



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109709240 B

(45) 授权公告日 2022.04.26

(21) 申请号 201910088115.3  
 (22) 申请日 2019.01.29  
 (65) 同一申请的已公布的文献号  
 申请公布号 CN 109709240 A  
 (43) 申请公布日 2019.05.03  
 (73) 专利权人 北京中研同仁堂医药研发有限公司  
 地址 100079 北京市丰台区南三环中路20号  
 专利权人 中国药科大学  
 (72) 发明人 李萍 肖婷婷 杨华 张蓓 高雯 候譔  
 (74) 专利代理机构 北京三聚阳光知识产权代理有限公司 11250  
 代理人 李敏

CN 1565611 A, 2005.01.19  
 CN 103705845 A, 2014.04.09  
 KR 101118242 B1, 2012.03.16  
 JP 2014052226 A, 2014.03.20  
 Su Yang Jeong et al. Quantitative Analysis of Marker Compounds in Angelica gigas, Angelica sinensis, and Angelica acutiloba by HPLC/DAD.《Chem. Pharm. Bull》.2015,第63卷(第7期),第504-511页.  
 张汝学等.地黄寡糖胶囊质量标准研究.《可持续发展研究》.2012,(第3期),第178-181页.  
 郭楠等.不同炮制地黄中水苏糖含量研究.《中成药》.2008,第30卷(第12期),第1812-1814页.  
 刘影等.地黄寡糖质量标准研究.《中国药房》.2009,第20卷(第36期),第2834-2835页.

(续)

审查员 林粤美

(51) Int. Cl.  
 G01N 30/06 (2006.01)  
 G01N 30/74 (2006.01)

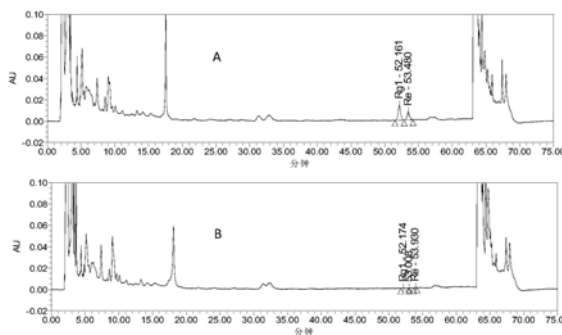
(56) 对比文件  
 CN 101596275 A, 2009.12.09  
 CN 101596275 A, 2009.12.09  
 CN 1857588 A, 2006.11.08

权利要求书3页 说明书18页 附图7页

(54) 发明名称  
 一种中药组合物的检测方法及其应用

(57) 摘要  
 本发明提供了一种中药组合物的检测方法,该中药组合物包括如下重量份的原料药组成:人参4-9份、炒酸枣仁4-9份、炙淫羊藿4-9份、熟地黄5-12份、麸炒白术3-8份、制远志3-8份、石菖蒲4-9份、当归5-12份、炙甘草1-5份,所述检测方法以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以纯水为流动相A,以乙腈为流动相B,梯度洗脱,检测波长:198-208nm;检测人参皂苷Rg<sub>1</sub>、人参皂苷Re的含量测定,此外,还利用HPLC法测定组合物中有效成分β-细辛醚淫羊藿苷的含量、鉴定当归,利用TLC法对方中的熟地黄、炙甘草实现定性鉴别,

本发明所述方法准确度、灵敏度高,检测范围广,实现了对药品质量的有效控制,可作为所述中药组合物和制剂的质量监控方法。



CN 109709240 B

[接上页]

**(56) 对比文件**

王静蓉 等. 芍药甘草配伍化学变化研究.  
《时珍国医国药》.2001,第11卷(第2期),第102-  
104页.

Ya-Zhou Zhang et al.Chemical Profile

Analysis and Comparison of Two Versions  
of the Classic TCM Formula Danggui Buxue  
Tang by HPLC-DAD-ESI-IT-TOF-MSn.  
《Molecules》.2014,第19卷第5650-5673页.

1. 一种中药组合物的检测方法,其特征在于,所述中药组合物包括如下重量份的原料药组成:人参4-9份、炒酸枣仁4-9份、炙淫羊藿4-9份、熟地黄5-12份、麸炒白术3-8份、制远志3-8份、石菖蒲4-9份、当归5-12份、炙甘草1-5份;所述中药组合物的制备方法,包括如下步骤:

(1)称取当归和石菖蒲,加水浸泡,水蒸气蒸馏提取,得挥发油和水提取液,向挥发油中加入 $\beta$ -环糊精和水包合,得包合物;

(2)称取人参、熟地黄、制远志、麸炒白术、炒酸枣仁、炙淫羊藿、炙甘草,加水提取,得水提取液;

(3)合并步骤(1)和(2)制得的水提取液,减压浓缩得清膏;

(4)将步骤(3)制得的清膏干燥,制成干膏粉,加入所述包合物和常规辅料,混匀,即得;

所述中药组合物的检测方法包括如下人参皂苷Rg1、人参皂苷Re的含量测定步骤:

A、人参皂苷Rg1、人参皂苷Re的含量测定

供试品溶液的制备:取所述中药组合物,依次经碱液提取、饱和正丁醇萃取、有机酸中和、蒸干和有机试剂溶解,得供试品溶液;

对照品溶液的制备:取人参皂苷Rg1对照品、人参皂苷Re对照品,加入有机溶剂制成对照品溶液;

色谱条件:照高效液相色谱法测定,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以纯水为流动相A,以乙腈为流动相B,梯度洗脱,所述梯度洗脱程序具体为:0-35min,流动相A:流动相B的体积比为82%:18%;35-60min,流动相A:流动相B的体积比为82%:18% $\rightarrow$ 76%:24%;60-61min,流动相A:流动相B的体积比为76%:24% $\rightarrow$ 5%:95%;61-65min,流动相A:流动相B的体积比为5%:95%;65-66min,流动相A:流动相B的体积比为5%:95% $\rightarrow$ 82%:18%;66-75min,流动相A:流动相B的体积比为82%:18%;检测波长:198-208nm;

测定法:分别吸取对照品溶液和供试品溶液,注入液相色谱仪,测定并计算;还包括如下 $\beta$ -细辛醚的含量测定和当归的鉴别;

B、 $\beta$ -细辛醚的含量测定和当归的鉴别

供试品溶液的制备:取所述中药组合物,加入有机溶剂提取,得供试品溶液;

对照品溶液的制备:取 $\beta$ -细辛醚对照品、藁本内酯对照品,加入有机溶剂制成对照品溶液;

色谱条件:照高效液相色谱法测定,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以0.05-0.2vt%磷酸或0.1-0.3vt%甲酸为流动相A,以甲醇为流动相B,梯度洗脱,检测波长:230-350nm;在所述 $\beta$ -细辛醚的含量测定和当归的鉴定中,所述梯度洗脱程序具体为:0-25min,流动相A:流动相B的体积比为45%:55%;25-26min,流动相A:流动相B的体积比为45%:55% $\rightarrow$ 42%:58%;26-38min,流动相A:流动相B的体积比为42%:58%;38-38.5min,流动相A:流动相B的体积比为42%:58% $\rightarrow$ 5%:95%;38.5-42min,流动相A:流动相B的体积比为5%:95%;42.5-47min,流动相A:流动相B的体积比为5%:95% $\rightarrow$ 45%:55%;在所述 $\beta$ -细辛醚的含量测定和当归的鉴定中,0-25min时,检测波长为250-260nm;25-47min,检测波长为330-340nm。

2. 根据权利要求1所述的中药组合物的检测方法,其特征在于,在所述人参皂苷Rg1、人参皂苷Re的含量测定中,所述碱液为NaOH溶液、KOH溶液、Ca(OH)<sub>2</sub>溶液、氨水、碳酸钠溶液和

碳酸钾溶液中的一种或几种的混合溶液;所述碱液的质量浓度为3-20%;所述有机溶剂为甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯、正丁醇、氯仿和石油醚中的一种;所述有机酸为甲酸、乙酸和丙酸中的一种,所述有机酸的体积浓度为0.3%-0.5%。

3. 根据权利要求1或2所述的中药组合物的检测方法,其特征在于,在所述人参皂苷Rg1、人参皂苷Re的含量测定中,所述供试品溶液制备的具体步骤为:取所述中药组合物0.5-2g,研细,称定重量,加入正丁醇饱和的3-8wt%NaOH水溶液8-12ml,60-90℃下水浴加热5-10min,加入40-60ml饱和正丁醇,振荡,超声,冷却,离心,取上清液加入0.3-0.5vt%乙酸水溶液1-3ml,70-90℃下水浴蒸干,冷却,残渣加入5-20vt%甲醇溶液溶解,稀释定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

4. 根据权利要求1或2所述的中药组合物的检测方法,其特征在于,还包括如下淫羊藿苷的含量测定、熟地黄的鉴别和炙甘草的鉴别中的至少一种:

#### C、淫羊藿苷的含量测定

供试品制备:取所述中药组合物,加入有机溶剂提取,得供试品溶液;

对照品溶液的制备:取淫羊藿苷对照品适量,加入有机溶剂提取制成对照品溶液;

色谱条件与系统适用性试验:照高效液相色谱法测定,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈为流动相A,以0.05-0.2vt%磷酸溶液或水为流动相B;检测波长250-300nm;

测定法:吸取对照品溶液与供试品溶液,注入液相色谱仪,测定并计算;

#### D、熟地黄的鉴别

供试品溶液制备:称取所述中药组合物,加入纯水溶解,用正丁醇萃取,静置,弃去正丁醇液,向水层加入无水乙醇,振荡,静置,弃去乙醇液,向沉淀加入甲醇,超声处理,滤过,蒸干滤液,冷却至室温,残渣加甲醇溶液使溶解,即得;

对照品溶液的制备:另取水苏糖对照品适量,加有机溶剂制成对照品的溶液;

鉴别:照薄层色谱法试验,吸取供试品溶液和对照品溶液,以乙酸乙酯-甲醇-水-冰醋酸为展开剂展开,喷以硫酸乙醇溶液,加热至斑点显色清晰;

#### E、炙甘草的鉴别

供试品溶液的制备:取所述中药组合物,先加入醇溶液提取,然后加入水和饱和正丁醇萃取,分取正丁醇液,蒸干正丁醇得残渣,加醇溶液溶解残渣,得供试品溶液;

对照品溶液的制备:另取甘草酸铵对照品,加入有机溶剂制成对照品溶液;

鉴别:照薄层色谱法试验,吸取供试品溶液和对照品溶液,以正丁醇-甲醇-浓氨试液-水为展开剂展开,在紫外灯下检视。

5. 根据权利要求1或2所述的检测方法,其特征在于,在所述β-细辛醚的含量测定和当归的鉴定中,所述供试品溶液制备的具体步骤为:取所述中药组合物0.5-3g,研细,称定重量,加入60-100vt%甲醇溶液10-30ml,称重,超声5-35min,放冷,再称重,用60-100vt%甲醇溶液补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

6. 根据权利要求4所述的中药组合物的检测方法,其特征在于,

在熟地黄的鉴别中,所述展开剂为体积比为1-5:1-3:0.5-2:1-3的乙酸乙酯-甲醇-水-冰醋酸;

在炙甘草的鉴别中,所述展开剂为体积比为2-8:1-3:0.1-2:1-3的正丁醇-甲醇-浓氨试液-水。

7. 根据权利要求1或2所述的中药组合物的检测方法,其特征在于,所述中药组合物添加常规辅料按照常规工艺直接或间接制成临床上可接受的片剂、颗粒剂、胶囊剂或口服液。

8. 根据权利要求1所述的中药组合物的检测方法,其特征在于,步骤(1)提取具体方法为:称取当归和石菖蒲,粉碎,加入水,浸泡0.3-1h,然后用水蒸气蒸馏提取挥发油,提取时间为2-8 h,分别收集挥发油和水提取液,水提取液滤过,备用;

所述包合的具体方法为:在挥发油中加入 $\beta$ -环糊精和水,研磨包合20-40min,静置,过滤,收集包合物,30-50°C烘干,备用;

其中,包合过程中,挥发油、水和 $\beta$ -环糊精的用量比为1ml:32-144ml:4-12g。

## 一种中药组合物的检测方法及其应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及中药制剂领域,具体涉及一种中药组合物的检测方法及其应用。

### 背景技术

[0002] 阿尔茨海默病(Alzheimerdisease,AD),又称为老年性痴呆,是一种进行性发展且不可逆的神经系统退行性疾病。该病主要以记忆障碍、智力衰退、执行功能障碍以及人格和行为改变为临床表现,且起病缓慢或隐匿,发病率高,多见于70岁以上老人,我国约有800万AD患者,年龄>65岁人群患病率为5%,年龄>80岁人群高达40%。阿尔茨海默病的病因复杂,总体上是遗传因素、环境因素和生活习惯等多因素作用的结果。

[0003] 痴呆的主要临床症状为记忆力渐近性衰退、认知功能下降,有研究表明,AD的主要病理特征为 $\beta$ 淀粉样蛋白异常沉积而形成的老年斑和tau蛋白过度磷酸化导致神经元纤维缠结。痴呆患者早期记忆减退,判断能力下降,对事物认知存在障碍,而到了晚期,患者失去生活自理能力,完全依赖照护者,严重记忆力丧失,有强握、摸索和吸吮等原始反射,最终昏迷,一般死于感染等并发症,这严重影响患者的生活质量,并给家庭带来沉重的经济压力及相应的护理负担。

[0004] 痴呆的具体发病机制目前仍未完全阐明,存在多种假说,包括炎症学说、A $\beta$ 毒性学说、tau蛋白异常修饰学说、氧化应激学说、胆碱能损伤学说等,现临床上最为广泛的AD治疗药物是针对胆碱能损伤学说而使用的乙酰胆碱酯酶抑制剂,主要包括他克林衍生物、卡巴拉汀、石杉碱甲等,但治疗范围及效果有限。对于老年痴呆的治疗仍是缺乏有效的预防与治疗手段,因此,低毒、有效且对应多靶点治疗的药物开发一直是老年痴呆症研究的重点方向。

[0005] 近些年来,随着中医药基础理论不断地深入研究及各种实验病理模型的药效学研究,结合临床医师多年的临床实践,证实其临床疗效良好、治疗对应靶点多、治疗范围广,更弥补了化学药疗效不佳、治疗靶点少且存在一定副作用的不足。鉴于中药是一个由多种成分构成的复杂体系,且其成分受多个因素影响,如品种、产地、采收、炮制加工等,但中药中多样性、复杂性的成分是其疗效良好、作用广泛、副作用较小的物质基础,该物质基础长期处于一种模糊、难以全面评价的状态;经多味药味的配伍煎煮后,复方的质量更是无法用明确、有效、合理的指标进行评价,然而中药复方治疗效果与其质量有着直接关系,中药复方质量不良会直接导致治疗效果的不佳,这需要对中药复方进行质量控制以保证疗效的稳定性、可控性。中药质量的控制需要能对全部药效成分进行监控,建立的质量控制体系才能保证用药的有效性、可控性、安全性。因此,建立中医药基础理论特色的现代质量管控体系,解决中药分析的难题,改进现有质量控制方法是当今研究的热点。

### 发明内容

[0006] 因此,本发明要解决的技术问题在于提供一种中药组合物的检测方法及其应用,克服了因中药药味繁多、成分复杂且相互干扰以致不能全面的、清晰地对所述中药组合物

的质量进行检测监控的缺陷,提高了所述中药组合物质量的稳定性、一致性和可控性。

[0007] 本发明提供了一种中药组合物的检测方法,所述中药组合物包括如下重量份的原料药组成:人参4-9份、炒酸枣仁4-9份、炙淫羊藿4-9份、熟地黄5-12份、麸炒白术3-8份、制远志3-8份、石菖蒲4-9份、当归5-12份、炙甘草1-5份;

[0008] 所述中药组合物的检测方法包括如下人参皂苷Rg<sub>1</sub>、人参皂苷Re的含量测定步骤:

[0009] A、人参皂苷Rg<sub>1</sub>、人参皂苷Re的含量测定

[0010] 供试品溶液的制备:取所述中药组合物,依次经碱液提取、饱和正丁醇萃取、有机酸中和、蒸干和有机试剂溶解,得供试品溶液;

[0011] 对照品溶液的制备:取人参皂苷Rg<sub>1</sub>对照品、人参皂苷Re对照品,加入有机溶剂制成对照品溶液;

[0012] 色谱条件:照高效液相色谱法测定,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以纯水为流动相A,以乙腈为流动相B,梯度洗脱,检测波长:198-208nm;

[0013] 测定法:分别吸取对照品溶液和供试品溶液,注入液相色谱仪,测定并计算。

[0014] 进一步地,在所述人参皂苷Rg<sub>1</sub>、人参皂苷Re的含量测定中,所述梯度洗脱程序具体为:0-35min,流动相A:流动相B的体积比为82%:18%;35-60min,流动相A:流动相B的体积比为82%:18%→76%:24%;60-61min,流动相A:流动相B的体积比为76%:24%→5%:95%;61-65min,流动相A:流动相B的体积比为5%:95%;65-66min,流动相A:流动相B的体积比为5%:95%→82%:18%;66-75min,流动相A:流动相B的体积比为82%:18%。

[0015] 优选地,在所述人参皂苷Rg<sub>1</sub>、人参皂苷Re的含量测定中,所述碱液为NaOH溶液、KOH溶液、Ca(OH)<sub>2</sub>溶液、氨水、碳酸钠溶液和碳酸钾溶液中的一种或几种的混合溶液;所述碱液的质量浓度为3-20%;所述有机溶剂为甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯、正丁醇、氯仿和石油醚中的一种;所述有机酸为甲酸、乙酸和丙酸中的一种,所述有机酸的浓度为0.3%-0.5%。

[0016] 进一步地,在所述人参皂苷Rg<sub>1</sub>、人参皂苷Re的含量测定中,所述供试品溶液制备的具体步骤为:取所述中药组合物0.5-2g,研细,称定重量,加入3-8wt%NaOH水溶液8-12ml,70-90℃下水浴加热5-10min,加入40-60ml饱和正丁醇,振荡,超声,冷却,离心,取上清液加入0.3-0.5vt%乙酸水溶液1-3ml,70-90℃下水浴蒸干,冷却,残渣加入5-20vt%甲醇溶液溶解,稀释定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

[0017] 优选地,还包括如下述β-细辛醚的含量测定和当归的鉴定、淫羊藿苷的含量测定、熟地黄鉴别和甘草鉴别中的至少一种:

[0018] B、β-细辛醚的含量测定和当归的鉴定

[0019] 供试品溶液的制备:取所述中药组合物,加入有机溶剂提取,得供试品溶液;

[0020] 对照品溶液的制备:取β-细辛醚对照品、藁本内酯对照品,加入有机溶剂制成对照品溶液;

[0021] 色谱条件:照高效液相色谱法测定,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以0.05-0.2vt%磷酸或0.1-0.3vt%甲酸为流动相A,以甲醇为流动相B,梯度洗脱,检测波长:230-350nm。

[0022] C、淫羊藿苷的含量测定

[0023] 供试品制备:取所述中药组合物,加入有机溶剂提取,得供试品溶液;

- [0024] 对照品溶液的制备:取淫羊藿苷对照品适量,加入有机溶剂提取制成对照品溶液;
- [0025] 色谱条件与系统适用性试验:照高效液相色谱法测定,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈为流动相A,以0.05-0.2vt%磷酸溶液或水为流动相B;检测波长250-300nm;
- [0026] 测定法:吸取对照品溶液与供试品溶液,注入液相色谱仪,测定并计算;
- [0027] D、熟地黄的鉴别
- [0028] 供试品溶液制备:称取所述中药组合物,加入纯水溶解,用正丁醇萃取,静置,弃去正丁醇液,向水层加入无水乙醇,振荡,静置,弃去乙醇液,向沉淀加入甲醇,超声处理,滤过,蒸干滤液,冷却至室温,残渣加甲醇溶液使溶解,即得;
- [0029] 对照品溶液的制备:另取水苏糖对照品适量,加有机溶剂制成对照品的溶液;
- [0030] 鉴别:照薄层色谱法试验,吸取供试品溶液和对照品溶液,以乙酸乙酯-甲醇-水-冰醋酸为展开剂展开,喷以硫酸乙醇溶液,加热至斑点显色清晰;
- [0031] E、炙甘草的鉴别
- [0032] 供试品溶液的制备:取所述中药组合物,先加入醇溶液提取,然后加入水和饱和正丁醇萃取,分取正丁醇液,蒸干正丁醇得残渣,加醇溶液溶解残渣,得供试品溶液;
- [0033] 对照品溶液的制备:另取甘草酸铵对照品,加入有机溶剂制成对照品溶液;
- [0034] 鉴别:照薄层色谱法试验,吸取供试品溶液和对照品溶液,以正丁醇-甲醇-浓氨试液-水为展开剂展开,在紫外灯下检视。
- [0035] 进一步地,在所述 $\beta$ -细辛醚的含量测定和当归的鉴定中,所述梯度洗脱程序具体为:0-25min,流动相A:流动相B的体积比为45%:55%;25-26min,流动相A:流动相B的体积比为45%:55% $\rightarrow$ 42%:58%;25-38min,流动相A:流动相B的体积比为42%:58%;38-38.5min,流动相A:流动相B的体积比为42%:58% $\rightarrow$ 5%:95%;38.5-42min,流动相A:流动相B的体积比为5%:95%;42.5-47min,流动相A:流动相B的体积比为5%:95% $\rightarrow$ 45%:55%。
- [0036] 优选地,在所述 $\beta$ -细辛醚的含量测定和当归的鉴定中,0-25min时,检测波长为250-260nm;25-47min,检测波长为330-340nm。
- [0037] 进一步地,在所述 $\beta$ -细辛醚的含量测定和当归的鉴定中,所述供试品溶液制备的具体步骤为:取所述中药组合物0.5-3g,研细,称定重量,加入60-100vt%甲醇溶液10-30ml,称重,超声5-35min,放冷,再称重,用60-100vt%甲醇溶液补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。
- [0038] 优选地,在熟地黄的鉴别中,所述展开剂为体积比为1-5:1-3:0.5-2:1-3的乙酸乙酯-甲醇-水-冰醋酸;
- [0039] 在炙甘草的鉴别中,所述展开剂为体积比为2-8:1-3:0.1-2:1-3的正丁醇-甲醇-浓氨试液-水。
- [0040] 进一步地,所述药物组合物添加常规辅料按照常规工艺直接或间接制成临床上可接受的片剂、颗粒剂、胶囊剂或口服液。
- [0041] 优选地,所述中药组合物的制备方法,包括如下步骤:
- [0042] (1)称取当归和石菖蒲,加水浸泡,水蒸气蒸馏提取,得挥发油和水提取液,向挥发油中加入 $\beta$ -环糊精和水包合,得包合物;



[0043] (2) 称取人参、熟地黄、制远志、麸炒白术、炒酸枣仁、炙淫羊藿、炙甘草,加水提取,得水提取液;

[0044] (3) 合并步骤(1)和(2)制得的水提取液,减压浓缩得清膏;

[0045] (4) 将步骤(3)制得的清膏干燥,制成干膏粉,加入所述包合物和常规辅料,混匀,即得。

[0046] 进一步地,步骤(1)提取具体方法为:称取当归和石菖蒲,粉碎,加入水,浸泡0.3-1h,然后用水蒸气蒸馏提取挥发油,提取时间为2-8h,分别收集挥发油和水提取液,水提取液滤过,备用;

[0047] 所述包合的具体方法为:在挥发油中加入 $\beta$ -环糊精和水,研磨包合20-40min,静置,过滤,收集包合物,30-50℃烘干,备用;

[0048] 其中,包合过程中,挥发油、水和 $\beta$ -环糊精的用量比为1ml:32-144ml:4-12g。

[0049] 本发明技术方案,具有如下优点:

[0050] 1. 本发明所述的中药组合物的检测方法,通过测定所述中药组合的有效成分人参皂苷 $Rg_1$ 与人参皂苷Re的含量,实现了对产品质量的有效监控,在人参皂苷 $Rg_1$ 、人参皂苷Re含量测试方法的供试品溶液制备中,结合中药组合物中药物成分复杂性和多样性,通过多次筛选得到合适的提取方法,先加入碱液提取,然后加入饱和正丁醇萃取,离心后,取上清液加有机酸中和,使得能够将供试品溶液中的人参皂苷 $Rg_1$ 与人参皂苷Re彼此分离,且与其他杂质峰有效地分离开来,更有利于药物的质量检测,使得检测得到的色谱精确、稳定可靠,且该处理方法具有方便,操作简单,不仅能够快速、简便的获知该产品的质量情况的,更可以有效的对产品的质量性能进行监控;进一步地,通过控制高效液相色谱分析条件,筛选得到合适的流动相组成和梯度洗脱程序,有效地克服因中药药味繁多、各类成分复杂且相互干扰而不能全面的、清晰地对所述中药组合物的质量进行检测的缺陷,分别得到对该药物组成中的人参皂苷 $Rg_1$ 与人参皂苷Re等有效成分的色谱峰,从而实现了全面的、清楚地对所述中药组合物进行质量检测,进一步实现了所述中药组合物质量的控制,且该质量检测方法具有简单快速、稳定可靠、精密度高、易于掌握的优势。

[0051] 2. 本发明所述的中药组合物的检测方法,通过测定 $\beta$ -细辛醚的含量以及对藁本内酯进行鉴别,提高了对所述中药组合物质量监控的全面性和可靠性;通过对供试品溶液合适的提取方法制得供试品溶液,选择合适的流动相和梯度洗脱程序,使得使用同一流动相系统,即可一次性完成所述中药组合物中 $\beta$ -细辛醚的含量测定和藁本内酯的鉴定,不仅专属性强,线性关系、精密度、回收率满足要求,能够快速、简便的获知该产品的质量情况,更可以有效的对产品的质量性能进行监控。

[0052] 3. 本发明所述的中药组合物的检测方法,通过测定淫羊藿苷的含量测,进一步提高了对所述中药组合物质量监控的全面性和可靠性;通过对供试品溶液和对照品溶液进行提取处理,选择合适的流动相和梯度洗脱程序,使得检测方法准确可靠,专属性强,线性关系、精密度、回收率满足要求,操作简单方便。

[0053] 4. 本发明所述的中药组合物的检测方法,通过对中药组合物用水溶解后,正丁醇萃取,甲醇溶解制得供试品溶液并以乙酸乙酯-甲醇-水-冰醋酸为展开剂对供试品溶液进行展开,将水苏糖与其他杂质有效分离,实现中药组合物中熟地黄的鉴别;通过对中药组合物加醇提取,正丁醇萃取,醇溶液溶解制得供试品溶液,并以正丁醇-甲醇-浓氨试液-水为

展开剂对供试品溶液进行展开,将甘草酸铵与其他杂质有效分离,实现中药组合中炙甘草的鉴别,使得对所述中药组合物的质量检测更全面,更完善的表征了药物的有效活性组分及其质量,有利于对活性成分的全面监控,进一步保证了所述中药组合物质量的稳定性、一致性和可控性,并确保了所述中药组合物的安全性和有效性。

### 附图说明

[0054] 为了更清楚地说明本发明具体实施方式或现有技术中的技术方案,下面将对具体实施方式或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图是本发明的一些实施方式,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0055] 图1是实验例1中试验组的高效液相色谱图;其中A为供试品溶液色谱图,B为阴性对照品溶液色谱图;

[0056] 图2为实验例1中对照组的高效液相色谱图;其中A为供试品溶液色谱图,B为阴性对照品溶液色谱图;

[0057] 图3是实验例3中试验组的高效液相色谱图;其中A为 $\beta$ -细辛醚对照品溶液色谱图,B为供试品溶液色谱图,C为石菖蒲阴性对照品溶液色谱图;

[0058] 图4是实验例3中对照组的高效液相色谱图;其中A为 $\beta$ -细辛醚对照品溶液色谱图,B为供试品溶液色谱图,C为石菖蒲阴性对照品溶液色谱图;

[0059] 图5是实施例4中人参皂苷 $Rg_1$ 、人参皂苷Re的含量测定高效液相色谱图;其中A为人参皂苷 $Rg_1$ 和人参皂苷Re对照品溶液色谱图,B为供试品溶液色谱图,C为阴性对照品溶液色谱图;

[0060] 图6是实施例5中 $\beta$ -细辛醚的含量测定和当归的鉴定高效液相色谱图;其中A为藁本内酯和 $\beta$ -细辛醚对照品溶液色谱图,B为当归阴性对照品溶液色谱图,C为石菖蒲阴性对照品溶液色谱图,D为供试品溶液色谱图;

[0061] 图7是实施例6中淫羊藿苷的含量测定高效液相色谱图;其中A为淫羊藿苷对照品溶液色谱图,B为供试品溶液色谱图,C为阴性对照品溶液色谱图;

[0062] 图8是实施例21中熟地黄鉴别的薄层色谱图;图中从左到右依次为:供试品溶液1、供试品溶液2、供试品溶液3、对照品溶液、阴性对照品溶液;

[0063] 图9是实施例22中炙甘草鉴别的薄层色谱图;图中从左到右依次为:供试品溶液1、供试品溶液2、供试品溶液3、对照品溶液、阴性对照品溶液。

### 具体实施方式

[0064] 实验例1人参皂苷Re和人参皂苷 $Rg_1$ 含量测定中梯度洗脱程序的考察

[0065] 按照实施例12的组成和制法制得的颗粒剂,平行分为两组,分别为试验组和对照组,试验组和对照组分别按照如下方法进行人参皂苷Re和人参皂苷 $Rg_1$ 的含量测定。

[0066] (1) 试验组:取上述颗粒剂按照实施例14中“供试品溶液的制备”方法和“阴性对照品溶液的制备”方法,制得供试品溶液和阴性对照品溶液,然后按照实施例14公开的“色谱条件”和“测定法”进行图谱测定,结果如图1所示。

[0067] (2) 对照组:取上述颗粒剂按照实施例14中“供试品溶液的制备”方法和“阴性对照

品溶液的制备”方法,制得供试品溶液和阴性对照品溶液,然后按照如下表所示梯度洗脱程序进行测定,对照组和试验组中除梯度洗脱程序之外的其他色谱条件和测定方法均相同,考察不同的梯度洗脱程序对色谱分析结果的影响,峰面积之比 = (阴性对照品溶液的峰面积) / (供试品溶液的峰面积) × 100%。结果如图2所示。

[0068]	时间(分钟)	流动相A(%)	流动相B(%)
	0~35	19	81
	35~55	19→29	81→71
	55~70	29	71
	70~70.5	29→95	71→5
	70.5~75	95	5
	75~75.5	95→19	5→81
	75.5~85	19	81

[0069] (3) 图谱结果分析结果,如图1和2所示,试验组中,人参皂苷Rg<sub>1</sub>峰面积之比的RSD值为4.5%,人参皂苷Re峰面积之比的RSD值为3.5%,人参皂苷Re和人参皂苷Rg<sub>1</sub>的峰面积之比均小于5%,说明人参皂苷Re和人参皂苷Rg<sub>1</sub>的阴性对照品溶液和供试品溶液均分离良好,阴性对照品无干扰。对照组中,人参皂苷Rg<sub>1</sub>的峰面积之比的RSD值为1.4%,人参皂苷Re的峰面积之比的RSD值为7.2%,对照组中人参皂苷Re峰面积占比大于5%,阴性对照品存在干扰。

[0070] 实验例2人参皂苷Re和Rg<sub>1</sub>含量测定中供试品溶液制备方法的考察

[0071] 按照实施例12的组成和制法制得的颗粒剂,平行分为三组,分别为试验组和对照组1和对照组2,每组六份,试验组、对照组和对照组2分别按照如下方法进行人参皂苷Re和人参皂苷Rg<sub>1</sub>的含量测定。

[0072] (1) 试验组:取上述颗粒剂按照实施例14中“供试品溶液的制备”方法和“阴性对照品溶液的制备”方法,制得供试品溶液和阴性对照品溶液,然后按照实施例14公开的“色谱条件”和“测定法”进行图谱测定。

[0073] (2) 对照组1:取上述颗粒剂按照下述方法中供试品溶液的制备方法和阴性对照品溶液的制备方法,制得供试品溶液和阴性对照品溶液,然后按照实施例14公开的“色谱条件”和“测定法”进行图谱测定。

[0074] 供试品溶液的制备:取所述中药组合物1g,研细,称定重量,至100ml具塞锥形瓶中,加入水溶液10ml,85℃下水浴加热5min,加入50ml饱和正丁醇,振荡,超声30min,冷水浴10min,于4000r/min离心5min,取上清液至分液漏斗中,加入正丁醇饱和的5wt%NaOH水溶液洗涤,静置,分取上层液至蒸发皿中,精密加入0.4vt%乙酸水溶液2ml,85℃下水浴蒸干,冷却至室温,残渣加入10vt%甲醇溶液溶解并转移至10ml容量瓶中,加10vt%甲醇溶液稀释定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得;

[0075] 阴性对照品的制备:按中药组合物组成和制法制备不含人参的颗粒剂,按“对照组1供试品溶液的制备”方法制备阴性对照品溶液。

[0076] (3) 对照组2:取上述颗粒剂按照下述方法中供试品溶液的制备方法和阴性对照品溶液的制备方法,制得供试品溶液和阴性对照品溶液,然后按照实施例14公开的“色谱条件”和“测定法”进行图谱测定。

[0077] 供试品溶液的制备:取所述中药组合物1g,研细,称定重量,至100ml具塞锥形瓶中,加入水溶液10ml,超声溶解30min,加入50ml饱和正丁醇,振荡,超声30min,冷水浴10min,于4000r/min离心5min,取上清液至分液漏斗中,加入正丁醇饱和的5wt%NaOH水溶液洗涤,静置,分取上层液至蒸发皿中,精密加入0.4vt%乙酸水溶液2ml,85℃下水浴蒸干,冷却至室温,残渣加入10vt%甲醇溶液溶解并转移至10ml容量瓶中,加10vt%甲醇溶液稀释定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得;

[0078] 阴性对照品的制备:按中药组合物组成和制法制备不含人参的颗粒剂,按“对照组2供试品溶液的制备”方法制备阴性对照品溶液。

[0079] (4) 图谱结果分析结果:试验组中,人参皂苷Rg<sub>1</sub>和人参皂苷Re含量的RSD值均小于3%;而对照组1和2中,人参皂苷Rg<sub>1</sub>的RSD值和人参皂苷Re含量的RSD值为均大于5%,由此可知,试验组的提取纯化效果明显好于对照组1和对照组2的方法。

[0080] 实验例3β-细辛醚含量测定和藁本内酯鉴定中梯度洗脱程序的考察

[0081] 由于本发明所述中药组合物中成分复杂,以黄酮类、皂苷类及多糖类成分居多,对β-细辛醚、藁本内酯的测定有一定难度,因此,前期实验中考察梯度洗脱程度对色谱分析结果的影响。

[0082] 按照实施例12的组成和制法制得的颗粒剂,平行分为两组,分别为试验组和对照组,试验组和对照组分别按照如下方法进行人参皂苷Re和人参皂苷Rg<sub>1</sub>的含量测定。

[0083] (1) 试验组:取上述颗粒剂按照实施例17中“供试品溶液的制备”方法和“阴性对照品溶液的制备”方法,制得供试品溶液和阴性对照品溶液,然后按照实施例17公开的“色谱条件”和“测定法”进行图谱测定,结果如图3所示。

[0084] (2) 对照组:取上述颗粒剂按照实施例17中“供试品溶液的制备”方法和“阴性对照品溶液的制备”方法,制得供试品溶液和阴性对照品溶液,然后按照如下表所示梯度洗脱程序进行测定,对照组和试验组中除梯度洗脱程序之外的其他色谱条件和测定方法均相同,考察不同的梯度洗脱程序对色谱分析结果的影响。结果如图4所示。

时间/min	流动相B(%)	流动相A(%)
0~35	57	43
35~35.5	57→95	43→5
35.5~39	95	5

[0086] (3) 图谱结果分析结果:如图3和4所示,试验组中,供试品溶液中β-细辛醚峰与其他成分的峰无干扰,而且阴性对照品中的成分在β-细辛醚所在保留时间处无干扰,,分离良好,而对照组中,供试品溶液中,β-细辛醚峰与其他成分的峰相互干扰,峰形差。

[0087] 实验例4人参皂苷Rg<sub>1</sub>、人参皂苷Re含量测定的方法学考察

[0088] 1专属性考察

[0089] ①按照实施例12记载的处方和制法制备颗粒剂,然后按照实施例17中供试品溶液的制备方法和对照品溶液的制备方法分别制得供试品溶液和对照品溶液;对照品溶液中,含人参皂苷Rg<sub>1</sub>的浓度为1.87668mg/ml,含人参皂苷Re浓度为1.94994mg/ml;②按实施例12中记载的处方比例和制法,制备不含人参的颗粒剂,即人参阴性对照品,再按实施例14记载的供试品溶液制备方法制备人参阴性对照品溶液。

[0090] 按实施例14中的色谱条件,分别取供试品溶液、对照品溶液和人参阴性对照品溶

液进样色谱柱,结果见图5所示,供试品溶液中人参皂苷Rg<sub>1</sub>和人参皂苷Re以及与其他杂质峰的分离度均大于1.5,说明分离情况较好,且人参阴性对照品溶液在与人参皂苷Rg<sub>1</sub>和人参皂苷Re相同保留时间处均未显色谱峰,故认为无干扰,专属性强。

#### [0091] 2线性关系的考察

[0092] 精密吸取上述对照品溶液,稀释得Rg<sub>1</sub>/Re (μg/ml) 浓度分别为0.1407/0.09750、0.2815/0.1950、0.5630/0.3900、1.126/0.7800、2.252/1.560、3.754/3.120、7.507/4.680 μg/ml的混标溶液,精密吸取10 μl分别注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积积分值为纵坐标,对照品的进样量为横坐标,分别绘制人参皂苷Rg<sub>1</sub>和人参皂苷Re的标准曲线,人参皂苷Rg<sub>1</sub>的回归方程:Y=348.7X+16.501, R<sup>2</sup>=0.9996;人参皂苷Re的回归方程:Y=291.17X+2.0811, R<sup>2</sup>=0.9999。结果表明,人参皂苷Rg<sub>1</sub>在0.14075 μg/ml~7.50672 μg/ml范围内呈线性关系,人参皂苷Re在0.0975 μg/ml~4.67986 μg/ml范围内呈线性关系。

#### [0093] 3精密度试验

[0094] 精密量取上述对照品溶液,按实施例14中的色谱条件重复进样6次,测定人参皂苷Rg<sub>1</sub>和人参皂苷Re的峰面积,计算峰面积的RSD值。其中,人参皂苷Rg<sub>1</sub>峰面积的RSD值为1.62%,人参皂苷Re峰面积的RSD值为1.08%。结果表明,本色谱条件下仪器精密度良好。

#### [0095] 4重复性试验

[0096] 取上述颗粒剂,按实施例14中记载的方法平行操作,制备供试品溶液六份,并测定人参皂苷Rg<sub>1</sub>和人参皂苷Re的峰面积,计算含量及RSD值,其中,人参皂苷Rg<sub>1</sub>含量的RSD值为1.60%,人参皂苷Re含量的RSD值为1.62%。结果表明,本方法重复性良好。

#### [0097] 5回收率试验

[0098] 采用100%加样回收法。精密称取上述颗粒剂约0.5g,共6份,按实施例14供试品溶液的制备方法制得六份供试品溶液,分别加入一定量的对照品溶液(人参皂苷Rg<sub>1</sub>浓度为0.750672mg/mL和人参皂苷Re浓度为0.4679856mg/mL的混合对照品溶液0.36ml),按照实施例14记载的色谱条件进行测定,按下式计算回收率,回收率=(实测值-供试品含量×取样量)/加入量×100%,其中,人参皂苷Rg<sub>1</sub>的平均回收率为98.58%,RSD值为1.89%,人参皂苷Re的平均回收率为101.20%,RSD值为2.66%。结果表明,本方法的回收率符合要求。

#### [0099] 实验例5β-细辛醚含量测定和藁本内酯鉴别的方法学考察

##### [0100] 1专属性考察

[0101] ①按照实施例12记载的处方和制法制备颗粒剂,然后按照实施例17中供试品溶液的制备方法和对照品溶液的制备方法分别制得供试品溶液和对照品溶液;对照品溶液中,含β-细辛醚的浓度为0.1754016mg/mL;②按实施例17中记载的处方比例和制法,分别制备不含当归或石菖蒲的颗粒剂,即当归阴性对照品和石菖蒲阴性对照品,再按实施例17记载的供试品溶液制备方法分别制备当归阴性对照品溶液和石菖蒲对照品溶液。

[0102] 按实施例17中的色谱条件,分别取供试品溶液、对照品溶液、当归阴性对照品溶液和石菖蒲对照品溶液进样色谱柱,结果见图6所示,供试品溶液中β-细辛醚与其他杂质峰的分离度均大于1.5,说明分离情况较好,当归阴性对照品溶液在与藁本内酯相同保留时间处未显色谱峰,石菖蒲对照品溶液在与β-细辛醚相同保留时间处未显色谱峰,故认为无干扰,专属性强。

##### [0103] 2线性关系考察

[0104] 精密吸取 $\beta$ -细辛醚对照品溶液(浓度为0.1754016mg/mL)稀释得浓度分别为0.001754mg/ml、0.003508mg/ml、0.007016mg/ml、0.01052mg/ml、0.014032mg/ml、0.01754mg/ml的对照品溶液10 $\mu$ l。记录色谱图,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程为: $Y=3388.3X+7.5019$ , $R^2=0.9996$ 。结果表明, $\beta$ -细辛醚在0.01754 $\mu$ g~0.17540 $\mu$ g范围内呈良好线性关系。

[0105] 3精密度试验

[0106] 精密量取上述对照品溶液,按实施例17中的色谱条件重复进样6次,并测定 $\beta$ -细辛醚的峰面积,计算峰面积的RSD值,RSD值为0.14%。结果表明,本色谱条件下仪器精密度良好。

[0107] 4重复性试验

[0108] 取上述颗粒剂,按实施例17中记载的方法平行操作,制备供试品溶液七份,并测定 $\beta$ -细辛醚的峰面积,计算含量,七份样品中 $\beta$ -细辛醚的平均含量为0.1333mg/g,RSD%为2.35%。结果表明,本方法重复性良好。

[0109] 6加样回收率试验

[0110] 采用100%加样回收法。精密称取上述颗粒剂约0.5g,共8份,按实施例17供试品溶液的制备方法制得六份供试品溶液,分别加入一定量的对照品溶液( $\beta$ -细辛醚浓度为0.17555mg/ml的对照品溶液加入0.4ml),按照实施例17记载的色谱条件进行测定,按下式计算回收率,回收率=(实测值-供试品含量 $\times$ 取样量)/加入量 $\times$ 100%, $\beta$ -细辛醚的平均回收率为96.26%,RSD值为1.11%,结果表明,本方法回收率符合要求。

[0111] 实验例6淫羊藿苷定量测定的方法学考察

[0112] 1专属性考察

[0113] ①按照实施例14记载的处方和制法制备颗粒剂,然后按照实施例17中供试品溶液的制备方法和对照品溶液的制备方法分别制得供试品溶液和对照品溶液;对照品溶液中,含淫羊藿苷的浓度为1.0023mg/ml;②按实施例17中记载的处方比例和制法,分别制备不含淫羊藿的颗粒剂,即淫羊藿阴性对照品,再按实施例17记载的供试品溶液制备方法分别制备淫羊藿阴性对照品溶液。

[0114] 按实施例17中的色谱条件,分别取供试品溶液、对照品溶液、淫羊藿阴性对照品溶液进样色谱柱,结果见图7所示,供试品溶液中淫羊藿苷与其他杂质峰的分离度均大于1.5,说明分离情况较好,淫羊藿阴性对照品溶液在与淫羊藿苷相同保留时间处未显色谱峰,故认为无干扰,专属性强。

[0115] 2线性关系考察

[0116] 精密吸取淫羊藿苷对照品溶液(1.0023mg/ml)稀释得浓度分别为0.02506mg/ml、0.05011mg/ml、0.1002mg/ml、0.1503mg/ml、0.2005mg/ml、0.2506mg/ml的对照品溶液10 $\mu$ l,分别注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积积分值为纵坐标,淫羊藿苷的量为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $Y=2438523.529X+43855.3753$ , $R^2=0.9992$ 。结果表明,淫羊藿苷在0.2506 $\mu$ g~2.506 $\mu$ g范围内呈线性关系。

[0117] 3精密度试验

[0118] 精密量取上述对照品溶液,按实施例17中的色谱条件重复进样6次,并测定淫羊藿苷峰面积,计算峰面积的RSD值。RSD值为0.19%。结果表明,本色谱条件下仪器精密度良好。

[0119] 4重复性试验

[0120] 取上述颗粒剂,按实施例17中记载的方法平行操作,制备供试品溶液七份,并测定淫羊藿苷的峰面积,计算含量,七份样品中淫羊藿苷的平均值为1.769mg/g,RSD%为1.34%。结果表明,本方法重复性良好。

[0121] 5回收率试验

[0122] 采用100%加样回收法。精密称取上述颗粒剂约0.5g,共7份,按实施例17供试品溶液的制备方法制得六份供试品溶液,分别精密加入一定量的对照品溶液(浓度为1.0023mg/ml的对照品溶液加入0.8ml),按照实施例17记载的色谱条件进行测定,按下式计算回收率,回收率=(实测值-供试品含量×加入量)/加入量×100%,结果见表11。7份样品的平均回收率为101.17%,RSD%为1.29%。结果表明,本方法回收率符合要求。

[0123] 实施例1中药组合物

[0124] 组成:人参6g、炒酸枣仁6g、炙淫羊藿6g、熟地黄9g、麸炒白术5g、制远志5g、石菖蒲6g、当归9g、炙甘草3g;

[0125] 制法:取当归和石菖蒲,粉碎成粗颗粒,加150g水浸泡0.5h,水蒸气蒸馏提取6h,分别收集挥发油和水提取液,向挥发油中加入β-环糊精和水,研磨包合40min,4℃下静置24h,过滤,得包合物,40℃烘干,备用,其中水的质量为挥发油质量的64倍,β-环糊精的质量为挥发油质量的8倍;称取人参、熟地黄、制远志、麸炒白术、炒酸枣仁、炙淫羊藿、炙甘草,将人参、炒酸枣仁破碎,分别加入12倍药材重量的水,浸泡0.5h,煎煮2次,每次1小时,合并煎煮液后过滤,得提取液,备用;合并两步制得的水提取液,减压浓缩至50℃下相对密度为1.30的清膏;将清膏进行真空带式干燥,制成干膏粉,加入所述包合物,混匀,即得,批号为TQ170928;性状为浅棕黄色至黄棕色粉末,味微苦、甜,易溶于水;规格为4.0g生药/g提取物。

[0126] 实施例2中药组合物

[0127] 组成:人参9g、炒酸枣仁4g、炙淫羊藿4g、熟地黄12g、麸炒白术8g、制远志8g、石菖蒲9g、当归4g、炙甘草1g;

[0128] 制法:称取当归和石菖蒲,粉碎成粗颗粒,加120g水浸泡1h,水蒸气蒸馏提取2h,分别收集挥发油和水提取液,向挥发油中加入β-环糊精和水,研磨包合,得包合物,备用,其中水的质量为挥发油质量的144倍,β-环糊精的质量为挥发油质量的12倍;称取人参、熟地黄、制远志、麸炒白术、炒酸枣仁、炙淫羊藿、炙甘草,分别加入10倍重量的水,浸泡0.5h,煎煮3次,每次1小时,合并后过滤,得提取液,备用;合并两步制得的水提取液,减压浓缩至40℃下相对密度为1.35的清膏;将清膏干燥,制成干膏粉,加入所述包合物和环糊精,混匀,即得。

[0129] 实施例3中药组合物

[0130] 组成:人参8g、炒酸枣仁4g、炙淫羊藿8g、熟地黄12g、麸炒白术8g、制远志8g、石菖蒲9g、当归4g、炙甘草2g;

[0131] 制法:称取当归和石菖蒲,粉碎成粗颗粒,加160g水浸泡0.5h,水蒸气蒸馏提取4h,分别收集挥发油和水提取液,向挥发油中加入β-环糊精和水,研磨包合,得包合物,备用,其中水的质量为挥发油质量的32倍,β-环糊精的质量为挥发油质量的10倍;称取人参、熟地黄、制远志、麸炒白术、炒酸枣仁、炙淫羊藿、炙甘草,分别加入8倍重量的水,浸泡1h,煎煮2次,每次2小时,合并后过滤,得提取液,备用;合并两步制得的水提取液,减压浓缩至60℃下

相对密度为1.32的清膏;将清膏干燥,制成干膏粉,加入所述包合物和环糊精,混匀,即得。

[0132] 实施例4中药组合物

[0133] 组成:人参6g、炒酸枣仁8g、炙淫羊藿6g、熟地黄9g、麸炒白术8g、制远志4g、石菖蒲6g、当归9g、炙甘草3g;

[0134] 制法:取当归和酸枣仁,粉碎,煎煮两次,加水煎煮两次,第一次加150g水,浸泡0.5h,煎煮50min,第二次加100g水,煎煮30min。煎煮液过100目筛,过滤,合并滤液,55℃下真空浓缩至每1ml浓缩液含1g生药量,即得。

[0135] 实施例5中药组合物

[0136] 组成:人参6g、炒酸枣仁6g、炙淫羊藿6g、熟地黄9g、麸炒白术5g、制远志5g、石菖蒲6g、当归9g、炙甘草3g;

[0137] 制法:取当归和酸枣仁,粉碎,煎煮两次,加水煎煮两次,第一次加100g水,浸泡1h,煎煮30min,第二次加80g水,煎煮20min。煎煮液过120目筛,过滤,合并滤液,55℃下真空浓缩至每1ml浓缩液含2g生药量,即得。

[0138] 实施例6中药组合物

[0139] 组成:人参9g、炒酸枣仁4g、炙淫羊藿4g、熟地黄12g、麸炒白术8g、制远志8g、石菖蒲9g、当归4g、炙甘草1g;

[0140] 制法:取当归和酸枣仁,粉碎,煎煮两次,加水煎煮两次,第一次加100g水,浸泡1h,煎煮30min,第二次加80g水,煎煮20min。煎煮液过120目筛,过滤,合并滤液,55℃下真空浓缩至每1ml浓缩液含2g生药量,即得。

[0141] 实施例7中药组合物

[0142] 组成:人参6g、炒酸枣仁6g、炙淫羊藿6g、熟地黄9g、麸炒白术5g、制远志5g、石菖蒲6g、当归9g、炙甘草3g;

[0143] 制法:取当归和酸枣仁,粉碎,煎煮两次,加水煎煮两次,第一次加120g水,浸泡0.5h,煎煮30min,第二次加90g水,煎煮20min。煎煮液过120目筛,过滤,合并滤液,55℃下真空浓缩至每1ml浓缩液含1g生药量,即得。

[0144] 实施例8中药组合物

[0145] 组成:人参6g、炒酸枣仁6g、炙淫羊藿6g、熟地黄9g、麸炒白术5g、制远志5g、石菖蒲6g、当归9g、炙甘草3g;

[0146] 制法:取当归和酸枣仁,粉碎,煎煮两次,加水煎煮两次,第一次加120g水,浸泡0.5h,煎煮30min,第二次加90g水,煎煮20min。煎煮液过120目筛,过滤,合并滤液,55℃下真空浓缩至每1ml浓缩液含1g生药量,即得。

[0147] 实施例9中药组合物

[0148] 组成:人参9g、炒酸枣仁4g、炙淫羊藿4g、熟地黄12g、麸炒白术8g、制远志8g、石菖蒲9g、当归4g、炙甘草1g。

[0149] 实施例10口服液

[0150] 组成:人参9g、炒酸枣仁4g、炙淫羊藿4g、熟地黄12g、麸炒白术8g、制远志8g、石菖蒲9g、当归4g、炙甘草1g。

[0151] 制法:取实施例8-10所述配比的组合物,加50%乙醇超声提取两次,第一次加120g乙醇,超声30min,第二次加90g乙醇,超声20min。过滤,合并滤液,55℃下真空浓缩,加入常



规辅料,经常规工艺制得口服液。

[0152] 实施例11胶囊剂

[0153] 组成:人参9g、炒酸枣仁4g、炙淫羊藿4g、熟地黄12g、麸炒白术8g、制远志8g、石菖蒲9g、当归4g、炙甘草1g;

[0154] 制法:取当归和石菖蒲,粉碎成粗颗粒,加150g水浸泡0.5h,水蒸气蒸馏提取6h,分别收集挥发油和水提取液,向挥发油中加入 $\beta$ -环糊精和水,研磨包合40min,4℃下静置24h,过滤,得包合物,40℃烘干,备用,其中水的质量为挥发油质量的64倍, $\beta$ -环糊精的质量为挥发油质量的8倍;称取人参、熟地黄、制远志、麸炒白术、炒酸枣仁、炙淫羊藿、炙甘草,将人参、炒酸枣仁破碎,分别加入12倍药材重量的水,浸泡0.5h,煎煮2次,每次1小时,合并煎煮液后过滤,得提取液,备用;合并两步制得的水提取液,减压浓缩至50℃下相对密度为1.30的清膏;将清膏进行真空带式干燥,制成干膏粉,加入所述包合物和适量糊精,混匀,即得,制粒,按常规工艺制成临床上可接受的胶囊剂。

[0155] 实施例12颗粒剂

[0156] 组成:人参6g、炒酸枣仁6g、炙淫羊藿6g、熟地黄9g、麸炒白术5g、制远志5g、石菖蒲6g、当归9g、炙甘草3g;

[0157] 制法:取当归和石菖蒲,粉碎成粗颗粒,加150g水浸泡0.5h,水蒸气蒸馏提取6h,分别收集挥发油和水提取液,向挥发油中加入 $\beta$ -环糊精和水,研磨包合40min,4℃下静置24h,过滤,得包合物,40℃烘干,备用,其中水的质量为挥发油质量的64倍, $\beta$ -环糊精的质量为挥发油质量的8倍;称取人参、熟地黄、制远志、麸炒白术、炒酸枣仁、炙淫羊藿、炙甘草,将人参、炒酸枣仁破碎,分别加入12倍药材重量的水,浸泡0.5h,煎煮2次,每次1小时,合并煎煮液后过滤,得提取液,备用;合并两步制得的水提取液,减压浓缩至50℃下相对密度为1.30的清膏;将清膏进行真空带式干燥,制成干膏粉,加入所述包合物和适量糊精,混匀,即得,按常规工艺制成临床上可接受的颗粒剂。

[0158] 实施例13片剂

[0159] 组成:人参6g、炒酸枣仁6g、炙淫羊藿6g、熟地黄9g、麸炒白术5g、制远志5g、石菖蒲6g、当归9g、炙甘草3g;

[0160] 制法:取当归和石菖蒲,粉碎成粗颗粒,加150g水浸泡0.5h,水蒸气蒸馏提取6h,分别收集挥发油和水提取液,向挥发油中加入 $\beta$ -环糊精和水,研磨包合40min,4℃下静置24h,过滤,得包合物,40℃烘干,备用,其中水的质量为挥发油质量的64倍, $\beta$ -环糊精的质量为挥发油质量的8倍;称取人参、熟地黄、制远志、麸炒白术、炒酸枣仁、炙淫羊藿、炙甘草,将人参、炒酸枣仁破碎,分别加入12倍药材重量的水,浸泡0.5h,煎煮2次,每次1小时,合并煎煮液后过滤,得提取液,备用;合并两步制得的水提取液,减压浓缩至50℃下相对密度为1.30的清膏;将清膏进行真空带式干燥,制成干膏粉,加入所述包合物和适量糊精,混匀,即得,按常规工艺制成临床上可接受的片剂。

[0161] 实施例14质量检测

[0162] 对实施例12制得的颗粒剂进行质量检测,步骤如下:

[0163] A、人参皂苷Rg<sub>1</sub>、人参皂苷Re的含量测定

[0164] 供试品溶液的制备:取所述颗粒剂1g,研细,称定重量,至100ml具塞锥形瓶中,加入正丁醇饱和的5wt%NaOH水溶液10ml,85℃下水浴加热5min,加入50ml饱和正丁醇,振荡,

超声30min,冷水浴10min,于4000r/min离心5min,取上清液至蒸发皿中,精密加入0.4vt%乙酸水溶液2ml,85℃下水浴蒸干,冷却至室温,残渣加入10vt%甲醇溶液溶解并转移至10ml容量瓶中,加10vt%甲醇溶液稀释定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得;

[0165] 对照品溶液的制备:精密称定人参皂苷Rg<sub>1</sub>对照品、人参皂苷Re对照品适量,加入甲醇溶液制成含人参皂苷Rg<sub>1</sub>对照品200μg/ml、人参皂苷Re对照品100μg/ml的混合溶液,即得;

[0166] 色谱条件:照高效液相色谱法测定,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以纯水为流动相A,以乙腈为流动相B,按照如下程序进行梯度洗脱:0-35min,流动相A:流动相B的体积比为82%:18%;35-60min,流动相A:流动相B的体积比为82%:18%→76%:24%;60-61min,流动相A:流动相B的体积比为76%:24%→5%:95%;61-65min,流动相A:流动相B的体积比为5%:95%;65-66min,流动相A:流动相B的体积比为5%:95%→82%:18%;66-75min,流动相A:流动相B的体积比为82%:18%;流速为1.0ml/min;柱温为30℃;检测波长:203nm;理论塔板数按人参皂苷Rg<sub>1</sub>对照品的不低于10000;

[0167] 测定法:分别精密吸取对照品溶液10μl、供试品溶液20μl,注入液相色谱仪,测定。重复测定三次,按外标一点法计算含量,计算含量,结果如下表所示:

[0168]	样品名	含量(以人参皂苷Rg <sub>1</sub> 、人参皂苷Re合计)
	样品1	0.0579%
	样品2	0.0580%
	样品3	0.0724%

[0169] 实施例15质量检测

[0170] 对实施例13制得的片剂进行质量检测,步骤如下:

[0171] A、人参皂苷Rg<sub>1</sub>、人参皂苷Re的含量测定

[0172] 供试品溶液的制备:取所述片剂2g,研细,称定重量,至100ml具塞锥形瓶中,加入正丁醇饱和的3wt%NaOH水溶液12ml,70℃下水浴加热10min,加入60ml饱和正丁醇,振荡,超声45min,冷水浴15min,于4000r/min离心5min,取上清液至蒸发皿中,精密加入0.5vt%乙酸水溶液5ml,90℃下水浴蒸干,冷却至室温,残渣加入5vt%甲醇溶液溶解并转移至10ml容量瓶中,加5vt%甲醇溶液稀释定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得;

[0173] 对照品溶液的制备:精密称定人参皂苷Rg<sub>1</sub>对照品、人参皂苷Re对照品适量,加入甲醇溶液制成含人参皂苷Rg<sub>1</sub>对照品200μg/ml、人参皂苷Re对照品100μg/ml的混合溶液,即得;

[0174] 色谱条件:照高效液相色谱法测定,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以纯水为流动相A,以乙腈为流动相B,按照如下程序进行梯度洗脱:0-35min,流动相A:流动相B的体积比为82%:18%;35-60min,流动相A:流动相B的体积比为82%:18%→76%:24%;60-61min,流动相A:流动相B的体积比为76%:24%→5%:95%;61-65min,流动相A:流动相B的体积比为5%:95%;65-66min,流动相A:流动相B的体积比为5%:95%→82%:18%;66-75min,流动相A:流动相B的体积比为82%:18%;流速为1.0ml/min;柱温为35℃;检测波长:203nm;人参皂苷Rg<sub>1</sub>对照品的理论塔板数不低于10000;

[0175] 测定法:分别精密吸取对照品溶液10μl、供试品溶液20μl,注入液相色谱仪,测定。

[0176] 实施例16质量检测

[0177] 对实施例2制得的药物组合物进行质量检测,步骤如下:

[0178] A、人参皂苷Rg<sub>1</sub>、人参皂苷Re的含量测定

[0179] 供试品溶液的制备:取所述中药组合物0.5g,研细,称定重量,至100ml具塞锥形瓶中,加入正丁醇饱和的8wt%NaOH水溶液8ml,90℃下水浴加热5min,加入40ml饱和正丁醇,振荡,超声20min,冷水浴15min,于4000r/min离心5min,取上清液至蒸发皿中,精密加入0.3vt%乙酸水溶液1ml,60℃下水浴蒸干,冷却至室温,残渣加入20vt%甲醇溶液溶解并转移至10ml容量瓶中,加20vt%甲醇溶液稀释定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得;

[0180] 对照品溶液的制备:精密称定人参皂苷Rg<sub>1</sub>对照品、人参皂苷Re对照品适量,加入甲醇溶液制成含人参皂苷Rg<sub>1</sub>对照品200μg/ml、人参皂苷Re对照品100μg/ml的混合溶液,即得;

[0181] 色谱条件:照高效液相色谱法测定,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以纯水为流动相A,以乙腈为流动相B,按照如下程序进行梯度洗脱:0-35min,流动相A:流动相B的体积比为82%:18%;35-60min,流动相A:流动相B的体积比为82%:18%→76%:24%;60-61min,流动相A:流动相B的体积比为76%:24%→5%:95%;61-65min,流动相A:流动相B的体积比为5%:95%;65-66min,流动相A:流动相B的体积比为5%:95%→82%:18%;66-75min,流动相A:流动相B的体积比为82%:18%;流速为1.0ml/min;柱温为25℃;检测波长:203nm;人参皂苷Rg<sub>1</sub>对照品的理论塔板数不低于10000;

[0182] 测定法:分别精密吸取对照品溶液10μl、供试品溶液20μl,注入液相色谱仪,测定。

[0183] 实施例17质量检测

[0184] 对实施例12制得的颗粒剂进行质量检测,步骤如下:

[0185] A、人参皂苷Rg<sub>1</sub>、人参皂苷Re的含量测定

[0186] 供试品溶液的制备:取所述颗粒剂1g,研细,称定重量,至100ml具塞锥形瓶中,加入正丁醇饱和的5wt%NaOH水溶液10ml,85℃下水浴加热5min,加入50ml饱和正丁醇,振荡,超声30min,冷水浴10min,于4000r/min离心5min,取上清液至蒸发皿中,精密加入0.4vt%乙酸水溶液2ml,85℃下水浴蒸干,冷却至室温,残渣加入10vt%甲醇溶液溶解并转移至10ml容量瓶中,加10vt%甲醇溶液稀释定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得;

[0187] 对照品溶液的制备:精密称定人参皂苷Rg<sub>1</sub>对照品、人参皂苷Re对照品适量,加入甲醇溶液制成含人参皂苷Rg<sub>1</sub>对照品200μg/ml、人参皂苷Re对照品100μg/ml的混合溶液,即得;

[0188] 色谱条件:照高效液相色谱法测定,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以纯水为流动相A,以乙腈为流动相B,按照如下程序进行梯度洗脱:0-35min,流动相A:流动相B的体积比为82%:18%;35-60min,流动相A:流动相B的体积比为82%:18%→76%:24%;60-61min,流动相A:流动相B的体积比为76%:24%→5%:95%;61-65min,流动相A:流动相B的体积比为5%:95%;65-66min,流动相A:流动相B的体积比为5%:95%→82%:18%;66-75min,流动相A:流动相B的体积比为82%:18%;流速为1.0ml/min;柱温为30℃;检测波长:203nm;理论塔板数按人参皂苷Rg<sub>1</sub>对照品不低于10000;

[0189] 测定法:分别精密吸取对照品溶液10μl、供试品溶液20μl,注入液相色谱仪,测定。

[0190] B、β-细辛醚的含量测定和当归的鉴定

[0191] 供试品溶液的制备:取所述中药组合物1g,研细,称定重量,加入80vt%甲醇溶液

20ml, 称重, 超声20min, 放冷至室温, 再称重, 用80vt%甲醇溶液补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得;

[0192] 对照品溶液的制备: 精密称定 $\beta$ -细辛醚对照品、藁本内酯对照品适量, 加入80vt%甲醇溶液制成含人参皂苷 $\beta$ -细辛醚对照品17 $\mu$ g/ml、藁本内酯40 $\mu$ g/ml的混合溶液, 即得;

[0193] 阴性对照品的制备: 按中药组合物组成和制法制备不含石菖蒲和当归的颗粒剂, 按“供试品溶液制备”方法制备阴性对照品溶液;

[0194] 色谱条件: 照高效液相色谱法测定, 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以0.1vt%磷酸水溶液为流动相A, 以乙腈为流动相B, 流动相流速为1.0ml/min进行梯度洗脱; 所述梯度洗脱程序具体为: 0-25min, 流动相A: 流动相B的体积比为45%:55%; 25-26min, 流动相A: 流动相B的体积比为45%:55% $\rightarrow$ 42%:58%; 25-38min, 流动相A: 流动相B的体积比为42%:58%; 38-38.5min, 流动相A: 流动相B的体积比为42%:58% $\rightarrow$ 5%:95%; 38.5-42min, 流动相A: 流动相B的体积比为5%:95%; 42.5-47min, 流动相A: 流动相B的体积比为5%:95% $\rightarrow$ 45%:55%; 控制柱温为30 $^{\circ}$ C; 0-25min时, 检测波长为250-260nm; 25-47min, 检测波长为330-340nm; 理论塔板数按 $\beta$ -细辛醚峰计算不低于8000;

[0195] 测定法: 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各10 $\mu$ l, 注入液相色谱仪, 测定。重复测定三次, 按外标一点法计算含量, 计算含量, 结果如下表所示:

	样品名	$\beta$ -细辛醚含量
[0196]	样品 1	0.106%
	样品 2	0.116%
[0197]	样品 3	0.115%

[0198] C、淫羊藿苷的含量测定

[0199] 供试品制备: 取所述中药组合物1g, 研细, 称定重量, 至100ml具塞锥形瓶中, 加入80vt%甲醇溶液20ml, 称重, 超声20min, 冷却至室温, 用80vt%甲醇溶液补重, 摇匀, 静置, 滤过, 取续滤液, 即得;

[0200] 对照品溶液的制备: 取淫羊藿苷对照品适量, 加入80vt%甲醇溶液制成含淫羊藿苷100 $\mu$ g/ml的对照品溶液;

[0201] 色谱条件与系统适用性试验: 照高效液相色谱法测定, 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以乙腈为流动相A, 以0.1vt%磷酸溶液为流动相B; 检测波长270nm; 控制柱温为30 $^{\circ}$ C; 理论塔板数按淫羊藿苷峰计算不低于8000;

[0202] 阴性对照品的制备: 按中药组合物组成和制法制备不含炙淫羊藿的颗粒剂, 按“供试品溶液制备”方法制备阴性对照品溶液;

[0203] 测定法: 吸取对照品溶液与供试品溶液各10 $\mu$ l, 注入液相色谱仪, 测定并计算。重复测定三次, 按外标一点法计算含量, 计算含量, 结果如下表所示:

	样品名	淫羊藿苷含量
[0204]	样品 1	0.988%
	样品 2	1.18%
	样品 3	1.17%

[0205] 实施例18质量检测

[0206] 对实施例1制得的中药组合物进行质量检测,步骤如下:

[0207] B、 $\beta$ -细辛醚的含量测定和当归的鉴定

[0208] 供试品溶液的制备:取所述中药组合物1g,研细,称定重量,加入60vt%甲醇溶液30ml,称重,超声5min,放冷至室温,再称重,用60vt%甲醇溶液补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得;

[0209] 对照品溶液的制备:精密称定 $\beta$ -细辛醚对照品、藁本内酯对照品适量,加入60vt%甲醇溶液制成含人参皂苷 $\beta$ -细辛醚对照品17 $\mu$ g/ml、藁本内酯40 $\mu$ g/ml的混合溶液,即得;

[0210] 色谱条件:照高效液相色谱法测定,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以0.1vt%磷酸为流动相A,以甲醇为流动相B,流动相流速为1.0ml/min进行梯度洗脱;所述梯度洗脱程序具体为:0-25min,流动相A:流动相B的体积比为45%:55%;25-26min,流动相A:流动相B的体积比为45%:55% $\rightarrow$ 42%:58%;25-38min,流动相A:流动相B的体积比为42%:58%;38-38.5min,流动相A:流动相B的体积比为42%:58% $\rightarrow$ 5%:95%;38.5-42min,流动相A:流动相B的体积比为5%:95%;42.5-47min,流动相A:流动相B的体积比为5%:95% $\rightarrow$ 45%:55%;控制柱温为35 $^{\circ}$ C;0-25min时,检测波长为250nm;25-47min,检测波长为340nm;理论塔板数按 $\beta$ -细辛醚峰计算不低于8000。

[0211] C、淫羊藿苷的含量测定

[0212] 供试品制备:取所述中药组合物3g,研细,称定重量,至100ml具塞锥形瓶中,加入60vt%甲醇溶液30ml,称重,超声5min,冷却至室温,用60vt%甲醇溶液补重,摇匀,静置,滤过,取续滤液,即得;

[0213] 对照品溶液的制备:取淫羊藿苷对照品适量,加入60vt%甲醇溶液制成含淫羊藿苷100 $\mu$ g/ml的对照品溶液;

[0214] 色谱条件与系统适用性试验:照高效液相色谱法测定,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈为流动相A,以0.2vt%磷酸溶液为流动相B;检测波长250nm;控制柱温为35 $^{\circ}$ C;理论塔板数按淫羊藿苷峰计算不低于8000;

[0215] 测定法:吸取对照品溶液与供试品溶液各10 $\mu$ l,注入液相色谱仪,测定并计算。

[0216] 实施例19质量检测

[0217] 对实施例3制得的中药组合物进行质量检测,步骤如下:

[0218] B、 $\beta$ -细辛醚的含量测定和当归的鉴定

[0219] 供试品溶液的制备:取所述中药组合物0.5g,研细,称定重量,加入纯甲醇溶液30ml,称重,超声35min,放冷至室温,再称重,用纯甲醇溶液补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得;

[0220] 对照品溶液的制备:精密称定 $\beta$ -细辛醚对照品、藁本内酯对照品适量,加入纯甲醇溶液制成含人参皂苷 $\beta$ -细辛醚对照品17 $\mu$ g/ml、藁本内酯40 $\mu$ g/ml的混合溶液,即得;

[0221] 色谱条件:照高效液相色谱法测定,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以0.2vt%甲酸为流动相A,以甲醇为流动相B,流动相流速为1.0ml/min进行梯度洗脱;所述梯度洗脱程序具体为:0-25min,流动相A:流动相B的体积比为45%:55%;25-26min,流动相A:流动相B的体积比为45%:55% $\rightarrow$ 42%:58%;25-38min,流动相A:流动相B的体积比为42%:58%;38-38.5min,流动相A:流动相B的体积比为42%:58% $\rightarrow$ 5%:95%;38.5-42min,流动

相A:流动相B的体积比为5%:95%;42.5-47min,流动相A:流动相B的体积比为5%:95%→45%:55%;控制柱温为35℃;0-25min时,检测波长为250nm;25-47min,检测波长为330nm;理论塔板数按β-细辛醚峰计算不低于8000。

[0222] 实施例20质量检测

[0223] 对实施例4制得的中药组合物进行质量检测,步骤如下:

[0224] C、淫羊藿苷的含量测定

[0225] 供试品制备:取所述中药组合物3g,研细,称定重量,至100ml具塞锥形瓶中,加入60vt%甲醇溶液30ml,称重,超声5min,冷却至室温,用60vt%甲醇溶液补重,摇匀,静置,滤过,取续滤液,即得;

[0226] 对照品溶液的制备:取淫羊藿苷对照品适量,加入60vt%甲醇溶液制成含淫羊藿苷100μg/ml的对照品溶液;

[0227] 色谱条件与系统适用性试验:照高效液相色谱法测定,以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈为流动相A,以0.2vt%磷酸溶液为流动相B;检测波长250nm;控制柱温为35℃;理论塔板数按淫羊藿苷峰计算不低于8000;

[0228] 测定法:吸取对照品溶液与供试品溶液各20μl,注入液相色谱仪,测定并计算。

[0229] 实施例21质量检测

[0230] 对实施例5制得的中药组合物进行质量检测,步骤如下:

[0231] D、熟地黄的鉴别

[0232] 供试品溶液制备:称取所述中药组合物1g,加入纯水10ml溶解,用30ml正丁醇萃取,静置,弃去正丁醇液,向水层加入30ml无水乙醇,振荡,静置,弃去乙醇液,向沉淀加入30ml甲醇,超声处理15min,滤过,蒸干滤液,冷却至室温,残渣加80vt%甲醇溶液2ml使溶解,即得;

[0233] 对照品溶液的制备:另取水苏糖对照品适量,加80vt%甲醇溶液制成含水苏糖100μg/ml的对照品溶液;

[0234] 阴性对照品溶液的制备:按处方中药比例配置不含熟地黄的颗粒剂,按“供试品溶液制备”方法制备阴性对照品溶液;

[0235] 鉴别:照薄层色谱法试验,吸取供试品溶液和对照品溶液各5μl,以体积比为3:2:1:2的乙酸乙酯-甲醇-水-冰醋酸为展开剂展开,喷以5vt%硫酸乙醇溶液,110℃加热至斑点显色清晰;结果如图8所示,薄层色谱中,三个供试品均在与对照品相应的位置上,显示同样颜色的荧光斑点,重现性好,阴性对照品无干扰。

[0236] 实施例22质量检测

[0237] 对实施例6制得的中药组合物进行质量检测,步骤如下:

[0238] E、炙甘草的鉴别

[0239] 供试品溶液的制备:取所述中药组合物2g,先加入10ml甲醇,超声15min,过滤,向滤液中加入40ml无水乙醇,振荡,过滤,用无水乙醇洗涤滤渣,滤渣中加入10ml水溶解,加入30ml水饱和正丁醇萃取,分取正丁醇,蒸干,冷却至室温,残渣加2ml甲醇使溶解,得供试品溶液;

[0240] 对照品溶液的制备:另取甘草酸铵对照品,加入甲醇溶解,得2mg/ml甘草酸铵对照品溶液;

[0241] 阴性对照品溶液的制备:按处方中药比例配置不含炙甘草的颗粒剂,按“供试品溶液制备”方法制备阴性对照品溶液;

[0242] 鉴别:照薄层色谱法试验,吸取供试品溶液和对照品溶液,以体积比为5:1.5:0.4:1.6的正丁醇-甲醇-浓氨试液-水为展开剂展开,在254nm的紫外灯下检视。结果如图9所示,薄层色谱中,三个供试品均在与对照品相应的位置上,显示同样颜色的荧光斑点,重现性好,阴性对照品无干扰。

[0243] 显然,上述实施例仅仅是为清楚地说明所作的举例,而并非对实施方式的限定。对于所属领域的普通技术人员来说,在上述说明的基础上还可以做出其它不同形式的变化或变动。这里无需也无法对所有的实施方式予以穷举。而由此所引伸出的显而易见的变化或变动仍处于本发明创造的保护范围之内。

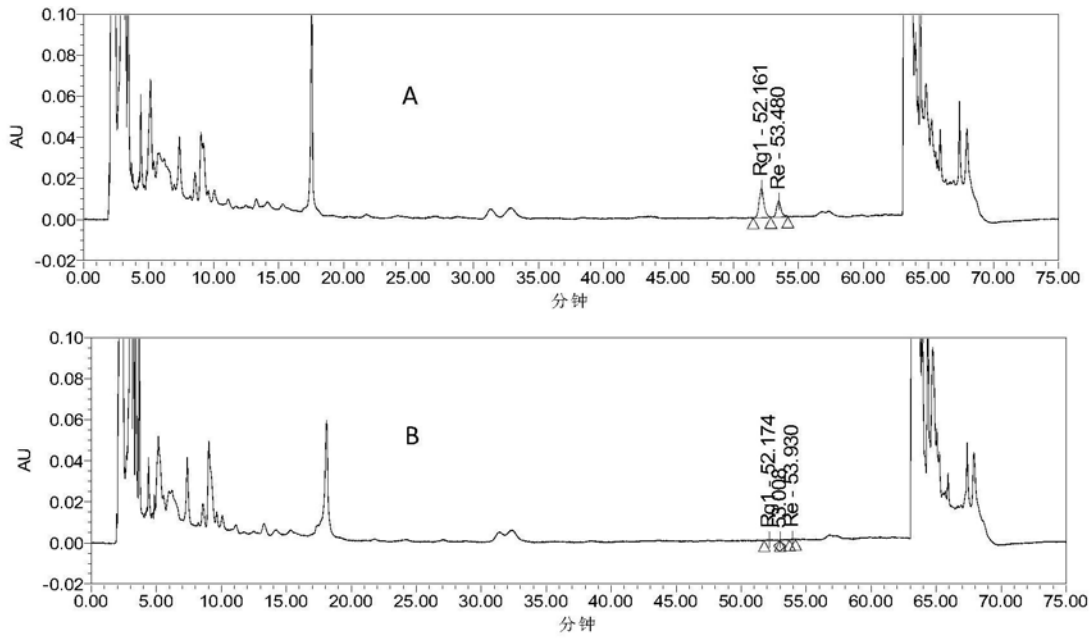


图1

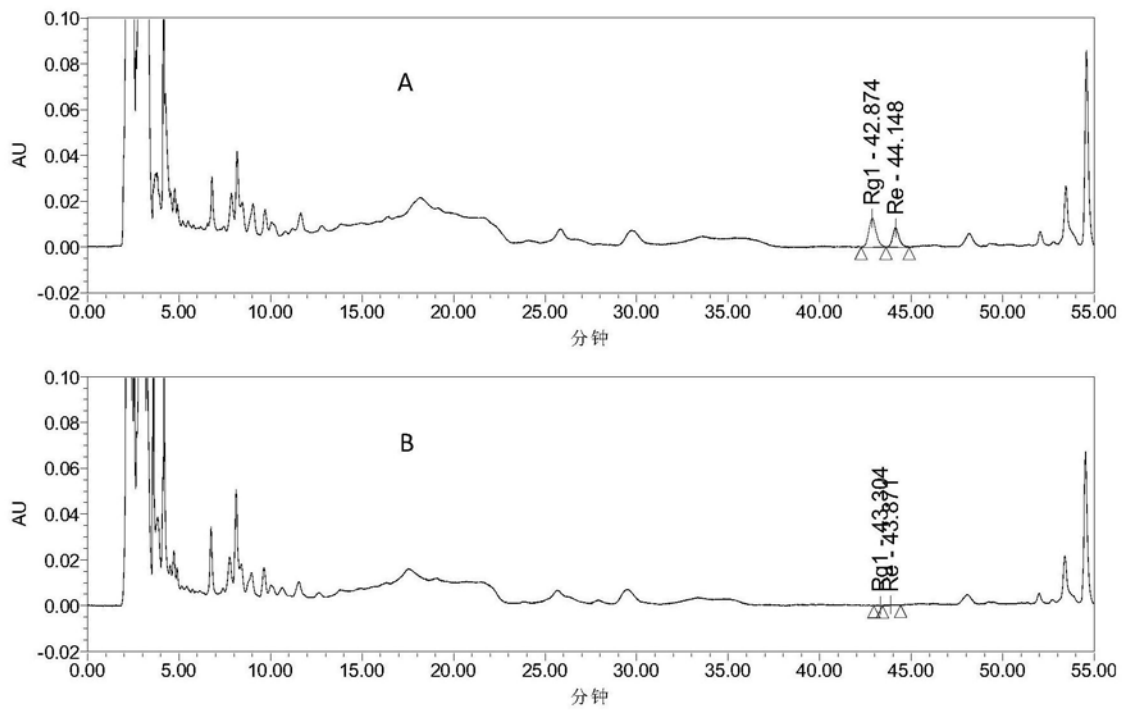


图2



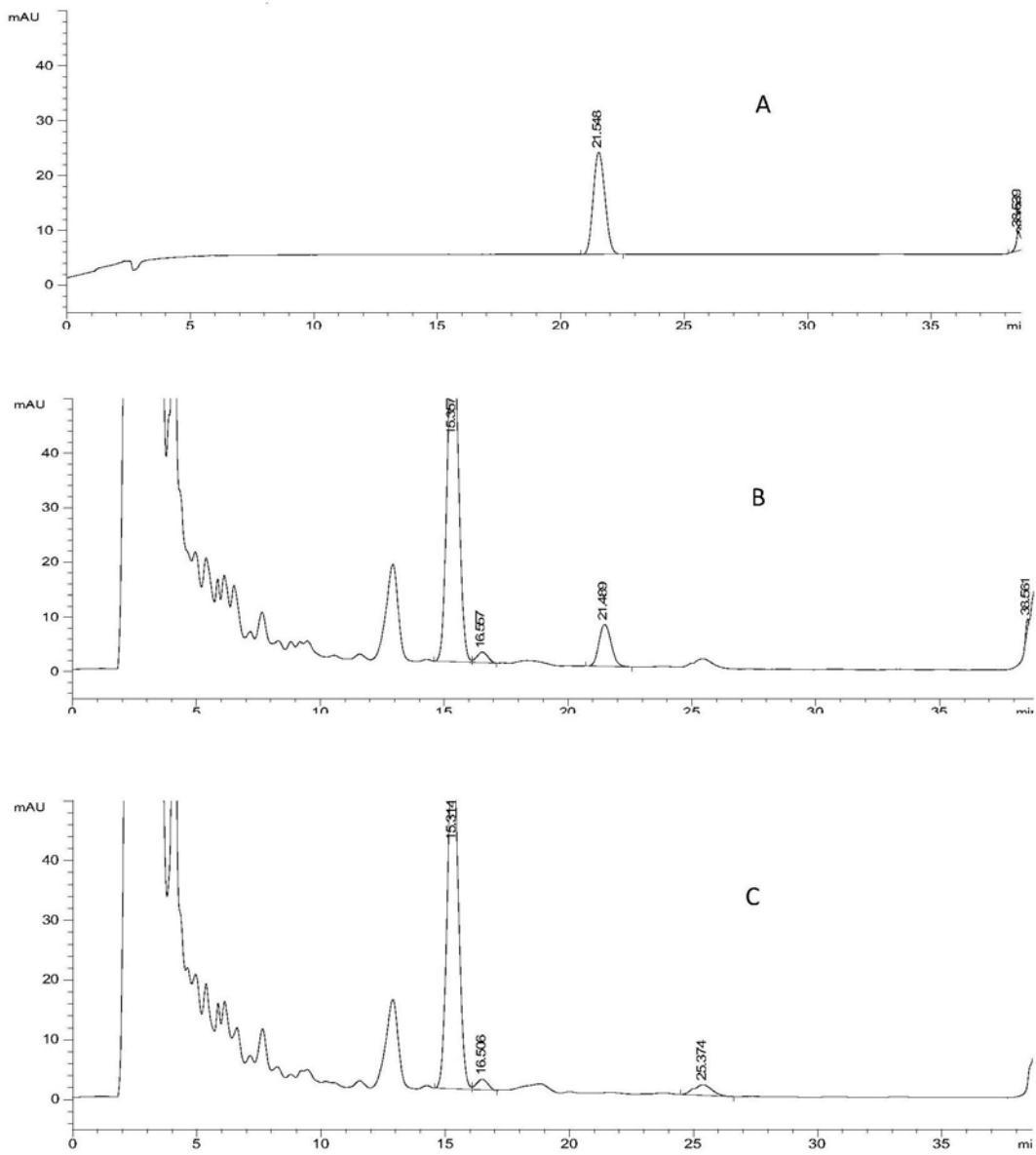


图3

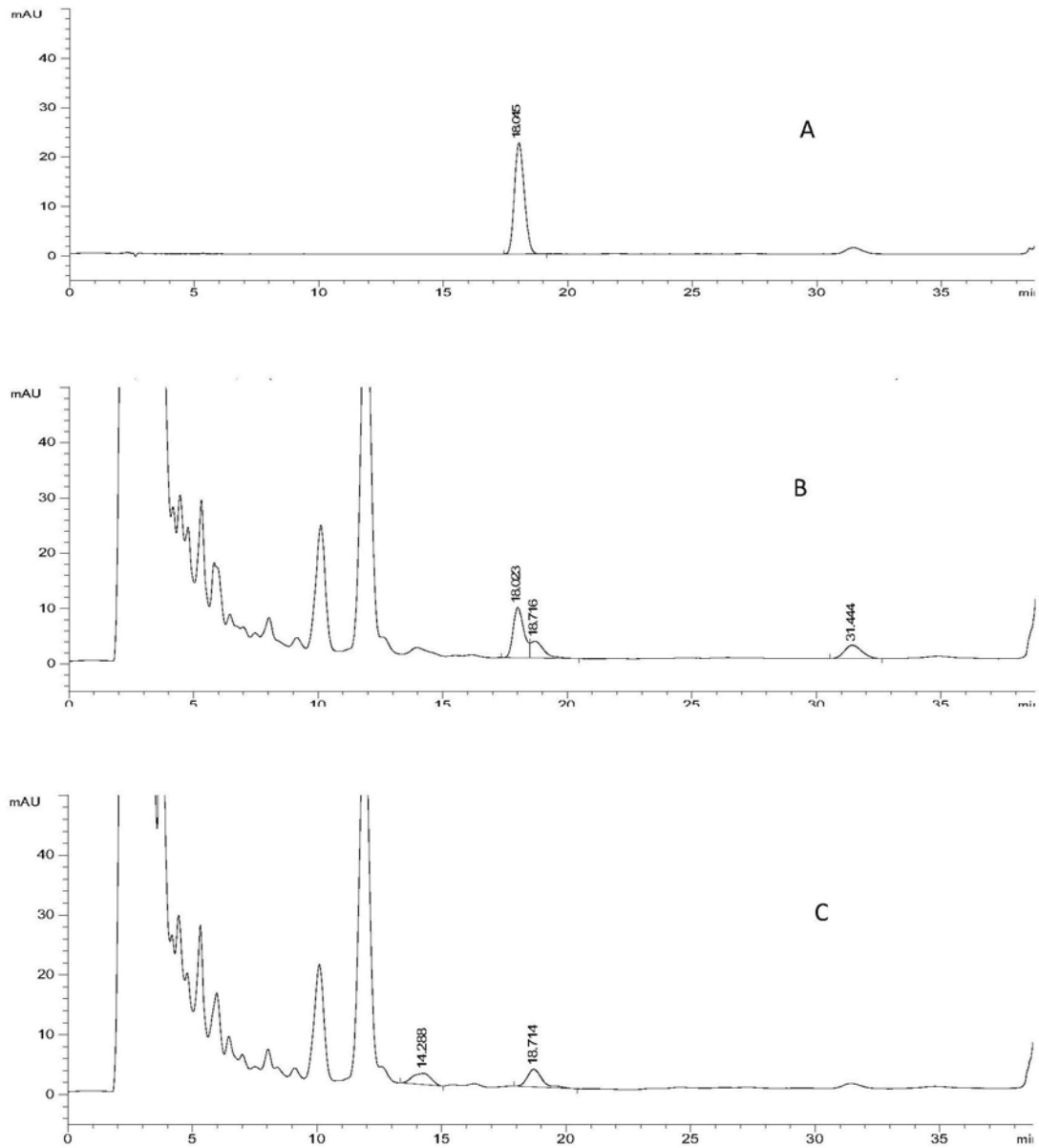


图4

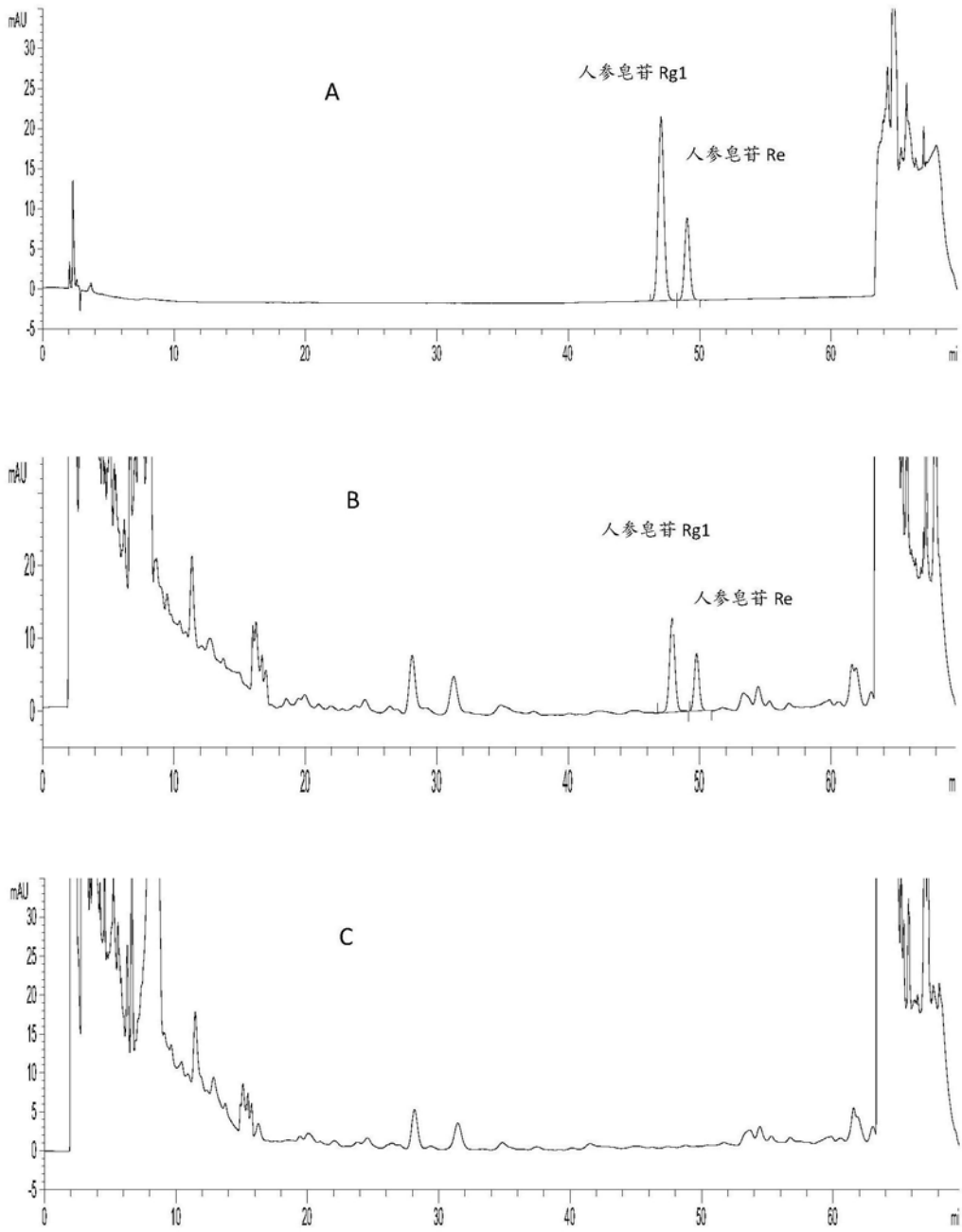


图5

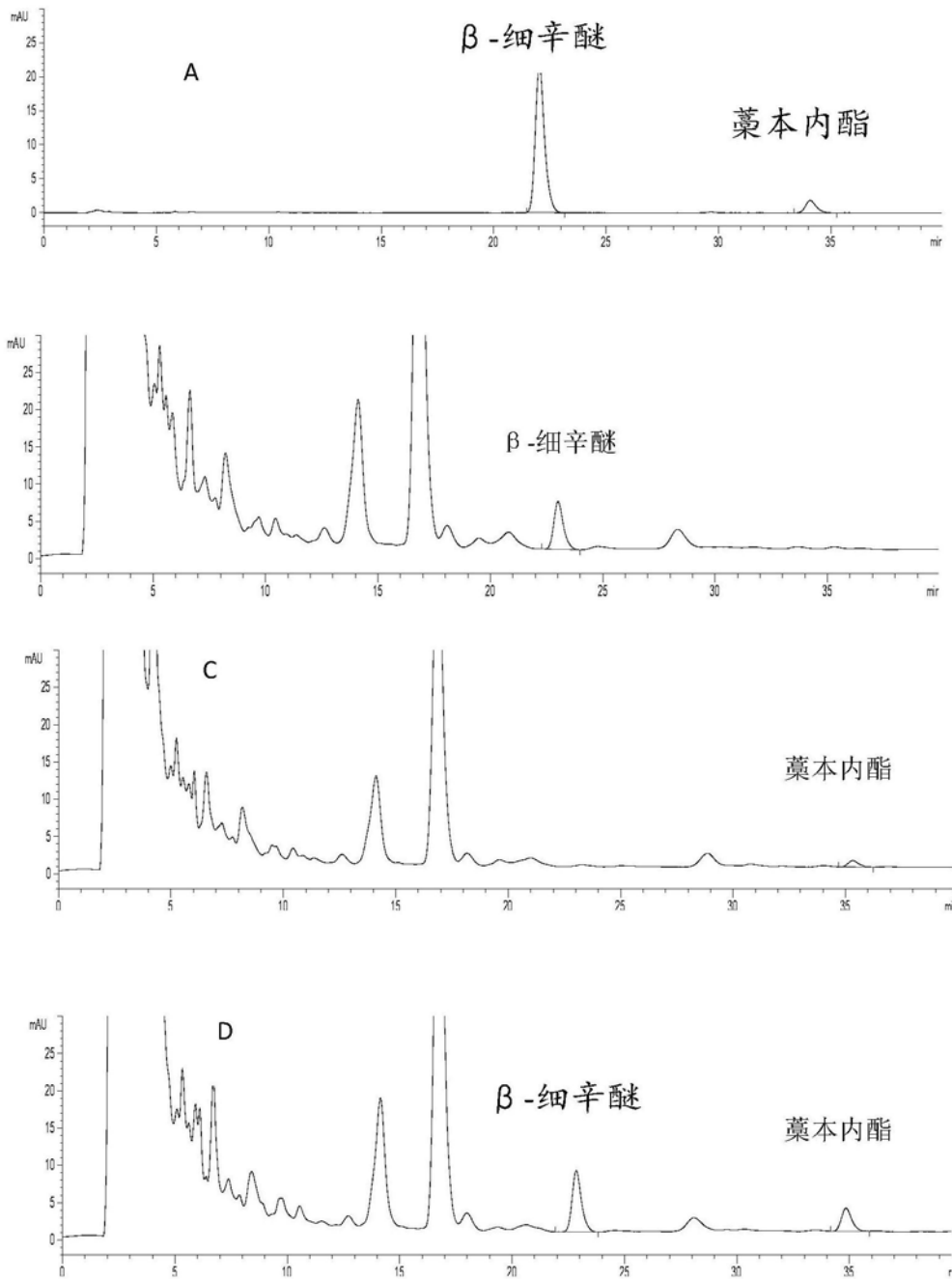


图6

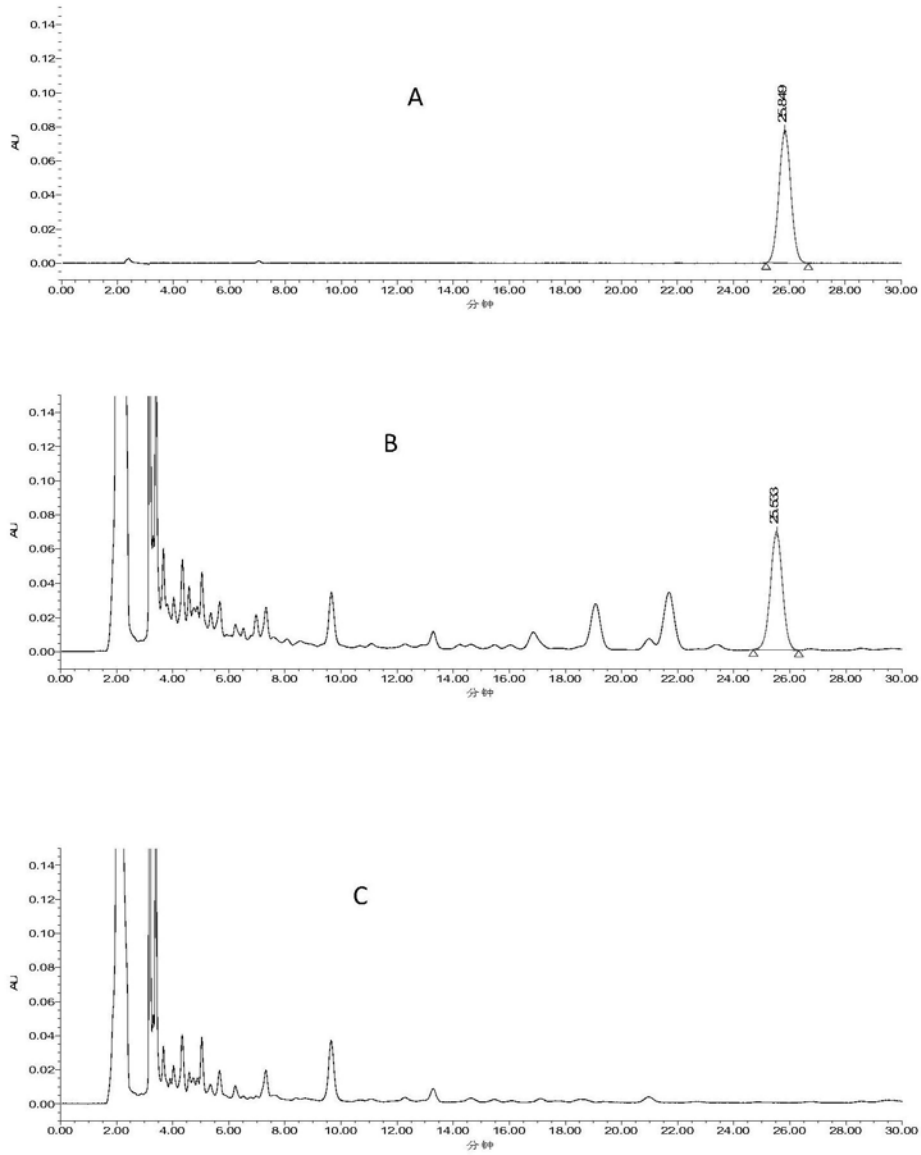


图7

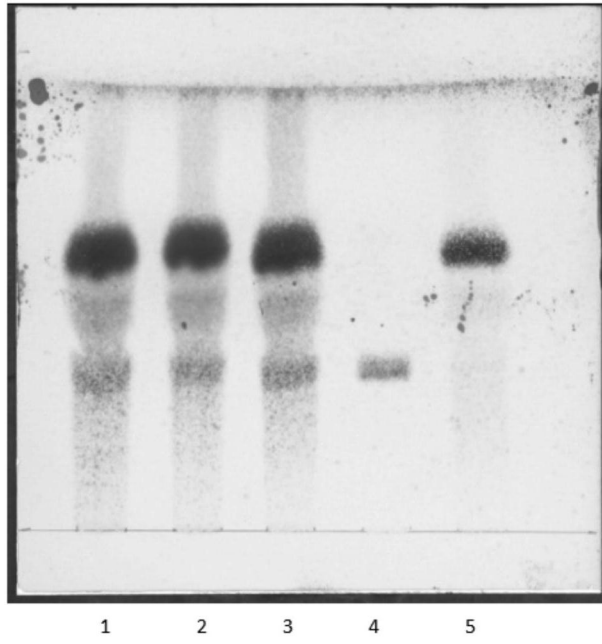


图8

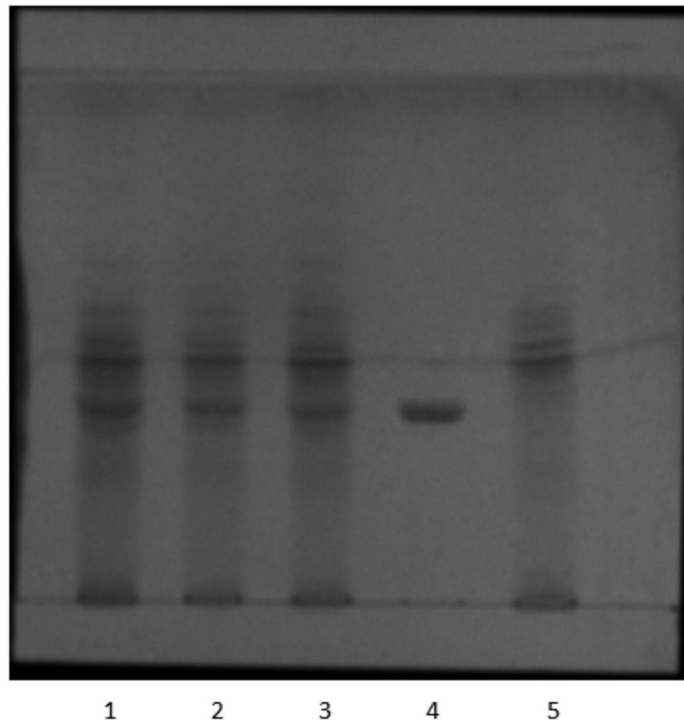


图9