

# 正交试验法优化百合水提工艺

王翔<sup>1</sup> 王权<sup>1</sup> 牛保力<sup>1</sup> 左成彬<sup>1</sup> 李翔宇<sup>1,2</sup> (1.安徽济人药业股份有限公司 安徽亳州 236800; 2.中药提取安徽省技术创新中心)

**摘要 目的:** 优化百合的最佳水提工艺,为后续开发研究提供参考依据。**方法:** 以干浸膏得率和王百合苷 B 转移率综合评分为评价指标,采用单因素试验考察浸泡时间、提取时间、提取次数和加水倍数对提取效果的影响;根据单因素试验结果,采用  $L_9(3^4)$  正交试验法进一步工艺优化,并进行验证。**结果:** 王百合苷 B 在 0.003 4~0.055 0  $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$  浓度范围内线性关系良好( $r=0.999\ 9$ );平均加样回收率为 99.11%, $RSD$  为 1.21% ( $n=3$ );精密度、稳定性、重复性试验  $RSD$  均  $<2.0\%$  ( $n=3$ )。优化后的百合水提工艺为加 10 倍水,提取 3 次,每次 1.0 h。验证试验显示,优化后的工艺所得干浸膏的平均得率为 22.67%, $RSD=1.1\%$ , ( $n=3$ ),王百合苷 B 转移率为 85.92%, $RSD=1.4\%$  ( $n=3$ )。**结论:** 王百合苷 B 含量测定方法操作简单,准确,优化的水提取工艺稳定、可行,可用于百合的水提取。

**关键词** 百合;单因素试验;正交试验;干浸膏得率;王百合苷 B;综合评分

中图分类号:R284.2 文献标识码:A 文章编号:1008-049X(2022)12-2264-05

DOI:10.19962/j.cnki.issn1008-049X.2022.12.037

## Optimization of the Water Extraction Process of *Lilii Bulbus* by Orthogonal Experiment

Wang Xiang<sup>1</sup>, Wang Quan<sup>1</sup>, Niu Baoli<sup>1</sup>, Zuo Chengbin<sup>1</sup>, Li Xiangyu<sup>1,2</sup> (1.Anhui Jiren Economic Pharmaceutical Group Co. Ltd., Anhui Bozhou 236800, China; 2.Anhui Technology Innovation Center for Traditional Chinese Medicine Extraction)

**ABSTRACT Objective:** To optimize the water extraction process of *Lilii Bulbus* and provide basis for its follow-up development and research. **Methods:** Taking the comprehensive score of dry extract yield and regaloside B transfer rate as evaluation indicator, a single factor test was used to investigate the effects of soaking time, extraction time, extraction times and water addition multiples on the extraction effect;  $L_9(3^4)$  orthogonal test method was used to optimize the soaking time, extraction time, extraction times and water addition ratio, and to verify the optimization process further. **Results:** The linear range of the concentration of regaloside B was (0.003 4-0.055 0)  $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$  ( $r=0.999\ 9$ ), the average recovery was 99.11%, the  $RSD$  was 1.21% ( $n=3$ ), the  $RSDs$  of precision, stability and reproducibility test were less than 2.0% ( $n=3$ ). The optimized extraction process was as follows: adding 10 times of water, and extracting 3 times with 1.0 h for each time. The verification test showed that the average yield of the dry extract obtained by the optimized process was 22.67%, and the  $RSD=1.1\%$  ( $n=3$ ), and the average transfer rate of regaloside B was 85.92%, and the  $RSD=1.4\%$  ( $n=3$ ). **Conclusion:** The optimized water extraction process is stable and feasible. It can be used for the water extraction of *Lilii Bulbus*.

**KEY WORDS** *Lilii Bulbus*; Single factor test; Orthogonal test; Dry extract yield; Regaloside B; Comprehensive score

百合为百合科植物卷丹 *Lilium lancifolium*

Thunb.、百合 *Lilium brownii* F.E. Brown var. viridulum

通信作者:李翔宇 Tel:13500592911 E-mail:13500592911@163.com

5 Hösl J, Gessner A, El-Najjar N. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the quantification of moxifloxacin, ciprofloxacin, daptomycin, caspofungin, and isavuconazole in human plasma[J]. J Pharm Biomed Anal, 2018, 157: 92-99

6 Verdier MC, Bentué-Ferrer D, Tribut O, et al. Determination of daptomycin in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Clinical application[J]. Clin Chem Lab Med, 2011, 49(1): 69-75

7 Gika HG, Michopoulos F, Divanis D, et al. Daptomycin determination by liquid chromatography-mass spectrometry in peritoneal fluid, blood plasma, and urine of clinical patients receiving peritoneal dialysis treatment[J]. Anal Bioanal Chem, 2010, 397(6): 2191-2197

8 Benvenuto M, Benziger DP, Yankelev S, et al. Pharmacokinetics and tolerability of daptomycin at doses up to 12 milligrams per kilogram of body weight once daily in healthy volunteers[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(10): 3245-3249

9 Bazoti FN, Gikas E, Skoutelis A, et al. Development and validation of an ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the quantification of daptomycin in human plasma[J]. J Pharm Biomed Anal, 2011, 56(1): 78-85

10 胡琳琳, 郭楠, 张学丽, 等. 达托霉素血浆浓度的 UPLC-MS/MS 法测定及其在重症患者体内药代动力学[J]. 中国药科大学学报, 2015, 46(6): 700-706

11 吴瑕, 刘秀菊, 杨秀岭, 等. HPLC 法测定患者血浆中达托霉素浓度[J]. 中国药物应用与监测, 2021, 18(6): 371-374

12 Safdar N, Andes D, Craig WA. *In vivo* pharmacodynamic activity of daptomycin[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(1): 63-68

13 Gregoire N, Chauzy A, Buyck J, et al. Clinical pharmacokinetics of daptomycin[J]. Clin Pharmacokinet, 2021, 60(3): 271-281

14 孙宝, 白延宁, 张媛媛, 等. 达托霉素不良反应 89 例文献病例分析[J]. 药物流行病学杂志, 2021, 30(2): 135-140

(2022-09-03 收稿 2022-11-10 修回)

Baker 或细叶百合 *Lilium pumilum* DC. 的干燥肉质鳞叶。具有养阴润肺,清心安神之功效<sup>[1]</sup>。百合为传统常用中药,多为栽培品,首载于《神农本草经》。百合主要成分为糖类、酚类和皂苷类、生物碱类、甾醇类等<sup>[2-4]</sup>。文献报道多集中于百合多糖和皂苷类成分,具有免疫调节、降血糖、抗肿瘤、抗抑郁、抗氧化等药理活性<sup>[4,5]</sup>。本研究通过单因素试验与正交试验,以干浸膏得率和王百合苷 B 的转移率为指标,优选百合的提取工艺条件,为生产工艺参数的确定提供实验依据。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(配置四元泵、VWD 紫外检测器、化学工作站、HP compaq 计算机系统,安捷伦科技有限公司);Waters X Bridge © C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);XP26 型百万分之一天平(瑞士梅特勒-托利多集团);BT224S 型万分之一天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);BSA822-CW 型百分之一电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);JL-360 型超声提取器(上海吉理仪器有限公司);HH-6 恒温水浴锅(常州国宇仪器制造有限公司);XL-300 型多功能摇摆式粉碎机(上海润实电器有限公司)。

### 1.2 试剂

百合(安徽普仁中药饮片有限公司,批号:2009183,产地:湖北省龙山县)经湖南中医药大学刘向前教授鉴定为卷丹 *Lilium lancifolium* Thunb. 的干燥肉质鳞叶;王百合苷 B(上海鸿永生物科技有限公司,批号:230039-202005,含量≥98.0%);乙腈、磷酸为色谱纯;娃哈哈纯净水,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 水提液的制备

称取百合药材 30 g,置圆底烧瓶中,进行提取,趁热滤过,合并滤液,浓缩至适量,放冷至室温,加水定容至 500 ml,混匀,备用。

### 2.2 干浸膏得率测定

精密量取水提液 50 ml,置已干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干后,于 105 ℃ 的烘箱干燥 3 h,置干燥器中冷却 30 min,迅速精密称定重量,计算干浸膏得率。

### 2.3 王百合苷 B 的含量测定

2.3.1 色谱条件<sup>[6]</sup> 色谱柱:Waters X Bridge © C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-0.1%磷酸溶液(21:79);流速:1.0 ml·min<sup>-1</sup>;进样量:10 μl;检测波长:312 nm。理论板数按王百合苷 B

峰计算应不低于 6 000。

### 2.3.2 溶液的制备

2.3.2.1 对照品溶液 精密称取王百合苷 B 对照品 2.753 mg,置 50 ml 棕色量瓶中,加 80%乙醇溶解并稀释至刻度线,制成浓度为 0.050 5 mg·ml<sup>-1</sup> 的对照品溶液,即得。

2.3.2.2 饮片供试品溶液 取本品粉末(过三号筛)约 0.2 g,精密称定,精密加入 80%乙醇 25 ml,称定重量,加热回流 1.0 h,放冷,再称定重量,用 80%乙醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.3.2.3 水提液供试品溶液 精密量取水提液 2 ml,加无水乙醇定容至 10 ml,精密称定,混匀,超声(300 W,40 kHz)30 min,取出,放冷,80%乙醇补足减失的重量,摇匀,滤过,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.3.3 专属性试验 精密吸取 80%乙醇溶液(空白溶剂)、对照品溶液(0.055 0 mg·ml<sup>-1</sup>)、水提液供试品溶液及饮片供试品溶液各 10 μl,分别进样,记录色谱图。结果,供试品溶液与对照品溶液相同的保留时间有相应的色谱峰,且阴性对照溶液与供试品溶液、对照品溶液相同的保留时间处无相应色谱峰,表明专属性较强,结果见图 1。

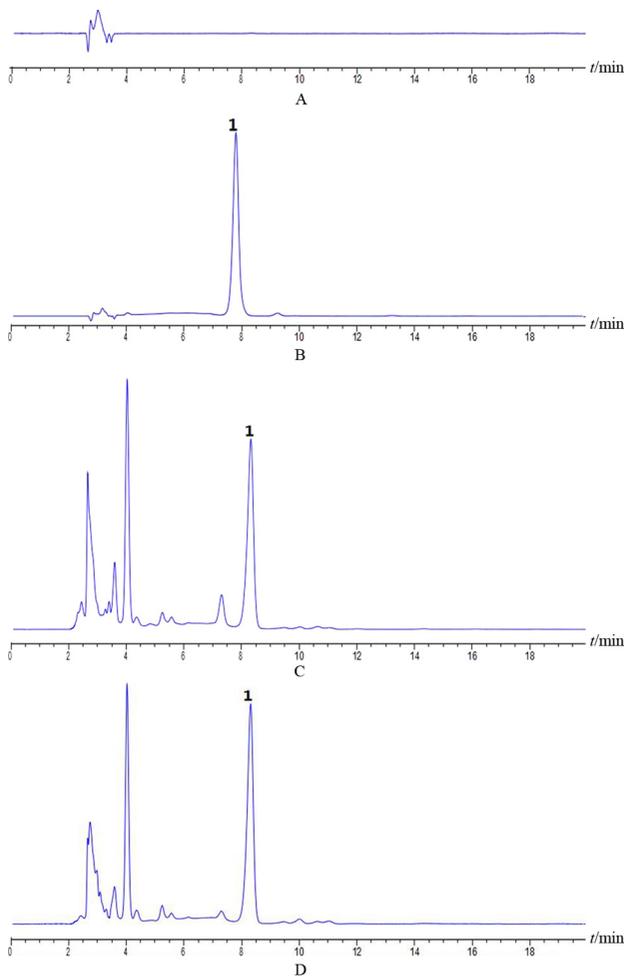
2.3.4 线性关系考察 分别精密吸取浓度为 0.003 4,0.006 9,0.013 8,0.027 5,0.055 0 mg·ml<sup>-1</sup> 的王百合苷 B 对照品溶液,分别进样 10 μl,测定峰面积并记录。以峰面积峰值为纵坐标,对照品溶液浓度为横坐标,用最小二乘法进行线性回归,求得回归方程  $Y=19\ 597X-4.83$ , $r=0.999\ 9$ ,表明王百合苷 B 在 0.003 4~0.055 0 mg·ml<sup>-1</sup> 浓度范围内呈现良好的线性关系。

2.3.5 精密度试验 精密吸取王百合苷 B 对照品溶液(0.055 0 mg·ml<sup>-1</sup>),重复进样 6 次,测得平均峰面积的 RSD 为 1.2%( $n=6$ ),可见方法精密度良好。

2.3.6 稳定性试验 精密吸取王百合苷 B 对照品溶液(0.055 0 mg·ml<sup>-1</sup>),于室温放置 0,2,4,8,12,24,36,48 h 分别进样,测定平均峰面积的 RSD 为 1.6%( $n=8$ ),表明供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.3.7 重复性试验 称取同一批次供试品平行 6 份(按正交试验优选工艺条件提取),按“2.3.2.3”项下方法制备供试品溶液,在“2.3.1”项下色谱条件测定,所得供试品溶液中王百合苷 B 的平均转移率为 86.72%,RSD 为 0.18%( $n=6$ ),表明重复性良好。

2.3.8 加样回收率试验 精密吸取已知含量的供试品溶液 1 ml(按正交试验优选工艺条件提取,测定王



A.空白溶剂 B.对照品溶液 C.水提液供试品溶液  
D.饮片供试品溶液 1.王百合苷 B

图 1 HPLC 色谱图

百合苷 B 含量为 $0.1612 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ), 平行 6 份, 分别精密加入王百合苷 B 对照品溶液( $0.1698 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ) 1 ml, (分别按王百合苷 B 含量的 100%精密加入王百合苷 B 对照品), 按“2.3.2.3”项下供试品溶液的制备方法, 在上述色谱条件下测定, 平均回收率为 99.11%, *RSD* 为 1.21% ( $n=6$ ), 表明回收率较好。

## 2.4 水提工艺的优化

**2.4.1 提取工艺的单因素考察** 本试验所用百合饮片中王百合苷 B 的质量分数为 0.31%。参照文献方法并结合预试验结果, 以综合评分法(以干浸膏得率、王百合苷 B 转移率计算)进行单因素和正交试验, 干浸膏得率按“2.2”项下方法测定, 王百合苷 B 含量按“2.3.1”项下方法测定, 并计算转移率。由于中药饮片的有效成分提取效率是判定提取效果优劣的主要指标之一, 提取率越高, 提取效果越好, 因而将提取效率作为主要指标; 虽然干浸膏得率在实际生产中具有重要意义, 但是片面追求干浸膏得率会导致其他工序操作时间延长, 影响产品的其他质量指标, 从而不利于

生产与节能降耗, 因此将干浸膏得率作为次要指标。设定干浸膏得率权重为 3 分, 王百合苷 B 转移率权重为 7 分。按下式计算综合评分:

王百合苷 B 转移率 = (水提液中王百合苷 B 浓度 × 稀释倍数) / (药材中王百合苷 B 含量 × 饮片质量)

综合评分 = (干浸膏得率 / 干浸膏得率最大值) × 3 + (王百合苷 B 转移率 / 王百合苷 B 转移率最大值) × 7。

**2.4.1.1 浸泡时间的考察** 称取本品 30 g, 置圆底烧瓶中, 加 10 倍水, 分别浸泡 0, 10, 30, 40, 60 min, 回流提取 1 h, 提取 1 次, 各平行 2 份, 测定干浸膏得率, 计算王百合苷 B 转移率及综合评分, 结果见表 1。可见在浸泡时间为 0 ~ 60 min, 综合评分没有明显差异。综合考虑, 选择浸泡 30 min。

表 1 浸泡时间对提取效率影响 ( $n=5$ )

浸泡时间 (min)	干浸膏得率 (%)	转移率 (%)	综合评分
0	10.56	56.03	9.37
10	10.64	56.24	9.42
30	11.11	57.32	9.67
40	11.20	58.15	9.79
60	11.57	59.12	10.00

**2.4.1.2 加水倍数的考察** 称取本品 30 g, 置圆底烧瓶中, 分别加 6, 8, 10, 12, 15 倍水, 回流提取 1.5 h, 提取 1 次, 各平行 2 份, 测定干浸膏得率, 计算王百合苷 B 转移率及综合评分, 结果见表 2。可见综合评分在加水倍数为 6~12 倍范围内呈上升趋势, 且在加水倍数为 12 倍时达到最大值, 随后呈下降趋势。因此选择 10, 12, 15 倍水进行后续正交试验。

表 2 加水倍数对提取效率的影响 ( $n=5$ )

加水量 (倍)	干浸膏得率 (%)	转移率 (%)	综合评分
6	9.61	36.54	6.78
8	10.65	45.09	8.10
10	12.44	47.78	8.84
12	13.66	54.78	10.00
15	13.64	53.05	9.78

**2.4.1.3 提取时间的考察** 称取本品 30 g, 置圆底烧瓶中, 加 10 倍水, 分别回流提取 0.5, 1, 1.5, 2, 3 h, 提取 1 次, 各平行 2 份, 测定干浸膏得率, 计算王百合苷 B 转移率及综合评分, 结果见表 3。可见综合评分虽在提取时间为 3 h 范围内呈上升趋势, 但王百合苷 B 转移率在提取时间为 1.5 h 达到最大值, 且综合评分在 1.5 h 和 3 h 无明显差异。因此选择 1, 1.5, 2 h 进行后续正交试验。

表 3 提取时间对提取效率的影响 ( $n=5$ )

提取时间 (h)	干浸膏得率 (%)	转移率 (%)	综合评分
0.5	6.53	32.41	6.33
1	9.23	39.88	8.02
1.5	11.75	44.65	9.25
2	12.76	43.35	9.24
3	15.67	43.92	9.89

2.4.1.4 提取次数的考察 称取本品 30 g,置圆底烧瓶中,加 10 倍水,回流提取 1 h,分别提取 1,2,3,4,5 次,各平行 2 份,测定干浸膏得率,计算王百合苷 B 转移率及综合评分,结果见表 4。可见,综合评分在提取次数为 1~5 范围内呈上升趋势,且在提取次数为 5 达到最大值,可见提取 4 次、5 次综合评分增幅极小,提取 2 次增幅较大。因此选择 1,2,3 次进行后续正交试验。

表 4 提取次数对提取效率的影响 ( $n=5$ )

提取次数	干浸膏得率(%)	转移率(%)	综合评分
1	10.64	56.03	5.39
2	17.52	82.37	8.13
3	22.46	92.12	9.40
4	26.56	90.98	9.75
5	28.11	90.02	9.84

## 2.4.2 正交试验优选水提工艺

2.4.2.1 水提工艺的正交试验 根据单因素试验结果,以加水倍数(A)、提取时间(B)、提取次数(C)为影响因素,采用  $L_9(3^4)$  正交表进行设计和试验,平行 2 次,测定干浸膏得率及王百合苷 B 转移率,并计算综合评分,并以综合评分作为评价指标。因素与水平表见表 5,正交试验设计与结果见表 6,方差分析结果见表 7。

表 5 水提工艺正交试验的因素与水平表

水平	A 加水量(倍)	B 提取时间(h)	C 提取次数(次)
1	10	1	1
2	12	1.5	2
3	15	2	3

表 6 正交试验设计和结果表

试验号	A	B	C	D	干浸膏得率(%)	转移率(%)	综合评分
1	1	1	1	1	10.60	52.13	5.51
2	1	2	2	2	20.06	77.20	8.62
3	1	3	3	3	28.50	77.63	9.54
4	2	1	2	3	20.56	75.87	8.56
5	2	2	3	1	27.72	82.75	9.89
6	2	3	1	2	15.46	57.57	6.48
7	3	1	3	2	25.11	83.08	9.64
8	3	2	1	3	14.00	63.73	6.84
9	3	3	2	1	25.82	81.63	9.60
干浸膏得率	K <sub>1</sub>	19.72	18.8	13.35	21.38		
	K <sub>2</sub>	21.25	20.6	22.15	20.21		
	K <sub>3</sub>	21.64	23.3	27.11	21.02		
	R	1.92	4.5	13.76	1.17		
转移率	K <sub>1</sub>	68.99	70.4	57.81	72.17		
	K <sub>2</sub>	72.06	74.6	78.23	72.62		
	K <sub>3</sub>	76.15	72.3	81.15	72.41		
	R	7.16	4.2	23.34	0.45		
综合评分	K <sub>1</sub>	7.89	7.9	6.28	8.33		
	K <sub>2</sub>	8.31	8.3	8.92	8.25		
	K <sub>3</sub>	8.69	8.5	9.69	8.31		
	R	2.42	1.9	10.24	0.26		

表 7 方差分析结果表

因素	偏差平方和	自由度	方差	F	P
A	0.97	2	0.48	97.00	<0.05
B	0.63	2	0.32	63.00	<0.05
C	19.26	2	9.63	1926	<0.01
D(误差)	0.01	2	0.01	1.00	

由表 6 可知,各因素对提取工艺影响大小一次为 C>A>B,且最优方案为 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>。由表 7 可见,虽然提取次数、提取时间、加水倍数对工艺的影响有统计学意义,但提取次数对工艺的影响极为显著。综合考虑提取效率和节约能源等因素,结合单因素考察结果,最终确定百合的水提工艺为 A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>,即浸泡 30 min,加 10 倍水,提取 1.0 h,提取 3 次。

2.4.2.2 验证试验 称取本品 30 g,平行 3 份,按最佳工艺浸泡 30 min,加 10 倍水,提取 1.0 h,提取 3 次进行提取,测定干浸膏得率和王百合苷 B 含量,并计算王百合苷 B 转移率。结果,干浸膏得率平均值为 22.67%, $RSD=1.1\%$  ( $n=3$ ),王百合苷 B 转移率平均值为 85.92%, $RSD=1.4\%$  ( $n=3$ ),表明百合的优选水提工艺稳定、合理、可行。

## 3 讨论

3.1 百合中含有酚性甘油酯、生物碱、多糖、甾体皂苷类等活性成分。其中,酚性甘油酯类是百合发挥抗氧化、抗肿瘤、调节免疫等作用的重要活性成分。而王百合苷 B 又是酚性甘油酯类物质的重要组成物质之一。同时,王百合苷 B 在百合药材中相对百分含量较高,水溶性较好。所以,本实验选用王百合苷 B,作为筛选水提工艺最佳工艺的评价指标,能很好地评价工艺的可行性。本研究参照文献[6]中王百合苷 B 的 HPLC 测定方法,并对流动相比例进行了优化。在该色谱条件下测定王百合苷 B 含量的专属性较强,测定方法简便、准确、且重复性好,因此选定此方法作为百合水提液中王百合苷 B 的 HPLC 测定方法。

3.2 中药有效成分转移率是提取工艺优劣的重要评价指标,而在实际生产过程中,干浸膏得率影响着产品的质量,其得率的增加会延长其它生产工序的操作时间,不利于产品质量的稳定,因此作为评价工艺优劣的次要指标,本实验采用有效成分转移率权重 7 分,干浸膏得率权重 3 分,综合评估两种关键指标在不同工艺条件下的得分,可直观地评价出工艺的优劣。利用三因素三水平正交试验,通过考察加水倍数(10,12,15 倍)、提取时间(1,1.5,2 h)和提取次数(1,2,3 次),测定有效成分转移率和干浸膏得率,分析各因素条件下的综合评分结果,确定最佳提取工艺为加 10 倍水,提取 1.0 h,提取 3 次,此条

# HPLC 法测定丙戊酸血药浓度两种衍生方法的比较研究

王麟奇<sup>1</sup> 张倩影<sup>2</sup> 吕立勋<sup>1</sup> 纪硕<sup>1</sup> 周珊珊<sup>1</sup> 秦锐<sup>1</sup> 王洪民<sup>3</sup> (1.华北理工大学药学院 河北唐山 063210; 2.华北理工大学附属医院药学部; 3.唐山市妇幼保健院药剂科)

**摘要 目的:** 比较两种衍生方法的最佳衍生条件测定人血中丙戊酸(VPA)浓度的差异及相关性,为临床 VPA 血药浓度监测方法选择提供参考依据。**方法:** 使用高效液相色谱(HPLC)法测定 VPA 血药浓度。血样分别采用 2-溴苯乙酮和 2-溴-对硝基苯乙酮对 VPA 进行衍生,以环己烷羧酸为内标,色谱柱采用 Aglient Capcell Pak C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm,5 μm),保护柱采用 Scienhome C<sub>18</sub>(600220 保护柱组件),流动相为甲醇-水(80/20,V/V),流速:1.0 ml·min<sup>-1</sup>,进样量 10 μl,柱温 35 ℃,保留时间 15 min。通过扫描全波长最终确定,2-溴苯乙酮为衍生试剂时的检测波长为 248 nm,2-溴-对硝基苯乙酮时的检测波长为 265 nm。采用统计学方法比较两种方法测定 63 例患者 VPA 血药浓度的相关性和差异。**结果:** 两种衍生方法经方法学考察均符合要求,两种方法测得 VPA 血药浓度相关性较好( $Y=0.971 3X+1.528 9, r=0.989 6$ ),且差异无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论:** 两种方法均可用于临床上 VPA 血药浓度监测,相比 2-溴苯乙酮作为衍生试剂,2-溴-对硝基苯乙酮具有低成本、高效率的特点,更适合用于临床 VPA 的血药浓度监测。

**关键词** 丙戊酸;柱前衍生高效液相色谱法;2-溴苯乙酮;2-溴-对硝基苯乙酮;治疗药物监测

中图分类号:R969.1 文献标识码:A 文章编号:1008-049X(2022)12-2268-04

DOI:10.19962/j.cnki.issn1008-049X.2022.12.038

## Comparison of Two Pre-column Derivatization HPLC Methods for the Determination of Valproic Acid in Serum

Wang Linqi<sup>1</sup>, Zhang Qianying<sup>2</sup>, Lv Lixun<sup>1</sup>, Ji Shuo<sup>1</sup>, Zhou Shanshan<sup>1</sup>, Qin Kun<sup>1</sup>, Wang Hongmin<sup>3</sup>(1. School of Pharmacy, North China University of Science and Technology, Hebei Tangshan 063210, China; 2. Department of Pharmacy, Affiliated Hospital of North China University of Science and Technology; 3. Department of Pharmacy, Tangshan Maternal and Child Health Hospital)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the differences and correlation between two pre-column derivatization HPLC methods for the determination of valproic acid (VPA) in serum, and provide reference for the clinical monitoring of VPA concentration. **Methods:** VPA in human serum was determined by high performance liquid chromatography (HPLC) with cyclohexanecarboxylic acid as internal standard, and the samples were derived respectively by 2-bromoacetophenone and 2-bromo-4'-nitroacetophenone. Chromatographic separation was achieved in approximately 15 min on an Aglient Capcell Pak C<sub>18</sub> column (250 mm×4.6 mm,5 μm) coupled with Scienhome C<sub>18</sub>(600220 safe-keeping column group of parts) guard precolumn. The mobile phase consisted of methanol-water (80/20,V/V) at 1.0 ml·min<sup>-1</sup>. The column temperature was set at 35 ℃. The injection volume was 10 μl, and the detection wavelengths were 248 nm and 265 nm. The correlation and differences of the VPA serum concentration in 63 patients respectively detected by the two methods were evaluated by statistical methods. **Results:** The two derivative methods were investigated in order to validate the analytical methods. The serum concentrations of VPA obtained by the two methods showed good correlation coefficient ( $Y=0.971 3X+1.528 9, r=0.989 6$ ). There were not statistically significant differences between the results determined by the two methods ( $P>0.05$ ). **Conclusion:** Both methods can be used to monitor the concentration of VPA in clinical practice. However, due to the characteristics of low cost and high efficiency, 2-bromo-4'-nitroacetophenone as a derivatizing reagent is more suitable for the determination of VPA in serum than 2-bromoacetophenone.

**KEY WORDS** Valproic acid; Pre-column derivatization HPLC; 2-Bromoacetophenone; 2-Bromo-4'-nitroacetophenone; Therapeutic drug monitoring

基金项目:河北省卫生厅科技项目(编号:20191148)

通信作者:张倩影 Tel:13582652686 E-mail:qianying\_1326@126.com

件经验证试验表明,该提取工艺稳定,合理、可行。

### 参 考 文 献

- 1 中国药典 2020 年版.一部[S]. 2020:137-138
- 2 孙红梅,张月,王春夏,等. 低温贮藏过程中百合鳞茎内酚类物质的高效液相色谱法测定[J]. 河北农业大学学报, 2008, 31(1):65-70
- 3 高淑怡,李卫民,帅颖,等. 药用植物百合甾体皂苷研究进展

- [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(16):337-343
  - 4 刘鹏,林志健,张冰. 百合的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(23):201-211
  - 5 Hou R, Chen J, Yue C, et al. Modification of lily polysaccharide by selenylation and the immune-enhancing activity [J]. Carbohydr Polym, 2016, 142:73-81
  - 6 钟霞,方朝缙,刘路芳,等. 百合药材与水提物的质量评价研究[J]. 广东化工, 2020, 47(8):25-27
- (2022-04-01 收稿 2022-09-07 修回)