



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1876039 B

(45) 授权公告日 2010. 11. 17

(21) 申请号 200610200400. 2

A61P 11/00(2006. 01)

(22) 申请日 2006. 04. 26

G01N 30/90(2006. 01)

G01N 33/15(2006. 01)

(66) 本国优先权数据

200510049767. 4 2005. 05. 09 CN

(56) 对比文件

国家药典委员会. 中国药典一部

2000 年版. 国家药典委员会, 2000, 321.

(73) 专利权人 贵阳云岩西创药物科技开发有限公司

地址 550001 贵州省贵阳市延安东路 3 号智诚大厦 A-12 楼

审查员 王国臻

(72) 发明人 周霞

(74) 专利代理机构 贵阳中新专利商标事务所
52100

代理人 郭防

(51) Int. Cl.

A61K 36/718(2006. 01)

A61K 9/00(2006. 01)

A61K 9/16(2006. 01)

A61K 9/20(2006. 01)

权利要求书 3 页 说明书 37 页

(54) 发明名称

治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂的检测方法

(57) 摘要

本发明是一种治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂及制法和质控方法,它是用黄连、大黄、黄芩与辅料制作成的药物制剂;产品具有清热泻火解毒、化瘀凉血、止血之功效,用于治疗急慢性上呼吸道感染、过敏性鼻炎、便秘和肠炎、痈肿疮毒、口腔溃疡、牙龈肿痛、水火烫伤、急性黄疸性肝炎、痔疮出血、高脂血症所致的高血压、及辅助治疗慢性肾脏病等;利用本发明提供的制备方法比较经济、合理,能够解决现有生产存在的缺点,本发明提供的质量控制方法能保证制备的制剂科学、有效。

1. 治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂的检测方法,所述制剂是用黄芩 2425g、黄连 1600g、大黄 4850g 制作成的,检测方法包括含量测定和鉴别,其特征在于:(1) 所述药物组合物的鉴别方法:

a、药物制剂中黄连、小檗碱、药根碱、黄连碱和巴马亭的薄层色谱鉴别方法:

取待测药物组合物适量,加醋酸乙酯或乙醇或甲醇或正丁醇提取,滤过,作为供试品溶液;另取黄连、小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭中的一种或几种制备对照溶液;黄连对照药材溶液的制备:取黄连对照药材适量,加醋酸乙酯或乙醇或甲醇或正丁醇提取,滤过,作为对照药材溶液;对照品溶液的制备:取盐酸小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭中的一种或几种对照品;分别加甲醇或乙醇制成每 1ml 含 0.5mg 的溶液,作为对照品溶液;采用中国药典附录公开的薄层色谱法试验,吸取上述供试品溶液和对照品溶液各 1~30 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板或硅胶 H 薄层板或硅胶 GF₂₅₄ 薄层板,以苯或甲苯或二甲苯-甲酸乙酯或醋酸乙酯或醋酸丁酯-甲醇或乙醇-异丙醇或丁酮-水或浓氨试液 1~15:0.5~10:0.2~8:0.2~5:0.1~3 或醋酸乙酯或甲酸乙酯-丁酮或异丙醇-甲酸或乙酸-水或浓氨试液 2~30:1~25:0.2~5:0.2~5 或正丁醇-醋酸或甲酸-水或浓氨试液 1~25:0.1~5:0.1~5 为展开剂,展开或置氨蒸汽预饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,置紫外灯 365nm 或 254nm 检视或喷以 2~20% 变色酸-浓硫酸溶液或 2~20% 磷钼酸乙醇溶液或茴香醛硫酸溶液,80°C~160°C 烘至斑点显色清晰或喷以碘化铋钾试液,供试品色谱中,在与对照药材色谱或者对照品色谱相应的位置上,应显相同颜色的斑点;

b、药物制剂中大黄、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素和大黄酚的薄层色谱鉴别方法:

取待测药物组合物适量,加甲醇或乙醇和盐酸适量提取,提取液作为供试品溶液或取待测药物组合物适量,加水溶解后再加盐酸适量后回流提取,立即冷却,用乙醚或三氯甲烷或石油醚提取,提取液挥干,残渣用三氯甲烷溶解,作为供试品溶液;另取大黄对照药材、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素或 / 和大黄酚中制备对照溶液;大黄对照药材溶液的制备:取大黄对照药材适量,加甲醇或乙醇和盐酸适量提取,提取液作为对照药材溶液或取大黄对照药材适量,加醋酸乙酯或乙醇或甲醇或正丁醇提取,滤过,滤液蒸干,残渣加水溶解,再加盐酸适量后回流提取,立即冷却,用乙醚或三氯甲烷或石油醚提取,提取液挥干,残渣用三氯甲烷溶解,作为对照药材溶液;对照品溶液的制备:取大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素或 / 和大黄酚对照品;分别加甲醇或乙醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液,作为对照品溶液;采用中国药典附录公开的薄层色谱法试验,吸取上述溶液各 1~30 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板或硅胶 H 薄层板或硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上,以 30~60°C 石油醚或 60~90°C 石油醚或乙醚或三氯甲烷-甲酸乙酯或醋酸乙酯或醋酸丁酯-甲酸或冰醋酸 1~60:1~20:0.1~5 的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯 365nm 或 254nm 下或氨蒸汽中熏后日光下检视,供试品色谱中,在与对照药材色谱、对照品色谱相应的位置上,应显相同颜色斑点;

c、药物制剂中黄芩或 / 和黄芩苷的薄层色谱鉴别方法:

取待测药物组合物适量,加甲醇或乙醇和盐酸适量提取,提取液作为供试品溶液;另取黄芩对照药材或 / 和黄芩苷制备对照溶液;黄芩对照药材溶液的制备:取黄芩对照药材适

量, 甲醇或乙醇和盐酸适量提取, 提取液作为对照药材溶液; 对照品溶液的制备: 取黄芩苷对照品; 分别加甲醇或乙醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液, 作为对照品溶液; 采用中国药典附录公开的薄层色谱法试验, 吸取上述溶液各 1 ~ 30 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板或硅胶 H 薄层板或硅胶 GF₂₅₄ 薄层板或含 1% ~ 8% 醋酸钠的羧甲基纤维素钠溶液的硅胶 G 薄层板上, 以甲酸乙酯或醋酸乙酯或醋酸丁酯 - 甲酸或冰醋酸 - 水 1 ~ 30 : 1 ~ 15 : 0.1 ~ 10 或甲酸乙酯或醋酸乙酯 - 丁酮 - 甲酸或冰醋酸 - 水 1 ~ 30 : 1 ~ 15 : : 0.1 ~ 5 : 0.1 ~ 5 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯 365nm 或 254nm 下检视或喷以 0.2 ~ 10% 三氯化铁乙醇或甲醇溶液, 供试品色谱中, 在与对照药材色谱、对照品色谱相应的位置上, 应显相同颜色斑点;

(2) 所述药物组合物含量的测试方法:

药物制剂中黄芩苷的含量测定方法:

取待测药物组合物适量, 加甲醇超声处理, 定容至合适浓度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液; 以黄芩苷对照品的甲醇溶液为对照, 采用液相色谱法, 色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶或八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 甲醇 - 水 0.02mol/L 并用磷酸调节 pH2.7 的磷酸二氢钠溶液为流动相, 检测波长为 275nm; 以外标一点法或标准曲线法进行计算, 各制剂以相当于每日用成品量为单位量, 每单位量含的限度不得少于 15mg;

(3) 所述药物组合物中小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚、黄芩苷的溶出度测试方法:

取重量差异项下本品, 照溶出度测定法, 以脱气处理的水或稀盐酸、缓冲液、人工胃液、人工肠液为溶出介质, 转速为每分钟 20 ~ 100 转, 依法操作, 经 20 ~ 45 分钟时, 取溶液 1 ~ 20ml, 立即用微孔滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液; 按含量测定项下的色谱条件, 精密吸取上述溶液 5 ~ 10 μ l, 注入液相色谱仪, 照高效液相色谱法测定, 计算每粒的溶出量, 结果与相同成分的含量测定项下结果比较, 溶出度应不少于 50%。

2. 按照权利要求 1 所述的治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂的检测方法, 其特征在于: 所述药物组合物的鉴别方法是:

a、药物制剂中黄连、小檗碱、药根碱、黄连碱或 / 和巴马亭的薄层色谱鉴别方法:

取待测药物组合物适量, 加甲醇提取, 滤过, 作为供试品溶液; 另取黄连、小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭中的一种或几种制备对照溶液; 黄连对照药材溶液的制备: 取黄连对照药材适量, 加甲醇提取, 滤过, 作为对照药材溶液; 对照品溶液的制备: 取盐酸小檗碱、药根碱、黄连碱或 / 和巴马亭对照品; 分别加甲醇制成每 1ml 含 0.5mg 的溶液, 作为对照品溶液; 采用中国药典附录公开的薄层色谱法试验, 吸取上述供试品溶液和对照品溶液各 2 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以苯 - 醋酸乙酯 - 甲醇 - 异丙醇 - 浓氨试液 4 : 3 : 2 : 1.5 : 0.5 为展开剂, 置氨蒸汽预饱和的展开缸内, 展开, 取出, 晾干, 置紫外灯 365nm 检视, 供试品色谱中, 在与对照药材色谱或者对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点;

b、药物制剂中大黄、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素和大黄酚的薄层色谱鉴别方法:

取待测药物组合物适量, 加甲醇和盐酸适量提取, 提取液作为供试品溶液; 另取大黄对照药材、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素和大黄酚中的一种或几种制备对照溶液;

大黄对照药材溶液的制备：取大黄对照药材适量，加甲醇和盐酸适量提取，提取液作为对照药材溶液；对照品溶液的制备：取大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素和大黄酚对照品；分别加甲醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液，作为对照品溶液；采用中国药典附录公开的薄层色谱法试验，吸取上述溶液各 2 ~ 5 μ l，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以 60 ~ 90 $^{\circ}$ C 的石油醚 - 甲酸乙酯 - 甲酸 15 : 5 : 1 的上层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，置氨蒸汽中熏后日光下检视，供试品色谱中，在与对照药材色谱、对照品色谱相应的位置上，显相同颜色斑点；

c、药物制剂中黄芩或 / 和黄芩苷的薄层色谱鉴别方法：

取待测药物组合物适量，加甲醇和盐酸适量提取，提取液作为供试品溶液；另取黄芩对照药材、黄芩苷制备对照溶液；黄芩对照药材溶液的制备：取黄芩对照药材适量，甲醇和盐酸适量提取，提取液作为对照药材溶液；对照品溶液的制备：取黄芩苷对照品；分别加甲醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液，作为对照品溶液；采用中国药典附录公开的薄层色谱法试验，吸取上述溶液各 5 μ l，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以醋酸丁酯 - 甲酸 - 水 7 : 4 : 3 的上层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 2% 三氯化铁乙醇溶液，供试品色谱中，在与对照药材色谱、对照品色谱相应的位置上，显相同颜色斑点。

3. 按照权利要求 1 所述的治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂检测方法，其特征在于：所述药物组合物含量的测试方法是：

药物制剂中黄芩苷的液相色谱含量测定方法：

取待测药物组合物适量，加甲醇超声处理，定容至合适浓度，摇匀，滤过，取续滤液作为供试品溶液；以黄芩苷对照品的甲醇溶液为对照，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，甲醇 - 0.02mol/L 并用磷酸调节 pH2.7 的磷酸二氢钠溶液 = 42 : 58 为流动相，检测波长为 275nm；以外标一点法进行计算，各制剂以相当于每日用成品量为单位量，每单位量含的限度不得少于 30mg。

4. 按照权利要求 1 所述的治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂检测方法，其特征在于：所述药物组合物中小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚、黄芩苷的溶出度测试方法为：

取重量差异项下本品 4 粒，照溶出度测定法，以脱气处理的水 500ml 为溶出介质，转速为每分钟 50 转，依法操作，经 30 分钟时，取溶液 5ml，立即用微孔滤膜滤过，取续滤液作为供试品溶液；按含量测定项下的色谱条件，精密吸取上述溶液 10 μ l，注入液相色谱仪，照高效液相色谱法测定，计算每粒的溶出量，结果与相同成分的含量测定项下结果比较，应不少于 70%。

治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂的检测方法

[0001] 技术领域：本发明是一种治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂的检测方法，属于中药的技术领域。

[0002] 技术背景：一清制剂是由黄连、黄芩、大黄等中药组成的中药复方制剂，具有清热泻火解毒、化瘀凉血、止血之功效，临床上报道可用于治疗急慢性上呼吸道感染、治疗过敏性鼻炎、治疗便秘和肠炎、治疗痈肿疮毒、口腔溃疡、牙龈肿痛、水火烫伤、治疗急性黄疸性肝炎、治疗痔疮出血、治疗高脂血症所致的高血压、及辅助治疗慢性肾脏病等。许多发明人及药品企业对其做了大量的研究，也提供了一些治疗的产品；如：已上市的一清颗粒和一清胶囊，但是这些产品都存在一些问题，例如：由于该方药物味道极苦，颗粒剂加入了大量蔗糖矫味，不适合糖尿病患者长期服用；一清胶囊，崩解慢，生物利用度低、药物稳定性不理想。黄芩苷是该制剂的主要成分，现代药理研究表明黄芩苷具有较强的抗菌、消炎等作用。但黄芩苷水中溶解性小，吸收差，且性质不稳定，易氧化变质，因此使其制剂生物利用度差是现有产品的主要问题。而本申请人在对中国专利公报公开的专利申请号为“03124462.9”，名称为“一清丸及制备方法”、专利申请号为“02113597.5”，名称为“一种治疗便秘的中药胶囊的改进制备工艺”、专利申请号为“200410038829.7”，名称为“一种中药软胶囊制剂的制备方法和质量控制方法”的专利申请进行研究过程中发现，丸剂保质期较短，不利于药物的贮存与运输；软胶囊比普通胶囊的崩解度稍高，而且由于胶皮老化问题，经常出现崩解延迟现象，所以主要有效成分之一的黄芩苷在人体的吸收仍不是很理想；改进的胶囊技术通过喷雾干燥来改善崩解度，但是没有喷雾干燥的工艺参数、具体工艺，根本无法实施。另外，现有的质量控制方法重复性、稳定性不好、指标单一，不能完全控制该制剂的质量，不能使消费者全面认识产品质地。鉴于这些情况，需要寻找一种治疗效果理想，工艺先进，生物利用度高的新的药物制剂以及这种制剂的制备方法、质量控制方法。

[0003] 发明内容：本发明的目的在于：提供一种治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂及制法和质控方法；制备成分散片、滴丸制剂；本发明提供的分散片，采用微丸制粒技术，产品崩解性好，提高了有效成分的生物利用度，特别适合于老年人及吞服药片或胶囊有困难的患者服用；本发明提供的滴丸，提高药物生物利用度，增加药物溶解性、抗湿性；并且工艺成熟稳定，利于普及推广。本发明的质量控制方法，向相关的生产、检测机构提供了检测的指标、检测的手段、技术方法等等；能够更好的控制该制剂的质量，保证用药的安全性，更利于指导生产，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。

[0004] 本发明是这样构成的：它是用黄芩 2425g 加水煎煮二次，第一次加 10 倍水煎煮 1.5 小时，第二次加 8 倍水煎煮 1 小时，黄连 1600g 和大黄 4850g 分别加水煎煮二次，第一次加 8 倍水煎煮 1.5 小时，第二次加 6 倍水煎煮 1 小时，滤液减压浓缩至 70℃ 相对密度为 1.25 的清膏，减压干燥成浸膏粉，将三种浸膏粉混匀制作成的注射液、粉针、冻干粉针、凝胶剂、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、浸膏剂或膜剂。准确的说：所述制剂为滴丸剂、分散片剂或微丸剂。

[0005] 所述制剂中的滴丸剂这样制备：它是用黄芩 2425g 加水煎煮二次，第一次加 10 倍

水煎煮 1.5 小时,第二次加 8 倍水煎煮 1 小时,1600g 黄连和 4850g 大黄分别加水煎煮二次,第一次加 8 倍水煎煮 1.5 小时,第二次加 6 倍水煎煮 1 小时,滤液减压浓缩至 70℃ 相对密度为 1.25 的清膏,减压干燥成浸膏粉,将三种浸膏粉混匀,以聚乙二醇 4000 为基质,药物与基质的配比为 1 : 1.5,混匀,滴入冷却剂二甲硅油中,滴头口径为 3.5/4.5、滴距为 4 ~ 6cm、滴速 30 ~ 40d/min、料温 70 ~ 80℃、冷却液的温度为 10 ~ 20℃,即得。

[0006] 分散片的制备是:取黄芩加水煎煮二次,第一次加 10 倍水煎煮 1.5 小时,第二次加 8 倍水煎煮 1 小时,黄连和大黄分别加水煎煮二次,第一次加 8 倍水煎煮 1.5 小时,第二次加 6 倍水煎煮 1 小时,滤液减压浓缩至 70℃ 相对密度为 1.25 的清膏,减压干燥成浸膏粉,将三种浸膏粉混匀,加入按药物:辅料比例为 2 : 1 的低取代羟丙纤维素、按药物:辅料比例为 1 : 1 的羧甲基淀粉钠,混合均匀,过 5 号筛,用 5% PVP 醇溶液作润湿剂制软材,过 2 号筛制粒,60℃ 烘干,2 号筛整粒,同时加入按药物:辅料比例为 1 : 2 的低取代羟丙纤维素混匀后压片,即得分散片。

[0007] 所述的治疗上呼吸道感染等疾病的一清药物制剂的质量控制方法,它包括含量测定、鉴别等,该方法包括以下全部或部分内容:

[0008] (1) 黄连药材、大黄药材、黄芩药材、小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚、黄芩苷中全部或部分成分的鉴别测试方法;

[0009] (2) 小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚、黄芩苷中全部或部分成分的含量测试方法;

[0010] (3) 小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚、黄芩苷中全部或部分成分的溶出度测试方法。

[0011] 所述药物组合物的鉴别方法包括以下中的一种或几种:

[0012] a、一清药物制剂中黄连、小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭中一种或几种的薄层色谱鉴别方法:

[0013] 取待测药物组合物适量,加醋酸乙酯或乙醇或甲醇或正丁醇提取,滤过,作为供试品溶液;另取黄连、小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭中的一种或几种制备对照溶液;黄连对照药材溶液的制备:取黄连对照药材适量,加醋酸乙酯或乙醇或甲醇或正丁醇提取,滤过,作为对照药材溶液;对照品溶液的制备:取盐酸小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭中的一种或几种对照品;分别加甲醇或乙醇制成每 1ml 含 0.5mg 的溶液,作为对照品溶液;采用中国药典附录公开的薄层色谱法试验,吸取上述供试品溶液和对照品溶液各 1 ~ 30 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板或硅胶 H 薄层板或硅胶 GF₂₅₄ 薄层板,以苯或甲苯或二甲苯 - 甲酸乙酯或醋酸乙酯或醋酸丁酯 - 甲醇或乙醇 - 异丙醇或丁酮 - 水或浓氨试液 1 ~ 15 : 0.5 ~ 10 : 0.2 ~ 8 : 0.2 ~ 5 : 0.1 ~ 3 或醋酸乙酯或甲酸乙酯 - 丁酮或异丙醇 - 甲酸或乙酸 - 水或浓氨试液 2 ~ 30 : 1 ~ 25 : 0.2 ~ 5 : 0.2 ~ 5 或正丁醇 - 醋酸或甲酸 - 水或浓氨试液 1 ~ 25 : 0.1 ~ 5 : 0.1 ~ 5 为展开剂,展开或置氨蒸汽预饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,置紫外灯 365nm 或 254nm 检视或喷以 2 ~ 20% 变色酸 - 浓硫酸溶液或 2 ~ 20% 磷钼酸乙醇溶液或茴香醛硫酸溶液,80℃ ~ 160℃ 烘至斑点显色清晰或喷以碘化铋钾试液,供试品色谱中,在与对照药材色谱或者对照品色谱相应的位置上,应显相同颜色的斑点;

[0014] b、一清药物制剂中小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭中一种或几种的液相色谱鉴别

方法：

[0015] 取待测药物组合物适量，加甲醇或乙醇或流动相或水溶解或稀释至合适浓度，摇匀，滤过，取续滤液作为供试品溶液；以盐酸小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭中的一种或几种对照品的甲醇或乙醇溶液为对照，采用液相色谱法，色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶或八烷基硅烷键合硅胶或二烷基硅烷键合硅胶为填充剂，甲醇或乙腈-水或 0.05%~10% 冰醋酸水溶液或 0.05%~10% 甲酸水溶液或 0.01%~5% 磷酸水溶液或 0.005mol/L~2mol/L 磷酸二氢钠溶液或 0.005mol/L~2mol/L 磷酸二氢钾或 0.005mol/L~2mol/L 磷酸氢二钠溶液或 0.005mol/L~2mol/L 磷酸氢二钾溶液 5%~95%：95%~5% 为流动相，检测波长为 200~410nm；供试品色谱中，应具有与对照品色谱有保留时间一致的色谱峰；

[0016] c、一清药物制剂中大黄、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚中一种或几种的薄层色谱鉴别方法：

[0017] 取待测药物组合物适量，加甲醇或乙醇和盐酸适量提取，提取液作为供试品溶液或取待测药物组合物适量，加水溶解后再加盐酸适量后回流提取，立即冷却，用乙醚或三氯甲烷或石油醚提取，提取液挥干，残渣用三氯甲烷溶解，作为供试品溶液；另取大黄对照药材、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚中的一种或几种制备对照溶液；大黄对照药材溶液的制备：取大黄对照药材适量，加甲醇或乙醇和盐酸适量提取，提取液作为对照药材溶液或取大黄对照药材适量，加醋酸乙酯或乙醇或甲醇或正丁醇提取，滤过，滤液蒸干，残渣加水溶解，再加盐酸适量后回流提取，立即冷却，用乙醚或三氯甲烷或石油醚提取，提取液挥干，残渣用三氯甲烷溶解，作为对照药材溶液；对照品溶液的制备：取大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚中的一种或几种对照品；分别加甲醇或乙醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液，作为对照品溶液；采用中国药典附录公开的薄层色谱法试验，吸取上述溶液各 1~30 μ l，分别点于同一硅胶 G 薄层板或硅胶 H 薄层板或硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上，以 30~60 $^{\circ}$ C 石油醚或 60~90 $^{\circ}$ C 石油醚或乙醚或三氯甲烷-甲酸乙酯或醋酸乙酯或醋酸丁酯-甲酸或冰醋酸 1~60：1~20：0.1~5 的上层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外光灯 365nm 或 254nm 下或氨蒸汽中熏后日光下检视，供试品色谱中，在与对照药材色谱、对照品色谱相应的位置上，应显相同颜色斑点；

[0018] d、一清药物制剂中大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚中一种或几种的液相色谱鉴别方法：

[0019] 取待测药物组合物适量，加甲醇和盐酸适量提取，提取液作为供试品溶液或取待测药物组合物适量，加 3%~35% 盐酸适量溶解后加三氯甲烷或二氯甲烷适量，回流提取，放冷，分取三氯甲烷或二氯甲烷层，挥干溶剂，残渣用甲醇或乙醇溶解，作为供试品溶液；以大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚中的一种或几种对照品的甲醇或乙醇溶液为对照，采用液相色谱法，色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶或八烷基硅烷键合硅胶或二烷基硅烷键合硅胶为填充剂，甲醇或乙腈-水或 0.05%~5% 冰醋酸水溶液或 0.05%~5% 甲酸水溶液或 0.02%~5% 磷酸水溶液 5%~95%：95%~5% 为流动相，检测波长为 190~410nm，柱温在 20~60 $^{\circ}$ C 范围内；供试品色谱中，应具有与对照品色谱中的主峰有保留时间一致的色谱峰；

[0020] e、一清药物制剂中黄芩、黄芩苷中一种或几种的薄层色谱鉴别方法：

[0021] 取待测药物组合物适量，加甲醇或乙醇和盐酸适量提取，提取液作为供试品溶液；

另取黄芩对照药材、黄芩苷中的一种或几种制备对照溶液；黄芩对照药材溶液的制备：取黄芩对照药材适量，甲醇或乙醇和盐酸适量提取，提取液作为对照药材溶液；对照品溶液的制备：取黄芩苷对照品；分别加甲醇或乙醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液，作为对照品溶液；采用中国药典附录公开的薄层色谱法试验，吸取上述溶液各 1 ~ 30 μ l，分别点于同一硅胶 G 薄层板或硅胶 H 薄层板或硅胶 GF₂₅₄ 薄层板或含 1% ~ 8% 醋酸钠的羧甲基纤维素钠溶液的硅胶 G 薄层板上，以甲酸乙酯或醋酸乙酯或醋酸丁酯 - 甲酸或冰醋酸水 1 ~ 30 : 1 ~ 15 : 0.1 ~ 10 或甲酸乙酯或醋酸乙酯 - 丁酮 - 甲酸或冰醋酸 - 水 1 ~ 30 : 1 ~ 15 : 0.1 ~ 5 : 0.1 ~ 5 为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外光灯 365nm 或 254nm 下检视或喷以 0.2 ~ 10% 三氯化铁乙醇或甲醇溶液，供试品色谱中，在与对照药材色谱、对照品色谱相应的位置上，应显相同颜色斑点；

[0022] f、一清药物制剂中黄芩苷的液相色谱鉴别方法：

[0023] 取待测药物组合物适量，加甲醇或乙醇或流动相或水溶解或稀释至合适浓度，摇匀，滤过，取续滤液作为供试品溶液；以黄芩苷对照品的甲醇或乙醇溶液为对照，采用液相色谱法，色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶或八烷基硅烷键合硅胶或二烷基硅烷键合硅胶为填充剂，甲醇或乙腈 - 水或 0.05% ~ 10% 冰醋酸水溶液或 0.05% ~ 10% 甲酸水溶液或 0.01% ~ 5% 磷酸水溶液或 0.005mol/L ~ 2mol/L 并用磷酸调节 pH2 ~ 5 的磷酸二氢钠溶液，或 0.005mol/L ~ 2mol/L 并用磷酸调节 pH2 ~ 5 的磷酸二氢钾溶液或 0.005mol/L ~ 2mol/L 并用磷酸调节 pH2 ~ 5 的磷酸氢二钠溶液或 0.005mol/L ~ 2mol/L 并用磷酸调节 pH2 ~ 5 的磷酸氢二钾溶液 5% ~ 95% : 95% ~ 5% 为流动相，检测波长为 200 ~ 410nm；供试品色谱中，应具有与对照品色谱有保留时间一致的色谱峰。

[0024] 准确的说：所述药物组合物的鉴别方法包括以下中的一种或几种：

[0025] a、一清药物制剂中黄连、小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭中一种或几种的薄层色谱鉴别方法：

[0026] 取待测药物组合物适量，加甲醇提取，滤过，作为供试品溶液；另取黄连、小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭中的一种或几种制备对照溶液；黄连对照药材溶液的制备：取黄连对照药材适量，加甲醇提取，滤过，作为对照药材溶液；对照品溶液的制备：取盐酸小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭中的一种或几种对照品；分别加甲醇制成每 1ml 含 0.5mg 的溶液，作为对照品溶液；采用中国药典附录公开的薄层色谱法试验，吸取上述供试品溶液和对照品溶液各 2 μ l，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以苯 - 醋酸乙酯 - 甲醇 - 异丙醇 - 浓氨试液 4 : 3 : 2 : 1.5 : 0.5 为展开剂，置氨蒸汽预饱和的展开缸内，展开，取出，晾干，置紫外光灯 365nm 检视，供试品色谱中，在与对照药材色谱或者对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点；

[0027] b、一清药物制剂中小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭中一种或几种的液相色谱鉴别方法：

[0028] 取待测药物组合物适量，加甲醇稀释至合适浓度，摇匀，滤过，取续滤液作为供试品溶液；以盐酸小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭中的一种或几种对照品的甲醇溶液为对照，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 - 0.05mol/L 磷酸二氢钠溶液 30% : 70% 为流动相，检测波长为 266nm；供试品色谱中，具与对照品色谱有保留时间一致的色谱峰；

[0029] c、一清药物制剂中大黄、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚中一种或几种的薄层色谱鉴别方法：

[0030] 取待测药物组合物适量，加甲醇和盐酸适量提取，提取液作为供试品溶液；另取大黄对照药材、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚中的一种或几种制备对照溶液；大黄对照药材溶液的制备：取大黄对照药材适量，加甲醇和盐酸适量提取，提取液作为对照药材溶液；对照品溶液的制备：取大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚中的一种或几种对照品；分别加甲醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液，作为对照品溶液；采用中国药典附录公开的薄层色谱法试验，吸取上述溶液各 2 ~ 5 μ l，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以 60 ~ 90 $^{\circ}$ C 的石油醚 - 甲酸乙酯 - 甲酸 15 : 5 : 1 的上层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，置氨蒸汽中熏后日光下检视，供试品色谱中，在与对照药材色谱、对照品色谱相应的位置上，显相同颜色斑点；

[0031] d、一清药物制剂中大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚中一种或几种的液相色谱鉴别方法：

[0032] 取待测药物组合物适量，加 8% 盐酸适量溶解后加三氯甲烷适量，回流提取 1 小时，放冷，分取三氯甲烷层，挥干溶剂，残渣用甲醇溶解，作为供试品溶液；以大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚中的一种或几种对照品的甲醇溶液为对照，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，甲醇 - 0.1% 磷酸水溶液 85% : 15% 为流动相，检测波长为 254nm，柱温 30 $^{\circ}$ C；供试品色谱中，具与对照品色谱中的主峰有保留时间一致的色谱峰；

[0033] e、一清药物制剂中黄芩、黄芩苷中一种或几种的薄层色谱鉴别方法：

[0034] 取待测药物组合物适量，加甲醇和盐酸适量提取，提取液作为供试品溶液；另取黄芩对照药材、黄芩苷中的一种或几种制备对照溶液；黄芩对照药材溶液的制备：取黄芩对照药材适量，甲醇和盐酸适量提取，提取液作为对照药材溶液；对照品溶液的制备：取黄芩苷对照品；分别加甲醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液，作为对照品溶液；采用中国药典附录公开的薄层色谱法试验，吸取上述溶液各 5 μ l，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以醋酸丁酯 - 甲酸 - 水 7 : 4 : 3 的上层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 2% 三氯化铁乙醇溶液，供试品色谱中，在与对照药材色谱、对照品色谱相应的位置上，显相同颜色斑点；

[0035] f、一清药物制剂中黄芩苷的液相色谱鉴别方法：

[0036] 取待测药物组合物适量，加甲醇稀释至合适浓度，摇匀，滤过，取续滤液作为供试品溶液；以黄芩苷对照品的甲醇溶液为对照，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，甲醇 - 0.02mol/L 并用磷酸调节 pH2.7 的磷酸二氢钠溶液 = 42 : 58 为流动相，检测波长为 275nm；供试品色谱中，具与对照品色谱有保留时间一致的色谱峰。

[0037] 所述药物组合物含量的测试方法应包括以下中的一种或几种：

[0038] a、一清药物制剂中小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭中一种或几种的含量测定方法：

[0039] 取待测药物组合物适量，加甲醇或乙醇或流动相或水溶解或稀释至合适浓度，摇匀，滤过，取续滤液作为供试品溶液；以盐酸小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭中的一种或几种对照品的甲醇或乙醇溶液为对照，采用液相色谱法，色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶或八烷基硅烷键合硅胶或二烷基硅烷键合硅胶为填充剂，甲醇或乙腈 - 水或 0.05% ~ 10%

冰醋酸水溶液或 0.05%~10% 甲酸水溶液或 0.01%~5% 磷酸水溶液或 0.005mol/L~2mol/L 磷酸二氢钠溶液或 0.005mol/L~2mol/L 磷酸二氢钾或 0.005mol/L~2mol/L 磷酸氢二钠溶液或 0.005mol/L~2mol/L 磷酸氢二钾溶液 5%~95% : 95%~5% 为流动相, 检测波长为 200~410nm ; 以外标一点法或标准曲线法进行计算, 各制剂以相当于每日用成品量为单位量, 含量限度应为以下一项或几项 :

[0040] (1) 每单位量含小檗碱的限度不得少于 5mg ;

[0041] (2) 每单位量含黄连碱的限度不得少于 2.5mg ;

[0042] (3) 每单位量含巴马亭的限度不得少于 2mg ;

[0043] (4) 每单位量含药根碱的限度不得少于 1.25mg ;

[0044] (5) 每单位量含小檗碱、黄连碱、巴马亭、药根碱的总和的限度不得少于 10.75mg ;

[0045] b、一清药物制剂中大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚中一种或几种的含量测定方法 :

[0046] 取待测药物组合物适量, 加 8% 盐酸适量溶解后加三氯甲烷适量, 回流提取 1 小时, 放冷, 分取三氯甲烷层, 挥干溶剂, 残渣用甲醇溶解, 作为供试品溶液 ; 以大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚中的一种或几种对照品的甲醇溶液为对照, 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, 甲醇-0.1% 磷酸水溶液 85% : 15% 为流动相, 检测波长为 254nm, 柱温 30℃ ; 供试品色谱中, 具与对照品色谱中的主峰有保留时间一致的色谱峰 ; 以外标一点法或标准曲线法进行计算, 各制剂以相当于每日用成品量为单位量, 含量限度应为以下一项或几项 :

[0047] (1) 每单位量含大黄酸的限度不得少于 1.65mg ;

[0048] (2) 每单位量含大黄素的限度不得少于 0.65mg ;

[0049] (3) 每单位量含大黄素甲醚的限度不得少于 0.65mg ;

[0050] (4) 每单位量含芦荟大黄素的限度不得少于 1mg ;

[0051] (5) 每单位量含大黄酚的限度不得少于 1mg ;

[0052] (6) 每单位量含大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚的限度不得少于 4.95mg ;

[0053] c、一清药物制剂中黄芩苷的含量测定方法 :

[0054] 取待测药物组合物适量, 加甲醇超声处理, 定容至合适浓度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液 ; 以黄芩苷对照品的甲醇溶液为对照, 采用液相色谱法, 色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶或八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 甲醇-水 0.02mol/L 并用磷酸调节 pH2.7 的磷酸二氢钠溶液为流动相, 检测波长为 275nm ; 以外标一点法或标准曲线法进行计算, 各制剂以相当于每日用成品量为单位量, 每单位量含的限度不得少于 15mg。

[0055] 准确的说 : 所述药物组合物含量的测试方法应包括以下中的一种或几种 :

[0056] a、一清药物制剂中小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭中一种或几种的液相色谱含量测定方法 :

[0057] 取待测药物组合物适量, 加甲醇稀释至合适浓度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液 ; 以盐酸小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭中的一种或几种对照品的甲醇溶液为对照, 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-0.05mol/L 磷酸二氢钠溶液 30% : 70% 为流动相, 检测波长为 266nm ; 以外标一点法进行计算, 各制剂以相当于每

日用成品量为单位量,含量限度应为以下一项或几项:

[0058] (1) 每单位量含小檗碱的限度不得少于 10mg;

[0059] (2) 每单位量含黄连碱的限度不得少于 5mg;

[0060] (3) 每单位量含巴马亭的限度不得少于 4mg;

[0061] (4) 每单位量含药根碱的限度不得少于 2.5mg;

[0062] (5) 每单位量含小檗碱、黄连碱、巴马亭、药根碱的总和的限度不得少于 21.5mg;

[0063] b、一清药物制剂中大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚中一种或几种的液相色谱含量测定方法:

[0064] 取待测药物组合物适量,加 8% 盐酸适量溶解后加三氯甲烷适量,回流提取 1 小时,放冷,分取三氯甲烷层,挥干溶剂,残渣用甲醇溶解,作为供试品溶液;以大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚中的一种或几种对照品的甲醇溶液为对照,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,甲醇-0.1% 磷酸水溶液 85%:15% 为流动相,检测波长为 254nm,柱温 30℃;以外标一点法进行计算,各制剂以相当于每日用成品量为单位量,含量限度应为以下一项或几项:

[0065] (1) 每单位量含大黄酸的限度不得少于 3.3mg;

[0066] (2) 每单位量含大黄素的限度不得少于 1.3mg;

[0067] (3) 每单位量含大黄素甲醚的限度不得少于 1.3mg;

[0068] (4) 每单位量含芦荟大黄素的限度不得少于 2mg;

[0069] (5) 每单位量含大黄酚的限度不得少于 2mg;

[0070] (6) 每单位量含大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚的限度不得少于 9.9mg;

[0071] c、一清药物制剂中黄芩苷的液相色谱含量测定方法:

[0072] 取待测药物组合物适量,加甲醇超声处理,定容至合适浓度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液;以黄芩苷对照品的甲醇溶液为对照,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,甲醇-0.02mol/L 并用磷酸调节 pH2.7 的磷酸二氢钠溶液=42:58 为流动相,检测波长为 275nm;以外标一点法进行计算,各制剂以相当于每日用成品量为单位量,每单位量含的限度不得少于 30mg。

[0073] 所述药物组合物中小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚、黄芩苷的溶出度测试方法应为:

[0074] 取重量差异项下本品,照溶出度测定法,以脱气处理的水或稀盐酸、缓冲液、人工胃液、人工肠液为溶出介质,转速为每分钟 20~100 转,依法操作,经 20~45 分钟时,取溶液 1~20ml,立即用微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液;按含量测定项下的色谱条件,精密吸取上述溶液 5~10 μ l,注入液相色谱仪,照高效液相色谱法测定,计算每粒的溶出量,结果与相同成分的含量测定项下结果比较,溶出度应不少于 50%。

[0075] 准确的说:所述药物组合物中小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚、黄芩苷的溶出度测试方法应为:

[0076] 取重量差异项下本品 4 粒,照溶出度测定法,以脱气处理的水 500ml 为溶出介质,转速为每分钟 50 转,依法操作,经 30 分钟时,取溶液 5ml,立即用微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液;按含量测定项下的色谱条件,精密吸取上述溶液 10 μ l,注入液相色谱仪,

照高效液相色谱法测定,计算每粒的溶出量,结果与相同成分的含量测定项下结果比较,应不少于 70%。

[0077] 与现有技术相比,本发明克服了现有产品存在的问题,提供的分散片,崩解性好,溶出度佳;而提供的滴丸,可以掩盖药物的不良口味、气味,并且起到增加稳定性、改善生物利用度的作用;得到的制剂产品具有清热泻火解毒、化瘀凉血、止血之功效,用于治疗急慢性上呼吸道感染、治疗过敏性鼻炎、治疗便秘和肠炎、治疗痈肿疮毒、口腔溃疡、牙龈肿痛、水火烫伤、治疗急性黄疸性肝炎、治疗痔疮出血、治疗高脂血症所致的高血压、及辅助治疗慢性肾脏病等。利用本发明提供的制备方法能够解决现有生产存在的缺点,比较经济、合理的制备需要的制剂;利用本发明提供的质量控制方法能保证制备的制剂科学、有效;质量控制方法重复性、稳定性好、指标比较完善,可以完全的控制该制剂的质量;本发明达到了发明的目的。

[0078] 在研制滴丸的过程中发现,本产品的圆整度差和吸湿性较强。经研究发现,由于冷凝柱上部温度较低,会使液滴中带入的一些气泡在溢出时产生空洞或溢出气泡时所带药液尚未缩回而形成尾巴,导致圆整度差,本申请人通过对其基质、冷却剂、滴头口径等工艺进行详细的考察,使得产品的成型性、圆整度得到了改善。

[0079] 在研制分散片的过程中发现,分散均匀性是最大的难点。本申请人采用微丸制粒技术,加入按药物:辅料比例为 3:1 的微晶纤维素,过 60 目筛充分混匀,加入浓度为 50% 的乙醇为润湿剂制成软材,采用挤出-滚圆造粒机,挤出转速 $30\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$,滚圆 5min,滚圆转速 $550\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$,制得微丸,于 50°C 烘 12 小时,取出,加入按药物:辅料比例为 2:1 的低取代羟丙纤维素、按药物:辅料比例为 1:1 的羧甲基淀粉钠,混合均匀,过 5 号筛,用 5% PVP 醇溶液作润湿剂制软材,过 2 号筛制粒, 60°C 烘干,2 号筛整粒,同时加入按药物:辅料比例为 1:2 的低取代羟丙纤维素混匀后压片,制得的分散片质量良好;所以通过一系列实验,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、比例等;保证其科学、合理、可行;得到的制剂具有有效的治疗效果。

[0080] 实验例 1:提取工艺研究

[0081] (1) 因素选择:中药煎煮提取效果受到加水量、提取时间、提取次数等因素的影响。因现有技术提取工艺已对提取时间、提取次数进行了考察,但是对黄芩、黄连和大黄药材加水量这一重要因素未做研究,本申请人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。

[0082] (2) 指标确定:黄芩选择浸膏收得率及黄芩苷含量作为评价指标,黄连和大黄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。

[0083] (3) 试验:分别称取黄芩,黄连、大黄药材 200g,各 6 份,分别加水煎煮二次,第一次 1.5 小时,第二次 1 小时,合并煎液,滤过,滤液减压浓缩,干燥,称定膏重,并测定黄芩所得浸膏中黄芩苷的含量,试验结果见下表。

[0084] 黄芩加水量考察结果表

[0085]

试验号	加水量(倍)		浸膏收得率 (%)	黄芩苷含量 (mg/g)
	第一次	第二次		
1	6	6	2.83	280.7
2	8	8	3.05	291.5
3	10	10	3.31	300.4
4	10	8	3.26	305.9
5	10	6	3.03	293.2
6	8	6	2.96	284.6

[0086] 由上表可见:加水量为10、10倍和8、8倍量时浸膏收得率和黄芩苷含量较高,而两者之间没有明显的区别,在保证有效成分提取充分的前提下,为了节约成本和缩短工时,确定提取加水量第一次10倍量,第二次8倍量。

[0087] 黄连加水量考察结果表

[0088]

试验号	加水量(倍)		膏重 (g)	浸膏收得率 (%)
	第一次	第二次		
1	4	4	5.74	2.87
2	6	6	6.04	3.02
3	8	8	6.22	3.11
4	8	6	6.16	3.08
5	8	4	5.98	2.99
6	6	4	5.86	2.93

[0089] 由上表可知,加水量为8、8倍与8、6倍时浸膏收得率较高,且差别不大,为了节约成本和缩短工时,同时为了减少提取时消耗过多的能源,确定提取加水量第一次8倍量,第二次6倍量。

[0090] 大黄加水量考察结果表

[0091]

试验号	加水量(倍)		膏重 (g)	浸膏收得率 (%)
	第一次	第二次		
1	4	4	6.96	3.48
2	6	6	7.14	3.57
3	8	8	7.40	3.70
4	8	6	7.38	3.69
5	8	4	7.08	3.54
6	6	4	6.98	3.49

[0092] 由上表可知,加水量为8、8倍与8、6倍时浸膏收得率较高,且差别不大,说明加水量为,为了节约成本和缩短工时,确定提取加水量第一次8倍量,第二次6倍量。

[0093] 实验例2:滴丸成型工艺研究

[0094] 2.1 制剂处方设计和筛选

[0095] 滴丸水溶性基质有聚乙二醇 4000 和聚乙二醇 6000, 由于我们提取的药膏大部分为水溶性成分, 因此采用聚乙二醇为基质, 并对这两者进行比较试验。将不同型号的聚乙二醇置小烧杯内, 加热至 80-90℃, 待全部熔融后, 加入浸膏粉, 考察基质与浸膏粉的融合情况, 选择融合情况较好的处方进行滴制 (滴制条件: 料温 75℃, 冷却剂为二甲基硅油, 滴距 3~7cm, 滴速 30~40 滴/分), 结果见下表:

[0096] 基质与主药的融合情况比较

[0097]

处方号	处方 1	处方 2	处方 3	处方 5	处方 6	处方 7
浸膏粉 (g)	10	10	10	10	10	10
聚乙二醇 4000 (g)	10	15	20	----	----	----
聚乙二醇 6000 (g)	----	----	----	10	15	20
主药: 基质	1:1	1:1.5	1:2	1:1	1:1.5	1:2
主药与基质的融合情况	主药能与基质融合, 但体系无流动性	主药能与基质融合, 体系流动性很好	主药能与基质融合, 体系流动性很好	主药与基质融合较差	主药能与基质融合, 但体系无流动性	主药能与基质融合, 体系流动性较好
滴丸外观	----	光滑, 圆整 度好	光滑, 圆整 度好	----	圆整度差, 严重拖尾	圆整度差, 拖尾
商丸硬度	----	硬度较好	硬度较好	----	硬度较好	硬度较好
丸重差异		7.5%	8.0%		----	15%
溶散时限 (min)	----	5~8	6~9	----	----	10~15

[0098] 上述结果表明, 处方 2 熔融药液的流动性好, 滴丸成型性好, 光滑、圆润, 丸重差异小, 溶散较快, 故选 2 号处方。

[0099] 2.2 冷却剂选择

[0100] 取三种药材的浸膏粉 10g, 聚乙二醇 4000 15g, 混合均匀, 加热至 80-90℃, 待全部熔融后, 取适量, 分别滴入二甲硅油和液体石蜡冷却剂中, 以滴丸的成型情况为指标, 结果见下表。

[0101] 冷却剂选择

[0102]

冷却剂种类	冷却剂温度	滴距	滴速	料温	滴丸成型情况
二甲基硅油	10℃	4cm	30~40d/min	85℃	圆整度好, 成型好
液体石蜡	10℃	4cm	30~40d/min	85℃	滴丸拖尾, 形状较差

[0103] 上表表明, 以二甲硅油为冷却剂滴丸圆整度好, 成型好。

[0104] 2.3 冷却剂温度选择

[0105] 取三种药材的浸膏粉 10g, 聚乙二醇 4000 15g, 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硅油冷却剂中, 观察滴丸成型情况, 结果见下表。

冷却剂温度选择

[0106]

冷却剂温度	滴距	滴速	料温	滴丸成型情况
10℃	4cm	30 ~ 40d/min	85℃	圆整度好,成型好
20℃	4cm	30 ~ 40d/min	85℃	圆整度好,成型好
梯度冷却	4cm	30 ~ 40d/min	85℃	圆整度好,成型好

[0107] 注:梯度冷却方法为:上部 30 ~ 40℃,中部为 15 ~ 30℃,下部为 5 ~ 15℃。

[0108] 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℃。

[0109] 2.4 滴头口径选择

[0110] 取三种药材的浸膏粉 10g,聚乙二醇 4000 15g,按制法制得熔融药液,分别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。

[0111] 滴头口径选择

[0112]

口径(内/外 mm/mm)	丸重(mg)	圆整度	硬度	拖尾
3.0/4.0	40	+++	+	不拖尾
3.5/4.5	55	+++	+++	不拖尾
4.0/5.0	65	-	+	拖尾

[0113] 注:+++ 示很好;++ 示较好;+ 示一般;- 示差

[0114] 上述结果表明,滴头口径为 3.5/4.5(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 3.5/4.5(内/外 mm/mm)。

[0115] 2.5 滴距选择

[0116] 取三种药材的浸膏粉 10g,聚乙二醇 4000 15g,按制法制得熔融药液,分别以不同的滴距滴制,考察所得滴丸的丸重差异和外观形状,结果见下表。

[0117] 滴距选择

[0118]

滴距(cm)	重量差异	滴丸外观
2	-----	滴丸粘连,圆整度差
4	9%	滴丸外观圆整,表面光滑
6	8%	滴丸外观圆整,表面光滑
8	15%	滴丸外观圆整,表面光滑

[0119] 上表表明,当滴距在 4 ~ 6cm 时,滴丸外观圆整,表面光滑,重量差异小,故选择滴距为 4 ~ 6cm。

[0120] 2.6 熔融药液温度(料温)、滴制速度选择

[0121] 取三种药材的浸膏粉 10g,聚乙二醇 4000 15g,按制法制得熔融药液,按下表的料温和滴制速度(其余条件按制法)进行滴制,结果见下表。

[0122] 熔融药液温度(料温)、滴制速度选择

[0123]

序号	滴速 (d/min)	料温 (°C)	平均丸重 (mg)	平均丸重 -55(mg)	滴丸外观
1	20 ~ 30	60 ~ 70	53.5	-1.5	圆整、美观
2	20 ~ 30	70 ~ 80	52.3	-2.7	圆整、美观
3	20 ~ 30	80 ~ 90	50.1	-4.9	圆整、美观
4	30 ~ 40	60 ~ 70	60.6	5.6	圆整、美观
5	30 ~ 40	70 ~ 80	55.6	0.6	圆整、美观
6	30 ~ 40	80 ~ 90	56.8	1.8	圆整、美观
7	40 ~ 50	60 ~ 70	65.3	10.3	圆整度稍差
8	40 ~ 50	70 ~ 80	63.4	8.4	圆整度稍差
9	40 ~ 50	80 ~ 90	61.1	6.1	圆整度稍差

[0124] 从上表可知,当选用滴速 30 ~ 40d/min、料温 70 ~ 80°C时,所得丸重与目标丸重最接近,滴丸外观圆整、美观。故选择滴速 30 ~ 40d/min、料温 70 ~ 80°C。

[0125] 2.7 生物利用度比较

[0126] SD 大鼠,体重 250 ~ 280g,雌雄各半,隔夜禁食(不禁水),次日灌胃给药,给药剂量为 3.8g/kg。于给药前及给药后 15min,30min,50min,80min,2h,3h,4h 及 8h 心脏采血,每个血样点用 6 只大鼠。血样置肝素抗凝管,3000r/min 离心 5min,分离血浆,置 -30° 保存至分析。高效液相色谱仪分析柱为 μ BondpakaC₁₈(0.45mm×25cm);流动相为甲醇:水=6:4;流速:0.8mL/min;检测波长: $\lambda = 230\text{nm}$ 。血浆中黄芩苷提取:取 0.5mL 血浆,加入 5mLCHCl₃,内标 50 μ L,试管作 30° 倾斜于水平方向振荡器,振荡提取 15min,离心(3000r/min)10min,弃去水相,精密吸取 4mL 有机相于一洁净试管,在 37°C 水浴, N₂ 气流下吹干,残留物用 200 μ L 流动相重新溶解,进样分析。

[0127] 大鼠血浆黄芩苷浓度变化 (N = 6)

[0128]	时间 /h	血浆黄芩苷浓度 / (mg° L ⁻¹)		
[0129]	软胶囊	本发明滴丸	本发明分散片	
[0130]	0	-	-	-
[0131]	0.25	1.01±0.15	1.62±0.15	1.73±0.28
[0132]	0.50	1.95±0.72	3.57±1.19	3.32±1.10
[0133]	0.83	2.02±0.53	2.22±0.38	2.30±0.28
[0134]	1.33	1.20±0.61	1.68±0.67	1.74±0.42
[0135]	2.00	0.88±0.28	1.24±0.25	1.39±0.25
[0136]	3.00	0.96±0.22	1.05±0.17	1.03±0.18
[0137]	4.00	0.46±0.17	0.81±0.24	0.83±0.15
[0138]	6.00	0.17±0.02	0.54±0.19	0.45±0.27
[0139]	8.00	0.05±0.11	0.24±0.10	0.26±0.13

[0140] 结果表明,本发明产品的生物利用度大于软胶囊剂。

[0141] 实验例 3:药效学实验

[0142] 3.1 抗炎作用的研究

[0143] 采用二甲苯致炎法,观察对二甲苯致小鼠右耳肿胀的影响,取健康小白鼠 70 只,体重 20±2g,随机分成 7 组,每组 10 只,雌雄各半,即空白对照组(生理盐水组)、阳性对照组(阿司匹林组)、一清颗粒组、本发明滴丸组、本发明分散片组。按下表所列剂量分组灌胃给药,每天 1 次,连续给药 3 天,药物组给药容积量均为 20ml/kg 体重,阴性对照组给生理盐

水 10ml/kg 体重。末次灌胃 30 分钟后,用二甲苯 0.05ml 只均匀涂抹于小鼠耳两面致炎,左耳不涂二甲苯作为对照。45 分钟之后处死小鼠,沿基线剪下双耳,用直径为 5mm 的打孔器分别冲下两边耳片,用分析天平称重对比。以左右两耳片片重之差作为肿胀度,并计算肿胀抑制率。

[0144] 对二甲苯致小鼠耳部炎症的影响

[0145]	组别	剂量 (g/kg)	鼠数 (只)	肿胀度 (mg)	抑制率 (%)
[0146]	生理盐水组	--	10	10.37±5.09	--
[0147]	一清颗粒组	10	10	5.34±3.51	48.51
[0148]	本发明滴丸组	10	10	4.64±2.38	55.26
[0149]	本发明分散片组	10	10	4.42±4.03	57.38
[0150]	阿司匹林组	0.6	10	2.79±1.52	73.10

[0151] 结果表明,本发明滴丸、本发明分散片对小鼠二甲苯致耳部炎症有明显抑制作用,且效果优于市售的一清颗粒。

[0152] 3.2 对小肠推进作用的研究

[0153] 取昆明种小鼠 60 只,体重 20±2g,雌雄各半,实验前禁食 12h。将小鼠随机分为 6 组:对照组、一清颗粒组、本发明滴丸组、本发明分散片。对照组给予 0.5% 羧甲基纤维素钠,均按 20ml/kg 灌胃。药后 30min 给各鼠 5% 碳末与 10% 阿拉伯胶制成的混悬液,按 10ml/kg 灌胃,30min 后用颈椎脱臼法处死动物,立即刻腹,将幽门至直肠末端的消化道完整摘除,不加牵引,平铺于玻璃板上。测量肠道全长及碳末前沿至幽门的距离,计算后者占肠道全长的百分率。计算公式为:炭末推进(%)=炭末前沿与幽门的距离(cm)×100%/小肠全长(幽门至回盲部)(cm)。具体结果见下表:

[0154] 对小鼠小肠推进作用的影响

[0155]	组别	剂量 (g/kg)	炭末推进 (%)
[0156]	对照组	0	36.4±6.8
[0157]	一清颗粒组	10	53.1±9.6
[0158]	本发明滴丸组	10	56.8±10.6
[0159]	本发明分散片组	10	55.2±8.2

[0160] 结果显示,一清颗粒、本发明滴丸、本发明分散片给药后 30min 可使小鼠肠道碳末推进速度显著增高(以碳末前沿占肠道百分比为指标);本发明制剂的效果优于市售一清颗粒。

[0161] 3.3 对止血作用的研究

[0162] 采用断尾法进行止血试验,取健康小鼠 60 只,体重 20 ? g,随机分成 6 组,每组 10 只,雌雄各半,即对照组(生理盐水组)、一清胶囊组、本发明滴丸组、本发明分散片组。药物组按 20ml/kg 体重的容积灌胃,生理盐水组的灌胃容积为 10ml/kg 体重;每天给药 1 次,连续给药 3 天。在末次给药后 30 分钟将小鼠鼠尖约 1cm 处剪断,记录出血时间,每 15 秒用滤纸吸去血滴 1 次,直至出血停止。所得结果及数据见下表。

[0163] 对小鼠的止血作用

[0164]	组别	剂量 (g/kg)	鼠数 (只)	停止出血时间 (min)
[0165]	生理盐水组	--	10	17.5±4.67

[0166]	一清胶囊组	10	10	9.18±3.42
[0167]	本发明滴丸组	10	10	7.86±2.10
[0168]	本发明分散片组	10	10	8.23±4.56

[0169] 实验结果表明,与生理盐水比较,一清颗粒、本发明滴丸、本发明分散片对小鼠鼠尖出血有很好的止血作用。

[0170] 实验例 4 质量控制方法的考察

[0171] 4.1 药物制剂中黄连、小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭的薄层色谱鉴别方法:

[0172] 为了突出黄芪的特征,选择了黄连对照药材、小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭作为其特征斑点,但是由于药物制剂中存在较多与小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭结构相近、极性相似的成分,普通条件难以达到质量控制的要求,因此我们筛选了以下薄层板和展开条件对黄芪对照药材进行了展开:

[0173]

条件	结果
正丁醇-甲酸-水(5:5:2) 硅胶G 薄层板	阴性有干扰
丁酮-冰醋酸-浓氨试液(6:4:3) 硅胶G 薄层板	特征斑点不清晰
醋酸丁酯-甲醇(6:1.5) 硅胶GF ₂₅₄ 薄层板	阴性有干扰
三氯甲烷-丙酮-甲酸(10:2:4) 硅胶H 薄层板	阴性有干扰
三氯甲烷-丙酮-乙醇(15:3:2) 硅胶H 薄层板	阴性有干扰
三氯甲烷-丁酮-甲醇(15:2:7) 硅胶G 薄层板	对照品展开至前沿
苯-醋酸乙酯-甲醇-异丙醇-浓氨试液4:3:2:1.5:0.5 硅胶G 薄层板	分离清晰,Rf 值适中阴性无干扰

[0174] 经过筛选,确定了以硅胶G 薄层板为固定相,以苯-醋酸乙酯-甲醇-异丙醇-浓氨试液(4:3:2:1.5:0.5)为展开剂,在此条件下,黄连对照药材、小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭特征斑点的Rf 值适中,和其它斑点分离清晰,阴性无干扰。

[0175] 4.2 药物制剂中槲碱、药根碱、黄连碱、巴马亭的液相色谱鉴别方法:

[0176] 为了突出黄芪的特征,除了薄层鉴别方法以外,选择了小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭作为其特征成分,但是由于药物制剂中存在较多与槲碱、药根碱、黄连碱、巴马亭结构相近、极性相似的成分,普通条件难以达到质量控制的要求,因此我们筛选了以下色谱柱和流动相对小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭进行了分离:

[0177]

条件	结果
甲醇-0.5%甲酸(70:30) 十八烷基硅烷键合硅胶	出峰时间略快,峰形不太对称
乙腈-水(35:65) 十八烷基硅烷键合硅胶	峰形不太对称
甲醇-水(45:55) 十八烷基硅烷键合硅胶	峰形不太对称
乙腈-四氢呋喃-水(25:5:70) 十八烷基硅烷键合硅胶	阴性有干扰
甲醇-四氢呋喃-1%冰醋酸水溶液(20:15:65) 十八烷基硅烷键合硅胶	阴性有干扰
乙腈-甲醇-1%冰醋酸水溶液(20:10:70) 十八烷基硅烷键合硅胶	出峰时间过早
乙腈-0.05mol/L 磷酸二氢钠溶液(30:70) 十八烷基硅烷键合硅胶	保留时间适中,峰行尖锐,对称,阴性无干扰

[0178] 经过筛选,确定了以十八烷基硅烷键合硅胶为固定相,乙腈-0.05mol/L 磷酸二氢钠溶液(30:70)为流动相,在此条件下,小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭保留时间适中,峰行尖锐,对称,阴性无干扰。

[0179] 4.3 药物制剂中大黄、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚的薄层色谱鉴别方法:

[0180] 为了突出大黄的特征,选择了大黄对照药材、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大

黄素、大黄酚作为其特征斑点,但是由于药物制剂中存在较多与大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚结构相近、极性相似的成分,普通条件难以达到质量控制的要求,因此我们筛选了以下薄层板和展开条件对大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚进行了展开:

[0181]

条件	结果
乙醚-甲醇(10:1) 硅胶H薄层板	阴性有干扰
二氯甲烷-甲醇-冰醋酸(8:1:1) 硅胶G薄层板	特征斑点不清晰
醋酸乙酯-乙酸(10:2) 硅胶GF ₂₅₄ 薄层板	阴性有干扰
乙醚-甲酸(15:2) 硅胶G薄层板	阴性有干扰
石油醚(30~60℃)-甲酸乙酯-甲酸(10:10:2) 硅胶H薄层板	分离清晰, Rf值偏大
三氯甲烷-醋酸乙酯-甲酸(10:7:3) 硅胶G薄层板	分离较清晰, Rf值偏大
石油醚(30~60℃)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1) 硅胶H薄层板	分离清晰, Rf值适中 阴性 无干扰

[0182] 经过筛选,确定了以硅胶H薄层板为固定相,以石油醚(30~60℃)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)为展开剂,在此条件下,大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚特征斑点的Rf值适中,和其它斑点分离清晰,阴性无干扰。

[0183] 4.4 药物制剂中大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚的液相色谱鉴别方法:

[0184] 为了突出大黄的特征,除了薄层鉴别方法以外,选择了大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚作为其特征成分,但是由于药物制剂中存在较多与大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚结构相近、极性相似的成分,普通条件难以达到质量控制的要求,因此我们筛选了以下色谱柱和流动相对大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚进行了分离:

[0185]

条件	结果
甲醇-0.01mol/L 磷酸二氢钠 (90 : 10) 十八烷基硅烷键合硅胶	出峰时间过快
乙腈-0.01mol/L 磷酸二氢钠 (85 : 15) 十八烷基硅烷键合硅胶	出峰时间过快
甲醇-0.05mol/L 磷酸氢二钠 (85 : 15) 十八烷基硅烷键合硅胶	阴性有干扰
甲醇-0.1%磷酸 (90 : 10) 十八烷基硅烷键合硅胶	阴性无干扰, 但出峰时间过快
甲醇-1%冰醋酸水溶液 (85 : 15) 十八烷基硅烷键合硅胶	保留时间适中, 但峰形较钝
乙腈-0.5%甲酸水溶液 (80 : 20) 十八烷基硅烷键合硅胶	阴性无干扰, 但出峰时间过快
甲醇-0.1%磷酸 (85 : 15) 十八烷基硅烷键合硅胶	保留时间适中, 峰行尖锐, 对称, 阴性无干扰

[0186] 经过筛选, 确定了以十八烷基硅烷键合硅胶为固定相, 甲醇-0.1%磷酸 (85 : 15) 为流动相, 在此条件下, 大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚保留时间适中, 峰行尖锐, 对称, 阴性无干扰。

[0187] 4.5 药物制剂中黄芩、黄芩苷中一种或几种的薄层色谱鉴别方法:

[0188] 为了突出黄芩的特征,选择了黄芩对照药材、黄芩苷作为其特征斑点,但是由于药物制剂中存在较多与黄芩苷结构相近、极性相似的成分,普通条件难以达到质量控制的要求,因此我们筛选了以下薄层板和展开条件对黄芩对照药材、黄芩苷进行了展开:

[0189]

条件	结果
环己烷-二甲苯-甲酸乙酯(2-1-6) 硅胶G薄层板	对照品展开至前沿
三氯甲烷-甲苯-醋酸乙酯(5-5-5) 硅胶H薄层板	对照品未分开,阴性有干扰
甲苯-甲酸乙酯-甲醇(10:10:6) 硅胶G薄层板	对照品展开至前沿
苯-甲酸乙酯-甲醇(15:5:4) 含4%醋酸钠的硅胶G薄层板	对照品未分开,阴性有干扰
环己烷-醋酸乙酯(10-5) 硅胶H薄层板	对照品未分开,阴性有干扰
环己烷-甲酸乙酯(15-5) 硅胶G薄层板	对照品未分开,阴性有干扰
醋酸丁酯-甲酸-水(7:4:3)的上层溶液硅胶G薄层板	分离清晰,Rf值适中阴性无干扰

[0190] 经过筛选,确定了以硅胶G薄层板为固定相,以石醋酸丁酯-甲酸-水(7:4:3)的上层溶液为展开剂,在此条件下,特征斑点的Rf值适中,和其它斑点分离清晰,阴性无干扰。

[0191] 4.6 药物制剂中黄芩苷的液相色谱鉴别方法:

[0192] 为了突出黄芩的特征,除了薄层鉴别方法以外,选择了药物制剂作为其特征成分,但是由于药材中存在较多与药物制剂结构相近、极性相似的成分,普通条件难以达到质量控制的要求,因此我们筛选了以下色谱柱和流动相对药物制剂进行了分离:

[0193]

条件	结果
乙腈-0.03mol/L 磷酸氢二钠(78:22) 十八烷基硅烷键合硅胶	出峰时间过快
甲醇-0.01mol/L 磷酸氢二钠(40:60) 十八烷基硅烷键合硅胶	出峰时间过快
甲醇-0.02mol/L 磷酸二氢钠(50:50) 八烷基硅烷键合硅胶	峰形不对称
甲醇-0.05mol/L 磷酸二氢钠(70:30) 十八烷基硅烷键合硅胶	峰形不太对称
乙腈-0.05mol/L 磷酸二氢钾(70:30) 十八烷基硅烷键合硅胶	峰形不太对称
甲醇-0.05mol/L 磷酸二氢钾(50:50) 八烷基硅烷键合硅胶	阴性有干扰
甲醇-0.02mol/L 磷酸二氢钠溶液(磷酸调节pH2.7)(42:58) 十八烷基硅烷键合硅胶	保留时间适中,峰行尖锐,对称,阴性无干扰

[0194] 经过筛选,确定了以十八烷基硅烷键合硅胶为固定相,甲醇-0.02mol/L 磷酸二氢钠溶液(磷酸调节pH2.7)(42:58)为流动相,在此条件下,黄芩苷保留时间适中,峰行尖锐,对称,阴性无干扰。

[0195] 4.7 药物制剂中黄芩苷的含量测定方法:

[0196] 仪器与试剂

[0197] 主要仪器:

[0198]	高效液相色谱仪	P426	Alltech
[0199]	电子分析天平	BP211D	SARTORIUS
[0200]	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
[0201]	超声波清洗仪	KQ250DB	昆山超声仪器有限公司
[0202]	试剂:		
[0203]	甲醇	分析纯	北京市通广精细化工公司
[0204]	磷酸	优级纯	北京化工厂
[0205]	磷酸二氢钠	分析纯	上海市振欣试剂厂
[0206]	纯净水	娃哈哈	

[0207] 黄芩苷 照高效液相色谱法（中国药典 2000 年版一部附录 VI D）测定。

[0208] 1 检测波长的选择 精密称取黄芩苷对照品适量，加甲醇制成每 1ml 含 20 μ g 的溶液，在 200 ~ 400nm 波长范围内扫描。结果表明，黄芩苷在 275nm 处有最大吸收，因此选择 275nm 作为测定一清滴丸中黄芩苷含量的检测波长。

[0209] 2 提取时间的选择 取重量差异项下本品，研细，从中取约 0.2g（共 4 份），精密称定，分置 100ml 量瓶中，加甲醇 10ml，分别超声处理（功率 250W，频率 33KHz）5、10、20、30 分钟，取出，放至室温，加水稀释至刻度，摇匀，用微孔滤膜（0.45 μ m）滤过，取续滤液，即得。

[0210] 提取时间

[0211]

提取时间 (min)	黄芩苷 (mg/g)
5	32.78
10	33.04
20	33.05
30	33.03

[0212] 结果表明，超声处理 10min 即可提取完全，因此提取时间定为 10 分钟。

[0213] 3 色谱条件

[0214] 色谱仪 :Alltech P426 ;

[0215] 色谱柱 :Diamondsil (钻石) C_{18} (250 \times 4.6mm 5 μ m) ;

[0216] 流动相 :甲醇 -0.02mol/L 磷酸二氢钠缓冲液 (磷酸调 pH2.7) (42 : 58) ;

[0217] 检测波长 :275nm ;

[0218] 柱温 :30 $^{\circ}$ C ;

[0219] 流速 :1ml/min ;

[0220] 进样量 :10 μ l。

[0221] 对照品溶液的制备 精密称取黄芩苷对照品 12.5mg，置 250ml 量瓶中，加甲醇 10ml 使溶解，加水稀释至刻度，摇匀，即得。（每 1ml 含黄芩苷 50 μ g）

[0222] 供试品溶液的制备 取本品，研细，从中取约 0.2g，精密称定，置 100ml 量瓶中，加甲醇 10ml，超声处理（功率 250W，频率 33KHz）10 分钟，取出，放至室温，加水稀释至刻度，摇匀，用微孔滤膜（0.45 μ m）滤过，取续滤液，即得。

[0223] 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。

[0224] 根据上述条件得到黄芩苷、供试品色谱图，其理论板数按黄芩苷峰计算大于 5000。样品中黄芩苷色谱峰与相近峰分离清晰完全，分离度均大于 1.5。

[0225] 4 阴性干扰排除试验 为考察其它药材和辅料是否干扰黄芩苷的测定，除黄芩外，按处方比例称取其它药材和辅料同法制成阴性对照品溶液并测定。结果表明，阴性样品对黄芩苷的含量测定无干扰。

[0226] 5 线性关系的考察 精密称取黄芩苷对照品 12.56mg，置 25ml 量瓶中，加甲醇适量超声处理使溶解，取出，放至室温，加甲醇至刻度，摇匀，精密量取 0.4ml、0.8ml、1.2ml、1.6ml、2.0ml，分置 10ml 量瓶中，用水定至刻度，摇匀，配制成 20.096 μ g/ml、40.192 μ g/ml、60.288 μ g/ml、80.384 μ g/ml、100.048 μ g/ml 的对照品稀释溶液，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（中国药典 2000 年版一部附录 VI D）测定。以

黄芩苷的量 (μg) 为纵坐标, 峰面积为横坐标做图, 绘制标准曲线。

[0227] 黄芩苷线性关系

[0228]

编号	黄芩苷量 (μg)	峰面积
1	0.2010	404329
2	0.4019	806267
3	0.6029	1225456
4	0.8038	1608751
5	1.0005	2017327

[0229] 回归方程: $Y = 0.00000050X - 0.00009585$

[0230] 相关系数: $r = 0.9999$

[0231] 结果表明, 黄芩苷在 $0.2010\ \mu\text{g} \sim 1.0005\ \mu\text{g}$ 范围之内线性关系良好。

[0232] 经过计算, 黄芩苷标准曲线为一过原点的直线, 因此选择外标一点法测定一清滴丸中黄芩苷的含量。

[0233] 6 精密度试验 精密吸取黄芩苷对照品溶液 (每 1ml 含黄芩苷 $50.24\ \mu\text{g}$) $10\ \mu\text{l}$, 注入液相色谱仪, 重复测定 5 次, 考察对照品溶液精密度。

[0234] 精密度试验

[0235]

试验次数	1	2	3	4	5	平均值	RSD(%)
峰面积	1008792	1035124	1022215	1013251	1027129	1021302	1.04

[0236] 结果表明, 对照品溶液精密度良好。

[0237] 7 稳定性试验

[0238] 7.1 对照品稳定性试验 精密吸取黄芩苷对照品溶液 (每 1ml 含黄芩苷 $50.24\ \mu\text{g}$) $10\ \mu\text{l}$, 注入液相色谱仪, 分别在 0、2、6、10、24 小时进样测定。

[0239] 对照品溶液稳定性试验结果

[0240]

时间 (h)	0	2	6	10	24	平均值	RSD(%)
峰面积	1008792	1035124	1022215	1013251	1027129	1021302	1.04

[0241] 结果表明, 对照品溶液在 24 小时内稳定性良好。

[0242] 7.2 供试品溶液稳定性试验 精密吸取供试品溶液 (2.021mg/ml) $10\ \mu\text{l}$, 注入液相色谱仪, 分别在 0、2、6、10、24 小时进样测定。

[0243] 供试品溶液稳定性试验结果

[0244]

时间 (h)	0	2	6	10	24	平均值	RSD(%)
含量 (mg/g)	31.91	32.13	32.41	30.97	31.44	31.77	1.80

[0245] 结果表明, 供试品溶液在 24 小时内稳定性良好。

[0246] 8 重复性试验 取本品, 研细, 从中取约 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。

[0247] 重复性试验

[0248]

编号	1	2	3	4	5	平均值	RSD(%)
含量 (mg/g)	30.90	31.54	31.21	31.74	32.21	31.52	1.59

[0249] 结果表明,重复性良好。

[0250] 10 加样回收率试验 采用加样回收法,取本品,研细,从中取约 0.1g(共 6 份),精密称定,分置 100ml 量瓶中;精密称取黄芩苷 25.42mg,置 25ml 量瓶中,加甲醇适量使溶解并定至刻度,摇匀,精密量取 2.5ml、3.2ml、3.8ml(各 2 份),共置上述 100ml 量瓶中,加甲醇至 10ml,超声处理(功率 250W,频率 33KHz)10 分钟,取出,放至室温,加水稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

[0251] 一清滴丸中黄芩苷含量:31.517mg/g

[0252] 黄芩苷加样回收率试验

[0253]

编号	供试品称量 (g)	供试品中纯品量 (mg)	黄芩苷加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)
1	0.10524	3.317	2.542	5.762	96.18
2	0.10023	3.159	2.542	5.647	97.88
3	0.10326	3.254	3.254	6.421	97.33
4	0.10189	3.211	3.254	6.338	96.10
5	0.10617	3.346	3.864	7.202	99.79
6	0.10083	3.178	3.864	6.994	98.76

[0254] 黄芩苷平均回收率 = 97.67%, RSD = 1.49% ;

[0255] 10 样品含量测定 按正文供试品溶液的制备和测定法项下操作,测定三批样品。

[0256] 三批样品含量测定结果

[0257]

批号	黄芩苷 (mg/g)
1 批	29.87
2 批	27.24
3 批	38.04

[0258] 4.8 大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚含量测定方法:

[0259] 1 仪器、试剂

[0260] 仪器:SHIMADZU 2010AHT 高效液相色谱仪

[0261] 钻石 C18 色谱柱 250×4.6mm 5um 迪马公司

[0262] SARTARIUS BP211D 电子分析天平

[0263] 2 方法与结果

[0264] 2.1 色谱分析条件

[0265] 固定相:十八烷基硅烷键合硅胶 250×4.6mm 5um

[0266] 流动相:甲醇-0.1%磷酸水溶液(85:15)

[0267] 流速:1ml/min

[0268] 柱温:30℃

[0269] 进样量:10ul

[0270] 检测波长:254nm

[0271] 2.2 系统适用性试验 根据上述色谱条件得到大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚对照品、样品色谱图,大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚对照品色谱峰与相近峰分离清晰,完全,分离度均大于 1.5,理论板数 n 均大于 2000。

[0272] 2.3 测定波长的选择 经紫外扫描,大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大

黄酚均在 254nm 波长处有最大吸收,故选定 254nm 为测定波长。

[0273] 2.4 对照品溶液的制备 取大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1ml 含大黄酸 16 μg,芦荟大黄素、大黄酚 10 μg,大黄素、大黄素甲醚 8 μg 的溶液。

[0274] 2.5 供试品溶液的制备 取重量差异项下本品,研细,从中取约 1g,精密称定,加 8% 盐酸 50ml 溶解后加三氯甲烷 20ml,回流提取 1 小时,放冷,分取三氯甲烷层,盐酸层用三氯甲烷萃取 2 次,每次 20ml,和并三氯甲烷层挥干溶剂,残渣用甲醇适量使溶解并定量转移至 100ml 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,用微孔滤膜 (0.45μm) 滤过,取续滤液,即得。

[0275] 2.6 阴性对照试验 为考察其它辅料是否干扰大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚的测定,除大黄外,按处方比例称取其它辅料与供试品溶液同法制成阴性对照溶液并测定。结果表明,阴性样品对大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚的含量测定无干扰。

[0276] 3 线性关系的考察 精密称取大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚对照品适量,共置 25ml 量瓶中,加甲醇适量超声处理使溶解,取出,放至室温,加甲醇至刻度,摇匀,制成每 1ml 分别含大黄酸 0.3412mg/ml,大黄素 0.3388mg/ml,大黄素甲醚 0.1984mg/ml,芦荟大黄素 0.3444mg/ml,大黄酚 0.3424mg/ml 的对照品混合溶液,精密量取 0.2ml、0.4ml、0.6ml、0.8ml、1.0ml,分置 10ml 量瓶重,加甲醇至刻度,摇匀,分别精密吸取 10 μl 注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件测定。以峰面积为纵坐标,对照品的量 (ug) 为横坐标作图,绘制标准曲线。

[0277] 大黄酸标准曲线测定数据

[0278]

编号	大黄酸量 (ug)	峰面积
1	0.06428	245921
2	0.13648	491883
3	0.20472	737615
4	0.27296	983012
5	0.34120	1229513

[0279] 回归方程为 $Y = 3560652.68X + 11472.02$

[0280] $r = 0.9999$

[0281] 大黄酸在 0.06428 ~ 0.34120ug 范围内线性良好。

[0282] 大黄素标准曲线测定数据

[0283]

编号	大黄素量 (ug)	峰面积
1	0.06776	196417
2	0.13552	390851
3	0.20328	588521
4	0.27104	785086
5	0.33880	983007

[0284] 回归方程为 $Y = 2903505.02X - 1448.10$

[0285] $y = 0.9999$

[0286] 大黄素在 0.06776 ~ 0.33880ug 范围内线性良好。

[0287] 大黄素甲醚标准曲线测定数据

[0288]

编号	大黄素甲醚量 (ug)	峰面积
1	0.03968	100015
2	0.07936	201037
3	0.11904	302596
4	0.15872	401587
5	0.19840	503559

[0289] 回归方程为 $Y = 2539410.28X - 532.60$

[0290] $y = 0.9999$

[0291] 大黄素甲醚在 0.03968 ~ 0.19840ug 范围内线性良好。

[0292] 芦荟大黄素标准曲线测定数据

[0293]

编号	大芦荟大黄素量 (ug)	峰面积
1	0.06888	255158
2	0.13776	511007
3	0.20664	765995
4	0.27552	1020554
5	0.34440	1276123

[0294] 回归方程为 $Y = 3704234.90X + 324.30$

[0295] $y = 0.9999$

[0296] 芦荟大黄素在 0.06888 ~ 0.34440ug 范围内线性良好。

[0297] 大黄酚标准曲线测定数据

[0298]

编号	大黄酚量 (ug)	峰面积
1	0.06848	207154
2	0.13696	414335
3	0.20544	623079
4	0.27392	824573
5	0.34240	1035009

[0299] 回归方程为 $Y = 3016863.32X + 1045.60$ $y = 0.9999$

[0300] 大黄酚在 0.06848 ~ 0.34240ug 范围内线性良好。

[0301] 4 稳定性试验 取重量差异项下本品, 研细, 从中取约 1g, 按正文供试品溶液的制备和测定法项下操作, 每隔 1 小时重复测定 1 次, 结果表明在 4 小时之内, 供试品溶液稳定。

[0302]

时间 (h)	0	1	2	3	4	平均	RSD
大黄酸 (mg/g)	1.774	1.768	1.753	1.762	1.755	1.762	0.50
大黄素 (mg/g)	1.121	1.105	1.117	1.126	1.134	1.121	0.96
大黄素甲醚 (mg/g)	0.812	0.844	0.835	0.846	0.818	0.831	1.84
芦荟大黄素 (mg/g)	1.109	1.083	1.091	1.054	1.079	1.083	1.84
大黄酚 (mg/g)	1.056	1.044	1.053	1.071	1.091	1.063	1.73

[0303] 5 精密度试验 精密吸取对照品溶液 (每 1ml 分别含大黄酸 0.01706mg/ml, 大黄素 0.01694mg/ml, 大黄素甲醚 0.00992mg/ml, 芦荟大黄素 0.01722mg/ml, 大黄酚 0.01712mg/ml) 10 μ l, 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 重复测 5 次, 结果如下:

[0304]

试验编号	1	2	3	4	5	平均	RSD
大黄酸	614826	611759	614308	612079	610575	612709	0.29
大黄素	488803	479055	482151	487093	484725	484365	0.80
大黄素甲醚	251085	252003	253094	247205	251109	250899	0.89
芦荟大黄素	636307	632718	631807	628779	640807	634084	0.73
大黄酚	508094	518035	514009	521037	514325	515100	0.94

[0305] 6 重复性试验 取本品 5 份, 精密称定, 按正文供试品溶液的制备和测定法项下操作, 结果如下:

[0306]

试验编号	1	2	3	4	5	平均	RSD
大黄酸 (mg/g)	1.762	1.755	1.748	1.739	1.771	1.755	0.70
大黄素 (mg/g)	1.121	1.154	1.168	1.174	1.136	1.151	1.92
大黄素甲醚 (mg/g)	0.821	0.807	0.813	0.825	0.804	0.814	1.10
芦荟大黄素 (mg/g)	1.098	1.057	1.059	1.078	1.061	1.071	1.63
大黄酚 (mg/g)	1.044	1.073	1.091	1.085	1.059	1.070	1.79

[0307] 7 回收率试验 采用加样回收法, 取重量差异项下本品, 研细, 从中取 0.5g (共 5 份), 精密称定, 分置具塞锥形瓶中; 精密量取对照品混合溶液 (每 1ml 分别含大黄酸 0.826mg, 大黄素 0.5744mg, 大黄素甲醚 0.4124mg, 芦荟大黄素 0.4984mg, 大黄酚 0.4884mg) 1ml (共 5 份), 分置上述具塞锥形瓶中, 加 8% 盐酸 50ml 溶解后加三氯甲烷 20ml, 回流提取 1 小时, 放冷, 分取三氯甲烷层, 盐酸层用三氯甲烷萃取 2 次, 每次 20ml, 合并三氯甲烷层挥干溶剂, 残渣用甲醇适量使溶解并定量转移至 100ml 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.45 μ m) 滤过, 精密吸取续滤液 10 μ l 注入液相色谱仪, 测定, 即得。

[0308] 药物制剂中大黄酸含量为 1.755mg/g;

[0309] 药物制剂中大黄素含量为 1.151mg/g;

[0310] 药物制剂中大黄素甲醚含量为 0.814mg/g;

[0311] 药物制剂中芦荟大黄素含量为 1.071mg/g

[0312] 药物制剂中大黄酚含量为 1.070mg/g。

[0313] 大黄酸回收率

[0314]

编号	供试品称量 (g)	供试品中纯品量 (mg)	纯品加入量 (mg)	测量值 (mg)	回收率 (%)
1	0.48852	0.8574	0.826	1.657	96.81
2	0.49317	0.8655	0.826	1.686	99.33
3	0.48574	0.8525	0.826	1.653	96.92
4	0.49352	0.8661	0.826	1.659	95.99
5	0.48815	0.8567	0.826	1.664	97.74

[0315] [0320] 平均回收率 = 97.36%, RSD = 1.30%。

[0316] 大黄素回收率

[0317]

编号	供试品称量 (g)	供试品中纯品量 (mg)	纯品加入量 (mg)	测量值 (mg)	回收率 (%)
1	0.48852	0.5623	0.5744	1.134	99.53
2	0.49317	0.5676	0.5744	1.127	97.38
3	0.48574	0.5591	0.5744	1.129	99.22
4	0.49352	0.5680	0.5744	1.135	98.70
5	0.48815	0.5619	0.5744	1.131	99.08

[0318] 平均回收率 = 99.78%, RSD = 0.85%。

[0319] 大黄素甲醚回收率

[0320]

编号	供试品称量 (g)	供试品中纯品量 (mg)	纯品加入量 (mg)	测量值 (mg)	回收率 (%)
1	0.48852	0.3928	0.4124	0.7996	98.65
2	0.49317	0.3965	0.4124	0.7954	96.72
3	0.48574	0.3905	0.4124	0.8013	99.60
4	0.49352	0.3968	0.4124	0.7965	96.92
5	0.48815	0.3925	0.4124	0.7993	98.65

[0321] 平均回收率 = 98.11%, RSD = 1.26%。

[0322] 芦荟大黄素回收率

[0323]

编号	供试品称量 (g)	供试品中纯品量 (mg)	纯品加入量 (mg)	测量值 (mg)	回收率 (%)
1	0.48852	0.5232	0.4984	1.011	97.87
2	0.49317	0.5282	0.4984	1.008	96.27
3	0.48574	0.5202	0.4984	1.002	96.66
4	0.49352	0.5286	0.4984	1.011	96.80
5	0.48815	0.5228	0.4984	1.012	98.15

[0324] 平均回收率 = 97.15%, RSD = 0.84%。

[0325] 大黄酚回收率

[0326]

编号	供试品称量 (g)	供试品中纯品量 (mg)	纯品加入量 (mg)	测量值 (mg)	回收率 (%)
1	0.48852	0.5227	0.4884	1.001	97.93
2	0.49317	0.5277	0.4884	1.014	99.57
3	0.48574	0.5197	0.4884	0.998	97.92
4	0.49352	0.5281	0.4884	1.007	98.06
5	0.48815	0.5223	0.4884	0.997	97.19

[0327] 平均回收率 = 98.14%, RSD = 0.89%。

[0328] 8 样品的测定 按正文供试品溶液的制备和测定法项下操作,测定三批样品,结果如下:

[0329]

批号	大黄酸 (mg/g)	大黄素 (mg/g)	大黄素甲 醚 (mg/g)	芦荟大黄素 (mg/g)	大黄酚 (mg/g)
1 批	1.786	1.268	0.808	1.221	1.117
2 批	1.821	1.225	0.823	1.246	1.207
3 批	1.754	1.273	0.798	1.255	1.181

[0330] 4.9 小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭含量测定方法：

[0331] 仪器, 试药

[0332] 仪器 : 岛津 10A 高效液相色谱仪

[0333] 试药 : 乙 腈 色谱纯 Fisher 公司

[0334] 磷酸二氢钠 分析纯 北京化工厂

[0335] 双 蒸 水 自 制

[0336] 色谱分析条件

[0337] 固定相 : 十八烷基硅烷键合硅胶柱 250×4.6mm 5um

[0338] 流动相 : 乙腈 : 0.05mol/L 磷酸二氢钠 30 : 70

[0339] 流速 : 1ml/min

[0340] 柱温 : 室温

[0341] 检测波长 : 266nm

[0342] 对照品溶液的制备 取盐酸小檗碱对照品、黄连碱对照品、巴马亭对照品、药根碱对照品适量, 加甲醇制成每 1ml 含盐酸小檗碱 0.05mg, 黄连碱 0.025mg、巴马亭 0.02mg、药根碱 0.0125mg 的对照品混合溶液。

[0343] 供试品溶液的制备 取本品, 研细, 从中取约 1g, 精密称定, 置 100ml 量瓶中, 加甲醇适量超声处理 (功率 250W, 频率 33KHz) 使溶解, 取出, 放至室温, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 取续滤液, 即得。

[0344] 测定法分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μl, 注入液相色谱仪, 测定, 即得。

[0345] 根据上述条件得到盐酸小檗碱对照品、黄连碱对照品、巴马亭对照品、药根碱对照品、供试品色谱图, 其理论板数按盐酸小檗碱峰计算大于 5000。样品中盐酸小檗碱对照品、黄连碱对照品、巴马亭对照品、药根碱对照品色谱峰与相近峰分离清晰完全, 分离度均大于 1.5。阴性无干扰。

[0346] 测定波长的选择经紫外扫描, 盐酸小檗碱甲醇溶液在 266nm 波长处有最大吸收, 选定 266nm 为测定波长。

[0347] 线性关系的考察精密量取对照品混合溶液 (每 1ml 分别含盐酸小檗碱 0.8264mg、黄连碱 0.4172mg、巴马亭 0.3024mg、药根碱 0.2072mg) 0.2、0.6、1.0、1.4、1.8ml, 分置 10ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 分别从中精密吸取 10 μl, 注入高效液相色谱仪, 以进样量 (ug) 为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。

[0348] 盐酸小檗碱标准曲线

[0349]

编号	进样量 (ug)	峰面积
1	0.16528	554001
2	0.49584	1610829
3	0.82640	2782713
4	1.15696	3849011
5	1.48752	4920153

[0350] 回归方程 $Y = 3318757.87X + 719.90$ $r = 0.9999$

[0351] 盐酸小檗碱在 0.16528 ~ 1.48752ug 范围内线性良好。

[0352] 黄连碱标准曲线

[0353]

编号	进样量 (ug)	峰面积
1	0.08344	200915
2	0.25032	600814
3	0.4172	1004833
4	0.58408	1406881
5	0.75096	1808107

[0354] [0359] 回归方程 $Y = 2409186.84X - 802.75$ $r = 0.9999$

[0355] 黄连碱在 0.08344 ~ 0.75096ug 范围内线性良好。

[0356] 巴马亭标准曲线

[0357]

编号	进样量 (ug)	峰面积
1	0.06048	302244
2	0.18144	897152
3	0.3024	1520037
4	0.42336	2105914
5	0.54432	2710885

[0358] 回归方程 $Y = 4981848.54X + 735.40$ $r = 0.9999$

[0359] 巴马亭在 0.06048 ~ 0.54432ug 范围内线性良好。

[0360] 药根碱标准曲线

[0361]

编号	进样量 (ug)	峰面积
1	0.04144	312219
2	0.12432	938152
3	0.2072	1560027
4	0.29008	2180154
5	0.37296	2812261

[0362] 回归方程 $Y = 753147442X + 41.10$ $r = 0.9999$

[0363] 药根碱在 0.04144 ~ 0.378296ug 范围内线性良好。

[0364] 稳定性试验 取本品,研细,精密称取 1.01526g,按正文供试品溶液制备和测定法项下操作,每隔 1 小时重复测定,结果表明在 4 小时之内,供试品溶液稳定。

[0365]

编号	盐酸小檗碱 (mg/g)	黄连碱 (mg/g)	巴马亭 (mg/g)	药根碱 (mg/g)
1	5.201	2.509	2.556	1.262
2	5.173	2.612	2.513	1.281
3	5.119	2.583	2.504	1.294
4	5.195	2.547	2.531	1.285
5	5.196	2.561	2.527	1.273
均值	5.177	2.562	2.526	1.279
RSD(%)	0.66	1.51	0.79	0.95

[0366] [0371] 精密度试验精密吸取对照品混合溶液(每 1ml 分别含盐酸小檗碱 0.049584mg、黄连碱 0.025032mg、巴马亭 0.018144mg、药根碱 0.012432mg) 10ul,注入液相

色谱仪,记录峰面积,重复测定 5 次,结果如下。

[0367]

编号	盐酸小檗碱	黄连碱	巴马亭	药根碱
1	1610074	601722	894211	932151
2	1635131	602162	892607	936576
3	1628475	605471	895235	938125
4	1617954	602392	894636	942637
5	1620395	601556	895748	953094
均值	1622406	602661	894487	940517
RSD(%)	0.60	0.27	0.13	0.85

[0368] 重复性试验 取本品,研细,从中取约 1g(5 份),精密称定,按正文供试品溶液的制备和测定法项下操作,结果如下:

[0369]

编号	盐酸小檗碱 (mg/g)	黄连碱 (mg/g)	巴马亭 (mg/g)	药根碱 (mg/g)
1	5.187	2.486	2.436	1.229
2	5.146	2.503	2.501	1.268
3	5.131	2.491	2.448	1.227
4	5.172	2.437	2.491	1.251
5	5.209	2.459	2.463	1.264
均值	5.169	2.475	2.468	1.248
RSD(%)	0.60	1.08	1.12	1.53

[0370] 回收率试验 采用加样回收法,取本品,研细,从中取约 0.5g(共 5 份),精密称定,分置 100ml 量瓶中,精密量取对照品混合溶液(每 1ml 分别含盐酸小檗碱 0.8264mg、黄连碱 0.4172mg、巴马亭 0.3024mg、药根碱 0.2072mg)3ml(共 5 份),分置上述 100ml 量瓶中,加甲醇适量超声处理(功率 250W,频率 33KHz)使溶解,取出,放至室温,加甲醇稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,精密吸取续滤液 10ul,注入高效液相色谱仪,测定,即得。

[0371] 药物制剂中盐酸小檗碱含量为 5.169mg/g;

[0372] 药物制剂中黄连碱含量为 2.475mg/g;

[0373] 药物制剂中巴马亭含量为 2.468mg/g;

[0374] 药物制剂中药根碱含量为 1.248mg/g;

[0375] 盐酸小檗碱回收率

[0376]

试验编号	供试品称量 (mg)	供试品中盐酸小檗碱量 (mg)	盐酸小檗碱加入量 (mg)	测量值 (mg)	回收率 (%)
1	0.49511	2.5592	2.4792	4.958	96.76
2	0.50114	2.5904	2.4792	4.997	97.07
3	0.51215	2.6473	2.4792	5.089	98.49
4	0.50813	2.6265	2.4792	5.036	97.19
5	0.48765	2.5207	2.4792	4.962	98.47

[0377] 平均回收率 = 97.60%, RSD% = 0.84%。

[0378] 黄连碱回收率

[0379]

试验编号	供试品称量 (mg)	供试品中黄连碱量 (mg)	黄连碱加入量 (mg)	测量值 (mg)	回收率 (%)
1	0.49511	1.2254	1.2516	2.445	97.44
2	0.50114	1.2403	1.2516	2.461	97.53
3	0.51215	1.2676	1.2516	2.485	97.27
4	0.50813	1.2576	1.2516	2.469	96.79

试验编号	供试品称量 (mg)	供试品中黄连碱量 (mg)	黄连碱加入量 (mg)	测量值 (mg)	回收率 (%)
5	0.48765	1.2069	1.2516	2.437	98.28

[0380] 平均回收率 = 97.46%, RSD% = 0.55%。

[0381] 巴马亭回收率

[0382]

试验编号	供试品称量 (mg)	供试品中巴马亭量 (mg)	巴马亭加入量 (mg)	测量值 (mg)	回收率 (%)
1	0.49511	1.2219	0.9072	2.096	96.35
2	0.50114	1.2368	0.9072	2.126	98.01
3	0.51215	1.2640	0.9072	2.147	97.33
4	0.50813	1.2541	0.9072	2.138	97.44
5	0.48765	1.2035	0.9072	2.079	96.50

[0383] 平均回收率 = 97.13%, RSD% = 0.71%。

[0384] 药根碱回收率

[0385]

试验编号	供试品称量 (mg)	供试品中药根碱量 (mg)	药根碱加入量 (mg)	测量值 (mg)	回收率 (%)
1	0.49511	0.6179	0.6216	1.225	97.67
2	0.50114	0.6254	0.6216	1.231	97.42
3	0.51215	0.6392	0.6216	1.247	97.79
4	0.50813	0.6341	0.6216	1.234	96.50
5	0.48765	0.6086	0.6216	1.226	99.33

[0386] 平均回收率 = 97.74%, RSD% = 1.04%。

[0387] 样品测定结果 按正文供试品溶液的制备和测定法项下操作,测定三批样品,结果如下:

[0388]

批号	盐酸小檗碱 (mg/g)	黄连碱 (mg/g)	巴马亭 (mg/g)	药根碱 (mg/g)
1 批	5.218	2.509	2.396	1.215
2 批	5.334	2.631	2.281	1.467
3 批	5.471	2.427	2.603	1.393

[0389] 4.10 一清滴丸中黄芩苷溶出度测定方法研究

[0390] 检测波长的选择 黄芩苷在 275nm 处有最大吸收,因此选用 275nm 作为溶出度测定的检测波长。

[0391] 线性关系考察 精密称取黄芩苷对照品适量,加甲醇适量溶解后加水制成每 1ml 含 0.0575mg 的溶液,从中精密量取 0.1、2.5、5.0、7.5、10.0ml,分置 10ml 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,配制成 0.575 μ g/ml、14.375 μ g/ml、28.75 μ g/ml、43.125 μ g/ml、57.50 μ g/ml 的对照品稀释溶液,摇匀,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(中国药典 2000 年版一部附录 VI D)测定。以野黄芩苷的量 (μ g) 为纵坐标,峰面积为横坐标做图,绘制标准曲线。结果见下表:

[0392] 黄芩苷线性关系

[0393]

编号	黄芩苷 (μ g)	峰面积
1	0.00575	9121
2	0.14375	201874
3	0.28750	406584
4	0.43125	618312
5	0.57500	812337

[0394] [0399] 回归方程 : $Y = 0.000001X - 0.000078$

[0395] 相关系数 : $r = 0.9999$

[0396] 黄芩苷在 $0.00575 \sim 0.57500 \mu\text{g}$ 范围内线性关系良好。

[0397] 根据计算,黄芩苷标准曲线为过原点的直线,因此选择外标一点法测定一清滴丸中黄芩苷的含量。

[0398] 阴性干扰排除实验精密称取一清滴丸阴性样品(缺黄芩)186.62mg,置500ml量瓶中,加水定至刻度,超声处理(功率250W,频率33KHz)10分钟,取出,放至室温,摇匀,用微孔滤膜($0.45 \mu\text{m}$,水系)滤过,精密吸取续滤液 $10 \mu\text{l}$,注入液相色谱仪,结果表明,阴性对液相色谱法测定一清滴丸的溶出度无干扰。

[0399] 供试品溶液精密度考察 取重量差异项下本品4粒,置500ml量瓶中,加蒸馏水至刻度,超声处理(功率250W,频率33KHz)10分钟,取出,放至室温,摇匀,用微孔滤膜($0.45 \mu\text{m}$,水系)滤过,精密吸取续滤液 $10 \mu\text{l}$,注入液相色谱仪,重复测定5次,结果见下表。

[0400] 供试品溶液精密度考察结果

[0401]

试验次数	1	2	3	4	5	平均值	RSD(%)
峰面积	197675	194917	195351	195979	197423	196269	0.63

[0402] 结果表明,供试品溶液精密度良好。

[0403] 供试品溶液稳定性考察 取重量差异项下本品4粒,置500ml量瓶中,加蒸馏水至刻度,超声处理(功率250W,频率33KHz)10分钟,取出,放至室温,摇匀,用微孔滤膜($0.45 \mu\text{m}$,水系)滤过,精密吸取续滤液 $10 \mu\text{l}$,注入液相色谱仪,分别在0、2、6、10、24小时重复测定一次,结果见下表。

[0404] 供试品溶液稳定性考察结果

[0405]

时间(h)	0	2	6	10	24	平均值	RSD(%)
峰面积	193736	197005	196559	197212	196063	196115	0.71

[0406] 结果表明,供试品溶液在24小时内稳定性良好

[0407] 回收率考察 采用加样回收法,取重量差异项下本品,研细,从中取约110mg(共6份),精密称定,分置500ml量瓶中;精密称取黄芩苷34.96mg,置10ml量瓶中,加少量甲醇超声处理使溶解,取出,放至室温,加水定至刻度,摇匀,精密量取1ml(共6份),分置上述500ml量瓶中,加水定至刻度,超声处理(功率250W,频率33KHz)10分钟,取出,放至室温,摇匀,用微孔滤膜($0.45 \mu\text{m}$,水系)滤过,精密吸取续滤液 $10 \mu\text{l}$,注入液相色谱仪,测定,即得。结果见下表。

[0408] 一清滴丸中黄芩苷含量 :31.197mg/g。

[0409] 黄芩苷回收率考察结果

[0410]

编号	供试品称量(mg)	供试品中黄芩苷(mg)	黄芩苷加入量(mg)	测量值(mg)	回收率(%)
1	111.11	3.46630	3.496	6.93419	99.20
2	109.96	3.43042	3.496	6.93433	100.23
3	110.25	3.43947	3.496	6.90836	99.22
4	111.06	3.46474	3.496	6.98115	100.58
5	108.59	3.38768	3.496	6.91210	100.81
6	112.04	3.49531	3.496	6.98162	99.72

[0411] 黄芩苷平均回收率 = 99.96%，RSD = 0.69%。

[0412] 一清滴丸溶出度测定

[0413] 精密量取经脱气处理的水 500ml，注入每个操作容器内，加温使溶剂保持在 $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。转速为 50r/min，取重量差异项下本品 4 粒（共 6 份），分别投入 6 个操作容器内，立即启动旋转并开始计时，分别于 1、3、5、10、15、20、30、45 分钟精密量取 5ml（同时补加同温新鲜水 5ml），立即用微孔滤膜（ $0.45\mu\text{m}$ ，水系）滤过，精密吸取续滤液 $10\mu\text{l}$ ，注入液相色谱仪，测定，计算其累计溶出百分率（一清滴丸中黄芩苷含量：31.517mg/g）。结果见下表

[0414] 一清滴丸黄芩苷溶出度测定结果

[0415]

累积溶出百分率 (%) 编号	时间 (min)							
	1	3	5	10	15	20	30	45
1	8.81	29.63	43.65	63.79	74.15	76.78	85.06	90.61
2	10.65	38.68	52.3	75.41	66.09	90.73	97.28	99.46
3	5.64	22.14	44.74	77.54	93.86	94.8	98.84	102.65
4	8.84	28.23	47.49	78.19	92.77	98.52	96.82	100.94
5	20.42	32.79	45.93	78.12	92.55	97.14	98.33	99.82
6	8.37	28.08	36.99	74.26	71.18	88.83	97.14	96.77

[0416] 一清滴丸黄芩苷溶出度测定累计溶出百分率 - 时间数据

[0417]

时间 (min)	平均累计溶出百分率 (%)
0	0
1	10.46
3	29.93
5	45.18
10	74.55
15	81.77
20	90.97
30	95.58
45	98.38

[0418] 由此拟定，一清滴丸中黄芩苷的溶出度在 30min 时不得少于 70%。

[0419] 具体的实施方式：

[0420] 实施例 1：黄连 1600g 大黄 4850g 黄芩 2425g

[0421] 取黄芩加水煎煮二次，第一次加 10 倍水煎煮 1.5 小时，第二次加 8 倍水煎煮 1 小时。黄连和大黄分别加水煎煮二次，第一次加 8 倍水煎煮 1.5 小时，第二次加 6 倍水煎煮 1

小时。滤液减压浓缩至相对密度为 1.25(70℃) 的清膏,减压干燥成浸膏粉,将三种浸膏粉混匀,加入聚乙二醇 4000,混合均匀,加热熔融,搅拌均匀,转移至滴丸机,滴制,收集滴丸,除去表面的甲基硅油,制成 1000g,包装,即得,即得滴丸,本产品口服、一次 15 粒,一日 3 ~ 4 次。

[0422] 实施例 2:黄连 1600g 大黄 4850g 黄芩 2425g

[0423] 取黄芩加水煎煮二次,第一次加 10 倍水煎煮 1.5 小时,第二次加 8 倍水煎煮 1 小时,黄连和大黄分别加水煎煮二次,第一次加 8 倍水煎煮 1.5 小时,第二次加 6 倍水煎煮 1 小时,滤液减压浓缩至 70℃ 相对密度为 1.25 的清膏,减压干燥成浸膏粉,将三种浸膏粉混匀,以聚乙二醇 4000 为基质,药物与基质的配比为 1 : 1.5,混匀,滴入冷却剂二甲硅油中,滴头口径为 3.5/4.5,滴距为 4 ~ 6cm,滴速 30 ~ 40d/min、料温 70 ~ 80℃,冷却液的温度为 10 ~ 20℃,即得。

[0424] 实施例 3:黄连 1600g 大黄 4850g 黄芩 2425g

[0425] 取黄芩加水煎煮二次,第一次加 10 倍水煎煮 1.5 小时,第二次加 8 倍水煎煮 1 小时,黄连和大黄分别加水煎煮二次,第一次加 8 倍水煎煮 1.5 小时,第二次加 6 倍水煎煮 1 小时,滤液减压浓缩至 70℃ 相对密度为 1.25 的清膏,减压干燥成浸膏粉,将三种浸膏粉混匀,加入按药物:辅料比例为 2 : 1 的低取代羟丙纤维素、按药物:辅料比例为 1 : 1 的羧甲基淀粉钠,混合均匀,过 5 号筛,用 5% PVP 醇溶液作润湿剂制软材,过 2 号筛制粒,60℃ 烘干,2 号筛整粒,同时加入按药物:辅料比例为 1 : 2 的低取代羟丙纤维素混匀后压片,即得分散片。

[0426] 实施例 4:黄连 1600g 大黄 4850g 黄芩 2425g

[0427] 取黄芩加水煎煮二次,第一次加 10 倍水煎煮 1.5 小时,第二次加 8 倍水煎煮 1 小时,黄连和大黄分别加水煎煮二次,第一次加 8 倍水煎煮 1.5 小时,第二次加 6 倍水煎煮 1 小时,滤液减压浓缩至 70℃ 相对密度为 1.25 的清膏,加入注射用水、糖浆,制成 1000 瓶,即得口服液。

[0428] 实施例 5:黄连 1600g 大黄 4850g 黄芩 2425g

[0429] 取黄芩加水煎煮二次,第一次加 10 倍水煎煮 1.5 小时,第二次加 8 倍水煎煮 1 小时,黄连和大黄分别加水煎煮二次,第一次加 8 倍水煎煮 1.5 小时,第二次加 6 倍水煎煮 1 小时,滤液减压浓缩至 70℃ 相对密度为 1.25 的清膏,加入卡波姆溶液、矫味剂,搅匀,制成 1000 瓶,即得凝胶剂。

[0430] 实施例 6:治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂中黄连、小檗碱的薄层色谱鉴别方法:

[0431] 取待测药物组合物适量,加甲醇提取,滤过,作为供试品溶液;另取黄连、小檗碱制备对照溶液;黄连对照药材溶液的制备:取黄连对照药材适量,加甲醇提取,滤过,作为对照药材溶液;对照品溶液的制备:取盐酸小檗碱对照品,加甲醇制成每 1ml 含 0.5mg 的溶液,作为对照品溶液;采用中国药典附录公开的薄层色谱法试验,吸取上述供试品溶液和对照品溶液各 2 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以苯-醋酸乙酯-甲醇-异丙醇-浓氨试液 4 : 3 : 2 : 1.5 : 0.5 为展开剂,置氨蒸汽预饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,置紫外灯 365nm 检视,供试品色谱中,在与对照药材色谱或者对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

[0432] 实施例 7:治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂中小檗碱的液相色谱鉴别方法:

[0433] 取待测药物组合物适量,加甲醇稀释至合适浓度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液;以盐酸小檗碱为对照,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 0.05mol/L 磷酸二氢钠溶液 30% : 70% 为流动相,检测波长为 266nm;供试品色谱中,具与对照品色谱有保留时间一致的色谱峰。

[0434] 实施例 8:治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂中大黄、大黄酸、大黄素、的薄层色谱鉴别方法:

[0435] 取待测药物组合物适量,加甲醇和盐酸适量提取,提取液作为供试品溶液;另取大黄对照药材、大黄酸、大黄素制备对照溶液;大黄对照药材溶液的制备:取大黄对照药材适量,加甲醇和盐酸适量提取,提取液作为对照药材溶液;对照品溶液的制备:取大黄酸、大黄素对照品;分别加甲醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液,作为对照品溶液;采用中国药典附录公开的薄层色谱法试验,吸取上述溶液各 2 ~ 5 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚 (60 ~ 90 $^{\circ}$ C) - 甲酸乙酯 - 甲酸 15 : 5 : 1 的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置氨蒸汽中熏后日光下检视,供试品色谱中,在与对照药材色谱、对照品色谱相应的位置上,显相同颜色斑点。

[0436] 实施例 9:治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂中大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚的液相色谱鉴别方法:

[0437] 取待测药物组合物适量,加 8% 盐酸适量溶解后加三氯甲烷适量,回流提取 1 小时,放冷,分取三氯甲烷层,挥干溶剂,残渣用甲醇溶解,作为供试品溶液;以大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚中的对照品的甲醇溶液为对照,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,甲醇 - 0.1% 磷酸水溶液 85% : 15% 为流动相,检测波长为 254nm,柱温 30 $^{\circ}$ C;供试品色谱中,具与对照品色谱中的主峰有保留时间一致的色谱峰。

[0438] 实施例 10:治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂中黄芩、黄芩苷的薄层色谱鉴别方法:

[0439] 取待测药物组合物适量,加甲醇和盐酸适量提取,提取液作为供试品溶液;另取黄芩对照药材、黄芩苷中的一种或几种制备对照溶液;黄芩对照药材溶液的制备:取黄芩对照药材适量,甲醇和盐酸适量提取,提取液作为对照药材溶液;对照品溶液的制备:取黄芩苷对照品;分别加甲醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液,作为对照品溶液;采用中国药典附录公开的薄层色谱法试验,吸取上述溶液各 5 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以醋酸丁酯 - 甲酸 - 水 7 : 4 : 3 的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 2% 三氯化铁乙醇溶液,供试品色谱中,在与对照药材色谱、对照品色谱相应的位置上,显相同颜色斑点。

[0440] 实施例 11:治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂中黄芩苷的液相色谱鉴别方法:

[0441] 取待测药物组合物适量,加甲醇稀释至合适浓度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液;以黄芩苷对照品的甲醇溶液为对照,采用液相色谱法,色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶或八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,甲醇 - 0.02mol/L 磷酸二氢钠溶液 (磷酸调节 pH2.7) (42 : 58) 为流动相,检测波长为 275nm;供试品色谱中,具与对照品色谱有保留时间一致的色谱峰。

[0442] 实施例 12:治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂中黄连、小檗碱、药根碱、黄连

碱、巴马亭的薄层色谱鉴别方法：

[0443] 取待测药物组合物适量，加乙醇提取，滤过，作为供试品溶液；另取黄连、盐酸小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭制备对照溶液；黄连对照药材溶液的制备：取黄连对照药材适量，加乙醇提取，滤过，作为对照药材溶液；对照品溶液的制备：取盐酸小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭中的对照品；分别加乙醇制成每 1ml 含 0.5mg 的溶液，作为对照品溶液；采用中国药典附录公开的薄层色谱法试验，吸取上述供试品溶液和对照品溶液各 2 μ l，分别点于同一硅胶 H 薄层板上，以甲苯 - 醋酸丁酯 - 甲醇 - 丁酮 - 浓氨试液 8 : 6 : 3 : 1 : 1 为展开剂，置氨蒸汽预饱和的展开缸内，展开，取出，晾干，置紫外灯 365nm 检视，供试品色谱中，在与对照药材色谱或者对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点。

[0444] 实施例 13：治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂中小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭的液相色谱鉴别方法：

[0445] 取待测药物组合物适量，加乙醇稀释至合适浓度，摇匀，滤过，取续滤液作为供试品溶液；以盐酸小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭中的对照品的甲醇溶液为对照，采用液相色谱法，色谱柱用八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，甲醇 - 0.05mol/L 磷酸二氢钠溶液 45% : 55% 为流动相，检测波长为 266nm；供试品色谱中，具与对照品色谱有保留时间一致的色谱峰。

[0446] 实施例 14：治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂中大黄、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚的薄层色谱鉴别方法：

[0447] 取待测药物组合物适量，加乙醇和盐酸适量提取，提取液作为供试品溶液；另取大黄对照药材、大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚制备对照溶液；大黄对照药材溶液的制备：取大黄对照药材适量，加乙醇和盐酸适量提取，提取液作为对照药材溶液；对照品溶液的制备：取大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚对照品；分别加乙醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液，作为对照品溶液；采用中国药典附录公开的薄层色谱法试验，吸取上述溶液各 2 ~ 5 μ l，分别点于同一硅胶 H 薄层板上，以石油醚 (30 ~ 60 $^{\circ}$ C) - 醋酸乙酯 - 冰醋酸 10 : 8 : 2 的上层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，置氨蒸汽中熏后日光下检视，供试品色谱中，在与对照药材色谱、对照品色谱相应的位置上，显相同颜色斑点。

[0448] 实施例 15：治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂中大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚的液相色谱鉴别方法：

[0449] 取待测药物组合物适量，加 10% 盐酸适量溶解后加二氯甲烷适量，回流提取 1 小时，放冷，分取二氯甲烷层，挥干溶剂，残渣用甲醇溶解，作为供试品溶液；以大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚对照品的甲醇溶液为对照，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% 磷酸水溶液 70% : 30% 为流动相，检测波长为 254nm，柱温 30 $^{\circ}$ C；供试品色谱中，具与对照品色谱中的主峰有保留时间一致的色谱峰。

[0450] 实施例 16：治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂中黄芩、黄芩苷薄层色谱鉴别方法：

[0451] 取待测药物组合物适量，加乙醇和盐酸适量提取，提取液作为供试品溶液；另取黄芩对照药材、黄芩苷制备对照溶液；黄芩对照药材溶液的制备：取黄芩对照药材适量，乙醇和盐酸适量提取，提取液作为对照药材溶液；对照品溶液的制备：取黄芩苷对照品；分别加乙醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液，作为对照品溶液；采用中国药典附录公开的薄层色谱

法试验,吸取上述溶液各 5 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以醋酸乙酯-冰醋酸-水 6 : 4 : 2 的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 2% 三氯化铁甲醇溶液,供试品色谱中,在与对照药材色谱、对照品色谱相应的位置上,显相同颜色斑点。

[0452] 实施例 17 :治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂中黄芩苷的液相色谱鉴别方法 :

[0453] 取待测药物组合物适量,加乙醇稀释至合适浓度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液 ;以黄芩苷对照品的乙醇溶液为对照,采用液相色谱法,色谱柱用八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈 -0.02mol/L 磷酸二氢钠溶液 (磷酸调节 pH3.5) (30 : 70) 为流动相,检测波长为 275nm ;供试品色谱中,具与对照品色谱有保留时间一致的色谱峰。

[0454] 实施例 18 :治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂中黄连、小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭的薄层色谱鉴别方法 :

[0455] 取待测药物组合物适量,加醋酸乙酯提取,滤过,作为供试品溶液 ;另取黄连、小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭中制备对照溶液 ;黄连对照药材溶液的制备 :取黄连对照药材适量,加醋酸乙酯提取,滤过,作为对照药材溶液 ;对照品溶液的制备 :取盐酸小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭对照品,分别加甲醇制成每 1ml 含 0.5mg 的溶液,作为对照品溶液 ;采用中国药典附录公开的薄层色谱法试验,吸取上述供试品溶液和对照品溶液各 2 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正丁醇-冰醋酸-浓氨试液 5 : 2 : 1 为展开剂,置氨蒸汽预饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,置紫外灯 365nm 检视,供试品色谱中,在与对照药材色谱或者对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

[0456] 实施例 19 :治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂中小檗碱的液相色谱鉴别方法 :

[0457] 取待测药物组合物适量,加水稀释至合适浓度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液 ;以盐酸小檗碱对照品的甲醇溶液为对照,采用液相色谱法,色谱柱用二烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈 -0.02mol/L 磷酸二氢钾溶液 32% : 68% 为流动相,检测波长为 266nm ;供试品色谱中,具与对照品色谱有保留时间一致的色谱峰。

[0458] 实施例 20 :治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂中大黄素甲醚、大黄酚的薄层色谱鉴别方法 :

[0459] 取待测药物组合物适量,加甲醇和盐酸适量提取,提取液作为供试品溶液 ;另取大黄素甲醚、大黄酚对照品 ;分别加乙醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液,作为对照品溶液 ;采用中国药典附录公开的薄层色谱法试验,吸取上述溶液各 2 ~ 5 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙醚-醋酸丁酯-冰醋酸 8 : 6 : 3 的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置氨蒸汽中熏后日光下检视,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色斑点。

[0460] 实施例 21 :治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂中大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚的液相色谱鉴别方法 :

[0461] 取待测药物组合物适量,加 3% 盐酸适量溶解后加三氯甲烷适量,回流提取 1 小时,放冷,分取三氯甲烷层,挥干溶剂,残渣用乙醇溶解,作为供试品溶液 ;以大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚对照品的乙醇溶液为对照,采用液相色谱法,色谱柱用二烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈 -0.5% 冰醋酸水溶液 68% : 32% 为流动相,检测波长为 254nm,柱温 30 $^{\circ}$ C ;供试品色谱中,具与对照品色谱中的主峰有保留时间一致的色谱峰。

[0462] 实施例 22 :治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂中黄芩、黄芩苷的薄层色谱鉴别方法 :

[0463] 取待测药物组合物适量,加甲醇和盐酸适量提取,提取液作为供试品溶液;另取黄芩对照药材、黄芩苷制备对照溶液;黄芩对照药材溶液的制备:取黄芩对照药材适量,乙醇和盐酸适量提取,提取液作为对照药材溶液;对照品溶液的制备:取黄芩苷对照品;分别加乙醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液,作为对照品溶液;采用中国药典附录公开的薄层色谱法试验,吸取上述溶液各 5 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以醋酸乙酯:甲酸-水 10:5:1:1 为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 3%三氯化铁乙醇溶液,供试品色谱中,在与对照药材色谱、对照品色谱相应的位置上,显相同颜色斑点。

[0464] 实施例 23:治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂中黄芩苷的液相色谱鉴别方法:

[0465] 取待测药物组合物适量,加甲醇稀释至合适浓度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液;以黄芩苷对照品的甲醇溶液为对照,采用液相色谱法,色谱柱用二烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈-0.05mol/L 磷酸二氢钾溶液(磷酸调节 pH3.0)(30:70)为流动相,检测波长为 275nm;供试品色谱中,具与对照品色谱有保留时间一致的色谱峰。

[0466] 实施例 24:治疗上呼吸道感染等疾病的滴丸制剂中小檗碱的薄层色谱鉴别方法:

[0467] 取本品 1g,加甲醇 20ml,浸渍 2 小时,并时时振摇,滤过,滤液定至 25ml,作为供试品溶液。另取盐酸小檗碱对照品,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,吸取上述两种溶液各 2 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以苯-醋酸乙酯-甲醇-异丙醇-浓氨试液(4:3:2:1.5:0.5)为展开剂,置氨蒸汽饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,置紫外灯(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。

[0468] 实施例 25:治疗上呼吸道感染等疾病的滴丸制剂中黄芩苷的薄层色谱鉴别方法:

[0469] 取本品 1g,加甲醇 20ml,滴加盐酸 4~6 滴,振摇 20 分钟,滤过,滤液定至 25ml,作为供试品溶液。另取黄芩苷对照品,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,吸取上述两种溶液各 5 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以醋酸丁酯-甲酸-水(7:4:3)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 2%三氯化铁乙醇溶液,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。

[0470] 实施例 26:治疗上呼吸道感染等疾病的滴丸制剂中大黄素的薄层色谱鉴别方法:

[0471] 取本品 1g,加甲醇 20ml,滴加盐酸 4~6 滴,振摇 20 分钟,滤过,滤液定至 25ml,作为供试品溶液。另取大黄素对照品,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,吸取供试品溶液 5 μ l,对照品溶液 2 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置氨蒸汽中熏至斑点显色清晰,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。

[0472] 实施例 27:治疗上呼吸道感染等疾病的药物制剂中小檗碱的含量测定方法:

[0473] 取待测药物组合物适量,加甲醇稀释至合适浓度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液;以盐酸小檗碱对照品的甲醇溶液为对照,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-0.05mol/L 磷酸二氢钠溶液 30%:70%为流动相,检测波长为 266nm;以外标一点法进行计算,各制剂以相当于每日用成品量为单位量,含量限度应为:

[0474] 每单位量含小檗碱的限度不得少于 10mg;

[0475] 实施例 28:治疗上呼吸道感染等疾病的滴丸制剂中大黄酸、大黄素的含量测定方

法：

[0476] 取待测药物组合物适量，加 8% 盐酸适量溶解后加三氯甲烷适量，回流提取 1 小时，放冷，分取三氯甲烷层，挥干溶剂，残渣用甲醇溶解，作为供试品溶液；以大黄酸、大黄素对照品的甲醇溶液为对照，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，甲醇-0.1% 磷酸水溶液 85%：15% 为流动相，检测波长为 254nm，柱温 30℃；以外标一点法进行计算，各制剂以相当于每日用成品量为单位量，含量限度应为：

[0477] (1) 每单位量含大黄酸的限度不得少于 3.3mg；

[0478] (2) 每单位量含大黄素的限度不得少于 1.3mg；

[0479] 实施例 29：治疗上呼吸道感染等疾病的滴丸制剂中黄芩苷的含量测定方法：

[0480] 取待测药物组合物适量，加甲醇超声处理，定容至合适浓度，摇匀，滤过，取续滤液作为供试品溶液；以黄芩苷对照品的甲醇溶液为对照，采用液相色谱法，色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶或八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，甲醇-0.02mol/L 磷酸二氢钠溶液（磷酸调节 pH2.7）（42：58）为流动相，检测波长为 275nm；以外标一点法进行计算，各制剂以相当于每日用成品量为单位量，每单位量含的限度不得少于 30mg。

[0481] 实施例 30：治疗上呼吸道感染等疾病的分散片制剂中巴马亭的含量测定方法：

[0482] 取待测药物组合物适量，加乙醇稀释至合适浓度，摇匀，滤过，取续滤液作为供试品溶液；以巴马亭对照品的甲醇溶液为对照，采用液相色谱法，色谱柱用八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，甲醇-0.05mol/L 磷酸二氢钠溶液 45%：55% 为流动相，检测波长为 266nm；以外标一点法进行计算，各制剂以相当于每日用成品量为单位量，含量限度应为：

[0483] 每单位量含巴马亭的限度不得少于 4mg；

[0484] 实施例 31：治疗上呼吸道感染等疾病的滴丸制剂中大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚的含量测定方法：

[0485] 取待测药物组合物适量，加 10% 盐酸适量溶解后加二氯甲烷适量，回流提取 1 小时，放冷，分取二氯甲烷层，挥干溶剂，残渣用甲醇溶解，作为供试品溶液；以大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚对照品的甲醇溶液为对照，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% 磷酸水溶液 70%：30% 为流动相，检测波长为 254nm，柱温 30℃；以外标一点法进行计算，各制剂以相当于每日用成品量为单位量，含量限度应为：每单位量含大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚的限度不得少于 9.9mg。

[0486] 实施例 32：治疗上呼吸道感染等疾病的滴丸制剂中黄芩苷的含量测定方法：

[0487] 取待测药物组合物适量，加 70% 乙醇加热溶解，定容至合适浓度，摇匀，滤过，取续滤液作为供试品溶液；以黄芩苷对照品的乙醇溶液为对照，采用液相色谱法，色谱柱用八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，乙腈-0.02mol/L 磷酸二氢钠溶液（磷酸调节 pH3.5）（30：70）为流动相，检测波长为 275nm；以外标一点法进行计算，各制剂以相当于每日用成品量为单位量，每单位量含的限度不得少于 30mg。

[0488] 实施例 33：治疗上呼吸道感染等疾病的滴丸制剂中小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭的含量测定方法：

[0489] 取待测药物组合物适量，加水稀释至合适浓度，摇匀，滤过，取续滤液作为供试品溶液；以盐酸小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马亭对照品的甲醇溶液为对照，采用液相色谱法，

色谱柱用二烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈-0.02mol/L 磷酸二氢钾溶液 32% : 68% 为流动相,检测波长为 266nm ;以标准曲线法进行计算,各制剂以相当于每日用成品量为单位量,含量限度应为 :

[0490] (1) 每单位量含小檗碱的限度不得少于 5mg ;

[0491] (2) 每单位量含小檗碱、黄连碱、巴马亭、药根碱的总和的限度不得少于 10.75mg。

[0492] 实施例 34 :治疗上呼吸道感染等疾病的分散片制剂中大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚的含量测定方法 :

[0493] 取待测药物组合物适量,加 3% 盐酸适量溶解后加三氯甲烷适量,回流提取 1 小时,放冷,分取三氯甲烷层,挥干溶剂,残渣用乙醇溶解,作为供试品溶液 ;以大黄酸、大黄素、大黄素甲醚、芦荟大黄素、大黄酚对照品的乙醇溶液为对照,采用液相色谱法,色谱柱用二烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈-0.5% 冰醋酸水溶液 68% : 32% 为流动相,检测波长为 254nm,柱温 30℃ ;以标准曲线法进行计算,各制剂以相当于每日用成品量为单位量,含量限度应为以下几项 :

[0494] (1) 每单位量含大黄酸的限度不得少于 1.65mg ;

[0495] (2) 每单位量含大黄素的限度不得少于 0.65mg ;

[0496] (3) 每单位量含大黄素甲醚的限度不得少于 0.65mg ;

[0497] (4) 每单位量含芦荟大黄素的限度不得少于 1mg ;

[0498] (5) 每单位量含大黄酚的限度不得少于 1mg ;

[0499] 实施例 35 :治疗上呼吸道感染等疾病的分散片制剂中黄芩苷的含量测定方法 :

[0500] 取待测药物组合物适量,加 50% 甲醇超声处理,定容至合适浓度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液 ;以黄芩苷对照品的甲醇溶液为对照,采用液相色谱法,色谱柱用二烷基硅烷键合硅胶为填充剂,乙腈-0.05mol/L 磷酸二氢钾溶液 (磷酸调节 pH3.0) (30 : 70) 为流动相,检测波长为 275nm ;以标准曲线法进行计算,各制剂以相当于每日用成品量为单位量,每单位量含的限度不得少于 15mg。

[0501] 实施例 36 :治疗上呼吸道感染等疾病的滴丸制剂中黄芩苷的溶出度测定方法 :

[0502] 取重量差异项下本品 4 粒,照溶出度测定法,以脱气处理的水 500ml 为溶出介质,转速为每分钟 50 转,依法操作,经 30 分钟时,取溶液 5ml,立即用微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液 ;按含量测定项下的色谱条件,精密吸取上述溶液 10 μ l,注入液相色谱仪,照高效液相色谱法测定,计算每粒的溶出量,结果与相同成分的含量测定项下结果比较,应不少于 70%。