

中药制剂分析

实验技术

ZHONGYAO ZHIJI FENXI
SHIYAN JISHU

©王向军 主编



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS
浙江大学出版社

浙江农林大学林业与生物技术学院组织编写

高等院校实验实训系列规划教材

中药制剂分析实验技术

主 编 王向军

参 编 潘兰英 田 薇 黄瑜秋



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS

浙江大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

中药制剂分析实验技术/王向军主编. —杭州:
浙江大学出版社, 2015. 12
ISBN 978-7-308-14990-7

I. ①中… II. ①王… III. ①中药制剂学—药物分析—实验—医学院校—教材 IV. ①R283-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 186220 号

中药制剂分析实验技术

王向军 主编

责任编辑 何 瑜(wsheyu@163.com)
责任校对 冯其华 金 蕾
封面设计 杭州林智广告有限公司
出版发行 浙江大学出版社
(杭州市天目山路 148 号 邮政编码 310007)
(网址: <http://www.zjupress.com>)
排 版 杭州中大图文设计有限公司
印 刷 富阳市育才印刷有限公司
开 本 787mm×1092mm 1/16
印 张 5.25
字 数 83 千
版 次 2015 年 12 月第 1 版 2015 年 12 月第 1 次印刷
书 号 ISBN 978-7-308-14990-7
定 价 18.00 元

版权所有 翻印必究 印装差错 负责调换

浙江大学出版社发行部联系方式: 0571-88925591; <http://zjdxcbbs.tmall.com>

目 录

- 绪 论 中药制剂分析实验的基本知识 /1
- 实验一 中药制剂的显微定性鉴别 /7
- 实验二 中药制剂的理化定性鉴别 /10
- 实验三 更年安片薄层色谱鉴别 /14
- 实验四 Ag-DDC 法测附子理中丸中的砷盐限量 /17
- 实验五 冰片中砷盐限量检查 /20
- 实验六 中药制剂麻仁丸中砷盐的含量测定 /23
- 实验七 矿物药石膏与玄明粉中重金属的检查 /25
- 实验八 黄连上清丸重金属的检查 /28
- 实验九 甲苯法测定中药制剂中水分含量 /30
- 实验十 中药制剂中乌头碱限量检查 /32
- 实验十一 可见分光光度法测定大山楂丸中总黄酮的含量 /34
- 实验十二 万氏牛黄清心丸中硫化汞含量测定 /37
- 实验十三 柱色谱-紫外分光光度法测定万氏牛黄清心丸中总生物碱的含量 /39
- 实验十四 益母草口服液中水苏碱的含量测定 /42
- 实验十五 薄层扫描法测定六味地黄丸中熊果酸的含量 /44
- 实验十六 高效液相色谱法测定三黄片中大黄素和大黄酚含量 /46
- 实验十七 牛黄解毒片中黄芩苷的含量测定 /48
- 实验十八 气相色谱法测定冠心苏合丸中冰片的含量 /50
- 实验十九 气相色谱法测定藿香正气水中乙醇含量 /52
- 实验二十 龙牡壮骨颗粒剂中钙的含量测定 /55

- 实验二十一 小青龙颗粒质量分析方案 /58
- 实验二十二 抗感冒注射剂质量分析方案 /60
- 实验二十三 利胆排石片的质量分析方案 /61

附 录

- 薄层色谱法 /62
- 紫外-可见分光光度法 /64
- 原子吸收分光光度法 /66
- 高效液相色谱法 /68
- 气相色谱法 /74
- 水分测定法 /76

参考文献 /79

绪 论 中药制剂分析实验的基本知识

(一) 中药制剂分析实验的任务和要求

中药制剂分析是中药专业的一门专业课程,是以中医药理论为指导,应用现代分析理论和方法,研究中药制剂质量及控制方法的一门学科。实践性强是中药制剂分析这门课程的突出特点。中药制剂分析实验的任务是使学生深化对中药制剂分析基本理论的理解,掌握正确的中药制剂分析的基本操作技能,学习中药制剂分析实验的基本知识,养成认真和实事求是的科学态度及严谨的实验操作习惯,提高观察、分析和解决问题的能力,为将来顺利地进行实验打下良好的基础。为了更好地完成上述任务,提出以下要求:

(1)实验前认真做好预习工作,清楚实验原理,明确本次实验的目的和要求,熟悉实验步骤和注意事项,做到心中有数,实验前可以先写好实验报告的部分内容,查全有关数据,以便实验时及时、准确地记录和进行数据处理。

(2)实验时必须严格按照规范操作进行,仔细观察实验现象,认真记录有关数据。要善于思考,学会运用所学理论知识解释实验现象,研究实验中碰到的问题。

(3)认真完成实验报告,实验报告需条理清晰、语言简练、页面整洁。

(4)学生进入实验室必须严格遵守实验室规则,服从带教老师的指导。严禁吸烟,禁止带入食物,不许会客。

(5)爱护实验室的仪器设备,不准将实验室的仪器设备私自带出室外。当需要使用时,经老师允许后,按照仪器使用说明书进行操作,使用完毕要进行登记。实验中如有仪器损坏应立即报告老师。

(6)严格遵守操作规程及实验时应注意的事项,在使用对其性能不熟悉的仪器和药品之前,不要随意进行实验,应查阅有关资料或请教指导教师,以免损坏仪

器、浪费试剂或发生意外事故。

(7)实验过程中应注意防火灾、防爆炸、防腐蚀、防污染工作,牢固树立“安全第一”的意识。使用具有强腐蚀性的浓酸、浓碱等试剂时应注意勿溅于皮肤或衣服上,必要时可在通风橱操作。

(8)使用易燃的有机溶剂时,应远离火焰和热源。低沸点有机溶剂应在水浴上加热,用过的溶剂不应倾倒入水槽,可回收或倒入废液桶。

(9)实验结束后,所有仪器和试剂应放回原处,玻璃仪器要清洗干净,试验台应收拾干净,一些有毒、有腐蚀性的废液应倒入指定的废液桶内。

(10)值日生负责安全卫生工作,主要包括清理实验室,检查水、电的开关,清除垃圾和污物,关好门窗后方可离开实验室。

(二) 常见中药制剂分析实验的基本操作技能

根据药品质量标准规定,评价一个药物的质量一般包括鉴别、检查和含量测定三个方面。判断一个药物的质量是否符合要求,必须全面考虑三者的检测结果。这些检测结果是否具有可靠性,是建立在基本操作技能的基础上的,过硬的基本操作技能是顺利进行药品全面质量检测与研究的基本条件,也是使药品质量标准真正符合法规要求的必要条件。否则,会使合格的产品被误认为“不合格”,给生产单位造成不必要的损失,或者使不合格的产品被误认为“合格”,造成更大的危害。

中药制剂分析实验课正是培养学生掌握好基本操作技能的重要教学环节。学生在校期间经过了中药制剂分析基础理论的学习和实验课基本技能的严格训练,可获得检验和研究药品质量的基本思路和方法,为今后做好药品质量控制和提高的工作打下坚实的基础。

中药制剂分析实验将选择一些有代表性的内容,包括鉴别、检查和含量测定,以《中国药典》和《中国药品检验标准操作规范》中的分析方法为主要内容,加强对学生的基本操作的训练。

中药制剂分析的对象大多是复方中药制剂,被测成分相对含量低、干扰大,会给分析工作带来一定的难度,再者有些分析方法(如薄层色谱法)易受众多因素的影响,结果重复性、可控性可能会不太理想,要想获得可靠、准确、重复性好的分析

结果,需要学生有过硬的基本操作技能、规范的操作理念和科学、严谨的工作作风,以满足药品检验和药品研究工作的实际需求。

实验中所用术语要规范、准确,要与《中国药典》相一致。

为了保证药物分析结果的准确性和可靠性,《中国药典》对一些基本操作中的专用术语都有严格的定义,如:

(1)称取“0.1g”系指称取量可为 0.06~0.14g;称取“2g”系指称取量可为 1.5~2.5g;称取“2.0g”系指称取量可为 1.95~2.05g;称取“2.00g”系指称取量可为 1.995~2.005g。

(2)“精密称取”系指称取重量应准确到所取重量的千分之一;“称定”系指称取重量应准确至所取重量的百分之一;“精密量取”系指量取体积的准确度应符合国家标准中对该体积移液管的精度要求;“量取”系指可用量筒或按照量取体积的有效数位选用量具。取用量为“约”若干时,系指取用量不能超过规定量的 $\pm 10\%$ 。

(3)恒重,除另有规定外,系指连续两次干燥或灼烧后的重量差异在 0.3mg 以下的重量。干燥至恒重的第二次及以后各次称重均应在规定条件下继续干燥 1h 后进行,炽灼至恒重的第二次称重应在继续炽灼 30min 后进行。

(4)《中国药典》对有关温度的规定为:水浴温度指 98~100℃;热水指 70~80℃;微温或温水指 40~50℃;室温指 10~30℃;冷水指 2~10℃;冰浴指 2℃ 以下;放冷指放冷至室温。试验时的温度,对于未注明者,系指在室温下进行;对于温度高低对试验结果有显著影响者,除另有规定外,应以 $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 为准。

(5)标准中规定的各种纯度和限度数值以及制剂的重(装)量差异,系包括上限和下限两个数值本身及中间数值,规定的这些数值不论是百分数还是绝对数字,其最后一位数字都是有效位。

(6)试验结果在运算过程中,可比规定的有效数字多保留一位数,而后根据有效数字的修约规定进舍至规定的有效位。计算所得的最后数值或测定读数值均可按修约规则进舍至规定的有效位,取此数值与标准中规定的限度数值比较,以判断是否符合规定的限度。

(7)药品的含量(%),除另有注明者外,均按重量计。如规定上限为 100%以

上时,系指用药典规定的分析方法测定时可能达到的数值,它为药典规定的限度或允许偏差,并非真实含有量;如未规定上限时,系指不超过 101.0%。

(8)制剂的含量限度范围,是根据该药味含量的多少、测定方法、生产过程和贮存期间可能产生的偏差或变化而制订的,生产中应按标示量 100%投料。

(三) 实验数据的记录、处理和实验报告相关要求

1. 实验记录

实验记录是实验研究档案和科学技术档案的重要组成部分,是申报课题、解决知识产权纠纷的重要依据和凭证,是科技人员智慧的结晶,是科学技术资料储备的一种形式。实验人员必须以严肃、认真的态度进行记录。

实验记录一律用蓝黑墨水、碳素墨水钢笔或签字笔书写。注意字迹整洁、图样清晰、句子完整,不得随意制造简体字;装订线位置内不能书写。

实验记录本内均已编号,不得擅自撕下或任意涂改或挖补,应保证完整无缺。如系写错确需修改,在需要修改处画一斜线,不可以完全涂黑,保证修改前的记录能够辨认,并由修改人签字。

记录时,应把每项实验工作和实验过程及结果记录下来。内容包括:实验编号、日期、天气、温(湿)度、研究目的、实验设计、实验材料、仪器装置、研究路线、操作步骤、观察指标、参考文献、数据简图、计算过程、实验结果和结果分析等内容,均应由实验人员直接记录。实验记录必须原始、及时、准确、真实、完整、系统、清楚。

计算机、自动记录仪打印的图表和资料数据,应按记录纸大小折叠或剪贴在记录纸上;实验图片、照片应用胶水贴在记录纸的相应位置上,底片装在统一制作的底片袋内,相互对应编号后,用胶水贴在照片旁;示意图、草图、表格应使用必要的工具绘制;对于用热敏纸打印的,须保留其复印件。

每次实验后,应由实验人员(记录人员)在记录本上签字。

实验记录本应妥善保存,避免水浸、墨污卷边,保持整洁、完好、无破损、不丢失。

2. 实验数据和处理

在实验中,测得一组数据后,对其中可疑数据是保留还是舍弃,可用 Q 检验

法或 Grubbs 检验法进行检验,决定取舍,然后算出平均值,作为实验数据,绝不允许主观臆断决定其取舍。

3. 实验报告

中药制剂分析实验报告一般包括以下内容:

(1)实验名称及日期。写明本次实验的名称和日期。

(2)实验目的。写明通过本实验要达到的训练目的。

(3)实验原理。用文字表述本实验的基本原理。

(4)操作步骤。简明扼要叙述实验的操作步骤。

(5)实验数据的处理及结果。定性鉴别和检查实验要写明本次实验的结果,如定性鉴别要说明是否可检出被测成分、检查项目是否符合规定。

(6)问题及讨论。应对实验中观察到的现象及实验结果进行分析和讨论,如果实验失败,要寻找失败原因,总结经验教训,以提高自己的基本操作技能。

药品检验报告书与实验报告不同。药品检验报告是药品检验部门对检品检验所作出的检测结果报告,报告书有一定的格式要求,常见的药品检验报告书如下:

药品检验报告书

报告书编号:

检品名称			
批号		规格	
生产单位或产地		包装	
供样单位		效期	
检验目的		检品数量	
检验项目		收检日期	
检验依据		报告日期	

检验项目

标准规定

检验结果

结论:

报告书上的检验项目是指性状、定性鉴别、检查、含量测定等内容；标准规定是指标准中规定的检验结果或数据；检验结果是指实际检验结果或数据；经检验所有项目符合规定者，应做出决定性的结论，否则应提出不符合规定的项目及相应结论。

实验一 中药制剂的显微定性鉴别

显微定性是中药鉴别的最基础鉴别方式,通过显微镜的观察,可以看到中药原材料的各种组织细胞,其可用于分辨中药原材料的组织结构及其中的成分。

一、目的要求

掌握中药制剂的常规分析方法——显微鉴别法。

二、实验原理

通过显微镜来观察中药制剂中保留有原药材的组织、细胞或内含物等显微特征,从而鉴别制剂的处方组成。

水合氯醛试液是良好的透明剂,能迅速渗入组织细胞,增强透光度,便于观察。而且水合氯醛试液能溶解脂肪、淀粉粒等使细胞膨胀,适于观察组织细胞形态;甘油醋酸试液又名斯氏液,是主要用于观察淀粉粒或测量其大小的封藏剂。

三、仪器与试药

- (1)显微镜、载玻片、盖玻片、酒精灯、乳钵、擦镜纸、小镊子、小刀、滴管。
- (2)水合氯醛试液、甘油醋酸试液、稀甘油(AR)。
- (3)牛黄解毒片、蛇胆川贝散、银翘解毒片、六味地黄丸(市售品)。

四、操作步骤

(一) 牛黄解毒片显微鉴别

操作方法:取本品片芯,用乳钵研成粉末,取少许置于载玻片上,滴加适量水合氯醛试液,透化后加稀甘油 1 滴,盖上盖玻片,用吸水纸吸干周围透出液。如有气泡需重新制临时装片。置于显微镜下观察:

- (1) 草酸钙簇晶大,直径为 $60\sim 140\mu\text{m}$ 。
- (2) 金黄色或橙黄色的不规则碎块,有光泽。

(二) 蛇胆川贝散显微鉴别

操作方法:取本品粉末少许,置于载玻片上,用甘油醋酸试液装片,置于显微镜下观察:

- (1) 淀粉粒呈卵形或贝壳形,直径为 $40\sim 64\mu\text{m}$ 。
- (2) 脐点呈短缝状、人字状或马蹄状,层纹可观察。

(三) 银翘解毒片显微鉴别

操作方法:取本品片芯,用乳钵研成粉末,取少许置于载玻片上,用水合氯醛试液装片,透化后加稀甘油 1 滴,盖上盖玻片,置于显微镜下观察:

- (1) 花粉粒呈黄色,类球形,直径为 $54\sim 68\mu\text{m}$,有三孔沟;表面具细密短刺及圆粒状皱纹。
- (2) 草酸钙簇晶成片,直径为 $5\sim 17\mu\text{m}$,存在于薄壁细胞中。
- (3) 联结乳管直径为 $14\sim 25\mu\text{m}$,含淡黄色颗粒状物。

(四) 六味地黄丸显微鉴别

操作方法:取本品适量,采取适当方法解离后,取少许,观察淀粉粒和不规则分枝状团块用甘油醋酸试液装片,其他用水合氯醛试液透化后滴加适量稀甘油,置于显微镜下观察:

- (1) 淀粉粒呈三角状卵形或矩圆形,直径为 $24\sim 40\mu\text{m}$,脐点呈短缝状或人字状。
- (2) 不规则分枝状团块呈无色,遇水合氯醛试液溶化,菌丝无色,直径为

4~6 μ m。

- (3)薄壁组织呈灰棕色至黑棕色,细胞多皱缩,内含棕色核状物。
- (4)草酸钙簇晶存在于无色薄壁细胞中,有时数个排列成行。
- (5)果皮表皮细胞呈橙黄色,表面观类多角形,周壁呈连珠状增厚。
- (6)薄壁细胞类圆形,有椭圆形纹孔,集成纹孔群。

五、思考题

- (1)你观察到的显微特征各代表何种中药材?
- (2)通过以上4种中成药的显微鉴别,请你总结一下中成药显微鉴别的方法及注意事项。

实验二 中药制剂的理化定性鉴别

在药品的鉴别、杂质检查或含量测定中,薄层色谱法以其操作方便、设备简单、容易显色、展开速率快等特点被广泛应用。薄层色谱,或称薄层层析(thin-layer chromatography, TLC),是以涂布于支持板上的支持物作为固定相,以合适的溶剂为流动相,对混合样品进行分离、鉴定和定量的一种层析分离技术。

紫外分光光度法,是根据物质分子对波长为 200~400nm 这一范围的电磁波的吸收特性所建立起来的一种定性、定量和结构分析方法。操作简单、准确度高、重现性好。紫外分光光度法是根据物质的吸收光谱研究物质的成分、结构和物质间相互作用的有效手段。

一、目的要求

- (1)掌握薄层色谱法(TLC)的鉴别方法。
- (2)熟悉中成药分析的理化定性方法。

二、实验内容

(一) 化学定性鉴别和紫外分光光度法定性鉴别

1. 牛黄解毒片

- (1)本品由人工牛黄、雄黄、石膏、大黄、黄芩、桔梗、冰片、甘草组成。
- (2)鉴别方法。

①取本品 1~2 片,研细,进行微量升华,所得的白色升华物加新制的 1% 香草醛的硫酸溶液 1~2 滴,液滴边缘渐显玫瑰红色。

②取本品 6 片(对于包衣者除去包衣),研细,加乙醇 10mL,温热 10min,滤过,取滤液 5mL,加少量镁粉与 0.5mL 的盐酸,加热,即显红色;另取滤液 4mL,加氢氧化钠试液,即显红色,再加 30%过氧化氢溶液,红色不消失,加酸成酸性时,则红色变为黄色。

2. 复方丹参片

(1)本品由丹参、三七、冰片组成。

(2)鉴别方法。

①紫外分光光度法:取本品 1 片,研细,分次加水少量,搅拌,滤过,滤液移置 100mL 量瓶中,并加水至刻度,取溶液 2mL,加水至 25mL。在 $283\text{nm} \pm 2\text{nm}$ 的波长处有最大吸收。

②取本品 1 片,研细,进行微量升华,所得白色升华物加新制的 1%香草醛的硫酸溶液 1 滴,液滴边缘渐显玫瑰红色。

3. 穿心莲片

(1)本品为穿心莲浸膏片。

(2)鉴别方法。

①取本品 5 片,除去包衣,研细,加 10mL 乙醇,置于水浴中加热至沸,加 0.5g 活性炭,搅拌,滤过。取 1mL 滤液,加二硝基苯甲酸试液与乙醇制氢氧化钾试液的等容混合溶液 2 滴,摇匀,即显紫色;另取滤液 1mL,加碱性三硝基苯酚试液 3~5 滴,显橙红色。

②取本品 3 片,除去包衣,研细,加 25mL 无水乙醇,置于水浴中加热回流 1h,放冷,滤过,滤液蒸干,加 5mL 水,再加 2%盐酸溶液调节 pH 值至 1.0,在水浴上加热 30min,滤过。取滤液,加 10%亚硝酸钠溶液和 10%硝酸铝溶液各 3 滴,摇匀,再加氢氧化钠试液 0.5~1mL,显橙红色。

4. 银黄口服液

(1)本品为金银花提取物、黄芩提取物经加工制成的口服液。

(2)鉴别方法。

①取本品 1mL,加 5%硝酸钠溶液与 10%硝酸铝溶液各 0.3mL,生成黄色沉淀,再加 5%氢氧化钠溶液使成碱性,沉淀即溶解,溶液显棕红色。

②取本品 0.1mL,加水 10mL,摇匀,取溶液 2mL,加 5%二氯化锆溶液 1~2 滴,溶液显黄色,再加盐酸 1~2 滴,黄色不褪。

5. 板蓝根颗粒剂

(1)本品为板蓝根制成的颗粒剂。

(2)鉴别方法。

①取本品 0.5g,加 5mL 甲醇使其溶解,静置,取上清液点于滤纸上,晾干,置于紫外光灯(365nm)下观察,显蓝紫色。

②取本品 0.5g,加 10mL 甲醇使其溶解,滤过,取滤液 1mL,加茚三酮试液 0.5mL,置于水浴中加热数分钟,显蓝紫色。

(二) 薄层色谱鉴别 (参见本书附录)

1. 牛黄解毒片

(1)薄层板制备。

(2)供试品溶液制备:取本品 2 片,粉碎,加氯仿 10mL 研磨,滤液蒸干,加乙醇 0.5mL 使溶解,作为供试品溶液。

(3)对照品溶液制备:取胆酸对照品,加乙醇制成每 1mL 中含 1mg 的溶液,作为对照品溶液。

(4)点样与展开: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,以正己烷—醋酸乙酯—醋酸—甲醇(20 : 25 : 2 : 3)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10%硫酸乙醇溶液,在 105℃烘约 10min,置于紫外光灯(365nm)下检视。在供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。

2. 银翘解毒片薄层色谱法鉴别

(1)薄层板制备:同(二)1.(1)项。

(2)供试品溶液制备:取本品 10 片,研细,加石油醚(60~90℃)20mL,密塞,振摇,浸渍过夜,滤过,滤液挥发至 1mL,作为供试品溶液。

(3)对照品溶液制备:①取荆芥对照药材 0.8g,加石油醚(60~90℃)20mL,按供试品溶液制备法制备。②再取薄荷脑对照品,加乙醇,制成每 1mL 含 2mg 的溶液,作为对照品溶液。