

全国高等医药院校药学类实验教材

中药制剂分析实验

(第二版)

主 编 刘晓秋
副主编 原 忠

中国医药科技出版社



全国高等医药院校药学类实验教材

中药制剂分析实验

(第二版)

主 编 刘晓秋

副主编 原 忠

编 者 (以姓氏笔画为序)

千国平 (湖北中医药大学)

牛丽颖 (河北中医学院)

刘晓秋 (沈阳药科大学)

齐 文 (沈阳药科大学)

原 忠 (沈阳药科大学)

中国医药科技出版社

内 容 提 要

本书为全国高等医药院校药学类实验教材之一。全书分为2章。第一章为中药制剂分析实验的基本知识,介绍了中药制剂分析实验的基本要求及注意事项、供试品溶液的制备方法和步骤、中药制剂分析方法验证内容等。第二章为中药制剂分析实验,共编写了20个实验,其中包括单项实验如显微鉴别、理化鉴别、薄层色谱鉴别、杂质的检查、各类有效成分的含量测定方法等,综合性实验如二妙丸、大山楂丸、注射用双黄连等的质量分析,设计性实验如消渴丸等分析方法的设计等。书中每个制剂均选自中国药典,具有很好的适教性。附录部分收录了常用薄层色谱显色剂的配制和使用。为适应教育国际化的要求,编写了英文对照内容,便于学生在阅读外文资料、撰写英文论文时参考。

本书可供高等医药院校、中药学、中药资源学与开发、中药制药专业使用,也可作为成人教育本科和专升本、高等职业技术学校相关专业使用和参考。

图书在版编目(CIP)数据

中药制剂分析实验/刘晓秋主编. —2版. —北京:中国医药科技出版社,2014.8
全国高等医药院校药学类实验教材
ISBN 978-7-5067-6753-8

I. ①中… II. ①刘… 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(2014)第068409号

美术编辑 陈君杞

版式设计 郭小平

出版 中国医药科技出版社

地址 北京市海淀区文慧园北路甲22号

邮编 100082

电话 发行:010-62227427 邮购:010-62236938

网址 www.cmstp.com

规格 787×1092mm 1/16

印张 8

字数 161千字

初版 2006年3月第1版

版次 2014年8月第2版

印次 2014年8月第2版第1次印刷

印刷 北京市密东印刷有限公司

经销 全国各地新华书店

书号 ISBN 978-7-5067-6753-8

定价 18.00元

本社图书如存在印装质量问题请与本社联系调换

全国高等医药院校药类规划教材常务编委会

- 名誉主任委员 邵明立 林蕙青
主任委员 吴晓明 (中国药科大学)
副主任委员 (按姓氏笔画排序)
刘俊义 (北京大学药学院)
匡海学 (黑龙江中医药大学)
朱依淳 (复旦大学药学院)
朱家勇 (广东药学院)
毕开顺 (沈阳药科大学)
吴少祯 (中国医药科技出版社)
吴春福 (沈阳药科大学)
张志荣 (四川大学华西药学院)
姚文兵 (中国药科大学)
高思华 (北京中医药大学)
彭 成 (成都中医药大学)
委 员 (按姓氏笔画排序)
王应泉 (中国医药科技出版社)
田景振 (山东中医药大学)
李 高 (华中科技大学同济药学院)
李元建 (中南大学药学院)
李青山 (山西医科大学药学院)
杨 波 (浙江大学药学院)
杨世民 (西安交通大学药学院)
陈思东 (广东药学院)
侯爱君 (复旦大学药学院)
娄红祥 (山东大学)
宫 平 (沈阳药科大学)
祝晨蓀 (广州中医药大学)
柴逸峰 (第二军医大学药学院)
黄 园 (四川大学华西药学院)
朱卫丰 (江西中医药大学)
秘 书 夏焕章 (沈阳药科大学)
徐晓媛 (中国药科大学)
沈志滨 (广东药学院)
浩云涛 (中国医药科技出版社)
赵燕宜 (中国医药科技出版社)

序

中药制剂分析是中药类专业的重要专业课程，也是实践性很强的课程，内容既包括理论学习，又包括实践学习，而且实践学习是非常重要的环节。沈阳药科大学刘晓秋教授具有多年的《中药制剂分析》教学经验，从实际需求出发，编写了《中药制剂分析实验》一书，可作为中药类专业学生《中药制剂分析》的配套教材使用。

全书共分二章，第一章为中药制剂分析实验的基本知识；第二章为本书的核心内容——实验部分。实验内容包括验证性实验、综合性实验和设计性实验。实验内容主要依据《中国药典》2010年版一部，方法重现性好。选取内容既包括了药品检验中的定性鉴别、检查、含量测定三大内容，又涵盖了创新能力训练的设计性实验，选材科学，系统完整，以提高学生对中药分析的系统思考和学习。通过本实验内容的学习，可以使学生既得到了中药分析的基本技能训练，又学习了专业外语，为学生的专业实践和今后工作打下了扎实的基础。

此书的出版丰富了《中药制剂分析》的教学，为学生增添了一本好书，也将有助于学生系统掌握中药分析知识和实践技能，谨此为序！

梁生旺
2014年1月

第二版前言

中药制剂分析是中药学、中药资源学与开发、中药制药等各专业课程的重要组成部分，中药制剂分析实验对巩固课程的理论知识，培养动手能力、独立分析和解决问题的能力具有重要意义。

全书分为2章，中英双语对照。主要内容包括：第一章为中药制剂分析实验的基本知识，介绍了中药制剂分析实验的基本要求及注意事项、供试品溶液的制备方法和步骤、分析方法验证的基本内容等。第二章为中药制剂分析实验，共编写了20个实验，其中包括单项实验如显微鉴别、理化鉴别、薄层色谱鉴别；杂质的检查包括有毒成分的限量、水分、溶剂残留量、重金属等；各类有效成分的含量测定法如分光光度法测定生物碱、气相色谱法测定冰片和高效液相色谱法测定银杏叶中多种黄酮类成分等；综合性实验如二妙丸、大山楂丸、注射用双黄连等的质量分析；设计性实验如消渴丸等分析方法的设计等。附录部分收录了常用薄层色谱显色剂的配制和使用。

本书在第一版基础上，突出以下几个特点：①体现安全、有效、可控、均一、稳定的理念。系统地论述了中药制剂分析实验的基本知识、基本内容，由单项实验到综合性实验和设计性实验，体现了从鉴别、检查和含量测定3个方面对中药制剂进行质量控制。②着力引导学生掌握中药制剂分析的方法。本书力求使学生牢固树立中药制剂的质量观念，具备综合分析中药制剂质量的能力，注意引导学生掌握中药制剂分析实验的特点、原则和方法。对每个实验的原理和依据进行了详细阐述。③推进先进评价方法的实施并具有实用性：本书编写了中药质量控制中先进的评价方法如一测多评和指纹图谱等。

本书中的中药制剂是从《中国药典》2010版一部中精心选择的品种，并且经过预实验证明方法可行、重现性好、设计合理。

本书适用于中药学、中药资源学与开发、中药制药专业本科使用，也可作为成人教育本科和专升本、高等职业技术学校相关专业使用和参考。

本书编写得到了广东药学院梁生旺教授的指教和审校，在此深表谢意。沈阳药科大学中药分析教研室研究生崔庆玲、罗晓娟和程松在本书的编写中给予了帮助，在此一并表示衷心的感谢。

由于作者水平有限，书中出现的错误和不足之处，恳请读者谅解，批评指正。

编者
2014年7月

第一章 中药制剂分析实验的基本知识	(1)
Chapter 1 Elementary Knowledge of Experiment for Analysis of Traditional Chinese Medicine Preparation	(1)
第一节 中药制剂分析实验基本要求及注意事项	(1)
Section 1 Basic Requirements and Announcements of Experiment for Analysis of Traditional Chinese Medicine Preparation	(2)
第二节 供试品溶液的制备	(3)
Section 2 Preparation of Test Solution	(5)
第三节 分析方法验证的基本内容	(7)
Section 3 The Basic Content of Analysis Method	(9)
第四节 实验记录与报告	(12)
Section 4 Experimental Record and Report	(14)
第二章 中药制剂分析实验	(16)
Chapter 2 Experiment for Analysis of Traditional Chinese Medicine Preparation	(16)
单项实验 Individual Experiment	(16)
实验一 五苓散与万氏牛黄清心丸的显微鉴别	(16)
Experiment 1 Microscopical Identification of Wuling Powder and Wanshi Niuhuang Qingxin Pills	(18)
实验二 安胃片与冰硼散的理化鉴别	(21)
Experiment 2 Physical - Chemical Identification of Anwei Tablets and Bingpeng Powder	(24)
实验三 桂枝茯苓丸与葛根芩连片的薄层色谱鉴别	(26)
Experiment 3 Identification of Guizhi Fuling Pills and Gegen Qinlian Tablets by TLC	(30)
实验四 附子理中丸中乌头碱及砷盐的限量检查	(34)
Experiment 4 Limit Test of Aconitine and Arsenate in Fuzi Lizhong Pills	(37)
实验五 甲苯法测定通宣理肺丸中的水分	(40)
Experiment 5 Determination of Water in Tongxuan Lifei Pills	(41)
实验六 气相色谱法测定藿香正气水中乙醇的含量	(44)
Experiment 6 Determination of Ethanol in Huoxiang Zhengqi Tincture by GC	(45)
实验七 黄连上清丸中重金属的检查	(48)
Experiment 7 Test of Heavy Metals in Huanglian Shangqing Pills	(50)

实验八 酸性染料比色法测定华山参片总生物碱的含量	(53)
Experiment 8 Determination of the Total Alkaloids in Tabellae Physochlainae by Acid - dye Colorimetry	(54)
实验九 气相色谱法测定西瓜霜润喉片中冰片的含量	(57)
Experiment 9 Determination of Borneolum Syntheticum in Xiguashuang Runhou Tablets by GC	(59)
实验十 HPLC 法测定逍遥丸中芍药苷的含量	(61)
Experiment 10 Determination of Paeoniflorin in Xiaoyao Pills by HPLC	(62)
实验十一 HPLC 法测定银杏叶片中总黄酮醇苷的含量	(64)
Experiment 11 Determination of Total Amount of Flavonol Glycosides in Yinxingye Tablets by HPLC	(66)
实验十二 注射用益气复脉(冻干)的 HPLC 指纹图谱	(68)
Experiment 12 HPLC fingerprint chromatography of Yiqifumai Injection	(70)
实验十三 “一测多评”法测定三黄片中 4 种黄芩黄酮类成分	(72)
Experiment 13 Determination of four kinds of Scutellaria flavonoids in Sanhuang Tablets by QAMS	(74)
综合性实验 Comprehensive Experiment	(77)
实验十四 二妙丸的鉴别与挥发油的测定	(77)
Experiment 14 Identification of Ermiao Pills and Determination of Volatile Oil	(79)
实验十五 大山楂丸的鉴别与总黄酮的含量测定	(81)
Experiment 15 Identification of Dashanzha Pills and Determination of Total Flavonoids	(84)
实验十六 注射用双黄连(冻干)的质量分析	(88)
Experiment 16 Quality Analysis of Shuanghuanglian for Injection	(93)
实验十七 六味地黄丸的质量分析	(99)
Experiment 17 Quality Analysis of Liuwei Dihuang Pills	(103)
设计性实验 Design Experiment	(108)
实验十八 设计复方丹参片的质量分析方法	(108)
Experiment 18 Design the Analysis Experiment for Compound Salvia Tablets	(109)
实验十九 设计消渴丸的质量分析方法	(110)
Experiment 19 Design of Analysis Experiment for Xiaokewan Pills	(111)
实验二十 设计牛黄解毒片的质量分析方法	(112)
Experiment 20 Design of Analysis Experiment for Niuhuang Jiedu Tablets	(113)
附录 常用薄层色谱显色剂的配制和使用	(115)
Appendix The preparation and usage of commonly used TLC colorant	(117)

第一章 中药制剂分析实验的基本知识

Chapter 1 Elementary Knowledge of Experiment for Analysis of Traditional Chinese Medicine Preparation

第一节 中药制剂分析实验基本要求及注意事项

中药制剂分析实验是中药制剂分析课程的一个重要组成部分。用于加深对中药制剂分析知识的理解；全面了解中药制剂分析工作的性质和任务，培养严肃认真、实事求是的科学态度和工作作风。

实验课程要求学生熟练掌握各种分析方法和操作技术，培养独立开展中药制剂分析工作的能力。正确掌握实验教材中各类代表性药物的分析方法。为确保实验教学质量，每个实验者应认真做到以下几点。

(1) 实验前做好预习，明确实验的目的要求，熟悉原理和操作要点，估计实验中可能发生的问题及处理方法，有准备地接受教师的提问。

(2) 严格按实验规程操作，细心观察实验现象。

(3) 及时做好完整而确切的原始记录。要用钢笔或圆珠笔书写，字体端正。原始记录应直接记录于实验记录本上，不许记于纸条上或其他本子上。

(4) 为防止试剂、药品污染，取用时应仔细观察标签，杜绝错盖瓶盖或不随手加盖的现象发生。当不慎发生试剂污染时，应及时报告任课教师。公用试剂、药品应在指定位置取用。此外，取出的试剂、药品不能再倒回原瓶。

(5) 爱护仪器，小心使用，破损仪器应及时登记报损、补发。动用精密仪器，须经教师同意，用毕登记签名。

(6) 实验时确保安全，时刻注意防火、防爆。发现事故苗头及时报告，不懂时不要擅自动手处理。

(7) 爱护公物，节约水电、药品和试剂。可回收利用的废溶剂应回收至指定的容器中，不可任意弃去。腐蚀性残液应倒入废液缸中，切勿倒进水槽。

(8) 实验完毕应认真清理实验台，仪器洗净后放回原处，擦净台面，经老师同意后，方可离开。值日生还应负责整理公用试剂台、打扫地面卫生、清除垃圾及废液缸中的污物，并检查水、电、门窗等安全事宜。

(9) 认真总结实验结果，按指定格式填写实验报告，并按规定时间上交。

Section 1 Basic Requirements and Announcements of Experiment for Analysis of Traditional Chinese Medicine Preparation

Experimental of Analysis of Traditional Chinese Medicine Preparation is an important part of analysis of Traditional Chinese Medicine Preparation for deepening theory knowledge, fully understanding the property and task of the work, and developing serious, practical and realistic scientific attitude and work style.

The experimental course requests student to expertly grasp various analytical methods and operational technique. It also trains student to have the ability to carry out the work on Analysis of Traditional Chinese medicine preparation independently, and to master the analytical method of each kind of representative medicine in the experimental book accurately. For better experimental teaching quantity, every experimenter should observe the terms seriously as follows:

1. Preview the experiment content seriously before carrying out an experiment. Make good understanding of the experimental purpose and requirement, be familiar with the principle, experimental procedures. Full consideration should be given to the precaution of accident and to the settlement of the accident happened in any case, prepare to answer the questions teacher should ask.

2. Perform the experiment strictly according to the experimental procedures, observe experiment phenomena carefully.

3. Record original experimental data directly in experimental record notebook in time completely and accurately. Write with fountain pen or ball - point pen. Forbid to record on note paper or other books.

4. To prevent reagents and drugs pollution, carefully observe the label of them before using. Eradicate the occurrence of covering a wrong bottle capping or without cover after use reagents. While the immodesty reagents pollution occurrence, be sure to report to teachers in time. The public reagents, drugs should be used at appointed place. In addition, reagent and drugs taken out must not be poured back to original bottle.

5. Take good care of equipment, use carefully, in case the instruments damaged, register and report to replacing in time. It must be obtained by teacher to use the precise instrument, and be sure to register the signature after usage.

6. Guarantee the safety during experiment. Pay attention to prevent from fire and explosion all the time. Any indication of trouble should be reported in time. Do not do any disposal if can not deal with correctly.

7. Take good care of public property, economize the electricity, water, drugs and reagents. Waste solvent which can be recovered should be poured into the appointed container. It can't be leaved arbitrarily. Causticity aqua should be poured into waste liquor cistern, abso-

lutely do not pour into the sink.

8. After the experiment, Tidy up the experiment bench, all the instruments used should be cleaned and put in order. With all above have been done and the tutor's permission students can leave the laboratory. Students on duty are in charge of the public agent bench, floor, cleaning the rubbish and the dirty in waste liquor cistern. Check the water, electricity, gas, door and windows finally.

9. Summary experimental result seriously. Fill in the experiment report according to appoint format, hand in report on schedule.

第二节 供试品溶液的制备

中药制剂多为复方, 组成复杂, 需要经过提取、分离、净化制成供试品溶液, 才能进行分析测定。一般根据被测成分的理化性质与干扰成分的特性及剂型的各异等选择提取分离的方法。同一成分在不同的剂型中采用的提取、分离、净化方法可能完全不同。

一、提取分离

按提取原理可分溶剂提取法、水蒸气蒸馏法、超临界流体萃取法和升华法。

(一) 溶剂提取法

选用适当的溶剂将被测成分溶出的方法称为溶剂提取法。所选溶剂应价廉, 使用安全, 不能与被测成分发生化学反应。常用溶剂包括石油醚、三氯甲烷、乙酸乙酯、乙醚、丙酮、乙醇、甲醇、水等。苷的提取可选用极性较大的溶剂, 而苷元的提取则选用极性小的溶剂; 游离生物碱大多为亲脂性化合物, 多用极性小的溶剂, 而当与酸结合成盐后, 具有较强的亲水性, 应选用极性较强的溶剂。

常用方法为萃取法、冷浸法、回流提取法、连续回流提取法和超声提取法。

1. 萃取法 取液体供试品, 精密量取, 置水浴锅上蒸发至无醇味(酒剂或酊剂), 移入分液漏斗中, 用溶剂振摇提取, 合并提取液, 挥去溶剂, 残渣用乙醇或甲醇溶解, 作为供试品溶液。萃取的效率取决于所选用的溶剂, 溶质在有机相和水相的分配比越大, 萃取效果越好。

2. 冷浸法 取样品粉碎, 精密称取一定量, 置具塞锥形瓶中, 精密加入溶剂, 浸泡2~24h, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。本法适用于固体样品的提取, 适宜热不稳定成分。影响浸提效果的因素有溶剂种类、性质和用量、样品的性质与颗粒直径、浸提的温度和时间等。

3. 回流提取法 取供试品, 精密称定, 精密加入提取溶剂, 称定重量, 连接冷凝器, 加热至微沸, 并保持微沸。放冷后, 取下锥形瓶, 密塞, 再称定重量, 用溶剂补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。本法主要用于固体制剂的提取, 适宜对热稳定或非挥发性组分的提取。

4. 连续回流提取法 使用索氏提取器连续进行提取, 操作简便, 节省溶剂, 提取

效率高。适用于对热稳定物质的提取。

5. 超声提取法 精密称取供试品，精密加入提取溶剂，超声振荡提取一定时间，取出，称重，补足溶剂减失的重量，滤过，取续滤液作为供试品溶液。这种方法简便、快速、提取效率高。

(二) 水蒸气蒸馏法

适用于能随水蒸气蒸馏而不被破坏的成分。挥发油、一些小分子的生物碱如麻黄碱、槟榔碱，某些酚类物质如丹皮酚等可用本法提取。

(三) 超临界流体萃取法

超临界流体是指高于临界压力和临界温度时所形成的单一相态，如 CO_2 的临界温度为 31°C ，临界压力为 7390kPa 。它既不是气体，也不是液体，但它兼有气体和液体的某些性质，即兼有气体的低黏度，液体的高密度以及介于气、液之间较高的扩散系数等特征。萃取后在常压状态下溶剂立即变为气体而逸出，可提到纯净的样品。

(四) 升华法

取金属片，置石棉网上，金属片上放一直径 2cm 、高约 8mm 的金属环。圈内放置适量药材粉末，圈上覆盖载玻片，在石棉网下用酒精灯缓缓加热，至粉末开始变焦，冷却。将载玻片置显微镜下观察或取升华物加试液观察反应。

二、净化方法

提取液大多还需作进一步的净化分离，除去干扰组分后才能进行测定。净化的原则是最大限度保留被测成分而除去对测定有干扰的杂质。净化方法的选择主要依据被测成分和杂质在理化性质上的差异，同时结合所采用的测定方法的要求而综合考虑。常用的净化方法有以下两种。

(一) 液-液萃取法

同提取分离中的萃取步骤。

(二) 色谱法

精密量取提取液，除掉溶剂，将残渣溶解，用适当的色谱柱如大孔吸附树脂、聚酰胺、十八烷基键合相硅胶等柱处理。以适宜的溶剂洗脱，收集一定量的洗脱液，蒸干。将残渣溶解，混合均匀。

三、制备步骤

(1) 一步提取，补足减失的重量，取滤液。

取样品，粉碎，加入一定量的溶剂（ $50 \sim 100$ 倍），采用适当的提取方法（回流、连续回流、超声等）提取 20min 至 1h ，放冷，补足减失的重量，滤过，滤液作为供试品溶液。

(2) 多步提取，合并滤液，稀释至一定体积。

取样品，粉碎，加入一定量的溶剂（ $10 \sim 20$ 倍），采用适当的提取方法（回流、连续回流、超声等）提取 20min 至 1h ，滤过，滤渣加溶剂再提取 $1 \sim 2$ 次，滤过，合并滤液置量瓶中，加溶剂稀释至刻度，摇匀，作为供试品溶液。

Section 2 Preparation of Test Solution

Most of Traditional Chinese patent medicines are compound preparation, whose ingredients are complex. Test solution should be prepared by extraction, isolation and purification method before analysis. In general, the method chosen should comply with the physical and chemical property of the determined and interferential constituent, as well as diversity of dosage form of Traditional Chinese patent medicines. There are different extraction, separation and purification methods for same constituent in different dosage form.

1. Extraction and separation

According to principle, extract methods can be classified into solvent extraction, vapour distillation, supercritical fluid extraction and sublimation.

(1) Solvent extraction Solvent extraction is summarized as extracting the constituent determined by using proper solvent. The solvent chosen should be cheap, safe and can not react with the constituent determined. The common solvents for extracting include petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, ethyl ether, acetone, ethanol, methanol, water and so on. For example, the solvent of high polarity is chosen for the extraction of glycosides, while the solvent of low polarity is chosen for the extraction of aglycone. Most of free alkaloids are lipophilic compound which can be extracted with solvent of low polarity. When free alkaloids react with acid, hydrophilous substance, salt, was produced, which can be extracted with solvent of high polarity.

Common methods include extraction, cold maceration, reflux extraction, successive reflux extraction and ultrasonication.

Extraction method To liquid sample, measure accurately, evaporate it (alcohol or tincture) on a water bath until no ethanol smell is perceptible, transfer it into a separating funnel. Extract it with certain quantities of solvent, combine the solvent extracts and expel the solvent. Dissolve the residue in ethanol or methanol as the test solution. The efficiency of the extraction is up to the solvent selected. The higher distributive proportion the solute is between organic phase and water phase, the more efficiency it is.

Cold maceration method Place powder of sample, weigh accurately, in stopper conical flask, add solvent accurately, macerate for 2-24 hours, filter, take the successive filtrate as test solution. The method is appropriate to the extraction of solid samples which are unstable under heating. The factors that influence the efficiency of extraction contain sorts, property and volume of solvent, property of sample and diameter of grind, temperature and time of maceration, and so on.

Reflux method To test sample, weigh accurately, add solvent accurately, weigh again, connect to reflux condenser tube, heat, maintain boiling gently, cool, take off the conical flask, stoppered well, weigh. Add solvent to restore its original weight, shake well, filter, and

take the successive filtrate as test solution. The method is appropriate to the extraction of solid sample, which is stable under heating or does not contain volatile constituents.

Successive reflux method Successively extract with Soxhlet's extractor. This method is simple, saving and highly efficient, appropriate to the extraction of the substances which are stable under heating.

Ultrasonication method To test sample, weigh accurately, add solvent accurately, ultrasonicate for a moment, remove, weigh again. Add solvent to restore its original weight, shake well, filter, take the successive filtrate as the test solution. This method is simple, swift and efficient.

(2) Vapour distillation method The method is appropriate to the sample which is stable-under heating and can be distilled with vapour, such as volatile oil, some alkaloids of small molecule (ephedrine, arecoline) and some phenolics e. g. paeonol can be extracted by this method.

(3) Supercritical fluid (SCF) extraction method SCF is a substance state which is formed above critical pressure and critical temperature. For example, the critical pressure of carbon dioxide is 7390kPa, and the critical temperature is 31°C. SCF is neither gas nor liquid, however, it owns the property of both of them, low viscosity of gas, high density of liquid and high diffusion coefficient between gas and liquid. After extracting, the SCF will convert at ambient pressure. Then the pure sample appears.

(4) Sublimate method Place a metallic slide on an asbestos plate with a metallic ring of about 2 cm in diameter and about 8 mm high on the slide. Place a thin layer of powdered drugs to be examined in the ring, covered with a glass slide, heat gently under the asbestos plate until the powder is charred then remove the glass slide and allow to cool. Examine the crystal form and colour of sublimate condensed on the slide under a microscope or carry out the appropriate chemical tests on the sublimate.

2. Purification method

Before determination, the extracting solution needs to be further purified to remove the impurity. The principle of purification is to retain the ingredients determined and to remove the ingredients interfered maximally. The purification method selected is on the ground of differences of chemical and physical property between the constituents determined and the constituents interfered and must bond with the determination method. The common purification methods contain liquid - liquid extraction method and chromatography.

(1) Liquid - Liquid extraction method The same as the procedure of above (description in extraction and separation) .

(2) Chromatography Measure the solution, accurately, expel the solvent. Dissolve the residue and apply the solution to a column packed with macroporous, polyamide, octadecylsilane bonded silica gel. Elute with proper solvent, collect quantities of the eluate and evaporate to dryness. Dissolve the residue, mix well.

3. operating steps

(1) One - step extraction, replenish the lost weight, and use the successive filtrate.

Take the sample, pulverize into fine powder, add a certain amount of solvent (50 - 100 times), use the appropriate extraction method (reflux, continuous reflux, ultrasonic, etc.), extraction time 20min - 1h, replenish the lost weight, filter, use the successive filtrate as the test solution.

(2) A multi - step extraction, combine the filtrate, and dilute to constant volume.

Take the sample, pulverize into fine powder, add a certain amount of solvent (10 - 20 times), use the appropriate extraction method (reflux, continuous reflux, ultrasonic, etc.), extraction 20min - 1h, filter, dissolve the residue with proper solvent to extract 1 or 2 more times, filter, combine the filtrate, and dilute to constant volume, mix well, as the test solution.

第三节 分析方法验证的基本内容

中药化学成分的测定方法因品种不同,凡是自行建立的新方法,均要进行方法学考察研究。一般考察项目如下。

一、准确度

准确度系指用该方法测定的结果与真实值或参考值接近的程度,一般用回收率(%)表示。准确度应在规定的范围内测试。

1. 含量测定方法的准确度 于已知被测成分含量的供试品中精密加入一定量的已知纯度的被测成分对照品,依法测定。用实测值与供试品中含有量之差,除以加入对照品量计算回收率。

$$\text{回收率, \%} = (C - A) / B \times 100\%$$

式中, A —— 供试品所含被测分量;

B —— 加入对照品量;

C —— 实测值。

2. 数据要求 在规定范围内,取同一浓度的供试品,用6个测试结果进行评价;或设计3个不同浓度,每个浓度各分别制备3份供试品溶液进行测试,用9个测定结果进行评价,一般中间浓度加入量与所取供试品含量之比控制在1:1左右。应报告供试品取样量、供试品中含有量、对照品加入量、测定结果和回收率(%)的相对标准偏差(RSD%)或可信限。

二、精密度

精密度系指在规定的测试条件下,同一均匀供试品,经多次取样测定所得结果之间的接近程度。精密度一般用偏差、标准偏差或相对标准偏差表示。

精密度包含重复性、中间精密度和重现性。

在相同操作条件下，由同一分析人员在较短的间隔时间内测定所得的结果的精密度称为重复性；在同一个实验室，不同时间由不同分析人员用不同设备测定结果之间的精密度称为中间精密度；在不同实验室由不同分析人员测定结果之间的精密度称为重现性。

用于定量测定的分析方法均应考察方法的精密度。

1. 重复性 在规定范围内，取同一浓度的供试品，用6个测试结果进行评价；或设计3个不同浓度，每个浓度各分别制备3份供试品溶液进行测试，用9个测定结果进行评价。

2. 中间精密度 为考察随机变动因素对精密度的影响，应进行中间精密度试验。变动因素为不同日期、不同分析人员、不同设备等。

3. 重现性 当分析方法将被法定标准采用时，应进行重现性试验。例如建立药典分析方法时通过不同实验室的复核检验得出重现性结果。符合检验的目的、过程和重现性结果均应记载在起草说明中。

4. 数据要求 均应报告标准偏差、相对标准偏差或可信限。

三、专属性

专属性系指在其他成分可能存在的条件下，采用的方法能正确测定出被测成分的特性。鉴别试验、限量检查、含量测定等方法均应考察其专属性。

1. 鉴别试验 应能与可能共存的物质或结构相似化合物区分。不含被测成分的供试品，以及结构相似或组分中的有关化合物，均不得干扰测定。显微鉴别、色谱及光谱鉴别等应附相应的代表性图像或图谱。

2. 含量测定和限量测定 以不含被测成分的供试品（除去含待测成分药材或不含待测成分的模拟复方）试验说明方法的专属性。色谱法、光谱法等应附代表性图谱，并标明相关成分在图中的位置，色谱法中的分离度应符合要求。必要时可采用二极管阵列检测和质谱检测，进行峰纯度检查。

四、检测限

检测限系指供试品中被测物能被检测出的最低量。确定检测限常用的方法如下。

1. 直观法 用一系列已知浓度的供试品进行分析，试验出能被准确、可靠地检测出的最低浓度或量。

2. 信噪比法 仅适用于能显示基线噪声的分析方法，即把已知低浓度供试品测出的信号与空白样品测出的信号进行比较，算出能被可靠地检测出的最低浓度或量。一般以信噪比3:1或2:1时相应浓度或注入仪器的量确定检测限。

3. 数据要求 应附测试图谱，说明测试过程和检测限结果。

五、定量限

定量限系指供试品中被测成分能被定量测定的最低量，其测定结果应具有一定的准确度和精密度。用于限定检查或定量测定的分析方法应确定定量限。

常用信照比法确定定量限。一般以信噪比 10:1 时相应浓度或注入仪器的量进行确定。

六、线性

线性系指在设计的范围内,测试结果与供试品中被测物浓度直接成正比关系的程度。

应在规定的范围内测定线性关系。可用一贮备液经精密稀释,或分别精密称样,制备一系列供试品的方法进行测定,至少制备 5 个浓度的供试品。以测定的响应信号作为被测物浓度的函数作图,观测是否呈线性,再用最小二乘法进行线性回归。必要时,响应信号可经数学转换,再进行线性回归计算。

数据要求:应列出回归方程、相关系数和线性图。

七、范围

范围系指能达到一定精密度、准确度和线性,测试方法适用的高低限浓度和量的区间。

范围应根据分析方法的具体应用和线性、准确度、精密度结果及要求确定。对于有毒的、具特殊功能或药理作用的成分,其范围应大于被限定含量的区间。

八、耐用性

耐用性系指在测定条件有小的变动时,测定结果不受影响的承受程度,为使方法用于常规检验提供依据。开始研究分析方法时,就应考虑其耐用性。如果测试条件要求苛刻,则应在方法中写明。典型的变动因素有:被测溶液的稳定性,样品提取次数、时间等。液相色谱法中典型的变动因素有:流动相的组成比例或 pH,不同厂牌或不同批号的同类型色谱柱、柱温、流速及检测波长等。气相色谱法变动因素有:不同厂牌或不同批号的色谱柱、固定相、不同类型的载体、柱温、进样口和检测器温度等。薄层色谱变动因素有:不同厂牌的薄层板、点样方式及薄层展开时温度及相对湿度的变化等。

经试验,应说明小的变动能否通过设计的系统适用性试验以确保方法有效。

Section 3 The Basic Content of Analysis Method

The determination method of chemical component of the traditional Chinese medicine complied with individual monograph is different. If the new method is set up by yourself, you must have a study of the analysis method. Common study items are as follows.

1. Accuracy

The accuracy of an analytical method is the closeness of test results obtained by that method to the true value or the reference value. Accuracy is often expressed as percent recovery and should be in the specified range.