RP-HPLC 法测定朱砂莲胶囊中马兜铃酸 A 的含量

崔晓红[1,2]，袁志芳[1]，万永占[2]，张兰桐[1*]

（1. 河北医科大学 药物分析教研室，河北 石家庄 050017；2. 河北医科大学第二医院，河北 石家庄 050000）

摘 要：**目的** 建立 HPLC 法测定朱砂莲胶囊中马兜铃酸 A 的方法。**方法** 采用 RP-HPLC 法测定。用 Msphere C_{18} 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm），以甲醇-水-冰醋酸（59∶40∶1）为流动相，体积流量为 1.0 mL/min，检测波长为 315 nm，柱温为室温，进样量为 20 μL。**结果** 马兜铃酸 A 的保留时间约为 15 min，与其他峰的分离度大于 1.5。马兜铃酸 A 的线性范围为 1.33～26.6 μg/mL，r=0.999 9，最低检测限为 1.33 ng/mL，平均回收率为 98.6%（n=5）。**结论** 该方法简便快速，结果准确可靠，可用于朱砂莲胶囊中马兜铃酸 A 的测定。

关键词：朱砂莲胶囊；马兜铃酸 A；高效液相色谱

中图分类号：R286.02 **文献标识码**：B **文章编号**：0253-2670(2004)10-1118-02

Determination of aristolochic acid A in Zhushalian Capsule by RP-HPLC

CUI Xiao-hong[1,2], YUAN Zhi-fang[1], WAN Yong-zhan[2], ZHANG Lan-tong[1]

(1. Department of Pharmaceutical Analysis, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China;
2. Second Hospital, Hebei Medical Univesity, Shijiazhuang 050000, China)

Key words: Zhushalian Capsule; aristolochic acid A; HPLC

朱砂莲胶囊是以朱砂莲为原料提取制得的中药制剂，具有清热解毒、消肿止痛的作用。适用于热毒蕴结所致的牙痛、咽喉肿痛、泻痢腹痛、痈疖肿痛等症。朱砂莲块根中含有马兜铃酸 A[1]。马兜铃酸 A 具有蓄积毒性，长期或大量服用可导致严重的肾毒性、肝毒性等，因此，监测马兜铃酸 A 对于保障朱砂莲胶囊的用药安全性具有重要的意义。本实验在建立朱砂莲胶囊中马兜铃酸 A 鉴别的基础上，采用 HPLC 法测定了其含量。

1 仪器与试药

美国 Waters 高效液相色谱仪，2487UV 检测器，浙江大学色谱工作站。硅胶 G（青岛海洋化工厂），甲醇为色谱纯，其他试剂均为分析纯。朱砂莲胶囊由四川松鹤药业有限公司生产，马兜铃酸 A 对照品购于中国药品生物制品检定所。

2 方法和结果

2.1 色谱条件：色谱柱：ZY1104 型液相色谱柱（Msphere C_{18}，250 mm×4.6 mm，5 μm）（北京分析仪器厂）；流动相：甲醇-水-冰醋酸（59∶40∶1）；体积流量：1.0 mL/min；检测波长：315 nm；柱温：室温；进样量：20 μL。

2.2 对照品溶液的制备：取马兜铃酸 A 对照品 1.52 mg，精密称定，置 5 mL 量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀。精密量取上述溶液 1.0 mL，置 5 mL 量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀，即得。

2.3 供试品溶液的制备：取朱砂莲胶囊内容物细粉（40 目）约 1.030 0 g，精密称定，置索氏提取器中，加甲醇 70 mL，加热回流提取 8 h。取甲醇提取液，蒸干，残渣加 0.5%氢氧化钠溶液 15 mL 使溶解，6 mol/L 盐酸溶液调节 pH 至 2，转移至分液漏斗中，氯仿振荡提取 4 次（5、10、10、10 mL），合并氯仿提取液，蒸干，残渣加适量甲醇使溶解，移至 25 mL 量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀。精密吸取此溶液 2.5 mL，置 10 mL 量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，即得。

2.4 色谱系统性试验：照上述色谱条件，分别取对照品溶液、供试品溶液，注入液相色谱仪，记录色谱图，结果见图 1。可见，供试品色谱中，在与对照品色谱相应位置上，有相同保留时间的色谱峰。马兜铃酸 A 的保留时间约为 15 min，对称因子为 0.96，理论板数以马兜铃酸 A 峰计不低于 4 500，马兜铃酸 A 与杂质峰的分离度大于 1.5。

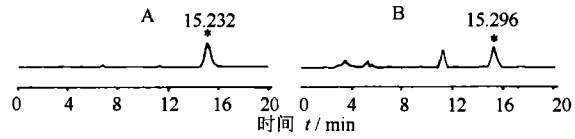
2.5 线性关系考察：取马兜铃酸 A 对照品适量，精密称定，置 10 mL 量瓶中，加适量甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀得 0.133 mg/mL 马兜铃酸 A 储备液。

收稿日期：2003-12-31

基金项目：河北省科学研究与发展计划资助项目（042761125）

作者简介：崔晓红（1965—），女，硕士，副主任药师，主要从事中药有效成分的研究和临床药学工作。

* 通讯作者 Tel：（0311）6265625 Fax：（0311）6052053 E-mail：zhanglantong@263.net



*-马兜铃酸 A

*-aristolochic acid A

图 1 马兜铃酸 A 对照品(A)和朱砂莲胶囊(B)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of aristolochic acid A (A) and Zhushalian Capsule (B)

分别精密吸取上述溶液 0.05、0.2、0.4、0.8、1.0 mL，置 5 mL 量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀。按上述色谱条件依法进样，测定峰面积。以峰面积为纵坐标，马兜铃酸 A 的质量浓度为横坐标绘制标准曲线，得回归方程 $Y = 0.410\ 5\ X + 0.871\ 4$，$r = 0.999\ 5$。结果表明，马兜铃酸 A 质量浓度在 1.33～26.6 μg/mL 与峰面积有良好的线性关系。

2.6 最低检测限：在信噪 比 S/N＝3 时，最低检测限为 1.33 ng/mL。

2.7 重现性考察：取同一批(批号为 020106)样品 5 份，制备供试品溶液，注入液相色谱仪，依法测定，结果马兜铃酸 A 的 RSD 为 2.8%。

2.8 精密度试验：精密吸取供试品溶液 20 μL，重复进样 5 次，测定峰面积，结果马兜铃酸 A 的峰面积 RSD 为 1.8%。

2.9 稳定性试验：取供试品溶液，每隔 2 h 注入 20 μL，记录峰面积。结果表明，供试品溶液在 8 h 内基本稳定，马兜铃酸 A 峰面积 RSD 为 1.9% ($n=5$)。

2.10 回收率试验：采取加样回收法。精密量取批号为 0201066 的样品 0.5 g 5 份，分别加入马兜铃酸 A 对照品溶液适量，制备供试品溶液，进样，按上述色谱条件测定峰面积，计算回收率，结果马兜铃酸 A 的平均回收率为 98.6%，RSD＝0.3% ($n=5$)。

2.11 样品测定：取朱砂莲胶囊(批号为 020106，020108，021123)，分别制备供试品溶液，按上述色谱条件进行分析，根据外标法计算马兜铃酸 A 的含量。3 批朱砂莲胶囊中马兜铃酸 A 的质量分数分别为 42.30、40.23、45.01 μg/g。

3 讨论

3.1 将马兜铃酸 A 溶于确定的流动相中，于分光光度计上进行光谱扫描，测定结果显示，马兜铃酸 A 在 315 nm 波长处有最大吸收，故选用此波长作为测定波长。

3.2 实验以甲醇-水为流动相，马兜铃酸 A 色谱峰易拖尾，对称度差，于流动相中加入适量的冰醋酸可抑制其拖尾，并可改变峰形。

3.3 本实验参考文献[2～5]，并结合实验，确定样品中甲醇索氏提取 8 h，马兜铃酸可以提取完全，且重现性良好。再经酸化，氯仿萃取，可消除其他物质对马兜铃酸 A 色谱峰的干扰。

3.4 美国 FDA 发布通告指出，所有含有或怀疑含有马兜铃酸 A 的天然药物均被禁止使用。虽然我国还没有作出相应的限制，但医务工作者不可掉以轻心。本实验确定的方法简便、快速，准确可靠，灵敏度高，可用于检测朱砂莲胶囊中马兜铃酸 A 的含量，以确保该药的安全、合理使用。

References:

[1] Li H, Youji S, Shingo M, *et al*. Constituents of *Aristolochia cinnabarina* [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1995, 37(9): 745.

[2] Liu Y, Wang B Q. Determination of aristolochic acid A in *Aristolochia contorta* by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1990, 21(6): 15.

[3] Zhao N, Lai J F, Bi K S. Determination of aristolochic acid A in drugs from *Aristolochia* by RP-HPLC [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2001, 18(2): 56-57.

[4] Zhang Y P, Xun G J, Jin R L, *et al*. Determination of aristolochic acid A in *Aristolochia* by RP-HPLC [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1993, 18(2): 56-57.

[5] Zhao N, Lai J F, Bi K S. Determination of aristolochic acid A in *Radix Aristolochiae* by RP-HPLC [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2001, 18(2): 125-127.

肿节风注射液 HPLC 指纹图谱的研究

王钢力[1]，郑笑为[1]，陈道峰[2]，林瑞超[1]

(1. 中国药品生物制品检定所，北京 100050；2. 复旦大学药学院，上海 200032)

肿节风为金粟兰科草珊瑚 *Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakai 的干燥全株[1]，具有抗菌、消炎、止痛及肿瘤抑制作用。其主要化学成分为倍半萜、黄酮及香豆素类化合物[2]。肿节风注射液为肿节风药材

收稿日期：2003-12-18