



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1887324 B

(45) 授权公告日 2010.05.12

(21) 申请号 200510200353.7

A61P 25/20(2006.01)

(22) 申请日 2005.06.27

G01N 30/90(2006.01)

G01N 33/15(2006.01)

(73) 专利权人 仁和(集团)发展有限公司

地址 331200 江西省樟树市樟树市药都南大道 158 号

(56) 对比文件

CN 1483449 A, 2004.03.24, 全文.

江超

姜华静

. 七宝美髯丹加味治疗斑秃 142 例. 河南中医 21 6. 2001, 21(6), 60-61.

(72) 发明人 杨文龙

审查员 程心旻

(51) Int. Cl.

A61K 36/815(2006.01)

A61K 36/804(2006.01)

A61K 36/752(2006.01)

A61K 36/704(2006.01)

A61K 36/605(2006.01)

A61K 36/487(2006.01)

A61K 36/236(2006.01)

A61K 36/232(2006.01)

A61K 36/076(2006.01)

A61K 9/20(2006.01)

A61K 9/08(2006.01)

A61K 9/10(2006.01)

A61K 9/48(2006.01)

A61P 17/14(2006.01)

权利要求书 2 页 说明书 5 页

(54) 发明名称

一种治疗肝肾不足的中药组合物及其制备方法和分析方法

(57) 摘要

本发明公开了一种中药组合物,属中药领域。该中药组合物是由一定比例的制何首乌、熟地黄、桑椹、枸杞子、当归、补骨脂、川芎、茯苓和陈皮按一定工艺制备而成,本品对肝肾不足、精血亏虚所致的脱发,腰膝酸软,失眠多梦等症有良好的治疗作用。本发明同时还公开了该中药组合物的制备方法和质量控制方法。

1. 一种治疗肝肾不足的中药组合物,其特征在于该组合物是由如下重量比的原料药制成的:

制何首乌 5-15,熟地黄 1-8,桑椹 1-5,枸杞子 1-5,当归 1-5,补骨脂 1-5,  
川芎 1-5,茯苓 1-5,陈皮 1-4。

2. 如权利要求 1 所述的治疗肝肾不足的中药组合物,其特征在于各原料药的重量比为:制何首乌 8,熟地黄 4,桑椹 3,枸杞子 3,当归 3,补骨脂 3,川芎 3,茯苓 3,陈皮 2。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的治疗肝肾不足的中药组合物,其特征在于该组合物制成口服液、片剂、胶囊剂、丸剂。

4. 权利要求 3 所述的中药组合物的制备方法,其特征在于该方法是如下两个方法中的任一:

1) 取原料药,加水煎煮 1-3 次,每次加 5-12 倍量水,每次煎煮 0.5-2 小时,合并煎液,滤过,滤液静置 8-48 小时,取上清液减压浓缩至 20℃的相对密度为 1.36 的稠膏,干燥,粉碎,得药粉;将药粉加入适宜辅料,制成所需剂型;

2) 取当归、补骨脂、川芎、陈皮加 4-9 倍量 30-90%乙醇回流提取 1-3 次,每次 1-3 小时,滤过,滤液浓缩至在 60℃时的相对密度为 1.05 ~ 1.30 的稠膏,备用;药渣与制何首乌、熟地黄、桑椹、枸杞子、茯苓加水煎煮 1-3 次,每次加 6-12 倍量水,每次煎煮 1-4 小时,合并煎液,滤过,滤液浓缩至在 60℃时的相对密度为 1.05 ~ 1.30 的清膏,加入 1-3 倍量的乙醇,静置 8-36 小时,回收乙醇至在 60℃时的相对密度为 1.05 ~ 1.30 的清膏,与上述清膏合并,干燥,粉碎,得药粉;将药粉加入适宜的辅料,制成所需剂型。

5. 如权利要求 4 所述的中药组合物的制备方法,其特征在于工艺过程如下:

1) 取原料药,加水煎煮 3 次,第一次加 10 倍量,第二次加 8 倍量,第三次加 6 倍量,每次煎煮 1 小时,合并煎液,滤过,滤液静置 24 小时,取上清液减压浓缩至 20℃的相对密度为 1.36 的稠膏,干燥,粉碎,得药;将药粉加入适宜的辅料,制成所需剂型;

2) 取当归、补骨脂、川芎、陈皮加 6 倍量 75%乙醇回流提取 1 次,1 小时,滤过,滤液浓缩至在 60℃时的相对密度为 1.10 ~ 1.20 的稠膏,备用;药渣与制何首乌、熟地黄、桑椹、枸杞子、茯苓加水煎煮 2 次,每次加 8 倍量水,每次煎煮 1 小时,合并煎液,滤过,滤液浓缩至在 60℃时的相对密度为 1.10 ~ 1.20 的清膏,加入 2 倍量的乙醇,静置 24 小时,回收乙醇至在 60℃时的相对密度为 1.10 ~ 1.20 的清膏,与上述清膏合并,干燥,粉碎,得药粉;将药粉加入适宜的辅料,制成所需剂型。

6. 如权利要求 4 或 5 所述中药组合物的制备方法,其特征在于胶囊剂的制备方法为:将药粉加淀粉调节至所需总量,混合均匀,用 70%乙醇过 20 目筛湿法制粒,干燥,整粒,装入胶囊,即得。

7. 如权利要求 1 或 2 所述的中药组合物的分析方法,其特征在于该方法中的鉴别方法是如下的一种或几种:

A. 取权利要求 1-3 所述中药组合物的制剂适量,用甲醇 50ml 超声提取 30 分钟,滤过,取续滤液 25ml,蒸干,加水 25ml 及盐酸 3ml、氯仿 20ml,加热回流 1 小时,放冷,分取氯仿层,水层再加氯仿提取 2 次,每次 10ml,合并氯仿液,蒸干,残渣加甲醇使溶解,定容至 10ml,作为供试品溶液;另取何首乌对照药材 2g,加水煎煮 1 小时,浓缩至适量,加少量硅藻土混匀,干燥,同上法制成对照药材溶液;再取大黄素对照品,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，吸取上述供试品溶液 10  $\mu$  l、对照药材与对照品溶液各 2  $\mu$  l，分别点于同一含 0.3% 羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以 15 : 5 : 1 的石油醚 - 甲酸乙酯 - 甲酸的上层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，置 365nm 紫外光灯下检视；供试品色谱中，在与对照药材及对照品色谱相应的位置上，显相同的橙黄色荧光斑点；置氨气中熏后，斑点变为红色；

B. 取权利要求 1-3 所述中药组合物的制剂适量，研细，加醋酸乙酯 20ml，超声处理 20 分钟，滤过，滤液蒸干，残渣加醋酸乙酯 1ml 使溶解，作为供试品溶液；另取补骨脂素、异补骨脂素对照品，加醋酸乙酯制成每 1ml 各含 2mg 的混合溶液，作为对照品溶液；照薄层色谱法试验，吸取上述供试品溶液 10  $\mu$  l、对照品溶液 2  $\mu$  l，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以 4 : 1 的正己烷 - 醋酸乙酯为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10% 氢氧化钾甲醇溶液，置 365nm 紫外光灯下检视；供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同的蓝白色荧光斑点；

C. 取权利要求 1-3 所述中药组合物的制剂适量，研细，加甲醇 20ml，超声处理 20 分钟，滤过，滤液作为供试品溶液；另取橙皮苷对照品，加甲醇制成饱和溶液，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  $\mu$  l，分别点于同一聚酰胺薄膜上，以甲醇为展开剂，展约 3cm，喷以 1% 三氯化铝的甲醇溶液，放置 3 小时，在 365nm 紫外光灯下观察；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；

D. 取权利要求 1-3 所述中药组合物的制剂适量，加水 50ml 使溶解，用醋酸乙酯提取两次，每次 30ml，醋酸乙酯液浓缩至 0.5ml，作为供试品溶液；另取枸杞子对照药材 5g，加甲醇 10ml 于 50℃ 水浴中浸泡 30 分钟，滤过，滤液作为对照药材溶液；吸取上述两种溶液各适量，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以 10 : 0.2 氯仿 - 甲醇为展开剂，展开，取出，晾干，置氨蒸气中熏 30 分钟，在 365nm 紫外光灯下检视，供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。

8. 如权利要求 7 所述的中药组合物的分析方法，其特征在于该方法中的含量测定方法如下：

色谱条件与系统适用性试验用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；60 : 40 : 1 的乙腈 - 水 - 冰醋酸为流动相；检测波长为 437nm；理论板数按大黄素峰计算应不低于 3000；

对照品溶液的制备精密称取大黄素对照品适量，加甲醇制成每 1ml 含 4  $\mu$  g 的溶液，即得；

供试品溶液的制备取上述中药组合物制剂适量，研细，混匀，取 1g，精密称定，精密加甲醇 50ml，称定重量，超声处理 60 分钟，放冷，称定重量，用甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，弃去初滤液，精密量取续滤液 25ml，蒸干，加水 25ml 及盐酸 3ml、氯仿 20ml，加热回流 1 小时，放冷，分取氯仿层，水层再加氯仿提取 2 次，每次 10ml，合并氯仿液，蒸干，残渣加甲醇使溶解，定容至 10ml，即得；

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

9. 如权利要求 1 或 2 所述的中药组合物在制备治疗肝肾不足、精血亏虚所致的脱发，腰膝酸软，失眠多梦的药物中的应用。

## 一种治疗肝肾不足的中药组合物及其制备方法和分析方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种中药组合物及其制备方法和分析方法,属中药领域。

### 背景技术

[0002] 肝肾不足、精血亏虚所致的脱发,腰膝酸软,失眠多梦等症是中老年人、用脑过度者、房事过频者的常见症状。在现代医学来看,以上诸症属退行性病变或亚健康状态,没有有效的对症治疗药物。而在中医来看,则属虚证,只要补益得当,就能取得好的效果。发挥中药治疗本病的优势和特色,深入研究和开发对该病的治疗药物,既可改善患者的生活质量,又可产生很高的经济效益,该类品种的开发具有广阔的前景,必将为广大患者带来福音。

### 发明内容

[0003] 本发明所研制的治疗肝肾不足、精血亏虚所致的脱发,腰膝酸软,失眠多梦的中药组合物是由以下重量份比的原料药制成的:

[0004] 制何首乌 5-15,熟地黄 1-8,桑椹 1-5,枸杞子 1-5,当归 1-5,补骨脂 1-5,

[0005] 川芎 1-5,茯苓 1-5,陈皮 1-4。

[0006] 上述原料优选配比为:制何首乌 8,熟地黄 4,桑椹 3,枸杞子 3,当归 3,补骨脂 3,川芎 3,茯苓 3,陈皮 2。

[0007] 以上原料药中,制何首乌养肝补肾,填精养血,乌发生发,为君药;枸杞、桑椹助君药补养肝肾,当归、熟地黄、补骨脂养血活血,通经络,开毛窍,以利毛发生长,以上诸药共为臣药;茯苓、陈皮健脾益气,养血生发,补后天生发之源,为佐药;川芎引药上行,直达病所,为使药,以上诸药滋补肝肾,养血生发,从而对于肝肾不足、精血亏虚所致的脱发有很好的治疗作用。

[0008] 本发明的上述药物组合物按照常规的中药制备工艺加入药物矫味剂或/和药物赋形剂,可以制备成口服液、片剂、胶囊剂、丸剂等临床上使用的药物制剂。所说的药物矫味剂为蔗糖、苯甲酸钠、甜菊甙、蛋白糖中的一种或一种以上的组合,以使所制备成的药剂具有良好的口感,克服以上中草药配伍后产生异味而难以入口或吞咽的弊端。所说的药物赋形剂为糊精、硬脂酸镁、微晶纤维素、羧甲基淀粉钠、淀粉、滑石粉、碳酸氢钠、枸橼酸中的一种或一种以上的组合,以将本发明的药物制备成便于服用的口服制剂。

[0009] 以上药物的制备方法,可以是如下两种方法中的任一种:

[0010] 1) 以上九味,加水煎煮 1-3 次,每次加 5-12 倍量水,每次煎煮 0.5-2 小时,合并煎液,滤过,滤液静置 8-48 小时,取上清液减压浓缩至 20℃ 的相对密度为 1.36 的稠膏,干燥,加常规辅料制成胶囊剂、丸剂、片剂等。

[0011] 2) 取当归、补骨脂、川芎、陈皮加 4-9 倍量 30-90% 乙醇回流提取 1-3 次,每次 1-3 小时,滤过,滤液浓缩至在 60℃ 时的相对密度为 1.05 ~ 1.30 的稠膏,备用;药渣与制何首乌、熟地黄、桑椹、枸杞子、茯苓加水煎煮 1-3 次,每次加 6-12 倍量水,每次煎煮 1-4 小时,合并煎液,滤过,滤液浓缩至在 60℃ 时的相对密度为 1.05 ~ 1.30 的清膏,加入 1-3 倍量的乙

醇,静置 8-36 小时,回收乙醇至在 60℃时的相对密度为 1.05 ~ 1.30 的清膏,与上述清膏合并,加常规辅料制成口服液。

[0012] 通过以上方法,都可以制得本发明所要的药物组合物的提取物,经进一步试验,可以得到优选的工艺:

[0013] 1) 取原料药,加水煎煮 3 次,第一次加 10 倍量,第二次加 8 倍量,第三次加 6 倍量,每次煎煮 1 小时,合并煎液,滤过,滤液静置 24 小时,取上清液减压浓缩至 20℃的相对密度为 1.36 的稠膏,干燥,粉碎,得药;将药粉加入适宜的辅料,制成所需剂型;

[0014] 2) 取当归、补骨脂、川芎、陈皮加 6 倍量 75% 乙醇回流提取 1 次,1 小时,滤过,滤液浓缩至在 60℃时的相对密度为 1.10 ~ 1.20 的稠膏,备用;药渣与制何首乌、熟地黄、桑椹、枸杞子、茯苓加水煎煮 2 次,每次加 8 倍量水,每次煎煮 1 小时,合并煎液,滤过,滤液浓缩至在 60℃时的相对密度为 1.10 ~ 1.20 的清膏,加入 2 倍量的乙醇,静置 24 小时,回收乙醇至在 60℃时的相对密度为 1.10 ~ 1.20 的清膏,与上述清膏合并,干燥,粉碎,得药粉;将药粉加入适宜的辅料,制成所需剂型。

[0015] 发明人优选制成胶囊剂,方法如下:

[0016] 将提取工艺最后得到的药粉过 100 目筛,加淀粉调节至所需总量,混合均匀,用 70% 过 20 目筛湿法制粒,干燥,整粒,装入胶囊。

[0017] 本发明的药物,可采用如下方法进行含量测定和定性鉴别,使制剂质量可控。选择处方中的制何首乌、补骨脂素、异补骨脂素、橙皮苷、枸杞子进行了薄层鉴别,具体方法如下:

[0018] A. 取本发明制剂适量,用甲醇 50ml 超声提取 30 分钟,滤过,取续滤液 25ml,蒸干,加水 25ml 及盐酸 3ml、氯仿 20ml,加热回流 1 小时,放冷,分取氯仿层,水层再加氯仿提取 2 次,每次 10ml,合并氯仿液,蒸干,残渣加甲醇使溶解,定容至 10ml,作为供试品溶液;另取何首乌对照药材 2g,加水煎煮 1 小时,浓缩至适量,加少量硅藻土混匀,干燥,同上法制成对照药材溶液;再取大黄素对照品,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,吸取上述供试品溶液 10  $\mu$ l、对照药材与对照品溶液各 2  $\mu$ l,分别点于同一含 0.3% 羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以 15 : 5 : 1 的石油醚 - 甲酸乙酯 - 甲酸的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置 365nm 紫外光灯下检视;供试品色谱中,在与对照药材及对照品色谱相应的位置上,显相同的橙黄色荧光斑点;置氨气中熏后,斑点变为红色;

[0019] B. 取本发明制剂适量,研细,加醋酸乙酯 20ml,超声处理 20 分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加醋酸乙酯 1ml 使溶解,作为供试品溶液;另取补骨脂素、异补骨脂素对照品,加醋酸乙酯制成每 1ml 各含 2mg 的混合溶液,作为对照品溶液;照薄层色谱法试验,吸取上述供试品溶液 10  $\mu$ l、对照品溶液 2  $\mu$ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以 4 : 1 的正己烷 - 醋酸乙酯为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 氢氧化钾甲醇溶液,置 365nm 紫外光灯下检视;供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的蓝白色荧光斑点;

[0020] C. 取本发明制剂适量,研细,加甲醇 20ml,超声处理 20 分钟,滤过,滤液作为供试品溶液;另取橙皮苷对照品,加甲醇制成饱和溶液,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  $\mu$ l,分别点于同一聚酰胺薄膜上,以甲醇为展开剂,展约 3cm,喷以 1% 三氯化铝的甲醇溶液,放置 3 小时,在 365nm 紫外光灯下观察;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;

[0021] D. 取本发明制剂适量,加水 50ml 使溶解,用醋酸乙酯提取两次,每次 30ml,醋酸乙酯液浓缩至 0.5ml,作为供试品溶液;另取枸杞子对照药材 5g,加甲醇 10ml 于 50℃ 水浴中浸泡 30 分钟,滤过,滤液作为对照药材溶液;吸取上述两种溶液各适量,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以 10 : 0.2 氯仿 - 甲醇为展开剂,展开,取出,晾干,置氨蒸气中熏 30 分钟,在 365nm 紫外光灯下检视,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。

[0022] 选择制剂中的制何首乌药材中的大黄素作为含量测定的指标,测定方法如下:

[0023] 色谱条件与系统适用性试验用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;60 : 40 : 1 的乙腈 - 水 - 冰醋酸为流动相;检测波长为 437nm。理论板数按大黄素峰计算应不低于 3000。

[0024] 对照品溶液的制备精密称取大黄素对照品适量,加甲醇制成每 1ml 含 4 μg 的溶液,即得。

[0025] 供试品溶液的制备取本发明制剂适量,研细,混匀,取 1g,精密称定,精密加甲醇 50ml,称定重量,超声处理 60 分钟,放冷,称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液 25ml,蒸干,加水 25ml 及盐酸 3ml、氯仿 20ml,加热回流 1 小时,放冷,分取氯仿层,水层再加氯仿提取 2 次,每次 10ml,合并氯仿液,蒸干,残渣加甲醇使溶解,定容至 10ml,即得。

[0026] 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。

[0027] 以上定性鉴别方法及含量测定方法中的提取方法,可以是超声提取、回流提取,也可以是浸泡、振摇、静置,均属于提取的范围。

[0028] 本发明的制剂,多年来一直应用于临床,效果明显。在 2004 年 7 月至 12 月的病例中,统计结果如下:

[0029] 1) 运用本发明的药物治疗 50 例慢性秃发患者,痊愈 7 例,显效 21 例,有效 5 例,无效 17 例,总有效率 86.0%。疗程最短 21 天,最长 39 天,平均 32 天。

[0030] 2) 运用本发明的组合物治疗 32 例肝肾不足、精血亏虚型脱发患者,结果治愈 17 例,显效 7 例,有效 6 例,无效 2 例,总有效率 93.8%。

## 具体实施方式

[0031] 实施例 1:

[0032] 处方:制何首乌 150g 熟地黄 80g 桑椹 50g

[0033] 枸杞子 50g 当归 50g 补骨脂 50g

[0034] 川芎 50g 茯苓 50g 陈皮 40g

[0035] 制法:以上九味,加水煎煮 3 次,第一次加 12 倍量,第二次加 8 倍量,第三次加 6 倍量,每次煎煮 1 小时,合并煎液,滤过,滤液静置 12 小时,取上清液浓缩至相对密度为 1.36(20℃)的稠膏,干燥,粉碎,过 100 目筛,加淀粉至所需量,混合均匀,制粒,干燥,整粒,加硬脂酸镁 2g,混匀,压片,即得。

[0036] 实施例 2:

[0037] 处方:制何首乌 500g 熟地黄 100g 桑椹 100g

[0038] 枸杞子 100g 当归 100g 补骨脂 100g

[0039] 川芎 100g 茯苓 100g 陈皮 100g

[0040] 制法：以上九味，加水煎煮 1 次，加水 10 倍量，煎煮 2 小时，煎液滤过，滤液静置 48 小时，取上清液浓缩至相对密度为 1.36 (20℃) 的稠膏，干燥，粉碎，过 100 目筛，加淀粉至所需量，混合均匀，制粒，干燥，整粒，装入胶囊，即得。

[0041] 实施例 3：

[0042] 处方：制何首乌 150g 熟地黄 80g 桑椹 40g

[0043] 枸杞子 40g 当归 30g 补骨脂 30g

[0044] 川芎 20g 茯苓 50g 陈皮 20g

[0045] 制法：取当归、补骨脂、川芎、陈皮加 9 倍量 90% 乙醇回流提取 1 次，1 小时，滤过，滤液浓缩至相对密度为 1.05 ~ 1.10 (60℃) 的稠膏，备用；药渣与制何首乌、熟地黄、桑椹、枸杞子、茯苓加水煎煮 3 次，每次加 12 倍量水，每次煎煮 3 小时，合并煎液，滤过，滤液浓缩至在 60℃ 时的相对密度为 1.10 ~ 1.20 的清膏，加入 2 倍量的乙醇，静置 24 小时，回收乙醇至在 60℃ 时的相对密度为 1.10 ~ 1.20 的清膏，与上述清膏合并，加入炼蜜及糖浆适量，用少量水将苯甲酸钠溶解，在搅拌下加至药液中，加蒸馏水调至 1000ml，摇匀，冷藏，滤过二次，灭菌、灌装，即得。

[0046] 实施例 4：

[0047] 处方：制何首乌 160g 熟地黄 80g 桑椹 60g

[0048] 枸杞子 60g 当归 60g 补骨脂 60g

[0049] 川芎 60g 茯苓 60g 陈皮 40g

[0050] 制法：取当归、补骨脂、川芎、陈皮加 4 倍量 30% 乙醇回流提取 3 次，每次 1.5 小时，滤过，滤液浓缩至在 60℃ 时的相对密度为 1.20 ~ 1.30 的稠膏，备用；药渣与制何首乌、熟地黄、桑椹、枸杞子、茯苓加水煎煮 2 次，每次加 10 倍量水，每次煎煮 1 小时，合并煎液，滤过，滤液浓缩至在 60℃ 时的相对密度为 1.20 ~ 1.30 的清膏，加入 3 倍量的乙醇，静置 36 小时，回收乙醇至在 60℃ 时的相对密度为 1.25 ~ 1.30 的清膏，与上述清膏合并，干燥，粉碎，得药粉，过 100 目筛，加羧甲基淀粉钠 100g 及淀粉适量，调节至所需总量，混合均匀，加水泛丸，干燥，分装，即得。

[0051] 实施例 5：对本发明产品的定性鉴别

[0052] 取本发明颗粒剂 1g，用甲醇 50ml 超声提取 30 分钟，滤过，取续滤液 25ml，蒸干，加水 25ml 及盐酸 3ml、氯仿 20ml，加热回流 1 小时，放冷，分取氯仿层，水层再加氯仿提取 2 次，每次 10ml，合并氯仿液，蒸干，残渣加甲醇使溶解，定容至 10ml，作为供试品溶液。另取何首乌对照药材 2g，加水煎煮 1 小时，浓缩至适量，加少量硅藻土混匀，干燥，同上法制成对照药材溶液。再取大黄素对照品，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，吸取上述供试品溶液 10  $\mu$  l、对照药材与对照品溶液各 2  $\mu$  l，分别点于同一含 0.3% 羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上，以石油醚 (30 ~ 60℃) - 甲酸乙酯 - 甲酸 (15 : 5 : 1) 的上层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外光灯 (365nm) 下检视。供试品色谱中，在与对照药材及对照品色谱相应的位置上，显相同的橙黄色荧光斑点；置氨气中熏后，斑点变为红色。

[0053] 取本发明颗粒剂 1g，研细，加醋酸乙酯 20ml，超声处理 20 分钟，滤过，滤液蒸干，残

渣加醋酸乙酯 1ml 使溶解,作为供试品溶液。另取补骨脂素、异补骨脂素对照品,加醋酸乙酯制成每 1ml 各含 2mg 的混合溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述供试品溶液 10  $\mu$  l、对照品溶液 2  $\mu$  l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正己烷-醋酸乙酯(4 : 1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10%氢氧化钾甲醇溶液,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,显相同的蓝白色荧光斑点。

[0054] 取本发明颗粒剂 1g,研细,加甲醇 20ml,超声处理 20 分钟,滤过,滤液作为供试品溶液。另取橙皮苷对照品,加甲醇制成饱和溶液,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  $\mu$  l,分别点于同一聚酰胺薄膜上,以甲醇为展开剂,展约 3cm,喷以 1%三氯化铝的甲醇溶液,放置 3 小时,在紫外光灯(365nm)下观察。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。

[0055] 取本发明颗粒剂 1g,加水 50ml 使溶解,用醋酸乙酯提取两次,每次 30ml,醋酸乙酯液浓缩至 0.5ml,作为供试品溶液。另取枸杞子对照药材 5g,加甲醇 10ml 于 50℃水浴中浸泡 30 分钟,滤过,滤液作为对照药材溶液。吸取上述两种溶液各适量,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,氯仿-甲醇(10 : 0.2)为展开剂,展开,取出,晾干,置氨蒸气中熏 30 分钟,在紫外光灯(365nm)下检视,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。

[0056] 实施例 6 :对本发明产品的含量测定

[0057] 色谱条件与系统适用性试验用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;乙腈-水-冰醋酸(60 : 40 : 1)为流动相;检测波长为 437nm。理论板数按大黄素峰计算应不低于 3000。

[0058] 对照品溶液的制备精密称取大黄素对照品适量,加甲醇制成每 1ml 含 4  $\mu$  g 的溶液,即得。

[0059] 供试品溶液的制备取本发明颗粒剂 10g,研细,混匀,取 1g,精密称定,精密加甲醇 50ml,称定重量,超声处理 60 分钟,放冷,称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液 25ml,蒸干,加水 25ml 及盐酸 3ml、氯仿 20ml,加热回流 1 小时,放冷,分取氯仿层,水层再加氯仿提取 2 次,每次 10ml,合并氯仿液,蒸干,残渣加甲醇使溶解,定容至 10ml,即得。

[0060] 测定法分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10  $\mu$  l,注入液相色谱仪,测定,即得。