

表面积是决定树脂对喜树碱和喜果苷吸附容量的关键因素,极性基团(羰基)的引入,则有助于提高树脂对喜树碱和喜果苷的吸附选择性,这是因为具有较强接受质子能力的羰基和喜树碱分子上的胺基基团形成了具有较高专一性氢键的缘故。通过对ME-1、ME-2、ME-3树脂吸附性能的比较研究,发现具有高比表面积的弱极性吸附树脂ME-3对喜树碱和喜果苷具有更高的吸附选择性,并具有一定的色谱分离效果,是一种较为理想的喜树碱和喜果苷分离介质。

References:

- [1] Wall M E, Waoi M C, Cock C E, *et al.* Plant antitumor agents: I. The isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal leukemia and tumor inhibitor from *Camptotheca acuminata* [J]. *J Am Chem Soc*, 1966, 88 (16): 3888-3890.
- [2] Moertel C G, Schutt A J, Rettemeier R J, *et al.* Phase I clinical trial of weekly and daily treatment with CPT (NSC-100880): Correlation with preclinical studies [J]. *Cancer Chemother Rep*, 1972, 56: 59-62.
- [3] Li Y, Tang Q, Dong L, *et al.* Progress in research of structure modification and structure-activity of camptothecin and its analogues [J]. *Chem Res Appl* (化学研究与应用), 2003, 6 (15): 744-749.
- [4] Wang Y, Yu T, Zhang Y H, *et al.* New process of extraction of camptothecin from leaves of *Camptotheca acuminata* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 10 (32): 882-884.
- [5] Zhang Z X, Zhang S X, Song G B, *et al.* Study on extraction of camptothecin from leaves of *Camptotheca acuminata* [J]. *Biotechnology* (生物技术), 2003, 5 (13): 24-25.

HPLC法测定养血清脑颗粒中马兜铃酸A

高 钧¹, 孙玉侠¹, 李 伟¹, 李德坤¹, 魏 峰¹, 赵洪芝²

(1. 天津天士力集团有限公司, 天津 300402; 2. 天津大学化工学院, 天津 300072)

摘 要:目的 检测养血清脑颗粒中是否含有肾毒性成分马兜铃酸A。方法 建立高效液相色谱法, 采用 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以甲醇-1%冰醋酸水溶液 (53:47) 为流动相, 体积流量为 1.0 mL/min, 检测波长为 317 nm, 测定 20 批养血清脑颗粒。结果 回收率为 97.7%, 标准曲线为 $Y=2.05X+0.205$, 在 5.2~68 ng 线性关系良好; 20 批养血清脑颗粒中均未检测到马兜铃酸A。结论 养血清脑颗粒中不含有肾毒性成分马兜铃酸A, 是一种安全的中药。

关键词:养血清脑颗粒; 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(2005)06-0851-02

Determination of aristolochic acid A in Yangxue Qingnao Granula by HPLC

GAO Jun¹, SUN Yu-xia¹, LI Wei¹, LI De-kun¹, WEI Feng¹, ZHAO Hong-zhi²

(1. Tianjin Tasly Group Co., Ltd., Tianjin 300402, China; 2. College of Chemistry and Chemical Engineering of Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Key words: Yangxue Qingnao Granula; aristolochic acid A; HPLC

养血清脑颗粒由当归、川芎、熟地黄、白芍、钩藤、鸡血藤、夏枯草、决明子、珍珠母、延胡索和细辛 11 味中药组成, 用于治疗血虚肝亢所致的头痛、眩晕眼花、心烦易怒、失眠多梦等症。其处方中细辛占处方量的 1.35%。细辛为马兜铃科植物北细辛 *Asarum heterotropoides* Fr. Schmidt var. *mandshuricum* (Maxim.) Kitag.、汉城细辛 *A. sieboldii* Miq. var. *seoulense* Nakai 或华细辛 *A. sieboldii* Miq. 的干燥全草^[1]。细辛中含有微量的肾

毒性成分马兜铃酸A^[2]。由于细辛在处方中的比重小, 且制剂提取过程中以水为溶剂, 而马兜铃酸A不易溶于水, 因此, 研究养血清脑颗粒中是否含马兜铃酸A。本实验建立了HPLC法检测养血清脑颗粒中的马兜铃酸A, 以保证养血清脑颗粒的安全性。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪, 配置四元泵、二极阵列检测器、自动进样器、在线真空脱气机、柱温箱、配置 HP Chemstation 色谱工作站; Hitachi

收稿日期: 2004-08-09

作者简介: 高 钧 (1969—), 男, 辽宁沈阳人, 高级工程师, 博士, 1991 年获西北大学药用植物学专业学士学位, 2004 年获沈阳药科大学药物分析专业博士学位, 研究方向: 中药质量标准、指纹图谱研究, 生物等效性研究, 药动学研究, 农药残留研究。
Tel: (022) 26736533 E-mail: gaojun1969@hotmail.com

U—3010 紫外-可见光谱仪;Mettler Toledo AG135 电子天平。

马兜铃酸 A 对照品,购于中国药品生物制品检定所,批号:0746-200103,质量分数为 98.7% (317 nm 检测,HPLC 归一化法)。甲醇为色谱纯,冰醋酸为分析纯,水为纯化水。养血清脑颗粒,规格为 4 g,为 2002 年 8 月至 2004 年 4 月天士力制药股份有限公司生产的产品。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm),以甲醇-1%冰醋酸水溶液 (53:47) 为流动相,体积流量为 1.0 mL/min,检测波长为 317 nm,柱温为 30 ℃。在该色谱条件下,马兜铃酸 A 的保留时间约为 45 min。色谱图见图 1。

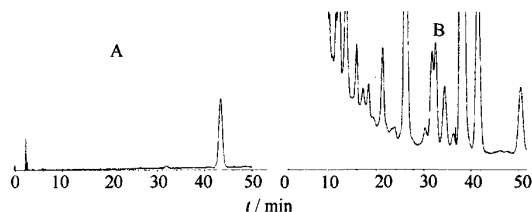


图 1 马兜铃酸 A 对照品(A)和养血清脑颗粒(B)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of aristolochic acid A (A) and Yangxue Qingnao Granula (B)

2.2 对照品溶液的制备:取马兜铃酸 A 对照品适量,精密称定 5.25 mg,用甲醇溶解,定容至 10 mL。精密吸取该对照品溶液 1.00 mL,置 100 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,制成质量浓度为 5.25 μg/mL 马兜铃酸 A 对照品溶液。再精密吸取 5.25 μg/mL 马兜铃酸 A 对照品溶液 1.00 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,制成质量浓度为 0.525 μg/mL 马兜铃酸 A 对照品溶液,用于最低检出限试验。

2.3 供试品溶液的制备:取养血清脑颗粒约 1.5 g,精密称定,置具塞三角瓶中,精密加入甲醇 20 mL,精密称定,超声提取 30 min,放置至室温,补足损失的甲醇量,0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4 最低检出限试验:精密吸取 0.525 μg/mL 马兜铃酸 A 对照品溶液 3.00 μL,注入高效液相色谱仪分析,测得峰高为噪音的 3 倍,以此计算最低检出限为 1.6 ng。

2.5 标准曲线的绘制:取马兜铃酸 A 对照品溶液,在上述色谱条件下分析,分别进样 1、3、5、7、9、11、

13 μL,记录色谱图。以马兜铃酸 A 进样质量为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y=2.05 X+0.205$, $r=0.9998$ 。结果表明,马兜铃酸 A 在 5.2~68 ng 与峰面积呈良好线性关系。

2.6 稳定性试验:取供试品溶液,室温放置,分别于 1、3、5、7、9、12 h 测定,均未检测到马兜铃酸 A。表明 12 h 内供试品溶液稳定。

2.7 回收率试验:精密吸取 6.15 μg/mL 马兜铃酸 A 对照品溶液 5.0 mL,置于三角瓶中,挥干溶剂。精密称取养血清脑颗粒 1.5 g,加入三角瓶中,按照供试品溶液制备方法操作,并进样分析。平行操作 6 份。计算得平均回收率为 97.7%,RSD 为 2.9%。结果见表 1。

2.8 样品测定:测定 20 批养血清脑颗粒,均未检出马兜铃酸 A,结果见表 2。

表 1 回收率试验结果

Table 1 Recovery test

测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.029 1	94.6		
0.031 3	101.7		
0.030 6	99.7	97.7	2.9
0.029 7	96.5		
0.029 6	96.2		
0.029 2	94.9		

表 2 养血清脑颗粒中马兜铃酸 A 测定结果

Table 2 Aristolochic acid A in Yangxue Qingnao Granula

批号	结果	批号	结果	批号	结果
20020808	未检出	20030404	未检出	20040109	未检出
20020917	未检出	20030705	未检出	20040213	未检出
20021011	未检出	20030815	未检出	20040225	未检出
20021201	未检出	20030906	未检出	20040301	未检出
20030107	未检出	20031017	未检出	20040318	未检出
20030219	未检出	20031112	未检出	20040406	未检出
20030317	未检出	20031231	未检出		

3 讨论

虽然养血清脑颗粒的处方中含有细辛药材,而细辛中含有微量的马兜铃酸 A,但是养血清脑颗粒中却没有检测到马兜铃酸 A。20 批产品均未检测到马兜铃酸 A 的结果表明,养血清脑颗粒是安全的。细辛药材中的马兜铃酸 A 没有转移到养血清脑颗粒中的原因在于,细辛在处方中量少和以水提取细辛药材,而马兜铃酸 A 不易溶于水。

References:

- [1] Ch P (中国药典). Vol 1. 2000.
- [2] Xie Z M, Li S X, Liao H C. Determination of aristolochic acid A in *Herba Asari* by HPLC [J]. *Central South Pharm* (中南药学), 2003, 1 (3): 165-167.