

紫锥菊口服液质量评价

杨芬芳,郝智慧*,丁兆朋

(青岛农业大学化学与药学院农用生物制药实验室,山东 青岛 266109)

[摘要] 目的:完成紫锥菊口服液质量研究与评价。方法:采用硅胶 GF₂₅₄ 预制板,以乙酸乙酯-甲酸-水(6:0.5:1)的上层溶液为展开剂,进行 TLC 定性鉴别;以 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-0.3% 磷酸水溶液梯度洗脱,流速 1.2 mL·min⁻¹,检测波长 330 nm,柱温 35 ℃,进样量 10 μL,进行 HPLC 含量测定;同时对指标 pH、相对密度进行质量研究。结果:紫锥菊口服液有良好的薄层鉴别特征;有效成分菊苣酸含量在 0.004~0.128 g·L⁻¹,进样量与其色谱峰峰面积呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$),平均加样回收率 101.13%,RSD 1.41%。结论:TLC 定性鉴别,操作简便,重复性好。HPLC 含量测定方法简便、快速、准确。所建立的方法可用于紫锥菊口服液质量控制。

[关键词] 紫锥菊口服液;质量标准;菊苣酸;薄层色谱;高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)20-0065-03

[doi] 10.11653/syfy2013200065

Study and Evaluation of Quality Control of Echinacea Purpurea Oral Liquid

YANG Fen-fang, HAO Zhi-hui*, DING Zhao-peng

(College of Chemistry and Pharmaceutical Sciences of Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standard and evaluation of Echinacea Purpurea oral liquid. **Method:** TLC test was based on silica gel plate with the upper solution of ethyl acetate-acetic acid-water (6:0.5:1) as mobile phase. The analytical column was Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm) with acetonitrile and 0.3% phosphoric acid as mobile phase in gradient mode; the flow rate was 1.2 mL·min⁻¹; the detecting wavelength was set at 330 nm; the column temperature was set at 35 ℃ and the injection volume was 10 μL. At the same time, pH and relative density were determined. **Result:** Characteristic of Echinacea Purpurea oral liquid was clear. The linear range of cichoric acid was 0.004-0.128 g·L⁻¹ ($r=0.999\ 9$), and the average recovery was 101.13% with RSD 1.41%. **Conclusion:** The method to identify cichoric acid is simple and has a great repeatability. The method to determine the content of cichoric acid in Echinacea Purpurea oral liquid is simple, accurate with a good reproducibility. So the TLC and HPLC methods can be used for the quality of the oral liquid.

[Key words] Echinacea Purpurea oral liquid; quality standard; cichoric acid; TLC; HPLC

紫锥菊口服液是紫锥菊单味制剂,克服了传统

紫锥菊固体制剂使用剂量大、吸收慢起效慢、易潮解等缺点,适合工业化生产和临床应用。其主药紫锥菊为原产于美洲的一类菊科野生花卉,是目前受到国际普遍重视的一种免疫促进剂和调节剂^[1-3]。根据国外相关文献报道,菊苣酸是其重要的免疫增强有效成分,具有增强免疫功能、抗炎、抗氧化等作用^[4-7]。

近年来,国内对紫锥菊的研究较少,文献报道的一般为紫锥菊制剂的处方筛选、制备工艺^[8-10]、药理作用等^[11-12]。本文对紫锥菊口服液用 TLC 定性鉴

[收稿日期] 20120921(002)

[基金项目] “十二五”国家科技支撑计划项目(2011BAD44B01)

[第一作者] 杨芬芳,硕士研究生,从事药学、质量标准、方法学研究, Tel: 15053249120, E-mail: fenfangyang@yeah.net

[通讯作者] * 郝智慧,博士研究生,副教授,从事药学、质量标准、方法学研究, Tel: 0532-86080346, E-mail: haotiger@126.com

别菊苣酸,并用 HPLC 测定其菊苣酸含量,为该制剂的质量控制提供依据。

1 材料

紫锥菊口服液(批号 20120103, 20120111, 20120115, 20120116, 20120117, 20120118, 20120119, 20120125, 20120126, 20120127, 20120128, 20120129)青岛康地恩药业股份有限公司,菊苣酸对照品(批号 111752-200902)购于中国药品生物制品检定所。

Agilent 1100 型高效液相色谱仪, DAD-100 二极管阵列紫外检测器, HP-Chemstation 色谱工作站; AL204 型电子天平(梅特勒-托利多公司), CBIO-UV6 型多功能暗箱式紫外分析仪(北京赛百奥科技有限公司),微量进样器(上海安亭微量进样器厂),普通高速离心机(安徽科大创新股份有限公司)。

薄层色谱硅胶 GF₂₅₄(预制板,青岛海洋化工厂),乙腈为色谱纯(Dikma 公司),水为纯化水,其余所有试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别 取本品 1 mL,加甲醇至 10 mL,摇匀,离心,取上清液作为供试品溶液。另取菊苣酸对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液,作为对照品溶液。吸取上述溶液各 5 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 GF₂₅₄薄层预制板上,以乙酸乙酯-甲酸-水(6:0.5:1)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。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。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μ m),流速 1.2 mL·min⁻¹,柱温 35 $^{\circ}$ C,流动相乙腈 A, 0.3% 磷酸水溶液 B,梯度洗脱(表 1),检测波长 330 nm,进样量 10 μ L。理论板数按菊苣酸峰计算不少于 3 000。

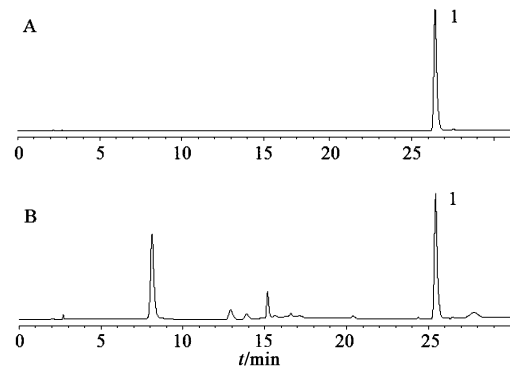
表 1 流动相洗脱程序		
t/min	A/%	B/%
1~10	10	90
10~11	10~16	90~84
11~17	16~17	84~83
17~25	17~23	83~77
25~30	10~23	77~90

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取菊苣酸对照品适量,加 70% 甲醇溶解,制成每 1 mL 含菊苣酸 0.2 mg 的溶液,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密量取本品 1 mL,置 100 mL 量瓶中,加 70% 甲醇稀释至刻度,摇匀,

用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 专属性考察 分别精密吸取上述对照品溶液和供试品溶液各 10 μ L,注入高效液相色谱仪,检测。结果表明在上述色谱条件下,菊苣酸峰与其他峰较好的分离,见图 1。



A. 菊苣酸对照品; B. 供试品; 1. 菊苣酸

图 1 紫锥菊口服液 HPLC

2.2.5 线性关系考察 取菊苣酸对照品 12.8 mg,精密称定,置 100 mL 量瓶中,以 70% 甲醇溶解并稀释制成 0.128 g·L⁻¹对照品储备液。用 70% 甲醇稀释制成 0.128, 0.064, 0.032, 0.016, 0.008, 0.004 g·L⁻¹一系列对照品溶液。上述各质量浓度对照品溶液按 2.2.1 项下色谱条件,分别进样 10 μ L,记录色谱图,测定其峰面积。结果以对照品相应的质量浓度为横坐标(X, g·L⁻¹),对照品峰面积值为纵坐标(Y, mAU),进行回归计算,得标准曲线方程 $Y = 18\,406X + 9.995\,5$ ($r = 0.999\,9$)。结果表明,菊苣酸在 0.004 ~ 0.128 g·L⁻¹呈良好的线性关系。

2.2.6 精密度试验 精密吸取供试品(批号 20120316)溶液,重复进样 6 次,依次测定,菊苣酸峰面积的 RSD 0.45%,表明该方法、该仪器测定菊苣酸精密度良好。

2.2.7 重复性试验 对同一批号样品(批号 20120316),按 2.2.2.2 项下平行制备 6 份供试液品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件,分别进样 10 μ L,测定。测得菊苣酸峰面积并计算其平均含量为 5.692 g·L⁻¹, RSD 1.10%,表明该方法重复性良好。

2.2.8 稳定性试验 取同一批号样品(批号 20120316),按 2.2.2.2 项下制备供试液品,分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h,按 2.2.1 项下色谱条件,进样 10 μ L,测定,菊苣酸峰面积的 RSD 1.25%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.2.9 加样回收率试验 精密移取已知含量的同一批号(批号 20120316,菊苣酸含量 5.678 0 g·L⁻¹)

样品 0.05 mL,共 6 份,置 5 mL 量瓶中,分别精密加入浓度为 0.128 g·L⁻¹的对照品储备液 2.0 mL,加 70% 甲醇稀释至刻度,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过,各进样 10 μL,计算回收率,结果见表 2。

表 2 紫锥菊口服液中菊苣酸加样回收率试验						
No.	取样量 /mL	样品中 含量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	0.05	0.283 9	0.546 1	102.42	101.13	1.41
2	0.05	0.283 9	0.539 7	99.92		
3	0.05	0.283 9	0.544 5	101.80		
4	0.05	0.283 9	0.540 1	100.08		
5	0.05	0.283 9	0.547 4	102.93		
6	0.05	0.283 9	0.538 9	99.61		

注:加入量均为 0.256 0 mg。

2.2.10 样品含量测定 取 10 批样品,按 2.2.2.2 项下制成供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件,进样 10 μL,测定,记录色谱图。根据峰面积计算菊苣酸含量,结果见表 3。

表 3 10 批紫锥菊口服液样品含量测定 g·L ⁻¹			
批号	菊苣酸含量	批号	菊苣酸含量
20120315	5.808 1	20120325	5.589 2
20120316	5.678 0	20120326	5.685 0
20120317	5.793 3	20120327	5.675 6
20120318	5.808 5	20120328	5.725 4
20120319	5.576 4	20120329	5.711 2

2.3 pH 测定、相对密度测定

2.3.1 pH 测定 按照《中华人民共和国兽药典》2005 年版二部附录 46 页“pH 值测定法”测定了 10 批样品,见表 4。结果显示,pH 最低的为 4.32,最高的为 4.61。考虑到实际生产中的放大效应等因素,拟定 pH 范围为 4.0~5.0。

2.3.2 相对密度测定 按照相对密度测定法(《中华人民共和国兽药典》2005 年版二部附录 41 页比重瓶法)测定了 10 批样品,见表 4。结果显示,相对密度最低的为 1.022,最高的为 1.035。考虑到实际生产中的放大效应等因素,拟定相对密度限度为不低于 1.02。

3 讨论

考虑到薄层板的耐用性、点样浓度和点样体积都会对最终测定结果产生影响,薄层定性鉴别中,首先对不同薄层板的耐用性、检测限以及最大载荷量进行研究。优化得到的薄层鉴别系统,主斑点的清晰度、比移值合适,可作为该制剂的质量标准。

紫锥菊中的菊苣酸是其有效成分,测定其含量可有效控制产品质量。采用 HPLC 对菊苣酸进行含量测定,发现该方法线性范围广、分离效果好、操作简便、方法可靠,可作为该制剂的质量标准。

表 4 10 批样品 pH、相对密度检查		
样品批号	pH	相对密度
20120315	4.35	1.023
20120316	4.32	1.022
20120317	4.4	1.021
20120318	4.47	1.023
20120319	4.6	1.024
20120325	4.52	1.025
20120326	4.42	1.028
20120327	4.61	1.032
20120328	4.59	1.035
20120329	4.45	1.030

[参考文献]

[1] 吴华,方和沐. 免疫增强剂——紫锥菊的研究进展[J]. 青海畜牧兽医杂志,2010,40(3):43.

[2] 肖培根. 国际流行的免疫调节剂——紫锥菊及其制剂[J]. 中草药,1996,27(1):46.

[3] 唐雪莲,付京城,李洪,等. 国内紫锥菊免疫调节作用研究进展[J]. 中国动物保健,2012,14(1):10.

[4] Zhang Y, Liu K, Wu L j. Advance in studies on *Echinacea Moench*[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2001, 32(9):852.

[5] Soicke H, Al-Hassan G, Gorler K. Further derivatives of caffeic acid from *Echinacea purpurea* [J]. Planta Med,1988, 54(2):175.

[6] Jungmin Lee,Carolyn F Scagel. Chicoric acid levels in commercial basil (*Ocimum basilicum*) and *Echinacea purpurea* products [J]. Journal of Functional Foods, 2010,2(1):77.

[7] 闫晓慧,谈锋. 3 种松果菊属植物的鉴别、活性成分及生物技术研究进展[J]. 中草药,2006, 37(2):300.

[8] 青岛康地恩药业有限公司. 一种紫锥菊口服液及其制备方法:中国,200910016126.7[P]. 2009-12-09.

[9] 青岛康地恩药业有限公司. 一种以紫锥菊为主方的动物免疫增强口服液:中国,200910255687.2[P]. 2009-12-16.

[10] 青岛康地恩药业有限公司. 一种紫锥菊口服液及其制备方法和应用:中国,2010110185585.0[P]. 2010-05-28.

[11] 岑国栋,锥蓬轶,高永翔,等. 紫锥菊药理作用研究进展[J]. 现代药物与临床,2010,5(1):15.

[12] 徐建忠,史秋梅,倪耀娣,等. 紫锥菊药理作用的研究现状[J]. 黑龙江畜牧兽医:科技版,2010,4(1):41.

[责任编辑 顾雪竹]