

## 清眩软胶囊的质量控制研究

邵 凤, 郑 歆, 商丹丹, 王 强, 徐晨霞, 袁婷婷

天津中新药业集团股份有限公司达仁堂制药厂, 天津 300457

**摘要:** 目的 建立清眩软胶囊的定性鉴别和定量测定方法。方法 采用 TLC 法对本方中的川芎、荆芥穗和薄荷进行定性鉴别; 采用 HPLC 法对方中主要成分欧前胡素进行测定。Agilent C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以乙腈-水 (42.5:57.5) 为流动相; 检测波长 300 nm, 柱温为 35 °C, 体积流量为 1.5 mL/min。结果 薄层色谱斑点清晰, 阴性样品无干扰。欧前胡素在 1.09~54.55 μg/mL 与峰面积呈良好的线性关系, 平均回收率为 97.0%, RSD 值为 0.77% (n=6)。结论 所建立的定性和定量方法结果可靠、准确, 重现性好, 无干扰, 可用于清眩软胶囊的质量控制。

**关键词:** 清眩软胶囊; 川芎; 荆芥穗; 薄荷; 欧前胡素; 薄层色谱; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2014)06-0607-04

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2014.06.006

## Quality control for Qingxuan Soft Capsule

SHAO Feng, ZHENG Xin, SHANG Dan-dan, WANG Qiang, XU Chen-xia, YUAN Ting-ting

Darentang Pharmaceutical Factory, Tianjin Zhongxin Pharmaceutical Co Ltd, Tianjin 300457, China

**Abstract: Objective** To establish the quality control method for Qingxuan Soft Capsule including qualitative identification and quantitative determination. **Methods** TLC was applied to identifying *Chuanxiong Rhizoma*, *Schizonepetae Spica*, and *Menthae Haplocalycis Herba*. HPLC method was applied to determining imperatorin in Qingxuan Soft Capsule. The analytical column was Agilent C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), and the mobile phase was acetonitrile-water (42.5 : 57.5). The detection wavelength was at 300 nm. The column temperature was at 35 °C, and the volume flow was 1.5 mL/min. **Results** The TLC spots were distinct and reproducible. The linear range of imperatorin was 1.09 — 54.55 μg/mL. The average recovery rate was 97.0% with RSD 0.77% (n=6). **Conclusion** The qualitative and quantitative methods established are feasible, accurate, and reproducible, which can be well used for the quality control of Qingxuan Soft Capsule.

**Key words:** Qingxuan Soft Capsule; *Chuanxiong Rhizoma*; *Schizonepetae Spica*; *Menthae Haplocalycis Herba*; imperatorin; TLC; HPLC

清眩软胶囊是由川芎、白芷、荆芥穗、薄荷、石膏 5 味中药组成, 具有散风清热之功效, 用于风热头晕目眩, 偏正头痛、鼻塞。清眩软胶囊是清眩片的改剂型品种, 充分保留该药中的挥发性成分, 并减少服用量, 便于患者服用<sup>[1]</sup>。组方中白芷、川芎为君药, 荆芥穗、薄荷为方中臣药; 故本实验通过采用高效液相色谱 (HPLC) 法测定有效成分欧前胡素来控制质量, 同时采用薄层色谱 (TLC) 法对川芎、荆芥穗和薄荷 3 味药材进行了鉴别, 从而有效控制清眩软胶囊的质量。

### 1 仪器和试剂

岛津 LC—20AD 高效液相色谱仪, SPD—20A

紫外检测器 (日本岛津公司); CP225D 电子天平 (德国赛多利斯); XMTD 数显水浴锅 (余姚市东方电工仪器厂); KQ—500DE 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

薄层色谱用高效硅胶 G 板 (烟台市化学工业研究所); 乙腈、甲醇为色谱纯, 水为去离子水, 其他试剂均为分析纯。川芎对照药材 (批号 120918-201110)、荆芥穗对照药材 (批号 121424-201002)、薄荷素油对照品 (批号 111551-200702)、欧前胡素对照品 (批号 110826-201214) 均购自中国食品药品检定研究院。

清眩软胶囊 (批号 120101、120102、120103,

收稿日期: 2014-04-18

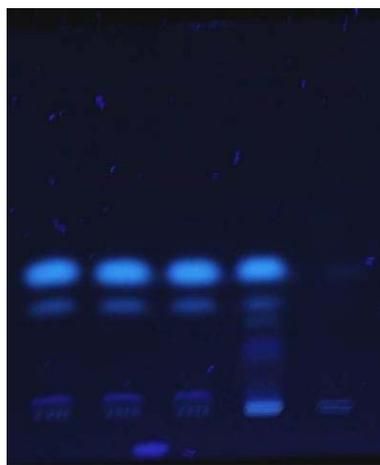
作者简介: 邵 凤 (1981—), 女, 浙江舟山人, 工程师, 硕士学位, 从事中药制剂及质量标准研究。Tel: (022) 25293269 E-mail: sfyujie@126.com

规格为 0.45 g/粒)、缺川芎的阴性样品、缺荆芥穗的阴性样品、缺薄荷的阴性样品、缺白芷的阴性样品均为天津中新药业集团股份有限公司达仁堂制药厂自制。

## 2 方法与结果

### 2.1 川芎的薄层色谱法鉴别

取清眩软胶囊 50 粒, 剪开, 倾出内容物, 置挥发油提取器中, 加水 200 mL, 按照《中国药典》2010 年版一部附录挥发油测定法提取挥发油 30 min, 放出提取器中水液, 弃去; 挥发油中加入醋酸乙酯 2 mL, 溶解, 作为供试品溶液。另取除川芎外按处方配比制成的阴性样品 21 g, 同法制成阴性样品溶液。再取川芎对照药材 2 g, 加无水乙醇 15 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液作为对照药材溶液。按照《中国药典》2010 年版一部 TLC 法试验, 吸取上述 3 种溶液各 2  $\mu$ L, 分别点于同一高效硅胶 G 薄层板上, 以正己烷 - 醋酸乙酯 (15:1) 为展开剂<sup>[2]</sup>, 展开, 取出, 晾干, 置紫外灯 (365 nm) 下检视。结果供试品色谱中在与川芎对照药材色谱相应的位置显相同颜色的荧光斑点, 阴性样品色谱在相应位置无干扰, 见图 1。



1~3-清眩软胶囊 4-川芎对照药材 5-阴性样品  
1—3-Qingxuan Soft Capsule 4-*Chuanxiong Rhizoma* reference raw material 5- negative sample

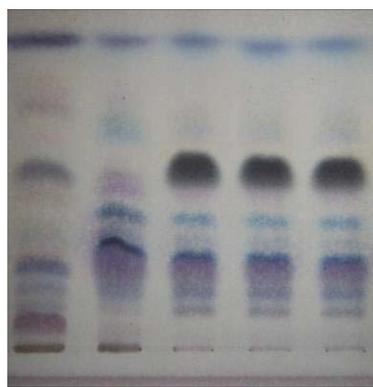
图 1 清眩软胶囊中川芎的薄层色谱图

Fig. 1 TLC Chromatogram of *Chuanxiong Rhizoma* in Qingxuan Soft Capsule

### 2.2 荆芥穗的薄层色谱法鉴别

取“2.1”项下的醋酸乙酯液, 作为供试品溶液。另取除荆芥穗外按处方配比制成的阴性样品 22.5 g, 按“2.1”项下的醋酸乙酯液的制备方法制成阴性样

品溶液。再取荆芥穗对照药材 3 g, 置烧瓶中, 加水 200 mL, 照挥发油测定法 (附录 XD) 提取挥发油 2 h, 自挥发油提取器上端加入醋酸乙酯 1 mL, 溶解, 分取醋酸乙酯液, 制成荆芥穗对照药材溶液。按照《中国药典》2010 年版一部 TLC 法试验, 吸取供试品溶液、阴性样品溶液各 2  $\mu$ L, 荆芥穗对照药材溶液 10~15  $\mu$ L, 分别点于同一高效硅胶 G 薄层板上, 以正己烷 - 醋酸乙酯 (15:1) 为展开剂<sup>[2]</sup>, 展开, 取出, 晾干, 喷以香草醛硫酸试液, 在 105  $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。结果供试品色谱中在与荆芥穗对照药材色谱相应的位置显相同颜色的斑点, 阴性样品色谱在相应位置无干扰, 见图 2。



1-荆芥穗对照药材 2-阴性样品 3~5-清眩软胶囊  
1-Schizonepetae Spica reference raw material 2-negative sample  
3-5-Qingxuan Soft Capsule

图 2 清眩软胶囊中荆芥穗的 TLC 色谱图

Fig. 2 TLC Chromatogram of *Schizonepetae Spica* in Qingxuan Soft Capsule

### 2.3 薄荷的薄层色谱法鉴别

取“2.1”项下的醋酸乙酯液, 作为供试品溶液。另取除薄荷外按处方配比制成的阴性样品 22.5 g, 按“2.1”项下的醋酸乙酯液的制备方法制成阴性样品溶液。取薄荷素油对照品 1 mL 置 100 mL 量瓶中, 加无水乙醇至刻度, 混匀, 制成薄荷素油对照品溶液。按照《中国药典》2010 年版一部 TLC 法试验, 吸取上述 3 种溶液各 5~10  $\mu$ L, 分别点于同一高效硅胶 G 薄层板上, 以正己烷 - 醋酸乙酯 (15:1) 为展开剂<sup>[2]</sup>, 展开, 取出, 晾干, 在薄层板上喷以香草醛硫酸试液, 在 105  $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。结果供试品色谱中在与薄荷素油对照品色谱相应的位置显相同颜色的主斑点, 阴性样品色谱在相应位置上无干扰, 见图 3。

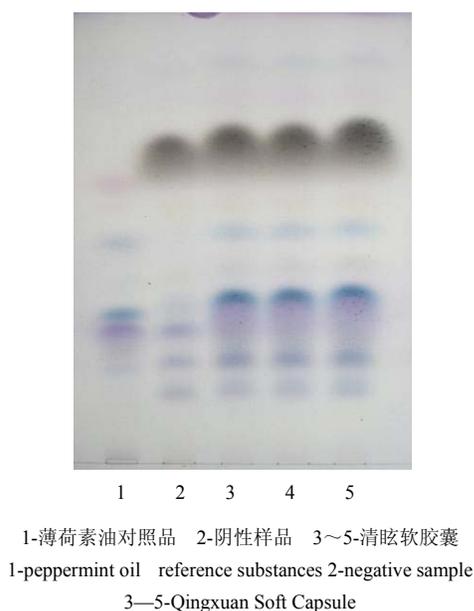


图 3 清眩软胶囊中薄荷的 TLC 色谱图  
Fig. 3 TLC Chromatogram of *Menthae Haplocalycis Herba* in Qingxuan Soft Capsule

#### 2.4 欧前胡素的 HPLC 法测定

**2.4.1 色谱条件** Agilent C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以乙腈 - 水 (42.5 : 57.5) 为流动相; 检测波长 300 nm, 柱温为 35 °C, 体积流量为 1.5 mL/min。理论板数按欧前胡素峰计算应不低于 3 000。

**2.4.2 对照品溶液的制备** 取欧前胡素对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 5 μg/mL 的溶液, 即得。

**2.4.3 供试品溶液的制备** 取清眩软胶囊内容物适量, 混匀, 取约 0.4 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80%乙醇 100 mL, 称定质量, 在 50 °C 左右温水中溶散, 放冷, 再称定质量, 用 80%乙醇补足减失的质量, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.4.4 阴性对照溶液的制备** 按照软胶囊处方配比及制法, 制成缺白芷的阴性样品, 称取 0.39 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 按“2.4.3”项方法法制成阴性对照溶液。

**2.4.5 专属性试验** 分别精密吸取欧前胡素对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μL, 注入 HPLC 色谱仪, 测定。结果样品色谱图中, 在与欧前胡素对照品色谱相应的位置上, 有一相同保留时间的色谱峰, 而阴性对照溶液在此保留时间处无干扰, 见图 4。

**2.4.6 标准曲线的制备** 精密称取欧前胡素对照品 21.82 mg, 置 20 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释

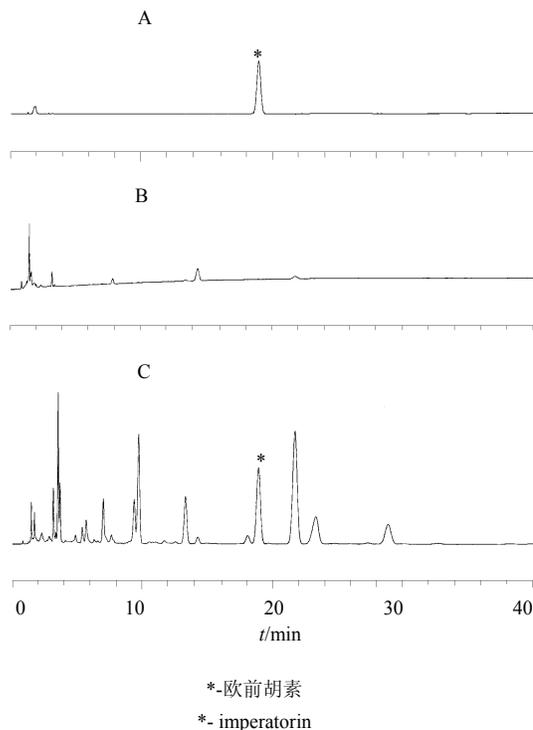


图 4 欧前胡素对照品 (A)、阴性对照 (B) 和清眩软胶囊 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 4 HPLC chromatograms of imperatorin reference substance (A), negative sample (B), and Qingxuan Soft Capsule (C)

至刻度, 摇匀, 作为对照品储备液。将此储备液逐级稀释至 1.09、2.18、8.73、21.82、54.55 μg/mL, 摇匀, 即得。分别进样 10 μL, 测定。以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 进行线性回归, 得回归方程  $Y=5.5 \times 10^{-8} X - 6.9 \times 10^{-5}$ ,  $r=0.9999$ 。结果表明, 欧前胡素在 1.09~54.55 μg/mL 与峰面积呈良好的线性关系。

**2.4.7 精密度试验** 精密称取批号 120101 清眩软胶囊样品, 制得供试品溶液, 进样 10 μL, 连续进样 6 次, 测定欧前胡素峰面积积分值, 计算得其 RSD 值为 0.18%。

**2.4.8 重现性试验** 精密称取批号 120101 清眩软胶囊样品, 平行制得 6 份供试品溶液, 分别进样 10 μL, 测定欧前胡素峰面积。结果欧前胡素平均质量分数为 0.85 mg/粒, RSD 值为 1.5%。

**2.4.9 稳定性试验** 精密称取批号 120101 清眩软胶囊样品, 制备供试品溶液, 室温放置, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 测得欧前胡素峰面积积分值, 计算得其 RSD 值为 1.05%, 表明供试品溶液在 24 h 稳定。

**2.4.10 加样回收率试验** 取批号 120101 清眩软胶囊供试品 6 份, 每份 0.2 g, 精密称定, 分别置 100 mL 置具塞锥形瓶中, 精密吸取 3.727 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  欧前胡素对照品储备液 100 mL, 制备供试品溶液, 分别进样测定。结果平均回收率为 97.0%, RSD 值为 0.77%。

**2.4.11 样品测定** 取 3 批 (批号分别为 120101、120102、120103) 清眩软胶囊, 制备供试品溶液, 在上述色谱条件下测定, 按外标法计算其质量分数, 结果见表 1。

表 1 清眩软胶囊中欧前胡素的测定结果 ( $n=3$ )

Table 1 Determination of imperatorin in Qingxuan Soft Capsule ( $n=3$ )

批号	欧前胡素/(mg·粒 <sup>-1</sup> )
120101	0.85
120102	0.86
120103	0.88

### 3 讨论

#### 3.1 薄层色谱鉴别的选择

在薄荷 TLC 法鉴别试验过程中, 曾考虑展开方式采用一次展开、展距 8 cm, 相对应的薄层色谱主斑点多为复合斑点, 斑点模糊, 分离效果差; 后采用二次展开、展距 8 cm, 结果分离效果稍佳, 但整个展开过程耗时较长; 最后采用一次展开、展距 15 cm, 结果色谱斑点清晰, 分离效果明显改善。因此, 薄荷鉴别的展开方式采用一次展开、展距 15 cm。

采用 TLC 法对清眩软胶囊中的川芎、荆芥穗和

薄荷进行了定性鉴别, 结果各自的阴性对照无干扰, 斑点清晰, 分离良好, 重现性好, 可作为清眩软胶囊的质量控制的定性鉴别方法。

#### 3.2 测定方法的选择

参考文献报道<sup>[2-3]</sup>和《中国药典》方法<sup>[4]</sup>, 采用甲醇超声提取清眩软胶囊中欧前胡素, 结果欧前胡素的量均较低, 可能是清眩软胶囊内容物为油状混悬物, 采用该方法不能完全提取有效成分。因而, 本实验采用 80%乙醇在 50 °C 左右温水中溶散的处理方法时欧前胡素的量最高。

用不同体积分数的甲醇<sup>[2-4]</sup>以及甲醇和乙腈的混合流动相, 结果供试品色谱图中欧前胡素峰与其相邻峰未完全分离, 而采用不同比例的乙腈<sup>[5]</sup>进行比较, 结果 42.5%乙腈分离效果较好。故选择流动相为乙腈-水 (42.5:57.5)。

#### 参考文献

- [1] 卫生部药品标准 [S]. 中药成方制剂第 4 册. WS3-B-0836-91.
- [2] 何鸽飞, 易纯, 张顺芝. 高效液相色谱法测定清眩片中欧前胡素的含量 [C]. 2009 年中国药学会暨第九届中国药师周论文集. 长沙: 中国药学会, 2009: 171-173.
- [3] 毛彦杰, 岳敏, 谷学新, 等. HPLC 测定清眩丸中欧前胡素的含量 [J]. 中成药, 2005, 27(5): 618-619.
- [4] 中国药典 [S]. 一部. 2010: 1127.
- [5] 谭生建, 狄海涛, 卢嘉琪, 等. RP-HPLC 测定清眩丸中欧前胡素的含量 [J]. 药物分析杂志, 1999, 19(3): 177-178.