维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2003)01－0084－03

HPLC 测定朱砂莲胶囊中马兜铃酸 A 的含量

陈 邕

(重庆医科大学临床学院药剂科,重庆 400016)

【摘 要】目的:建立测定朱砂莲胶囊中马兜铃酸 A 的高效液相色谱法。方法:采用高效液相色谱法。以十八烷基硅烷键合硅胶(250mm×4.6mm,5μm)为色谱柱;流动相:甲醇－水－冰醋酸(79:29:1);检测波长:315nm;流速:1.0ml/min。结果:马兜铃酸 A 的加样回收率平均为 98.34%,RSD 为 0.04%($n=5$)。结论:该方法准确,灵敏度高,重现性好。

【关键词】朱砂莲胶囊;马兜铃酸 A;高效液相色谱法。

【中国图书分类法分类号】R284.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2002－01－07

Determination of the contents of aristolochic acid A in Zhushalian capsule by HPLC

CHEN Yong, et al

(*Departmen of Pharmacy, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To determine the contents of aristolochic acid A in Zhushalian capsules. *Methods*: Column hypersil C18 (250mm×4.6mm, 5μm). Mobile phase: Solution of methanol－water－glacial acetic acid (79:29:1). Detection wavelength: 315nm. Flow rate: 1.0ml/min. *Results*: Aristolochic acid A was completely separated and no interference was found. The recovery rate was 98.34%. RSD was 0.04%($n=5$). *Conclusion*: This method is simple, sensitive, accurate and reliable.

【Key words】Zhushalian capsules; Aristolochic acid A; HPLC

朱砂莲胶囊系由中药材朱砂莲经干燥、粉碎、填充制成的单方中药制剂,具有清热解毒、消肿止痛的功能。临床用于热毒蕴结所致的牙痛、咽喉肿痛、泻痢腹痛、痈疖肿痛;民间尚用于治疗迁延性肝炎、肝硬化等。马兜铃酸 A 是本品中主要有效特征成份,具有一定的镇痛及抗炎作用,对其进行定量具有实际意义。本实验采用 HPLC 测定朱砂莲胶囊中马兜铃酸 A 的含量,以控制成药质量,效果良好,定量准确,快速。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

样品:朱砂莲胶囊(四川松鹤药业有限公司出品,000521)

对照品:马兜铃酸 A(中国药品生物制品检定所,746－9002)。

试剂:乙醇 AR(成都科龙化工试剂厂,20010908);甲醇 AR(沈阳化学试剂厂,200103011);冰醋酸 AR(重庆南方试剂厂,19970825)。

1.2 仪器与色谱条件

仪器:美国 PE 公司 235C－250 高效液相色谱仪;梅特勒－托利多 AE240 双量程电子天平;超声振荡器。

色谱条件:十八烷基硅烷键合硅胶 250mm×4.6mm,5μm(瑞士 KPOMASIL 产);流动相:甲醇－水－冰醋酸=79:29:1(pH=3.8);检测波长:315nm[1];流速:1.0ml/min;柱温:室温。进样量 10μl。

色谱条件选择:分别取对照品溶液及供试品溶液各 10μl,注入高效液相色谱仪中,按色谱条件进行试验,结果见图 1。结果表明:样品基线分离良好。

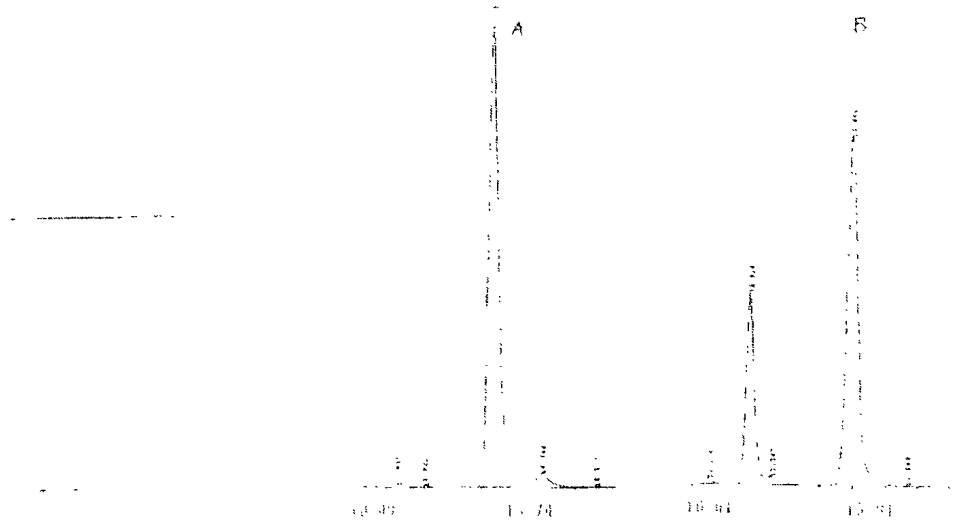
1.3 供试品溶液及对照品溶液的制备

供试品溶液的制备:取朱砂莲胶囊内容物,精密称取 2g,研细,置索氏提取器中,加乙醇 80ml,置水浴加热回流 2h,浓缩至适量,放冷,滤过,用乙醇分次洗涤容器,定容于 50ml 量瓶中,摇匀,即得。

对照品溶液的制备:精密称取马兜铃酸 A 对照品适量,加乙醇使溶解,制成每 1ml 含 0.1mg 的溶液,即得。

作者介绍:陈 邕(1965－),女,主管药师,主要研究方向:药代动力学。

维普资讯 http://www.cqvip.com



A. 空白流动相图; B. 马兜铃酸 A 对照品; C. 朱砂莲胶囊样品

图 1 色谱图

2 方法学评价

2.1 标准曲线

取马兜铃酸 A 对照品溶液 2、4、6、8、10μl,分别注入高效液相色谱仪中,得峰面积积分值分别为 5962778、11394320、16831881、22319150、27553918,以峰面积积分值 A 为纵坐标,进样量 mg 为横坐标,作标准曲线,得回归方程 Y = 627.17 + 26.54X,R = 0.99996,结果表明马兜铃酸 A 在 0.2 ~ 1.0μg 范围内与峰面积呈线性关系。

2.2 稳定性试验

取朱砂莲胶囊批号为 000521 的供试品溶液保留在容量瓶中,每小时测定 1 次(n = 7),结果见表 1。表明:马兜铃酸 A 在 6h 内稳定,RSD 为 0.59%。

表 1 稳定性试验

贮存条件	测得色谱峰面积积分值						
	0h	1h	2h	3h	4h	5h	6h
室 温	11025893	11136151	11067869	11102687	10921716	11001124	10927144

2.3 精密度实验

取对照品溶液,按上述色谱条件进行分析,每 30min 进样 1 次(n = 6),RSD 为 0.48%。

2.4 空白试验

本品为单方制剂,胶囊是原料未经提取直接填充制成的。故本实验采用溶剂空白对照,无干扰。

2.5 加样回收率实验

取五批已知含量的朱砂莲胶囊各 2g,分别精密加入对照品溶液 2μl,按供试品溶液制备法同法制备,定容于 50ml 量瓶中依法测定,结果见表 2。表明平均加样回收率 98.34%,RSD 为 0.04%。

表 2 加样回收率实验

样品批号	进样量 (μl)	平均峰面积 (n = 2)	马兜铃酸 A 加入量 (μg)	马兜铃酸 A 回收量 (μg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
000521	10	11025893	0	0.39			
		16544070	0.20	0.58	98.31		
010727	10	11646768	0	0.41			
		16831647	0.20	0.60	98.36		
010804	10	11451440	0	0.40			
		17046251	0.20	0.59	98.33	98.34	0.04
010807	10	12155682	0	0.43			
		17501087	0.2	0.62	98.41		
010814	10	11121052	0	0.38			
		16411606	0.2	0.57	98.28		

维普资讯 http://www.cqvip.com

2.6 样品的含量测定

分别精密吸取对照品溶液与样品溶液 10μl,注入高效液相色谱仪,依上述色谱条件,以外标法计算含量,测定了 5 批样品($n=2$),结果见表 3。

表 3 朱砂莲胶囊 5 个批次含量测定

序号	样品批号	马兜铃酸 A/mg/g	RSD(%)
1	010321	1.28	0.43
2	010412	1.20	0.42
3	010518	1.16	1.50
4	010526	1.20	0.51
5	010604	1.24	1.52

3 结 果

采用 HPLC 测定朱砂莲胶囊中马兜铃酸 A 的含量,其样品及标准品基线分离良好;标准曲线线性分析 R=0.99996;本测定方法在 6h 内稳定,RSD=0.59%;精密度实验($n=6$)RSD=0.48%;平均加样回收率 98.34%,RSD=0.04%。实验结果表明,该方法准确,灵敏度高,重现性好,可作为朱砂莲胶囊中马兜铃酸 A 含量的测定方法。

4 讨 论

用 HPLC 测朱砂莲胶囊中马兜铃酸 A 含量尚未见报道,参考文献[1,2]对采用 HPLC 测定朱砂莲胶囊中马兜铃酸 A 的含量进行了系统实验研究,其中样品的纯化沿用文献[2]中鉴别项下供试品制备方法,结果本法提取较为完全,系统误差较小。在色谱条件流动相选择上,对甲醇-水-冰醋酸的比例进行了对比性选择实验,结果其比例为 79:29:1 时样品分离最好。

除本文 HPLC 法外,尚有采用薄层扫描法测定朱砂莲胶囊中马兜铃酸 A 的含量,通过两种方法对比性实验表明,HPLC 法定量分析准确,灵敏度高,重现性好。目前此法已被生产企业所采用,并作为法定标准申报。

参 考 文 献

[1] 赵陆化.高效液相色谱法中药成分手册[M].北京:科学技术出版社,1992:181.

[2] 卫生部药品标准.中药成方制剂第十五册[M].41.

(上接第 83 页)循环,往往能大大提高脑复苏成功率,改善预后。我组资料显示 A 组患者自主心跳恢复的时间平均为3.5 ±0.7min ,而B 组患者为7.0 ±1.2min,A 组明显短于 B 组($P<0.05$),这就提示 CPR 时经中心静脉通道给药能明显缩短自主循环恢复时间,为后期的脑复苏奠定了很好的基础。因此,推荐在有条件和技术的医院,心肺复苏时应尽可能行横膈以上的中心静脉穿刺置管,尤其是锁骨下静脉穿刺,这样不仅为复苏药物提供了最有效的给药途径,而且也为快速输液、输血和经静脉紧急起搏提供了有效血管通道。

参 考 文 献

[1] 李春盛.应掌握现代复苏时药物应用的原则[J].中国危重病急救医学,2000;12(11):643-644.

[2] Advanced life support working group of the Resuscitation Council. The 1998 European Resuscitation Council guidelines for adult advanced life support[J]. Br Med J, 1998; 316: 1863-1869.

[3] Kuhn GJ, White BC, Swetnam RE, et al. Peripheral vs central circulation times during CPR: A pilot study[J]. Am Emerg Med, 1981; 10(8): 417-419.

[4] Hedges JR, Barsan WB, Doan LA, et al. Central versus peripheral intravenous routes in cardiopulmony resuscitation[J]. Ann J Emerg Med, 1984; 2(5): 385-390.

[5] Emerman CL, Pinchak AC, Hancoc KD, et al. Effect of injection site on circulation times during cardiac arrest[J]. Crit Care Med, 1988; 16(11): 1138-1141.