酸乙酯液,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1ml 使溶解,作为供试品溶液;取甘草次酸对照品,加醋酸乙酯制成每 1ml 含 0.5mg 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 $3\mu\text{l}$,分别点于同一硅胶 GF254 薄层板上,以石油醚(60~90℃)-苯-醋酸乙酯-甲酸=9:17:8:0.2 为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯 254nm 下检视;供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

[0445] 实施例 15 微丸剂中甘草次酸、甘草药材的薄层色谱法鉴别

[0446] 取本品粉末 1g,加甲醇 30ml,超声处理 15 分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加水 15ml 使溶解,加硫酸 2ml,加热回流 1 小时,放冷,用三氯甲烷振摇提取 2 次,每次 20ml,合并三氯甲烷液,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1ml 使溶解,作为供试品溶液;取甘草次酸对照品,加醋酸乙酯制成每 1ml 含 0.5mg 的溶液,作为对照品溶液;取甘草药材,参照供试品溶液制法,制成对照药材溶液;照薄层色谱法试验,吸取上述供试品溶液、对照品溶液、对照药材溶液各 $3\mu\text{l}$,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90℃)-苯-醋酸乙酯-甲酸=11:17:6:1 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,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

[0447] 实施例 16 滴丸剂中梓醇的薄层色谱法鉴别

[0448] 取本品粉末 1g,加甲醇 50ml,超声处理 30 分钟,滤过,滤液浓缩,作为供试品溶液;取梓醇对照品,加甲醇制成每 1ml 含 1mg 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 $3\mu\text{l}$,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水=14:6:1

为展开剂,展开,取出,晾干,喷以茴香醛试液,于 105℃加热至斑点清晰;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。

[0449] 实施例 17 微丸剂中地黄药材、梓醇的薄层色谱法鉴别

[0450] 取本品粉末 3g,加乙醇超声提取,提取液浓缩至 1ml,作为供试品溶液;取梓醇对照品,加乙醇制成每 ml 含 0.5mg 的对照品溶液;取地黄药材 1g,同法制成对照药材溶液;照薄层色谱法试验,吸取上述供试品溶液、对照品溶液、对照药材溶液各 3 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以二氯甲烷-甲醇-水=16:6:1 为展开剂,展开,取出,晾干,喷以茴香醛试液,于 105℃加热至斑点清晰;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。

[0451] 实施例 18 分散片剂中地黄药材、梓醇的薄层色谱法鉴别

[0452] 取本品粉末 3g,加甲醇超声提取,提取液浓缩至 1ml,作为供试品溶液;取梓醇对照品,加甲醇制成每 ml 含 0.5mg 的对照品溶液;取地黄药材 1g,同法制成对照药材溶液;照薄层色谱法试验,吸取上述供试品溶液、对照品溶液、对照药材溶液各 3 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水=14:7:2 为展开剂,展开,取出,晾干,喷以茴香醛试液,加热至斑点清晰;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。

[0453] 实施例 19 颗粒剂中梓醇的薄层色谱法鉴别

[0454] 取本品粉末 2g,加乙醇超声提取,提取液浓缩至 1ml,作为供试品溶液;取梓醇对照品,加乙醇制成每 ml 含 0.5mg 的对照品溶液;照薄层色谱法试验,分别吸取上述两种溶液适量,点于同一硅胶 G 薄层板上,以二氯甲烷-甲醇-水=18:5:0.5 为展开剂,展开,取出,晾干,喷以茴香醛试液,于 105℃加热至斑点清晰;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。

[0455] 实施例 20 滴丸剂中甘草酸的高效液相色谱法含量测定

[0456] 取本品粉末 2.5g,精密称定,精密加入流动相 25ml,超声提取,放冷后补足损失的溶剂,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液;另取甘草酸单铵盐对照品,加流动相制成每 ml 含 0.16mg 的对照品溶液;照高效液相色谱法试验,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈-0.02mol/L 醋酸铵溶液(用冰醋酸调至 pH 值至 3.0)=35:65 为流动相,检测波长为 250nm;分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ l,注入液相色谱仪,测定,即得;以外标一点法计算,本品每日常剂量含甘草以甘草酸计,不得少于 6.0mg。

[0457] 实施例 21 分散片剂中甘草酸的高效液相色谱法含量测定

[0458] 取本品粉末 3.0g,精密称定,精密加入甲醇 30ml,超声提取,放冷后补足损失的溶剂,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液;另取甘草酸铵对照品,加流动相制成每 ml 含 0.20mg 的对照品溶液;照高效液相色谱法试验,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈-0.05mol/L 醋酸铵溶液=30:70 为流动相,检测波长为 240nm;分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5 μ l,注入液相色谱仪,测定,即得;以标准曲线法计算,本品每日常剂量含甘草以甘草酸计,不得少于 3.0mg。

[0459] 实施例 22 滴丸剂中甘草酸的高效液相色谱法含量测定

[0460] 取本品粉末 2.0g,精密称定,精密加入流动相 50ml,超声提取,放冷后补足损失的溶剂,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液;另取甘草酸单铵盐对照品,加甲醇制成每 ml

含 0.20mg 的对照品溶液；照高效液相色谱法试验，以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，乙腈-0.01mol/L 醋酸铵溶液（用冰醋酸调至 pH 值至 3.0）= 40 : 60 为流动相，检测波长为 260nm；分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ l，注入液相色谱仪，测定，即得；以外标一点法计算，本品每日用剂量含甘草以甘草酸计，不得少于 6.0mg。

[0461] 实施例 23 分散片剂中梓醇的高效液相色谱法含量测定

[0462] 取本品粉末适量 1.0g，精密称定，精密加入甲醇 50ml，超声提取，放冷后补足损失的溶剂，摇匀，滤过，作为供试品溶液；取梓醇对照品，加甲醇制成每 ml 含 10 μ g 的对照品溶液；采用液相色谱法，色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，乙腈-水 = 2 : 98 为流动相，检测波长为 210nm；分别吸取上述供试溶液与对照溶液各 5 μ l，注入液相色谱仪，以外标一点法进行计算，本品每日用剂量含地黄以梓醇计，不得少于 2.0mg。

[0463] 实施例 24 滴丸剂中梓醇的高效液相色谱法含量测定

[0464] 取本品粉末适量 1.0g，精密称定，精密加入流动相 20ml，超声提取，放冷后补足损失的溶剂，摇匀，滤过，作为供试品溶液；取梓醇对照品，加甲醇制成每 ml 含 5 μ g 的对照品溶液；采用液相色谱法，色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，乙腈-水 = 1 : 99 为流动相，检测波长为 200nm；分别吸取上述供试溶液与对照溶液各 5 μ l，注入液相色谱仪，以外标一点法进行计算，本品每日用剂量含地黄以梓醇计，不得少于 1.0mg。

[0465] 实施例 25 微丸剂中梓醇的高效液相色谱法含量测定

[0466] 取本品粉末适量 1.0g，精密称定，精密加入甲醇 50ml，超声提取，放冷后补足损失的溶剂，摇匀，滤过，作为供试品溶液；取梓醇对照品，加甲醇制成每 ml 含 10 μ g 的对照品溶液；采用液相色谱法，色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，乙腈-水 = 3 : 97 为流动相，检测波长为 220nm；分别吸取上述供试溶液与对照溶液各 5 μ l，注入液相色谱仪，以外标一点法进行计算，本品每日用剂量含地黄以梓醇计，不得少于 2.0mg。

[0467] 实施例 26 滴丸剂中绿原酸的高效液相色谱法含量测定

[0468] 取本品，研细，取约 1g，精密称定，加水 10ml 超声 10 分钟，水液加稀盐酸使 pH = 1 ~ 2，用醋酸乙酯振摇提取 4 次（15ml、10ml、10ml、10ml），合并醋酸乙酯液，蒸干，残渣加 50% 甲醇使溶解并定容至 10ml，作为供试品溶液；精密称取绿原酸对照品适量，加 50% 甲醇制成每 ml 含 50 μ g 的对照品溶液；采用液相色谱法，色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，乙腈-0.4% 磷酸 = 12 : 88 为流动相，检测波长为 327nm；分别吸取上述供试溶液与对照溶液各 10 μ l，注入液相色谱仪，以外标一点法进行计算，本品每日用剂量含绿原酸不得少于 1.2mg。

[0469] 实施例 27 分散片剂中绿原酸的高效液相色谱法含量测定

[0470] 取本品，研细，取约 1g，精密称定，加水 10ml 超声 10 分钟，水液加稀盐酸使 pH = 1 ~ 2，用醋酸乙酯振摇提取 4 次（15ml、15ml、10ml、10ml），合并醋酸乙酯液，蒸干，残渣加 50% 甲醇使溶解并定容至 10ml，作为供试品溶液；精密称取绿原酸对照品适量，加 50% 甲醇制成每 ml 含 30 μ g 的对照品溶液；采用液相色谱法，色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，乙腈-0.4% 磷酸 = 14 : 86 为流动相，检测波长为 329nm；分别吸取上述供试溶液与对照溶液各 5 μ l，注入液相色谱仪，以标准曲线法进行计算，本品每日用剂量含绿原酸不得少于 1.0mg。

[0471] 实施例 28 微丸剂中绿原酸的高效液相色谱法含量测定

[0472] 取本品,研细,取约 2g,精密称定,加水 20ml 超声 10 分钟,水液加稀盐酸使 pH = 1 ~ 2,用醋酸乙酯振摇提取 4 次 (20ml、15ml、10ml、10ml),合并醋酸乙酯液,蒸干,残渣加 50% 甲醇使溶解并定容至 10ml,作为供试品溶液;精密称取绿原酸对照品适量,加 50% 甲醇制成每 1ml 含 50 μ g 的对照品溶液;采用液相色谱法,色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈 - 0.1% 磷酸 = 10 : 90 为流动相,检测波长为 325nm;分别吸取上述供试溶液与对照溶液各 5 μ l,注入液相色谱仪,以外标一点法进行计算,本品每日用剂量含绿原酸不得少于 0.6mg。

[0473] 实施例 29 滴丸剂中玄参药材、哈巴昔、哈巴俄昔的薄层色谱法鉴别

[0474] 取本品粉末 2g,加甲醇 30ml 超声提取,提取液浓缩至 1ml,作为供试品溶液;取玄参对照药材 0.5g,同法制成对照药材溶液;取哈巴昔、哈巴俄昔对照品中的一种或两种,加甲醇制成每 ml 含 1mg 的对照品溶液;照薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液、对照药材溶液、供试品溶液各 5 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正丁醇 - 甲酸 - 水 = 7 : 0.8 : 2 为展开剂,用展开剂预饱和 15 分钟,展开,取出,晾干,喷以香草醛硫酸试液,加热至斑点清晰;供试品色谱中,在与对照色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

[0475] 实施例 30 分散片剂中玄参药材、哈巴昔、哈巴俄昔的薄层色谱法鉴别

[0476] 取本品粉末 3g,加甲醇 30ml 超声提取,提取液浓缩至 1ml,作为供试品溶液;取玄参对照药材 0.5g,同法制成对照药材溶液;取哈巴昔、哈巴俄昔对照品中的一种或两种,加甲醇制成每 ml 含 1mg 的对照品溶液;照薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液、对照药材溶液、供试品溶液各 5 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正丁醇 - 甲酸 - 水 = 6 : 1 : 2.5 为展开剂,用展开剂预饱和 15 分钟,展开,取出,晾干,喷以香草醛硫酸试液,加热至斑点清晰;供试品色谱中,在与对照色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

[0477] 实施例 31 微丸剂中哈巴昔、哈巴俄昔的薄层色谱法鉴别

[0478] 取本品粉末 3g,加甲醇 30ml 超声提取,提取液浓缩至 1ml,作为供试品溶液;取哈巴昔、哈巴俄昔对照品中的一种或两种,加甲醇制成每 ml 含 1mg 的对照品溶液;照薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液、对照药材溶液、供试品溶液各 3 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正丁醇 - 甲酸 - 水 = 8 : 0.6 : 1.5 为展开剂,用展开剂预饱和 15 分钟,展开,取出,晾干,喷以香草醛硫酸试液,加热至斑点清晰;供试品色谱中,在与对照色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。