

桂枝茯苓软胶囊的制备及质量控制

□高为民 (中国医学科学院 药用植物研究所 北京 100094)
(中国协和医科大学 哈尔滨药品检验所 哈尔滨 150001)

许旭东* 胡晓茹 杨峻山 (中国医学科学院 药用植物研究所 北京 100094)
(中国协和医科大学)

邵旭 (合肥七星医药科技有限公司 合肥 230088)

摘要:目的:研究桂枝茯苓软胶囊的制备及其质量控制方法。方法:鉴别采用薄层色谱法,含量测定采用高效液相色谱法,色谱柱 Shim-Pack VP-ODS(150mm×4.6mm),流动相:乙腈-水-冰乙酸(42:58:0.8),检测波长:273nm;柱温:40℃;流速:1mL/min。结果:桂枝茯苓软胶囊中丹皮酚 $A = 10794.70C + 9783.24$,在 0.1456μg - 1.7472μg 范围内线性关系良好 ($R = 0.9999$)。结论:桂枝茯苓软胶囊制备工艺简单,质量控制方法可靠,重现性好。

关键词:桂枝茯苓软胶囊 丹皮酚 高效液相色谱法 质量控制

桂枝茯苓软胶囊是根据《中国药典》2000年版一部中桂枝茯苓丸的改型制剂,组方源于东汉张仲景的《金匱要略》,由桂枝、茯苓、牡丹皮等五味中草药组成,具有活血化瘀、消癥的功效。常用于治疗子宫内膜炎、子宫肌瘤、卵巢囊肿等妇科病症和前列腺肥大、肝脾肿大等血瘀湿阻之症的治疗,研究发现桂枝茯苓丸对糖尿病肾病也有治疗作用^[1-2]。

一、仪器与试剂

LC-10AT高效液相色谱仪,SPD-10A紫外检测器,N2000色谱工作站;UV-260型紫外分光光度计;赛多利斯电子天平(十万分之一);ADVENTURER

(AR1140)电子天平(万分之一)。

对照品均购于中国药品生物制品检定所 丹皮酚(批号:0708-9704),苦杏仁苷(批号:820-200002),桂皮醛(批号:110710-200212)。

桂枝茯苓软胶囊样品:由购于安徽省亳州市德昌药业有限公司的桂枝、茯苓等五味中药材自制,批号为:20030407,20030408,20030409。试剂:实验中所用试剂均为分析纯和色谱纯。

二、处方与制备

1. 处方

桂枝 360g,茯苓 360g,牡丹皮 360g,赤芍 360g,桃仁 360g,PEG-400 280g,1,2-丙二醇 50g,制成 1000粒软胶囊。

收稿日期:2007-04-24

修回日期:2007-06-18

* 联系人:许旭东,博士,主要研究方向:天然药物化学, Tel: 010-62890291, e-mail: xdxu@implad.ac.cn

2 制法

先将桂枝、牡丹皮加 90%乙醇回流提取 2 次,每次 1h,合并滤液,浓缩至相对密度为 1.00 (50 ~ 60),静置 24h,倾出上层清液;加入相当于药液 8%的 β -环糊精,50℃下搅拌 30min,再加 2 倍量 50℃的水,搅拌 30min,置 10℃以下冷藏 72h;过滤、滤饼低温干燥,粉碎成极细粉。再将茯苓、赤芍、桃仁及桂枝、牡丹皮醇提后的药渣加水煎煮 2 次,每次 1.5h,滤过 (300 目),合并滤液,浓缩至相对密度为 1.12 ~ 1.15 (50 ~ 60) 的浸膏,减压干燥,粉碎成极细粉。再将 50g 1-2 丙二醇溶入 280g PEG400 中,再将上述两种极细粉混合均匀后,缓缓加入 PEG400 中,充分混合搅拌,压制成 1000 粒,即得。

三、质量控制

1. 性状

本品为软胶囊,内容物为棕褐色至褐色的膏状物;气香,味微苦。

2 桂皮醛鉴别

(1) 桂皮醛。

取内容物 0.5g,加硅胶 1g,置蒸发皿中拌匀,转至具塞三角烧瓶中,加石油醚 (30 ~ 60℃) 30mL,超声 15min,过滤,滤液低温挥干,残渣加甲醇 1mL 使溶解,作为供试品溶液。另取桂皮醛对照品,加甲醇制成每 1mL 含 1 μ L 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法 (中国药典 2000 年版一部附录 V B) 试验,吸取供试品溶液 10 μ L,对照品溶液 2 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚 (60 ~ 90℃) - 醋酸乙酯 (17:3) 为展开剂,展开,取出,晾干,喷以二硝基苯肼乙醇试液,热风吹斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。另取丹皮酚对照品,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 (中国药典 2000 年版一部附录 V B) 试验,吸取上述溶液各 10 μ L,以环己烷 - 醋酸乙酯 (3:1) 为展开剂展开,喷以 5%三氯化铁乙醇溶液,热风吹斑点显色清晰。供试品 TLC 色谱中,在与对照品 TLC 色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

(2) 苦杏仁苷。

取本品内容物 3g,加石油醚 (30 ~ 60℃),超声 20 分钟,过滤,弃去石油醚液,药渣挥干,加甲醇 40mL,加热回流 30min,过滤,滤液蒸干,残渣加水 5mL,微热使溶解,放冷,通过 D101 型大孔吸附树脂柱 (内径 1.5cm,长 8cm),用氨试液 (4 - 100) 30mL 洗脱,弃去氨液,再用水 40mL 洗脱,弃去水液,继用 20%乙醇 40mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇 1mL 使溶解,作为供试品溶液。另取苦杏仁苷对照品,加甲醇制成每 1mL 含 2mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法 (中国药典 2000 年版一部附录 V B) 试验,吸取上述两种溶液各 10 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿 - 乙酸乙酯 - 甲醇 - 水 (15:40:22:10) 5 ~ 10 放置 12h 的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10%硫酸乙醇溶液,在 105℃加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

(3) 其它。

符合胶囊剂 (中国药典 2000 年版一部附录 L) 项下有关规定。

3 检查

按《中国药典 2000 年版一部附录 IL》软胶囊剂项下有关规定,对装量差异、崩解时限、微生物限度等项目进行了检查。符合软胶囊及项下的有关规定。

4 含量测定

根据本方工艺和芍药苷专属性不强等特点,将牡丹皮中丹皮酚作为本方中含量测定指标。关于丹皮酚的含量测定方法,文献^[3-5]已有不少报导。以丹皮酚为对照品,采用 HPLC 法测定了桂枝茯苓软胶囊中丹皮酚含量,并以此作为质量控制指标,

(1) 色谱条件。

色谱柱 Shim-Pack VP-ODS (150L $\times$ 4.6), 乙腈 - 水 - 冰乙酸 (42:58:0.8) 为流动相,检测波长为 273nm,柱温: 40℃,流速: 1mL/min,进样量: 20 μ L。计算得理论塔板数为 3295,分离度 R 为 2.19,拖尾因子为 1.03,均符合药典规定。

(2) 对照品溶液的制备。

精密称取丹皮酚对照品 7.28mg,置 50mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

(3)供试品溶液的制备。

取 10 粒本品内容物,拌匀,取内容物 0.5g,精密称定,置具塞三角烧瓶中,精密加入甲醇 50mL,称定重量,超声波提取 30min,放冷,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过。精密移取续滤液 5mL 至 25mL 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

(4)阴性对照溶液的制备。

按处方组成,取除牡丹皮外的其余药味按制备工艺要求,制成不含牡丹皮的阴性对照,按供试品溶液制备项下的方法制备,0.45 μ m 微孔滤膜滤过,制成阴性对照溶液。以上 3 种溶液按上述色谱条件进样,测定结果表明:阴性对照在丹皮酚峰相应的保留时间处无干扰。

(5)线性关系考察。

精密吸取对照品溶液 0.5、1.0、2.0、4.0 及 6.0mL,分别置 10mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,分别精密吸取上述溶液各 20 μ L,注入 HPCC 液相色谱仪,按上述色谱条件依法测定。结果表明,丹皮酚对照品在 0.1456 μ g - 1.7472 μ g 范围内与峰面积值具有良好的线性关系,回归方程 $A = 10794.70C + 9783.24$, $r = 0.9999$ ($n = 5$)。

(6)精密度试验。

精密吸取上述丹皮酚对照品溶液 20 μ L,按上述色谱条件重复进样 5 次,测定峰面积, $RSD = 1.4\%$ 。

(7)重复性试验。

取同一批号的随机抽取样品 20 粒,倾出内容物,称定,研细,混合均匀。精密称取 6 份,每份约 1g,按“供试品溶液的制备”项下方法制备所需溶液,以上述色谱条件测定含量,其相对标准偏差 $RSD = 1.07\%$ 。

(8)稳定性试验。

取供试品溶液 20 μ L,按上述色谱条件每隔 1h 进样测定峰面积值,直至 6h,结果表明对照品溶液在所试的 6h 内稳

定,其相对标准偏差 $RSD = 0.15\%$ 。

(9)回收率试验。

取 10 粒 (2.98mg/粒) 内容物,精密称定为 4.8885g,加入丹皮酚对照品 28.55mg,微热使溶解,并搅拌均匀,取 0.25g,精密称定,按“供试品溶液的制备”项下方法制备所需溶液,再按上述色谱方法测定丹皮酚含量,计算平均回收率为 99.81%, $RSD = 0.8\%$ 。

(10)样品测定。

精密吸取供试品溶液及对照品溶液各 20 μ L,依上述测定条件测定,每批样品测定 2 份,以外标法计算含量,取其含量平均值。结果见表 1。

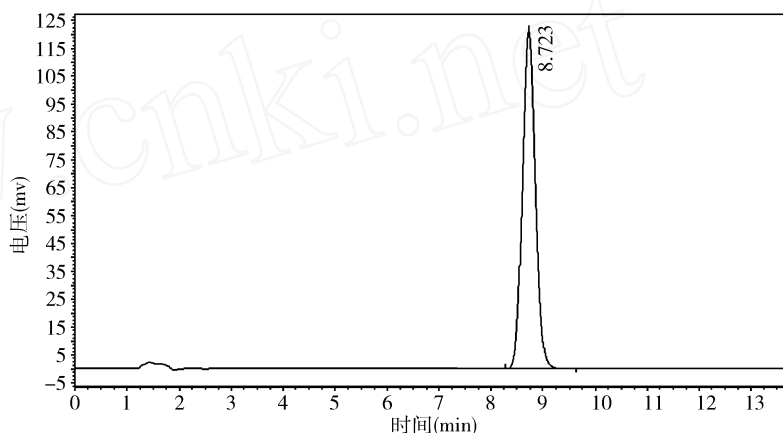


图 1 丹皮酚对照品 HPLC 色谱图

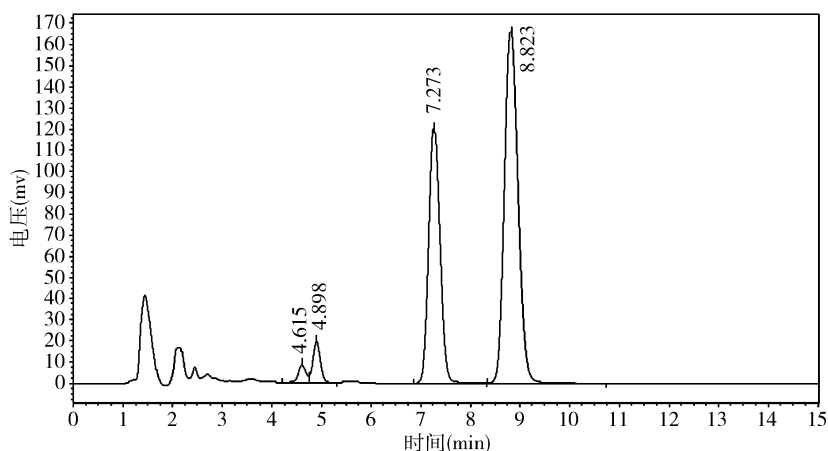


图 2 样品 HPLC 色谱图

表 1 样品含量测定结果 (n=2)

批号	含量	RSD
20030407	2.98	0.8
20030408	2.88	1.2
20030409	3.15	0.5

四、讨 论

桂枝茯苓软胶囊是由桂枝、茯苓、牡丹皮等多味中药制成的复方制剂,采用先桂枝和牡丹皮醇提再经 β -环糊精包裹的工艺,克服了挥发性成分易损失的缺陷,最大程度保留了有效成分。原桂枝茯苓丸方中以肉桂酸为含量测定指标。研究发现,桂枝和茯苓为本方君药,含有以桂皮醛及醋酸桂皮酯等为主要成分的挥发油,水溶性成分有肉桂酸。肉桂醛易氧化生成肉桂酸,肉桂酸可能是肉桂醛的次生产物,为了控制该制

剂的质量,保证临床用药安全、有效,故选用方中牡丹皮中丹皮酚为质量控制指标,进行分析研究。采用HPLC法测定了桂枝茯苓软胶囊中丹皮酚含量,并以此作为质量控制指标。结果表明,本法准确、简便、重现性好。

参考文献

- 1 赵桂枝(摘译).桂枝茯苓丸对糖尿病肾病的治疗作用.国外医学中医中药分册,2005,27(5) 307.
- 2 耿俊英,任天池.桂枝茯苓丸.家庭医药,2005,11 19.
- 3 李树国. HPLC法测定牡丹皮配方颗粒中丹皮酚的含量.海峡药学,2005,17(4) 68~69.
- 4 蔡进章,蒋硕民. RP-HPLC法测定桂枝茯苓丸中丹皮酚的含量.浙江中西医结合杂志,2003,13(11) 682~683.
- 5 刘放,黄卫平. HPLC法测定牡丹皮及其制剂中丹皮酚含量.基层中药杂志,1997,11(1) 34~36.

Preparation of Guizhi Fuling Capsula and Associated Quality Control

Gao Wein, Xu Xudong^{*}, Shao Xu, Hu Xiaoru, Yang Junshan

(Institute of Medicinal Plant Development, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100094, China; Harbin Institute for Drug Control, Harbin, 150001; Hefei Seven Star Pharmaceuticals, Hefei 230088, China)

This paper describes the technique of preparing Guizhi Fuling Capsula and associated quality control process. In the study, both TLC and HPLC techniques were used to identify and assay target elements. An analytical column of Shim-Pack VP-ODS (150mm $\times$ 4.6mm) was also used. A mobile phase of Acetonitrile-water-glacial acetic acid was set at 42:58:0.8, with a detective wavelength at 273nm, column temperature 40°C, and the flow rate 1mL/min. Test results show that the calibration curve of paeonol in Guizhi Fuling capsula, derived from the technique, is $A = 10794.70C + 9783.24$, $r = 0.9999$, in the range of 0.1456 μ g - 1.7472 μ g. It is concluded that the technique of preparing Guizhi Fuling capsula is simple, and associated quality control process is reliable with fine reproducibility.

Keywords: Guizhi Fuling Capsula; Paeonol; HPLC; Quality Control

(责任编辑:王 瑀,郭 屹,责任译审:邹春申)