

清肝利胆口服液中对羟基苯乙酮含量的测定

李小妹¹, 梁咏¹, 康志英¹, 王德秀¹, 蔡春玲¹, 麻印莲², 于定荣^{2*}

(1. 广州市香雪制药股份有限公司, 广州 510663;
2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立对羟基苯乙酮含量测定的方法, 为清肝利胆口服液的质量控制提供依据。方法: 采用高效液相色谱法测定对羟基苯乙酮的含量, Kromasil 100-5 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.1% 磷酸溶液(25:75), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 275 nm, 进样量 10 μL, 柱温 35 °C。结果: 对羟基苯乙酮在 0.213 ~ 5.335 μg 线性关系良好($r = 0.9999$), 平均加样回收率 101.86% (RSD 0.38%)。3 批样品中对羟基苯乙酮含量分别为 0.22, 0.19, 0.18 mg/支。结论: 方法专属性强、简便、准确、稳定, 可用于清肝利胆口服液的质量控制。

[关键词] 清肝利胆口服液; 对羟基苯乙酮; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0160-03

[doi] 10.11653/syfy2013170160

Determination of Hydroxyacetophenone in Qingganlidan Oral Solution

LI Xiao-mei¹, LIANG Yong¹, KANG Zhi-ying¹, WANG De-xiu¹, CAI Chun-ling¹, MA Yin-lian², YU Ding-rong^{2*}

(1. Guangzhou Xiangxue Pharmaceutical Co. Ltd., Guangzhou 510663, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for determination of hydroxyacetophenone in Qingganlidan Oral Solution and provide the basis of the quality control. **Method:** HPLC was used to determine the content of hydroxyacetophenone. A Kromasil 100-5 C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column was used. The mobile phase

[收稿日期] 20120929(005)

[第一作者] 李小妹, 中药执业药师, 中级职称, 从事制剂及质量标准研究, Tel: 020-85801066, E-mail: xiaomei0735@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 于定荣, 博士, 助理研究员, 从事中药制剂与炮制研究, Tel: 13436821953, E-mail: yudingrong 0826@sina.com

[参考文献]

- [1] 陈奇, 连晓媛, 陈兰英, 等. 炙甘草汤一些问题的考证及药理学研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 1999, 5(2): 54.
- [2] 刘丽萍, 任翠爱, 赵宏艳. 甘草酸的免疫调节作用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(6): 272.
- [3] 李成义, 马艳茹, 李越峰, 等. 西北地区商品甘草 HPLC 指纹图谱 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9): 129.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 80.
- [5] 崔淑芬, 张信青, 许柏球, 等. 高效液相色谱法同时测定甘草中甘草酸和甘草苷的含量 [J]. 时珍国医

国药, 2006, 17(3): 307.

- [6] 张文娟, 房敏峰, 赵新锋, 等. 固相萃取——高效液相色谱法测定甘草中甘草苷和甘草酸含量 [J]. 药物研究, 2008, 17(17): 5.
- [7] 王丽琼. 反相高效液相色谱法测定甘草浸膏中甘草酸和甘草苷含量 [J]. 药物鉴定, 2009, 18(17): 16.
- [8] 张芳向, 林朝霞. HPLC 法测定温肺止咳软胶囊中甘草酸、6-姜酚、和厚朴酚及厚朴酚 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7): 83.
- [9] 吴君金, 卢林, 马强, 等. UPLC 研究不同配伍对白虎汤中甘草酸含量的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 21.
- [10] 中华人民共和国药典编委会. 烟草化学与分析 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.

[责任编辑 顾雪竹]

was methanol-0.1% phosphoric acid (25:75) and the velocity of flow was $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. The detection wavelength was set at 275 nm. The injection volume was $10 \mu\text{L}$ and column temperature was kept at $35 \text{ }^\circ\text{C}$.

Result: The calibration curve of hydroxyacetophenone was in good linearity over the range of 0.213-5.335 μg ($r=0.9999$). The average recovery was 99.06% with RSD of 1.54% ($n=6$). The content of hydroxyacetophenone in Qingganlidan Oral Solution was 0.22, 0.19, 0.18 mg respectively. **Conclusion:** The method is simple, accurate, reliable and stable. It can be used for the quality control of Qingganlidan Oral Solution.

[**Key words**] Qingganlidan Oral Solution; hydroxyacetophenone; HPLC; content determination

清肝利胆口服液由茵陈、山银花、厚朴、栀子、防己5味中药制成,具有清热利胆、利湿热、增加胆汁分泌和胆红素的排泄、保肝降酶、促进肝细胞再生等作用。已有关于其绿原酸含量测定^[1]、厚朴酚与和厚朴酚含量测定^[2]的报道,并作为其制剂质量控制的方法。

目前,如何有效控制中药及其制剂的质量是中药及其复方研究中面临的一个关键问题^[3-7]。现代研究表明,对羟基苯乙酮具有明显的利胆活性^[8],是茵陈中的有效成分之一。本文建立了高效液相色谱法测定清肝利胆口服液中对羟基苯乙酮含量的方法^[9-10]。

1 材料

Agilent 1100 型 LC 高效液相色谱仪(G1315B DAD 检测器,安捷伦科技有限公司),TG328A 型电子分析天平(北京赛多利斯天平有限公司),对羟基苯乙酮对照品(批号 111897-201001)购自中国药品生物制品检定所,供含量测定,清肝利胆口服液由广州市香雪制药股份有限公司提供(批号 201105005, 20110201, 201003001, 201008001),乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 采用 Kromasil 100-5 C_{18} 色谱柱($4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}$),流动相甲醇-0.1%磷酸溶液(25:75),流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,检测波长 275 nm,柱温 $35 \text{ }^\circ\text{C}$,进样量 $10 \mu\text{L}$ 。

2.2 溶液的制备

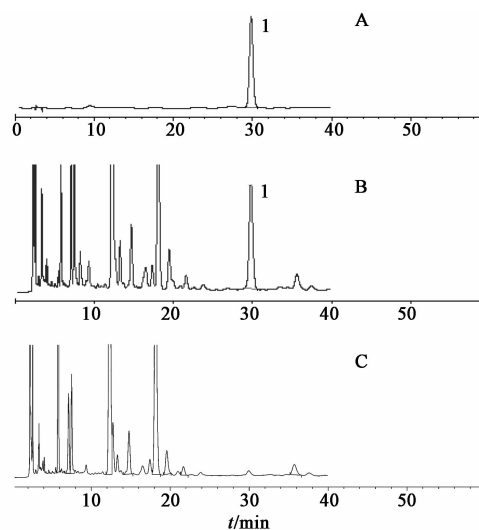
2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取对羟基苯乙酮对照品 53.35 mg,加甲醇稀释并定容至 100 mL,加甲醇溶解制成每 1 mL 含对羟基苯乙酮 $50 \mu\text{g}$ 的溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密量取本品 25 mL,置分液漏斗中,用正丁醇萃取 6 次,每次 30 mL,合并萃取液,蒸干,残渣用甲醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中,甲醇定容至刻度,摇匀,滤过,取续滤液过

$0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜,即得。

2.3 线性关系考察 精密吸取对羟基苯乙酮对照品溶液,制成质量浓度为 21.3, 53.3, 106.0, 266.7, 400.1, 533.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液,分别进样 $10 \mu\text{L}$,并按 2.1 项下色谱条件进行测定。以对羟基苯乙酮含量 $X(\mu\text{g})$ 为横坐标,对羟基苯乙酮色谱峰的峰面积 $Y(\text{mAU})$ 为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 59293X - 16.704$ ($r = 0.9999$),表明对羟基苯乙酮进样量在 0.213 ~ 5.335 μg 与峰面积呈良好线性关系。

2.4 空白试验 按处方自制缺茵陈药材阴性样品,按 2.2.2 项下方法制得空白溶液,取对照品溶液、供试品溶液、空白溶液按照 2.1 项下色谱条件测定,结果在与对羟基苯乙酮对照品保留时间相应的位置无色谱峰出现,表明处方中其他药味对对羟基苯乙酮的测定无干扰。见图 1。



A. 对照品溶液; B. 样品溶液; C. 阴性溶液; 1. 对羟基苯乙酮

图1 清肝利胆口服液的 HPLC

2.5 精密度试验 精密吸取 2.2.2 项下同一供试品溶液(批号 20110201),连续进样测定 6 次,结果对羟基苯乙酮峰面积的 RSD 0.27%,表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验 精密称取同一批号(批号 20110201)的样品 6 份,按 2.2.2 项下供试品溶液的制备方法,制得供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,结果测得对羟基苯乙酮平均质量浓度为 $26.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, RSD 1.01%,表明本法重复性良好。

2.7 稳定性考察 取 2.2.2 项下同一份供试品溶液(批号 20110201),自配制后分别于 0, 2, 4, 6, 8, 24 h 进样,测定峰面积值,结果对羟基苯乙酮峰面积的 RSD 0.38%,表明供试品溶液在配制后 24 h 内基本稳定。

2.8 加样回收率试验 精密量取已知对羟基苯乙酮含量的样品 10 mL,共 6 份,分别加入一定量的对羟基苯乙酮对照品,按 2.2.2 项下方法制备得供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,对羟基苯乙酮的平均回收率为 101.86% ($n = 6$), RSD 0.38%,结果见表 1。

表 1 对羟基苯乙酮加样回收试验

No.	样品含量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
1	0.265	0.537	101.99		
2	0.265	0.538	102.36		
3	0.265	0.537	101.99		
4	0.265	0.536	101.61	101.36	0.38
5	0.265	0.537	101.99		
6	0.265	0.535	101.24		

注:加入量均为 0.266 7 mg。

2.9 对羟基苯乙酮含量测定 取 3 个批号的样品(批号 201105005, 201003001, 201008001),分别按 2.2.2 项下方法,制备得各供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,结果 3 批样品的对羟基苯乙酮含量分别为 0.22, 0.19, 0.18 mg/支。

3 讨论

分别采用了氯仿、乙醚、乙酸乙酯、正丁醇等不同试剂对样品进行提取,结果表明正丁醇的提取效率最高,因此选择正丁醇作为提取溶剂。

将对羟基苯乙酮对照品溶液进行紫外光谱扫

描,结果显示在 275 nm 波长下有最大吸收峰,且在此波长下其他杂质峰的干扰小,故选择 275 nm 为检测波长。

《中国药典》2010 年版中清肝利胆口服液的含量测定项下只对栀子苷作了规定,而未提及利胆活性成分对羟基苯乙酮。本文建立了 HPLC 测定对羟基苯乙酮含量的方法,方法简单、准确、重复性好,可用于更好地控制清肝利胆口服液的质量。

[参考文献]

- [1] 张健,梁艳. 高效液相法测定清肝利胆口服液中绿原酸含量[J]. 中医研究, 2012, 25(4): 73.
- [2] 张峰,郜凤香. 高效液相色谱法测定清肝利胆口服液中厚朴酚与和厚朴酚含量[J]. 数理医药学杂志, 2010, 23(6): 697.
- [3] 秦泗涟,马利华,贾晓斌,等. 桂枝茯苓方物质基础及其制剂质量控制模式研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(13): 270.
- [4] 裘兰兰,李明明,陈丽娟,等. 红外光谱法在药物定量分析中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18): 272.
- [5] 苏松柏,张永萍,张丽丽,等. 拉曼光谱在中药质量控制中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8): 284.
- [6] 何佩雯,赵海誉,杜刚,等. 气相色谱技术在中药农药残留检测中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(2): 126.
- [7] 王永利,张江伟,王利华,等. 荧光分析法在药物分析中的应用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 253.
- [8] 谢韬,梁敬钰,刘净. 茵陈化学成分和药理作用研究进展[J]. 海峡药学, 2004, 16(1): 8.
- [9] 闫春风,徐晓伟,李君,等. HPLC 测定柴芩软胶囊中葛根素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(18): 98.
- [10] 史银基,刘砥威,石雪,等. HPLC 的定阿娜尔妇洁液中苦参碱的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(14): 119.

[责任编辑 顾雪竹]