

化学试剂, 2010, 32(12), 1103~1107

## GC/ECD 法测定土壤中残留的酰胺类除草剂

陈虹\*, 韩勇, 钟明, 靳伟, 王曦, 倪俊

(中国科学院 南京土壤研究所 土壤与环境分析测试中心, 江苏 南京 210008)

摘要: 采用振荡萃取、气相色谱/电子捕获检测法 (GC/ECD) 对土壤样品中的几种酰胺类除草剂进行了残留量检测。并对实验过程中涉及的一系列条件进行了优化, 结果表明: 选择丙酮 (mL): 土 (g) = 10~5: 1, 180 r/min 下振荡 40 min 后, 过滤 (分取或全转移)、浓缩至 3 mL 左右、再用  $N_2$  吹至近干用正己烷定容, 在 GC/ECD 上测定, 测定结果良好, 符合有机分析要求 (回收率在 80%~120% 之间)。各目标物在 GC/ECD 上的检出限为 0.002~0.092 mg/L 不等。

关键词: 土壤; 酰胺类除草剂; 残留; 检测

中图分类号: O657.7 文献标识码: A 文章编号: 0258-3283(2010)12-1103-05

酰胺类除草剂是一种高效、高选择性的触杀性除草剂, 根据其化学结构和生理活性的不同分为两大类: 芳酰胺类和氯代乙酰胺类。芳酰胺类品种主要有: 敌稗、萘丙胺、苯噻草胺等; 氯代乙酰胺类品种主要有: 甲草胺、乙草胺、丙草胺、丁草胺、异丙甲草胺等; 其中使用最广泛的主要包括甲草胺、乙草胺、丁草胺和异丙甲草胺等 4 种, 常用于旱作地和水田<sup>[1-2]</sup>。Coleman 等<sup>[3]</sup>研究证明, 乙草胺、异丙甲草胺与丁草胺在大鼠体内可产生具致癌作用的二烷基脲亚胺, 从而使大鼠鼻癌、胃癌与肝癌发生率提高, 故 EPA 将它们列为可能对人体致癌的化合物。

酰胺类除草剂常用的检测方法有气相色谱法 (GC)、液相色谱法 (HPLC) 及气相色谱-质谱联用法 (GC/MS)<sup>[4-8]</sup>。如 Cao 等<sup>[9]</sup>用  $V(\text{甲醇}): V(\text{水}) = 80: 20$  对土壤 (和棉花叶) 振荡提取 2 h 而后用 GC/ECD 监测异丙甲草胺的降解, 并用 GC/MS 确认, 该法前处理较为烦琐。对于土壤中的除草剂前处理方法主要有振荡法、超声法、索氏法以及浸泡法, 其中超声法与振荡法是常用方法。而酰胺类除草剂在土壤中的残留量检测前处理方法却少见报道。本法旨在建立适合本实验室及条件相近实验室的酰胺类除草剂残留量检测方法, 方法本身较为简单。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器与试剂

Agilent 6820 型气相色谱仪 (GC/ECD, 美国安捷伦科技有限公司); HP-5 型毛细管色谱柱 (30 m  $\times$  0.32 mm  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$ , 美国安捷伦科技有限公司); CP5820 型毛细管色谱柱 (30 m  $\times$  0.25

mm  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$ , 美国瓦里安公司); RE-3000 型旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂); GM-0.33 II 型真空泵 (天津市津腾实验设备有限公司); HSC-12A 型氮吹仪 (南京科捷分析仪器有限公司); RJ-TDL-5A 型离心机 (无锡市瑞江分析仪器有限公司); ZD-16 型振荡器 (南京英美尔科技开发有限公司); KQ-250DE 型超声波清洗机 (江苏省昆山市超声仪器有限公司)。

丙酮、乙酸乙酯 (分析纯, 南京化学试剂有限公司); 正己烷 (色谱纯, 美国 Tedia 公司); 氮气 (99.999%, 上海 BOC 气体工业有限公司); 定性滤纸 (中速, 杭州新华纸业有限公司); 标准品: 甲草胺 ( $\geq 99.2\%$ )、乙草胺 ( $\geq 92.6\%$ )、丁草胺 ( $\geq 92.2\%$ )、异丙甲草胺 ( $\geq 96.6\%$ )、丙草胺 ( $\geq 96.5\%$ )、吡草胺 ( $\geq 97.1\%$ )、敌稗 (100 mg/L)、阿特拉津 ( $\geq 98.1\%$ ) 和 噻草酮 ( $\geq 96.2\%$ ) 均购自上海市农药研究所。

### 1.2 仪器条件

色谱柱 1: HP-5, 30 m  $\times$  0.32 mm  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$ ; 载气: 高纯氮气; 柱流速: 约为 1.5 mL/min; 进样口温度: 220  $^{\circ}\text{C}$ ; 进样方式: 不分流进样; 进样量: 1  $\mu\text{L}$ 。升温程序: 初温 150  $^{\circ}\text{C}$ , 保持 3 min, 再以 5  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  的速度升至 250  $^{\circ}\text{C}$ , 保持 1 min。

色谱柱 2: CP5820, 30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$ ; 载气: 高纯氮气; 柱流速: 约为 1.5 mL/min; 进样口温度: 250  $^{\circ}\text{C}$ ; 进样方式: 不分流进样; 进样

收稿日期: 2009-11-30

基金项目: 中国科学院南京土壤研究所基金支撑课题资助项目 (20752010028)。

作者简介: 陈虹 (1977-), 女, 江苏沐阳人, 硕士, 工程师, 从事仪器分析及研究工作。

量: 1 μL。升温程序: 初温 150 ℃, 保持 3 min 再以 35 ℃ /min 的速度升至 260 ℃, 保持 16 min。

1.3 土样制备

土样为风干土样, 除草根等杂物, 研磨过 60 目筛。

1.4 实验条件优化

1.4.1 提取方法选择

超声提取法: 本实验采用超声波清洗机作为超声产生装置, 将三角瓶置于超声清洗机中, 土 (g): 丙酮 (mL) = 1: 10, 超声功率 100%, 超声 20 min 后, 过滤分取、浓缩至 3 mL 左右、N<sub>2</sub> 吹至近干、换相 (换为正己烷相) 定容、上机测定。

振荡提取法: 本实验采用的振荡机为改进型上下往复振荡机, 土 (g): 丙酮 (mL) = 1: 10, 速率约为 180 r/min, 振荡 40 min (初步实验), 然后分取过滤、浓缩至 3 mL 左右、N<sub>2</sub> 吹至近干、换相 (换为正己烷相) 定容、上机测定。

两种提取方法的测定结果如表 1 所示。

表 1 超声提取法和振荡提取法回收率的比较<sup>注</sup>  
Tab 1 Comparison of herbicide recovery rates by ultrasonic extraction and to-and-fro oscillation extraction (%)

目标物	振荡法	超声法	超声法加无水硫酸钠后
阿特拉津	92~ 105	81~ 106	80~ 111
乙草胺	91~ 105	80~ 106	84~ 107
噻草酮	85~ 94	79~ 103	83~ 104
甲草胺	91~ 102	85~ 111	90~ 101
异丙甲草胺	92~ 102	76~ 104	77~ 101
丁草胺	94~ 105	88~ 115	98~ 112

注: 采用 HP-5 色谱柱。

由表 1 可看出, 振荡法的每种目标物的回收率结果均比较稳定, 而超声法的结果则不稳定, 这主要是由于在超声过程中, 土壤会很快压紧于三角瓶底部, 不利于目标物的扩散, 后来在提取系统中又加入 2 g 的无水硫酸钠以稀释土壤样品, 增加土壤与溶剂的接触面, 结果也在表中列出, 明显好于未加无水硫酸的结果, 但仍不如振荡法稳定。

故最终选择传统的振荡提取法来对土壤样品中的除草剂进行分析。

1.4.2 提取剂选择

酰胺类除草剂在丙酮、乙酸乙酯等有机溶剂中的溶解性很好, 故将在前述振荡条件下对丙酮、乙酸乙酯、丙酮 + 正己烷 (1+ 1) 这 3 种溶剂作为提取剂来进行筛选。其结果见表 2。

表 2 提取剂选择回收率的比较<sup>注</sup>  
Tab 2 Comparison of herbicide recovery rates with different kinds of solvent (%)

目标物	阿特拉津	乙草胺	噻草酮
丙酮作提取剂回收率	92~ 105	91~ 105	85~ 94
乙酸乙酯作提取剂回收率	99~ 118	103~ 119	79~ 109
V: V 作提取剂回收率	106~ 123	106~ 121	98~ 107
目标物	甲草胺	异丙甲草胺	丁草胺
丙酮作提取剂回收率	91~ 102	92~ 102	94~ 105
乙酸乙酯作提取剂回收率	83~ 103	93~ 120	68~ 104
V: V 作提取剂回收率	103~ 124	99~ 108	108~ 129

注: 采用 HP-5 色谱柱; V: V = V (丙酮): V (正己烷) = 1: 1。

由表 2 丙酮的提取结果要比后两者稳定, 故选择丙酮作为提取剂。

1.4.3 提取剂用量选择

在提取时, 提取剂使用量的不同往往会造成结果有一定的差异。若提取剂使用量过少, 则会造成提取不完全, 若使用量过多, 则形成溶剂的浪费, 也会加大对环境的污染。故将对丙酮的使用量作一优化。其结果如表 3 所示。

表 3 提取剂用量选择回收率的比较<sup>注</sup>  
Tab 3 Comparison of herbicide recovery rates with different volumn of solvent (%)

目标物	丙酮 (mL): 土 (g) = 10: 1	丙酮 (mL): 土 (g) = 7: 1	丙酮 (mL): 土 (g) = 5: 1
阿特拉津	92~ 105	87~ 109	86~ 110
乙草胺	91~ 105	87~ 112	83~ 104
噻草酮	85~ 94	85~ 109	81~ 100
甲草胺	91~ 102	88~ 115	83~ 101
异丙甲草胺	92~ 102	81~ 108	81~ 102
丁草胺	94~ 105	86~ 100	81~ 101

注: 采用 HP-5 色谱柱。

由表 3 选择这 3 个比例的提取剂量均能达到样品分析要求, 但总体来看选择丙酮 (mL): 土 (g) = 10: 1 的比例进行提取结果最稳定, 而丙酮 (mL): 土 (g) = 7: 1 和丙酮 (mL): 土 (g) = 5: 1 的结果相近, 其回收率下限略有降低, 但仍在样品检测分析允许范围内, 故选择这三者均可, 也就是选择丙酮 (mL): 土 (g) = 10~ 5: 1 范围内均可, 当土壤样品使用量大时可考虑选择较低的比例, 即较少的溶剂使用量, 反之可选较多溶剂使用量 (当然还要考虑使用容器容量大小, 用量大要选大的玻璃容器)。

1.4.4 振荡时间选择

在振荡提取时, 目标物扩散到溶剂中的需要

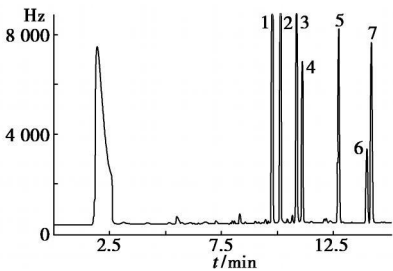
有一个过程,这个过程时间的长短,对其扩散到溶剂中的量会有影响,若太短,则会扩散不完全,若太长,一是资源的浪费,二是可能会带来损失,故需对振荡时间进行优化选择。该实验选择丙酮 (mL):土 (g) = 10: 1 的比例,选振荡 2Q 4Q 60 m in 进行比较。结果如表 4 所示。

由表 4 选择 40 m in 作为方法振荡最佳时长。

表 4 不同振荡时间回收率的比较<sup>注</sup>

Tab 4 Comparison of herbicide recovery rates with different oscillation time (%)			
振荡时间 /m in	20	40	60
7 种酰胺类除草剂回收率范围 %	53~ 70	85~ 106	67~ 95

注: 7 种除草剂分别为甲草胺、乙草胺、丙草胺、丁草胺、异丙甲草胺、敌稗、吡草胺,色谱柱为 CP5820(相当于 DB-1701)。



1. 乙草胺; 2. 甲草胺; 3. 敌稗; 4. 异丙甲草胺; 5. 丁草胺; 6. 丙草胺; 7. 吡草胺; 采用 CP5820 色谱柱(下同)

图 1 7 种酰胺类除草剂标准品色谱图

Fig 1 Chromatography spectrum of seven kinds of herbicide

1. 5 土样培养试验

在实验土样中加标,加标浓度为 0. 4 mg /kg 分别放置 2 d 和 3 d (该实验选择丙酮 (mL): 土 (g) = 7: 1 的比例,振荡 40 m in)测定结果如表 5 所示。测定结果均符合要求。

表 5 加标土样放置后回收率测定结果<sup>注</sup>

Tab 5 Determination result of added herbicide standard soil sample kept for two days and three days respectively (%)		
目标物	放置 2 d 回收率	放置 3 d 回收率
阿特拉津	87~ 110	97~ 108
乙草胺	87~ 112	100~ 107
噻草酮	85~ 109	97~ 106
甲草胺	89~ 115	94~ 106
异丙甲草胺	81~ 105	80~ 89
丁草胺	86~ 121	88~ 107

注: 采用 HP-5 色谱柱。

1. 6 低浓度土样加标回收实验

在实验土样中加标,加标浓度为 0. 1 mg /kg 该实验选择丙酮 (mL): 土 (g) = 5: 1 的比例,振荡

40 m in 共提取 3 次 (后两次提取剂量为第一次的一半),过滤、全转移浓缩、换相定容后上机测定。测定结果如表 6 所示 (注: 如果浓缩后发现样品干扰物多,可参考文献 [ 6 ] 对样品进行柱净化)。测定结果除甲草胺略低外其余均符合检测要求。

表 6 低浓度加标土样回收率测定结果<sup>注</sup>

Tab 6 Determination result of added low concentration herbicide standard soil sample (%)					
目标物	回收率	目标物	回收率	目标物	回收率
阿特拉津	95~ 116	敌稗	82~ 106	丁草胺	81~ 99
乙草胺	83~ 101	异丙甲草胺	79~ 116	丙草胺	80~ 101
甲草胺	70~ 75	噻草酮	82~ 96	吡草胺	87~ 108

注: 采用 CP5820 色谱柱。

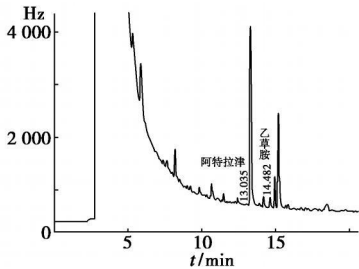
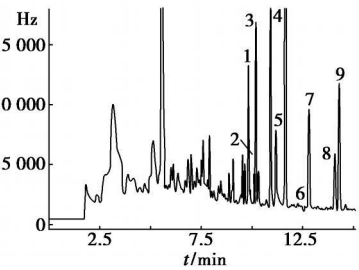


图 2 空白土壤样品色谱图

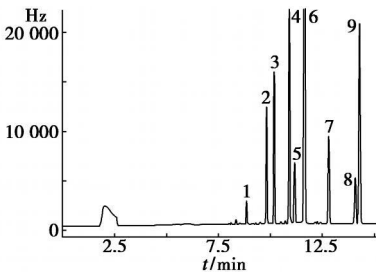
Fig 2 Chromatography spectrum of soil sample



1. 阿特拉津; 2. 乙草胺; 3. 甲草胺; 4. 敌稗; 5. 异丙甲草胺; 6. 噻草酮; 7. 丁草胺; 8. 丙草胺; 9. 吡草胺

图 3 9 种除草剂加标样品色谱图

Fig 3 Chromatography spectrum of added herbicide standard soil sample



1. 阿特拉津; 2. 乙草胺; 3. 甲草胺; 4. 敌稗; 5. 异丙甲草胺; 6. 噻草酮; 7. 丁草胺; 8. 丙草胺; 9. 吡草胺

图 4 9 种除草剂标准样品色谱图

Fig 4 Chromatography spectrum of nine kinds of herbicide standard

该土壤样品空白中所检出的阿特拉津及乙草胺均低于仪器检出限,故认为该土样中不含所监测的目标物。

1.7 分取法与全转移法比较

分取法:当目标物扩散至溶剂中达平衡时,可认为目标物在提取系统中的浓度是均一的,此时可通过溶液浓度来推算土壤浓度。只需提取一次,操作过程较简单。

全转移法:一般需对样品提取 2~3 次(第 2、3 次溶剂使用量通常为第一次的一半),目的是将土壤样品中的目标物尽量全部或基本全部溶解至溶剂中,并最终认为所得结果就为目标物全部提取出来的结果。该法操作较分取法繁琐,溶剂耗用量也较大。

两种方法前面均都做过,结果如表 5(分取法)和 6(全转移法),均可达样品检测要求。

1.8 精密度与准确度

标准曲线及其相关性:分别配制了 0.02、0.4、0.6、1.0、2.0 mg/L 系列标准溶液,其标准曲线方程及相关性如表 7 所示。

表 7 标准曲线及相关性<sup>注</sup>

目标物	标准曲线	相关系数 <i>r</i>
阿特拉津	$Y = 5\,677.3x - 108.74$	0.995 5
乙草胺	$Y = 3\,367.1x - 523.71$	0.995 5
甲草胺	$Y = 45\,747x - 797$	0.995 7
敌稗	$Y = 90\,475x - 4\,269.5$	0.996 5
异丙甲草胺	$Y = 22\,260x - 409.41$	0.994 7
噻草酮	$Y = 303\,473x - 17\,870$	0.994 7
丁草胺	$Y = 34\,513x + 65.883$	0.991 6
丙草胺	$Y = 21\,213x + 649.51$	0.990 8
吡草胺	$Y = 90\,768x - 1\,229.9$	0.992 3

注:采用 CP5820 色谱柱。

仪器精密度:1 mg/L 标准样品(7 种酰胺类除草剂混标)连续进样 8 次(采用 CP5820 色谱柱),其仪器精密度(CV%)在 7.38%~14.9%,可以满足有机分析检测要求。

方法准确度及精密度:0.4 mg/kg 加标样品重复 6 次实验(丙酮(mL):土(g)=10:1 的比例,振荡 40 min)回收率范围及精密度(CV%)。如表 8 所示。

9 种混标在 GC/ECD (CP5820 色谱柱)上的检出限,结果如表 9 所示。

表 8 本方法加标样品回收率范围及精密度

Tab 8 Recovery rate ranges and percisions of added herbicide standard soil samples

目标物	回收率范围 /%	均值	STD	CV /%
阿特拉津	92~106	104.3	7.42	7.11
噻草酮	91~109	103.0	7.29	7.07
乙草胺	85~105	96.2	8.91	9.26
甲草胺	94~110	102.6	5.62	5.48
异丙甲草胺	92~103	99.9	4.67	4.68
丁草胺	94~106	102.0	7.20	7.06

表 9 9 种混标在 GC/ECD 上的检出限<sup>注</sup>

Tab 9 Detection limits of nine kinds of herbicide standard by GC/ECD

目标物	阿特拉津	乙草胺	甲草胺
检出限/(mg L <sup>-1</sup> )	0.092	0.009	0.007
目标物	敌稗	异丙甲草胺	噻草酮
检出限/(mg L <sup>-1</sup> )	0.004	0.017	0.002
目标物	丁草胺	丙草胺	吡草胺
检出限/(mg L <sup>-1</sup> )	0.012	0.022	0.006

注:采用 CP5820 色谱柱。

2 结论

综上所述,对于土壤中的酰胺类除草剂残留量检测,选择丙酮(mL):土(g)=10~5:1 的比例,180 r/min 振荡 40 min,过滤(分取或全转移)后浓缩至 3 mL 左右、再用 N<sub>2</sub> 吹至近干,换为正己烷相,待 GC/ECD 测定。

参考文献:

[1]秦瑞香,于世涛,刘福胜,等.酰胺类除草剂的研究进展[J].青岛科技大学学报,2003 24(9):21-23

[2]陆梅,丁清波.酰胺类除草剂的检测[J].环境研究与监测,2005 18(4):35-36

[3]COLEMAN S, LINDERMAN K, HODGSON E, et al. Comparative metabolism of chlormacetanile herbicides and selected metabolites in human and rat liver microsomes[J]. *Environ. Health. Perspect.*, 2000, 108(12): 1 151-1 157

[4]李建中,储晓刚,蔡会霞,等.高效液相色谱法同时测定大豆中 12 种酰胺类除草剂的残留量[J].色谱,2006 24(6):585-588

[5]张洪玲,张品,王莹,等.谷物中 6 种除草剂的气相色谱检测方法[J].世界农药,2007 29(2):50-52

[6]SN/T 1737.1—2006 除草剂残留量检测方法第 1 部分:气相色谱串联质谱法测定粮谷及油籽中酰胺类除草剂残留量[S].2006 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准.

- [7] 权伍英, 栾燕, 迂君, 等. GC-MS 法测定蔬菜中乙草胺的残留量 [J]. 中国卫生检验杂志, 2005, **15** (4): 446-447
- [8] XU Xiao-qin, LI Qing-ling, YUAN Ji-duan, et al Determination of three kinds of chloroacetanilide herbicides in radix pseudostellariae by accelerated solvent extraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chin. J. Anal. Chem.*, 2007, **35** (2): 206-210
- [9] CAO Peng-ying, LIU Feng-mao, WANG Su-li, et al GC-ECD analysis of S-metolachlor (dual gold) in cotton plant and soil in trial field [J]. *Environ. Monit. Assess.*, 2008, **143** (1/3): 1-7

**The GC/ECD method for detecting acetanilide herbicide residues in soil samples** CHEN Hong\*, HAN Yong, ZHONG Ming, JIN Wei, WANG Xi, NI Jun (Soil and Environment Analysis Center, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China), *Huaxue Shiji* 2010, **32** (12), 1103~1107

**Abstract** Several kinds of acetanilide herbicides in the soil sample were extracted by a tor-and-fro oscillation machine and were then identified by GC/ECD (gas chromatography/electron capture detector). Correlative conditions for the test were optimized in the course of experimentation. The results showed that the proposed GC/ECD was an appropriate method to detect acetanilide herbicide residues in the soil sample at a ratio of acetone (mL) to soil (g) equating to 10~5. Then the taper (with the mixture in it) was fixed on the tor-and-fro oscillation machine and oscillated at a revolution rate of 180 rpm for 40 minutes to extract acetanilide herbicides. Subsequently the mixture was filtered and the solution (a part or all of the solution) was concentrated to about 3 mL and was purged with nitrogen until dryness. Finally the residue was dissolved in a constant volume of hexane prior to analyses by GC/ECD. The detection limits of these acetanilide herbicides by GC/ECD varied from 0.002 mg/L to 0.092 mg/L.

**Key words** soil sample; acetanilide herbicides; residue detection

(上接第 1092 页)

- [22] RABIT, BISHAYEE A. A terpenoids and breast cancer chemoprevention [J]. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2009, **115** (2): 223-239
- [23] PARK B C, BOSIRE K O, LEE E S, et al Asiatic acid induces apoptosis in SK-MEL-2 human melanoma cells [J]. *Cancer Lett.*, 2005, **218** (1): 81-90
- [24] GURFNKEL D M, CHOW S, HURREN R, et al Disruption of the endoplasmic reticulum and increases in cytoplasmic calcium are early events in cell death induced by the natural triterpenoid asiatic acid [J]. *Apoptosis*, 2006, **11** (9): 1463-1471
- [25] CHO C W, CHOID S, CARDONE M H, et al Glioblastoma cell death induced by Asiatic acid [J]. *Cell Biol. Toxicol.*, 2006, **22** (6): 393-408
- [26] 林娜. 积雪草酸及其稀土配合物抑制肿瘤细胞增殖的作用及其线粒体机制 [D]. 镇江: 江苏大学, 2009
- [27] JEONG B S. Structure-activity relationship study of Asiatic acid derivatives for new wound healing agent [J]. *Arch. Pharm. Res.*, 2006, **29** (7): 556-562
- [28] JEONG B S, LEE M K, KM Y G, et al Modification of C2 functional group on Asiatic acid and the evaluation of hepatoprotective effects [J]. *Arch. Pharm. Res.*, 2007, **30** (3): 282-289
- [29] ZHANG Li-ying, CHEN Jun, GONG Yan-chun, et al

Synthesis and biological evaluation of Asiatic acid derivatives as inhibitors of Glycogen phosphorylases [J]. *Chen. Biodiver.*, 2009, **6** (6): 864-874

- [30] 科委莫拉, 拉尼塞. 适用于制备药物和化妆品组合物的亚细亚盐和羟基积雪草酸盐: 中国, 1347398[P]. 2002-05-01

- [31] 张海峰. 积雪草酸抗肿瘤作用的初步研究 [D]. 镇江: 江苏大学, 2008

**Advances in study on asiatic acid and its derivatives** MENG Yan-qiu\*, LI Feng-qing, WANG Xiang-lei, LI Yun-yun (School of Chemical Engineering, Shenyang Institute of Chemical Technology, Shenyang 110142, China), *Huaxue Shiji* 2010, **32** (12), 1089~1092, 1107

**Abstract** Asiatic acid is one of the major triterpene ingredients extracted from Centella Asiatic. In recent studies, asiatic acid has been reported to possess a variety of biological activities including anti-inflammation, wound-healing, hepatoprotection, antidepression, antidiabetic, inhibiting pancreatic lipase, neurotoxicity protection, and antitumor effects. In this study, the advances in the pharmacology and structural activity of asiatic acid and its derivatives were reviewed.

**Key words** asiatic acid; derivatives; structure modification; pharmacology