

前言

传统的中药学/药学实验教材缺乏中药学/药学实践教学自身的系统性、科学性和贯通性；偏重理论验证性实验，较少涉及综合性、设计性实验，几乎没有创新性实验；现有的综合、设计性实验里很少涉及多门课程知识的交叉融合内容，反映学科交叉、联系实际工作中药物研究过程的贯通性实验更少，虽然对于帮助学生强化课堂理论知识有积极作用，但不利于调动学生积极性，不能提高学生学习的主动性，可能造成实验课流于形式，不利于学生创新思维科研能力培养，也达不到培养学术型创新人才的要求。为解决以上问题，本教材组织了 30 名长期在一线开展教学工作的专家、教师共同编写了《中药学药学综合创新实验》。本教材秉承“夯实基础、突出创新、与时俱进”的实验改革思路，改良实验设计内容和技术手段，实现“实验教学促进理论教学改革”，构建“基础-有用-前沿”的实验教学体系。实验项目的设计以强化基础、注重应用、突出创新为中心点，减少验证性实验，增加综合性、设计性和创新性实验，促进学生专业技能和科研创新素质的提升，培养“明德、厚基、强思、精业”创新复合型和应用复合型中药学、药学类专业高素质人才。本教材可供课程教学、科研基础训练等教学使用。

通过教材中实验实践项目的学习，并进行中药学、药学综合性、设计性和创新性实验的学习训练，学生能以比较全面的视角完成相关研究，获得科学思维和创新意识，具备一定中药学、药学研究的贯通性思路，提高综合运用知识的能力，也有利于学生的个性化发展。

全书由上、中、下三篇共 53 个实验构成。上篇为综合性实验，共 17 个项目，强调两门以上课程实验知识与技能的交叉融合，夯实学生基础实验技能。中篇为设计性实验，共 19 个项目，强调实验方法路线的多重选择性和可优化性，锻炼学生实验方案的设计能力。下篇为创新性实验，共 17 个项目，编委老师将科研项目引入实验教学设计，以开放性实验和研究型实验为主，为学生创新实验、创新竞赛提供研究方向，培养科学思维和创新能力及科研标书的撰写能力。教材在编写上突出专业内涵，注重特色，实现教材模式结构和内容的创新，旨在提高实验教学水平，提升人才培养质量，推进中药学/药学一流专业建设。另外说明一下，本书中涉及的“水”均为“纯水”。

全书编写分工如下。综合性实验：操红缨、陈丰连、段礼新、何建峰、何细新、凌家俊、刘军民、沈奇、童毅、王涛、吴文如、夏荃、于洋、赵钟祥、张蕾、张英丰、朱

丽君。设计性实验：陈丰连、杜勤、何建峰、何细新、胡庆忠、廖琼峰、林小桦、凌家俊、刘军民、卢琳琳、王涛、夏荃、熊天琴、喻芳君、于洋、张蕾、张英丰、赵钟祥。

创新性实验：操红缨、段礼新、何建峰、何细新、凌家俊、刘芳、龙泳伶、卢琳琳、沈奇、王彩艳、王涛、夏荃、熊天琴、张翠仙、朱丽君、刘昌辉、王俊岩。

实验教学改革是在实践中不断探索的过程。教材编写难免存在不足之处，敬请提出宝贵意见，以利进一步完善。

本书编委会

2025年5月



目 录

上篇 综合性实验 / 1

- 实验 1 阿司匹林合成、肠溶片制备、质量分析及镇痛作用评价 / 2
- 实验 2 水杨酸软膏的设计制备、质量考察及药物透皮试验 / 9
- 实验 3 芦丁的提取分离、结构鉴定及片剂制备 / 23
- 实验 4 对乙酰氨基酚合成、有关物质分析及其体内药动学研究 / 27
- 实验 5 光温等环境因素对穿心莲药材质量的影响评价 / 33
- 实验 6 汉黄芩素吸收、分布、代谢、排泄特征研究 / 43
- 实验 7 气相色谱-质谱指纹图谱结合网络药理学探究艾叶挥发油抗慢性支气管炎的作用机制 / 51
- 实验 8 茉莉酸甲酯对溪黄草类药材总黄酮含量的影响 / 56
- 实验 9 广藿香与藿香的综合性比较鉴别 / 67
- 实验 10 穿心莲内酯的提取分离、结构鉴定和含量测定试验 / 77
- 实验 11 岭南特色饮片蒸佛手的炮制及其炮制前后的质量变化 / 82
- 实验 12 不同泽泻炮制品的利尿作用及尿动力学研究 / 87
- 实验 13 黄连干姜汤的化学成分表征及含量测定 / 93
- 实验 14 调胃承气糖浆剂的制备与评价 / 96
- 实验 15 灯盏花素脂质体制备工艺的优选及评价 / 102
- 实验 16 黄连干姜汤对急性溃疡性结肠炎的药效学研究 / 109
- 实验 17 利用酿酒酵母体系生产人参达玛烯二醇 / 112

中篇 设计性实验 / 123

- 实验 1 溪黄草药材种质资源鉴定与评价设计 / 124
- 实验 2 穿心莲内酯分散片的制备及其质量评价试验 / 128
- 实验 3 两面针叶肉原生质体制备条件的优化 / 132
- 实验 4 不同炮制工艺对陈皮化学成分及药效的影响 / 136
- 实验 5 黄芩苷栓绝对生物利用度的测定 / 140
- 实验 6 KRAS^{G12C} 抑制剂筛选与确证实验设计 / 146
- 实验 7 林下山参免疫调节作用研究 / 152
- 实验 8 析因设计探讨黄连干姜汤治疗溃疡性结肠炎的寒温配伍机制研究 / 156

- 实验 9 姜黄素衍生物设计、合成及抗炎作用研究 / 161
- 实验 10 一测多评法同时测定复方利血平片中 7 种成分的含量 / 167
- 实验 11 手性色谱固定相的设计和制备及其在布洛芬对映体的分离研究 / 171
- 实验 12 阿司匹林缓释片的处方筛选及制备工艺设计 / 175
- 实验 13 氯霉素的合成及药效学评价 / 180
- 实验 14 丹参醌类成分的提取分离、结构鉴定、虚拟筛选及类药性预测 / 187
- 实验 15 中药活性成分熊果酸的微生物转化实验 / 190
- 实验 16 抗疟金鸡纳生物碱奎宁分子印迹聚合物设计合成及识别性能评价 / 194
- 实验 17 甲氨蝶呤口服时辰药动学与时辰毒性研究 / 197
- 实验 18 广藿香指纹图谱及抗氧化活性谱效关系研究 / 201
- 实验 19 蛇床子素传递体凝胶的制备与评价 / 208

下篇 创新性实验 / 217

- 实验 1 羟基喜树碱热敏脂质体的制备及评价 / 218
- 实验 2 β -环糊精类键合硅胶手性固定相分离手性药物对映体研究 / 221
- 实验 3 药用植物紫苏遗传转化体系构建 / 223
- 实验 4 磷酸二酯酶 4 (PDE4) 天然抑制剂的发现及优化 / 227
- 实验 5 几味药食同源的中药调节肠平滑肌作用及作用机制的研究 / 230
- 实验 6 基于智能感官与光谱、色谱技术的制枳壳饮片的质量评价研究 / 235
- 实验 7 基于 OSMAC 策略和 GNPS 技术对濒危药材重楼共附生微生物中次生代谢产物的研究 / 239
- 实验 8 多靶点抗肿瘤天然有效成分的设计、合成与活性评价 / 242
- 实验 9 人参皂苷 Rg₂ 促进肿瘤“冷-热”转化的分子机制研究 / 245
- 实验 10 齐墩果酸及其类似物与靶点 FXR 蛋白的互作分析 / 248
- 实验 11 附子胺醇型生物碱药动学-药效学研究 / 252
- 实验 12 基于化学标记的药物偶联探针的制备及药物寻靶 / 256
- 实验 13 合成生物学手段在酵母体内生产青蒿酸 / 260
- 实验 14 基于 ERR α 分子探究十味骨康方治疗围绝经期骨质疏松的机制研究 / 264
- 实验 15 京尼平苷酸通过 STING 信号通路改善 DDC 诱导的胆汁淤积型肝损伤 / 268
- 实验 16 茵陈蒿汤通过增强 FXR 介导的胆汁酸代谢改善 ANIT 诱导的胆汁淤积 / 272
- 实验 17 基于 NR3C2 探讨桂芪复脉汤对心力衰竭的机制研究 / 275



综合性实验

实验1 阿司匹林合成、肠溶片制备、质量分析及镇痛作用评价

阿司匹林为一种解热镇痛药，由于其酸性较强 ($pK_a=3.5$)，对胃黏膜有很强的刺激作用，可产生一系列胃肠道不良反应。因此，单方制剂多制成肠溶片以降低对胃的刺激。本实验先采用有机合成的方法合成阿司匹林原料药，然后制片并选择雅克宜肠溶包衣粉 (Acryl-EZE93F) 材料对含阿司匹林片芯进行包衣，制成阿司匹林肠溶片，对阿司匹林原料药和制剂进行全面的质量分析，包括溶液澄清度实验、显色鉴别、溶出度、游离水杨酸限度检查和阿司匹林含量测定等，最后用乙酸扭体法评价阿司匹林肠溶片的镇痛效果。

本实验综合运用了有机化学、药剂学、药物分析和药理学相关知识，涉及阿司匹林原料药合成-剂型设计-质量分析-药理学评价，属于大型综合性实验。

一、目的要求

- (1) 掌握阿司匹林的制备原理和方法。
- (2) 掌握药物肠溶片的制备及质量分析方法。
- (3) 掌握用乙酸扭体法评价药物的镇痛效果。

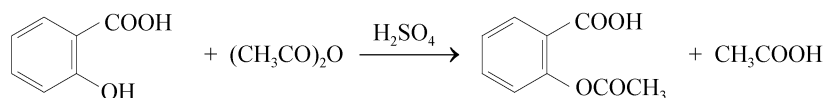
二、基本原理

1. 阿司匹林简介

阿司匹林，又称乙酰水杨酸，是常用的解热镇痛药，临床上用于治疗伤风、感冒、头痛、神经痛、关节痛及风湿病等，研究表明它也具有抑制血小板凝聚，预防血栓形成，在心血管疾病的防治中发挥重要作用。阿司匹林为白色针状或片状结晶，熔点 (m.p.): $135\sim 136^\circ\text{C}$ ，易溶于乙醇，可溶于三氯甲烷、乙醚，微溶于水。

2. 阿司匹林合成

阿司匹林通常以水杨酸为原料，以乙酸酐或乙酰氯为酰化试剂，在浓硫酸的催化下将水杨酸中的羟基乙酰化而得。合成反应式如下：





3. 肠溶片

片剂系指药物与辅料均匀混合,通过制剂技术压制而成的片状固体制剂,具有剂量准确、质量稳定、服用方便、成本低等优点。通常片剂的制备方法有制颗粒压片、结晶直接压片和粉末直接压片等。制颗粒的方法又分为干法和湿法。其中,湿法制粒压片最为常见。肠溶片是指采用肠溶性包衣材料进行包衣的片剂,其利用肠溶衣在不同酸碱环境中的溶解度不同,可以实现在胃中不崩解而在肠道中崩解和吸收。一些遇酸易被破坏、对胃有较强刺激或肠道给药的药物通常需要制成肠溶片。

阿司匹林分子结构中含有羧基,显酸性,口服会引起胃肠道不良反应,如上腹不适、恶心、呕吐等,因此,将阿司匹林制成肠溶片,可减少对胃的刺激性,增加药物的肠道吸收,降低药物的不良反应。

4. 药效学评价

阿司匹林主要抑制前列腺素及其他能使痛觉对机械性或化学性刺激敏感的物质(如缓激肽、组胺)的合成,属于外周性镇痛药。在药理实验中,筛选镇痛药常用的致痛方法有物理法(热、电和机械刺激)和化学法。

乙酸扭体法通过化学刺激来引发小鼠的疼痛反应,将乙酸涂布于动物的某些敏感部位或腹腔注射。实验多采用0.6%乙酸溶液直接腹腔注射,刺激腹膜引起持久的疼痛,从而使小鼠表现出“扭体反应”(即腹部内凹、躯干与后肢伸张和臀部高起);观察给予乙酸15~20 min内发生扭体反应的小鼠数或各小鼠扭体次数,通过与对照组扭体次数的统计学比较,计算扭体抑制率,来评价其镇痛效果。镇痛药可以抑制动物的扭体反应,提高扭体抑制率。扭体抑制率计算公式如下:

$$\text{扭体抑制率} = \frac{\text{对照组扭体次数均数} - \text{受试物组扭体次数均数}}{\text{对照组扭体次数均数}} \times 100\%$$

三、实验内容

(一) 实验材料与设备

1. 试剂与试药

水杨酸、乙酸酐、浓硫酸、0.1%三氯化铁溶液、碳酸钠、冰乙酸、乙腈、四氢呋喃、乙醇、酚酞指示液、淀粉、酒石酸、滑石粉等。

2. 仪器与设备

高效液相色谱仪、恒温水浴、熔点仪、天平、压片机、崩解仪、溶出仪、硬度计、注射器、小鼠灌胃针等。

3. 实验动物

SPF级KM小鼠,雌雄各半,体重为 $20\text{ g} \pm 2\text{ g}$,分为对照组和受试物组,每组10只。

(二) 实验方法

1. 阿司匹林制备

取干燥锥形瓶(50 mL),放入3 g水杨酸、4.5 mL新蒸馏过的乙酸酐和5滴浓硫酸,轻轻摇晃混合,然后置于60~70℃热水浴中边加热边振摇使水杨酸完全溶解,反应20 min。取出锥形瓶,将反应物倒入装有45 mL蒸馏水的烧杯中,搅拌后放入冰水浴中冷却。当结晶完全后,减压抽滤,并用少量冷水洗涤,抽干即得阿司匹林粗品。取少量阿司匹林粗品溶于几滴乙醇中,加入0.1%三氯化铁溶液1~2滴,观察溶液颜色是否变化。

将制得的阿司匹林粗品放入干燥锥形瓶(150 mL)中,用1:1稀乙酸在60℃重结晶。将重结晶产品减压抽滤,用少量冷水洗涤结晶2~3次,产品干燥,称重,计算产率,最后测定其熔点。纯的阿司匹林为白色针状结晶,熔点为135~136℃。

【注释】

(1) 乙酸酐易水解形成乙酸,使酰化反应难以发生。乙酸酐最好蒸馏新制,收集139~140℃馏分,反应用到的仪器必须干燥。

(2) 控制好反应温度,温度太高容易产生副产物,温度太低则反应不充分。

(3) 阿司匹林粗品往往混有未反应完的水杨酸,它会与三氯化铁作用发生颜色变化,以此检测产品纯度。

(4) 阿司匹林受热后易分解,其分解温度为128~135℃,测定熔点较困难,可将加热介质升温到120℃左右再放入样品测定。

(5) 也可用乙醇等重结晶。重结晶时不宜加热过久,也不宜用高沸点的溶剂,以免阿司匹林部分水解。

2. 阿司匹林质量分析

【性状】 本品为白色结晶或结晶性粉末;无臭或微带乙酸臭;遇湿气即缓缓水解。

本品在乙醇中易溶,在三氯甲烷或乙醚中溶解,在水或无水乙醚中微溶;在氢氧化钠溶液或碳酸钠溶液中溶解,但同时分解。

【鉴别】

(1) 取本品约0.1 g,加水10 mL,煮沸,放冷,加三氯化铁试液1滴,即显紫堇色。

(2) 取本品约0.5 g,加碳酸钠试液10 mL,煮沸2 min后,放冷,加过量的稀硫酸,即析出白色沉淀,并发生乙酸的臭气。

(3) 本品的红外光吸收图谱应与对照的图谱(光谱集5图)一致。

【检查】 **溶液的澄清度** 取本品0.50 g,加温热至约45℃的碳酸钠试液10 mL溶解后,溶液应澄清。

游离水杨酸 照高效液相色谱法(通则0512)测定。

溶剂 1%冰乙酸的甲醇溶液。

供试品溶液 取本品约0.1 g,精密称定,置10 mL量瓶中,加溶剂适量,振摇使溶解并稀释至刻度,摇匀。

对照品溶液 取水杨酸对照品约10 mg,精密称定,置100 mL量瓶中,加溶剂适量使溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取5 mL,置50 mL量瓶中,用溶剂稀释至刻度,摇匀。

色谱条件 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈-四氢呋喃-冰乙酸-水(20:5:



5 : 70) 为流动相; 检测波长为 303 nm; 进样体积 10 μ L。

系统适用性要求 理论塔板数按水杨酸峰计算不低于 5000。阿司匹林峰与水杨酸峰之间的分离度应符合要求。

测定法 精密量取供试品溶液与对照品溶液, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图。

限度 供试品溶液色谱图中如有与水杨酸峰保留时间一致的色谱峰, 按外标法以峰面积计算, 不得过 0.1%。

易炭化物 取本品 0.50 g, 依法检查 (通则 0842), 与对照液 (取比色用氯化钴液 0.25 mL、比色用重铬酸钾液 0.25 mL、比色用硫酸铜液 0.40 mL, 加水使成 5 mL) 比较, 不得更深。

有关物质 照高效液相色谱法 (通则 0512) 测定。

溶剂 1%冰乙酸的甲醇溶液。

供试品溶液 取本品约 0.1 g, 置 10 mL 量瓶中, 加溶剂适量, 振摇使溶解并稀释至刻度, 摇匀。

对照溶液 精密量取供试品溶液 1 mL, 置 200 mL 量瓶中, 用溶剂稀释至刻度, 摇匀。

水杨酸对照品溶液 见游离水杨酸项下对照品溶液。

灵敏度溶液 精密量取对照溶液 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用溶剂稀释至刻度, 摇匀。

色谱条件 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以乙腈-四氢呋喃-冰乙酸-水 (20 : 5 : 5 : 70) 为流动相 A, 乙腈为流动相 B, 按表 1-1-1 进行梯度洗脱; 检测波长为 276 nm; 进样体积 10 μ L。

表 1-1-1 阿司匹林梯度洗脱

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0	100	0
60	20	80

系统适用性要求 阿司匹林峰的保留时间约为 8 min, 阿司匹林峰与水杨酸峰之间的分离度应符合要求。灵敏度溶液色谱图中主成分峰高的信噪比应大于 10。

测定法 精密量取供试品溶液、对照溶液、灵敏度溶液与水杨酸对照品溶液, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图。

限度 供试品溶液色谱图中如有杂质峰, 除水杨酸峰外, 其他各杂质峰面积的和不得大于对照溶液主峰面积 (0.5%), 小于灵敏度溶液主峰面积的色谱峰忽略不计。

干燥失重 取本品, 置于五氧化二磷为干燥剂的干燥器中, 在 60 $^{\circ}$ C 减压干燥至恒重, 减失重量不得过 0.5% (通则 0831)。

炽灼残渣 不得过 0.1% (通则 0841)。

重金属 取本品 1.0 g, 加乙醇 23 mL 溶解后, 加乙酸盐缓冲液 (pH 3.5) 2 mL, 依法检查 (通则 0821 第一法), 含重金属不得过百万分之十。

【含量测定】 取本品约 0.4 g, 精密称定, 加中性乙醇 (对酚酞指示液显中性) 20 mL 溶解后, 加酚酞指示液 3 滴, 用氢氧化钠滴定液 (0.1 mol/L) 滴定。每毫升氢氧化钠滴定液 (0.1 mol/L) 相当于 18.02 mg 的阿司匹林 ($C_9H_8O_4$)。

3. 阿司匹林肠溶片制备

片芯处方

阿司匹林	10 g	淀粉	1.0 g
酒石酸	0.2 g	10%淀粉浆	适量
滑石粉	5%		

包衣液处方 雅克宜肠溶包衣粉 (Acryl-EZE93F) 15 g 蒸馏水 85 mL

制法

(1) 10%淀粉浆的制备: 称取 0.2 g 酒石酸溶于 20 mL 蒸馏水中, 再加入 2.0 g 淀粉分散均匀, 加热糊化, 即得。

(2) 片芯的制备: 称取处方量阿司匹林与 1.0 g 淀粉, 混合均匀, 加入适量 10%淀粉浆制软材, 过 16 目尼龙筛制粒, 将湿颗粒于 40~60 °C 干燥 30 min, 过 16 目筛整粒, 称量干颗粒重量, 加入干颗粒重量 5% 的滑石粉, 混匀。使用 $\Phi 8$ mm 冲头压片, 每片含阿司匹林约 100 mg, 硬度控制在 30~40 N。

(3) 包衣液的配制: 取雅克宜肠溶包衣粉 15 g, 分散于 85 mL 蒸馏水中, 搅拌使其分散均匀, 持续搅拌 30 min, 过 60 目筛, 即得。

(4) 肠溶片的包衣工艺: 取称适量阿司匹林片芯, 置包衣锅内, 片床温度控制在 30~35 °C, 调节包衣锅转速为 30~40 r/min。将配制好的包衣液用喷枪连续喷于转动的药片表面, 根据片面的干燥情况随时调节片床温度和喷枪速度, 使包衣液的喷雾速度和肠溶衣层溶媒的挥发速度保持动态平衡, 控制包衣增重 8%~10%。达到增重后, 停止喷液, 将药片于 30~35 °C 下干燥 10 min。

质量检查 外观、片重差异、片剂硬度、崩解时限、溶出度。

【注释】

(1) 阿司匹林稳定性差, 处方中加入酒石酸作为稳定剂, 在制备 10%淀粉浆时加入酒石酸的目的是保证其与药物混合均匀。

(2) 硬脂酸镁会加速阿司匹林的降解速率, 因此处方中选用滑石粉作为润滑剂和助流剂。

(3) 阿司匹林在润湿状态下遇铁器易变色, 因此过筛制粒时宜采用尼龙筛网。

(4) 阿司匹林过筛制粒后需迅速干燥, 但干燥温度不宜过高, 避免加速药物水解。

4. 肠溶片质量分析

【性状】 本品为肠溶包衣片, 除去包衣后显白色。

【鉴别】

(1) 取本品的细粉适量 (约相当于阿司匹林 0.1 g), 加水 10 mL, 煮沸, 放冷, 加三氯化铁试液 1 滴, 即显紫堇色。

(2) 在含量测定项下记录的色谱图中, 供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致。

【检查】 游离水杨酸 照高效液相色谱法 (通则 0512) 测定。临用新制。

供试品溶液 取本品细粉适量 (约相当于阿司匹林 0.1 g), 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 加溶剂振摇使阿司匹林溶解并稀释至刻度, 摇匀, 滤膜滤过, 取续滤液。

对照品溶液 取水杨酸对照品约 15 mg, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加溶剂溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 5 mL, 置 100 mL 量瓶中, 用溶剂稀释至刻度, 摇匀。



色谱条件 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；以乙腈-四氢呋喃-冰乙酸-水（20：5：5：70）为流动相；检测波长为 303 nm；进样体积 10 μ L。

系统适用性要求 理论塔板数按水杨酸峰计算不低于 5000。阿司匹林峰与水杨酸峰之间的分离度应符合要求。

测定法 精密量取供试品溶液与对照品溶液，分别注入液相色谱仪，记录色谱图。

限度 供试品溶液色谱图中如有与水杨酸峰保留时间一致的色谱峰，按外标法以峰面积计算，不得过阿司匹林标示量的 1.5%。

溶出度 照溶出度与释放度测定法（通则 0931 第一法方法 1）测定。

酸中溶出量 溶出条件：以 0.1 mol/L 盐酸溶液 600 mL（25 mg、40 mg、50 mg 规格）或 750 mL（100 mg、300 mg 规格）为溶出介质，转速为每分钟 100 转，依法操作，经 2 h 取样。

供试品溶液 取溶出液 10 mL，滤过，取续滤液。

对照品溶液 取阿司匹林对照品适量，精密称定，加溶剂溶解并定量稀释制成每毫升中约含 13 μ g（100 mg 规格）的溶液。

测定法 见含量测定项下。计算每片中阿司匹林的溶出量。

限度 小于阿司匹林标示量的 10%，应符合规定。

缓冲液中溶出量 溶出条件：酸中溶出量项下 2 h 取样后，在溶出杯中，立即加入 37 $^{\circ}$ C 的 0.2 mol/L 磷酸钠溶液 250 mL（100 mg 规格），混匀，用 2 mol/L 盐酸溶液或 2 mol/L 氢氧化钠溶液调节溶液的 pH 至 6.8 ± 0.05 ，继续溶出，经 45 min 时取样。

供试品溶液 取溶出液 10 mL，滤过，取续滤液。

阿司匹林对照品溶液 取阿司匹林对照品适量，精密称定，加溶剂溶解并定量稀释制成每毫升中约含 72 μ g（100 mg 规格）的溶液。

水杨酸对照品溶液 取水杨酸对照品适量，精密称定，加溶剂溶解并定量稀释制成每毫升中约含 5.5 μ g（100 mg 规格）的溶液。

溶剂、色谱条件与系统适用性要求 见含量测定项下。

测定法 精密量取供试品溶液、阿司匹林对照品溶液与水杨酸对照品溶液，分别注入液相色谱仪，记录色谱图。按外标法以峰面积分别计算每片中阿司匹林和水杨酸的含量，将水杨酸含量乘以 1.304 后，与阿司匹林含量相加即得每片缓冲液中溶出量。

限度 标示量的 70%，应符合规定。

其他 应符合片剂项下有关的各项规定（通则 0101）。

【含量测定】 照高效液相色谱法（通则 0512）测定。

溶剂 见游离水杨酸项下。

供试品溶液 取本品 20 片，精密称定，充分研细，精密称取适量（约相当于阿司匹林 10 mg），置 100 mL 量瓶中，加溶剂强烈振摇使阿司匹林溶解并稀释至刻度，摇匀，滤膜滤过，取续滤液。

对照品溶液 取阿司匹林对照品适量，精密称定，加溶剂溶解并定量稀释制成每毫升中约含 0.1 mg 的溶液。

色谱条件 见游离水杨酸项下。检测波长为 276 nm。

系统适用性要求 理论塔板数按阿司匹林峰计算不低于 3000。阿司匹林峰与水杨酸峰之间的分离度应符合要求。

测定法 精密量取供试品溶液与对照品溶液，分别注入液相色谱仪，记录色谱图。按外

标法以峰面积计算。

5. 镇痛药效学评价

试剂配制：用生理盐水配制 0.6% 乙酸溶液（取 0.06 mL 乙酸加 10 mL 生理盐水），配制 0.5% 阿司匹林片溶液（取 50 mg 阿司匹林片加 10 mL 生理盐水）。

分组：取小鼠 15 只，随机分为对照组、模型组和阿司匹林制剂组，称重并标记编号，观察一般活动情况。

给药：对照组、模型组分别腹腔注射 0.1 mL/10 g 生理盐水，阿司匹林制剂组灌胃给予阿司匹林片溶液 0.2 mL/10 g。0.5 h 后，各小鼠分别腹腔注射 0.6% 乙酸溶液 0.1 mL/10 g。观察：计数 20 min 内扭体次数，计算扭体抑制率，以其作为疼痛评价指标。

实验数据处理、实验小鼠处死。

【注释】 镇痛实验中，0.6% 乙酸溶液以临用时新配为宜，存放过久会使作用减弱。镇痛实验应注意控制室温，致痛剂腹腔注射的部位和操作技术应力求一致。

四、实验结果与讨论

- (1) 计算和记录阿司匹林合成质量及产率，分析影响阿司匹林产率的主要因素。
- (2) 计算和记录阿司匹林原料药和每克肠溶片中阿司匹林百分含量。
- (3) 计算和记录阿司匹林肠溶片的溶出量。
- (4) 计算和记录扭体抑制率，根据扭体抑制率结果对药物的镇痛效果进行评价和分析。

五、思考题

- (1) 浓硫酸在反应中起催化酰化的作用，浓硫酸作催化剂有哪些优缺点？
- (2) 实验反应中产生副反应的主要原因是什么？如何避免副产物的生成？
- (3) 在浓硫酸存在的条件下，水杨酸与乙醇作用会得到什么产物？
- (4) 阿司匹林压片过程中可能出现的质量问题是什么？如何解决？
- (5) 哪些药物需要包肠溶衣？常用的薄膜包衣材料有哪几类？

（何建峰）

实验2 水杨酸软膏的设计制备、质量考察 及药物透皮试验

软膏剂是一种半固体制剂，使用时涂布于皮肤或黏膜（直肠、阴道、眼部等）部位，以实现治疗或保护的功能。广义的软膏剂包括油膏剂、水溶性软膏剂、乳膏剂、凝胶剂和糊剂等。本实验选择不同的基质[油脂性基质、水溶性基质、水/油（W/O）型乳剂基质、油/水（O/W）型乳剂基质，其中 W/O 型乳剂基质由学生自行设计]，将水杨酸制备成 4 种不同的软膏剂，并对所制得的制剂进行全面的质量检查，包括主药含量测定、熔点和熔程检查、黏度和插入度检查、皮肤刺激性试验及稳定性检查，其中主药含量测定采用酸碱滴定法，皮肤刺激性试验采用家兔法。最后采用凝胶扩散法和离体皮肤法对所制软膏中的药物的释放、透皮特性进行评价。

本实验综合运用了药剂学、分析化学和药理学相关知识，同时包含了学生自主设计的内容。

一、目的要求

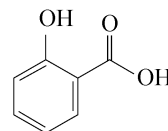
- （1）掌握不同基质的软膏剂制备方法。
- （2）掌握软膏剂质量检查的项目、原理和方法。
- （3）掌握软膏剂体外及体内药物释放、穿透和吸收的研究方法、原理与操作。
- （4）熟悉影响软膏剂药物释放、穿透和吸收的剂型因素与生理因素。

二、基本原理

1. 水杨酸简介

水杨酸是一种脂溶性有机酸，化学式为 $C_7H_6O_3$ 。外观是白色的结晶粉状物，熔点是 $158\sim 161\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。存在于自然界的柳树皮、白珠树叶及甜桦树中。

水杨酸软膏可用于皮肤真菌感染、局部角质增生症，治疗慢性湿疹、银屑病及毛囊周围角化症等皮肤病，忌用于糜烂或继发性感染部位。某些皮肤疾病系由霉菌生长于皮肤角质层所引起，但由于角质层的保护，可能使得药物对霉菌的作用减弱，若将角质层除去，则可增强药物对霉菌的抑制作用，因此水杨酸也是最常用的溶解角质的药物。当水杨酸与硫黄、苯甲酸等配成复方软膏时，可起到药物协同作用。水杨酸以溶解角质作用为主，同时还具有一定的消毒防腐作用。水杨酸的作用与其浓度有关，低浓度的水杨酸（2%~5%）外用能软化角质，高浓度的水杨酸（10%~20%）则有溶



水杨酸结构式

化角质的作用。

2. 软膏透皮吸收相关原理

软膏剂的透皮吸收过程包括药物的释放、穿透及吸收三个阶段（图 1-2-1）。释放指药物从基质中释放出来，从而扩散到皮肤表面；穿透指药物透过皮肤屏障进入皮肤内产生局部作用；吸收指药物进入皮肤后通过血管或淋巴管进入人体循环而产生全身作用。药物的透皮吸收途径有二：一是完整表皮，这是透皮吸收的主要途径，由于角质层的屏障作用，脂溶性药物相对易吸收；二是毛囊、皮脂腺、汗腺开口，这部分由于吸收面积小（仅占皮肤面积的 1% 左右），只能作为解离型药物或水溶性大分子的吸收途径。既然完整皮肤是药物的主要透皮吸收途径，那么角质层的存在，就成了药物穿透皮肤的主要屏障。水杨酸具有溶解角质的能力，与其他药物配伍时，对该药物的透皮吸收起到协同作用。

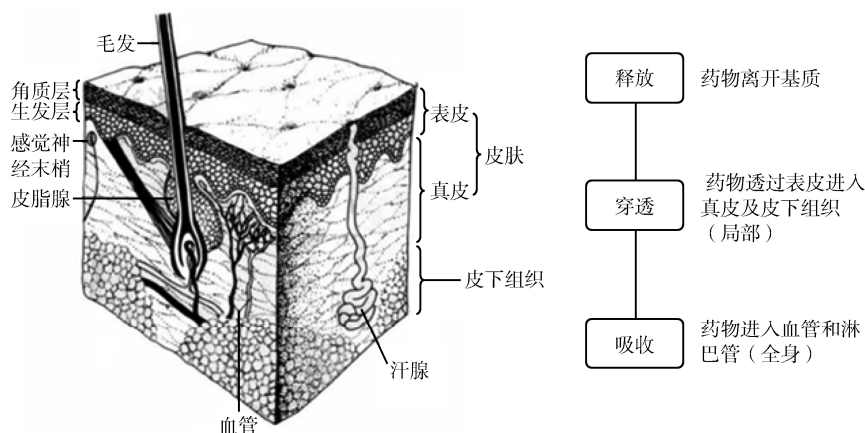


图 1-2-1 透皮吸收过程

影响药物透皮吸收的因素：①生理因素（如种属、性别、部位、皮肤状态等）；②药物理化性质（如溶解度、分配系数、分子量、解离度等）；③剂型因素（浓度、pH、载体、基质、促透剂等）。

3. 软膏基质的作用、种类及选择依据

在软膏剂的组成中，基质是药物的赋形剂、载体，还会影响药物的释放、穿透和吸收过程，主要体现在：①基质与药物的亲和力影响药物的释放；②基质的 pH 决定药物的分子型和离子型比例，从而影响药物的穿透；③基质与皮肤的水合作用决定角质层屏障的致密程度（与皮肤水合作用强弱顺序：油脂性基质 > W/O 型乳剂基质 > O/W 型乳剂基质 > 水溶性基质）；④基质中的附加剂（表面活性剂、促透剂）的影响。

软膏剂的基质分为油脂性基质、水溶性基质和乳剂基质，可根据药物的溶解性、药物与基质的亲和性，以及基质的特点等因素，选择适宜的基质。

（1）油脂性基质：对皮肤润滑、保护作用较强。涂于皮肤能形成封闭性油膜，可防止局部水分蒸发，从而促进皮肤水合作用，对表皮增厚、角化、皲裂有软化作用。不易与水性液体混合，药物释放性能差，不适用于有大量渗出液的皮损及脂溢性皮炎、痤疮。油脂性基质常用于水不稳定药物。其油腻性与疏水性大，使用后不易用水洗除。

（2）水溶性基质：药物释放较快，能与水溶液混合，并吸收组织渗出液，多用于润湿、