

马兜铃酸 A 在中药饮片及其配方颗粒中的含量分析

黄国鑫,倪晨,李一圣,易宇阳,张仲敏,赵学军,苏子仁*
(广州中医药大学中药学院,广州 510006)

[摘要] 目的:对 5 种马兜铃科中药饮片及配方颗粒(由相应批次的中药饮片制成)所含马兜铃酸 A 进行含量测定。方法:采用高效液相色谱法,YMC-Pack C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),流动相甲醇(A)-0.05% 磷酸溶液(B),检测波长 250 nm,流速 0.8 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃。结果:5 种马兜铃科中药饮片(各 3 批)中马兜铃酸 A 平均质量分数分别为关木通 4.18 mg·g⁻¹,马兜铃 0.77 mg·g⁻¹,蜜马兜铃 0.46 mg·g⁻¹,青木香 0.86 mg·g⁻¹,寻骨风 0.53 mg·g⁻¹;5 种中药配方颗粒(n=3)马兜铃酸 A 平均质量分数分别为关木通 1.16 mg·g⁻¹,马兜铃 0.31 mg·g⁻¹,蜜马兜铃 0.10 mg·g⁻¹,青木香 0.39 mg·g⁻¹,寻骨风 0.03 mg·g⁻¹。结论:建立的方法对多种含马兜铃酸 A 药材与配方颗粒具有较好的适应性,可以用于其含量测定;中药配方颗粒的制作工艺对中药饮片的成分有一定影响,有必要建立相关生产监控标准、质量控制标准,用来保证中药配方颗粒的质量。

[关键词] 马兜铃酸 A; 中药饮片; 中药配方颗粒

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)14-0075-04

[收稿日期] 20101222(003)

[第一作者] 黄国鑫,研究生,从事中药新药开发与研究,Tel:020-39356860,E-mail:hgvxin@gmail.com

[通讯作者] * 苏子仁,研究员,从事中药新药开发与研究,Tel:020-39358517,E-mail: vip.suziren@gzhtcm.edu.cn

表 1 天麻素加样回收率测定

No.	取样量/g	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	RSD/%
1	0.500 2	0.329 9	0.301 2	0.623	98.6	1.01
2	0.500 5	0.330 1	0.301 2	0.621	98.3	
3	0.500 9	0.330 3	0.301 2	0.618	98.0	
4	0.500 4	0.330 0	0.301 2	0.612	97.0	
5	0.499 6	0.329 5	0.301 2	0.614	97.2	
6	0.499 8	0.329 6	0.301 2	0.631	99.7	

中,但因天麻素易水解,且水提取液杂质峰较多,干扰分离,本方法选用了稀乙醇作为提取溶剂较好的解决了这个问题。文献采用的提取方法有回流提取法、超声提取法等方法,本散剂经过超微粉碎,有效成分容易提取,采用超声提取的办法可以缩短供试品溶液制备时间,有利于提高工作效率,而且提取比较完全。

[参考文献]

[1] 何晶. 天麻素的药理作用及临床应用[J]. 天津药学,

2006,18(5):62.

[2] 中国药典. 一部[S]. 2010.

[3] 周跃华,孟大利. 日本药局方汉方药制剂质量标准简介及思考[J]. 中国中药杂志,2009,19(34):2547.

[4] 张萍. 高效液相色谱法测定天麻胶囊中天麻素的含量[J]. 药物分析杂志,2010,30(1):152.

[5] 伍振峰,何伟,马建春. 天麻中天麻素含量测定方法改进的研究[J]. 中成药,2009,31(6):966.

[责任编辑 蔡仲德]

Assaying of Aristolochic Acid A in Chinese Herbal Pieces and the Traditional Chinese Medicine Particle

HUANG Guo-xin, NI Chen, LI Yi-sheng, YI Yu-yang, ZHANG Zhong-min, ZHAO Xue-jun, SU Zi-ren*
(School of Traditional Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese
Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** The content of aristolochic acid A in the five kinds of medical materials and dispensing granules of Aristolochiaceae family was determined to provide scientific foundation for promoting development of our traditional Chinese medicine particle. **Method:** HPLC method was applied on YMC-Pack C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) at 30 °C with methanol (A)-0.05% phosphoric acid (B) as the mobile phase; detected wavelength was at 250 nm, and the flow rate was 0.8 mL·min⁻¹. **Result:** The content of aristolochic acid A in the five kinds of medical materials, i. e. Akebia stem, Dutchmanspipe Fruit, honeyed Dutchmanspipe Fruit, Radix Aristolochiae and Datchmanspipe Herb was 4.18 mg·g⁻¹, 0.77 mg·g⁻¹, 0.46 mg·g⁻¹, 0.86 mg·g⁻¹, 0.53 mg·g⁻¹ respectively. The content of aristolochic acid A in the five kinds of dispensing granules was 1.16 mg·g⁻¹ for Akebia stem, 0.31 mg·g⁻¹ for Dutchmanspipe Fruit, 0.10 mg·g⁻¹ for honeyed Dutchmanspipe Fruit, 0.39 mg·g⁻¹ for Radix Aristolochiae and 0.03 mg·g⁻¹ for Datchmanspipe Herb respectively. **Conclusion:** The method established in this paper has relative adaptability for various kinds of medical materials and dispensing granules containing aristolochic acid A. It can be used for content determination. The production process of traditional Chinese medicine particle prescription has certain effect to composition of medical materials, so it is necessary to establish relevant production monitoring criterion, quality monitoring criterion for ensuring the quality of traditional Chinese medicine particle prescription.

[Key words] aristolochic acid A; Chinese herbal pieces; traditional Chinese medicine particle

马兜铃酸(aristolochic acid)主要存在于马兜铃科马兜铃属和细辛属植物中。我国已具法定标准的马兜铃科中药材有 22 种,其中马兜铃属 15 种,细辛属 7 种^[1],但由于所含马兜铃酸 A 的肾毒性反应,对其运用的安全性日益受到广大医药工作者的重视^[2]。近年来,随着中药现代化的不断深化,中药配方颗粒得到快速发展,在临床上也得到了广泛的运用。但对于某些含毒性成分的中药材,制成配方颗粒后,其主要毒性成分在量上是否发生了相应的变化(增加、不变或减少);以及中药配方颗粒的制作工艺,对药材的成分造成明显的影响,进而改变其药效相关报道还很少。本文选取了 5 种马兜铃科的中药饮片,以所含马兜铃酸 A 为指标,结合高效液相色谱法,考察了其从中药饮片到配方颗粒中含量的变化,以期对中药配方颗粒的安全性做出一定的科学评价,为促进我国中药配方颗粒事业的发展提供帮助。

1 材料

1.1 仪器 岛津(UFLC-LC 20A)超快速高效液相

色谱仪,YMC-Pack C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),昆山 KQ5200DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),Dikma 微孔滤膜(0.45 μm),1/万电子天平(Sartorius BSA224S-CW)。

1.2 试药 马兜铃酸 A 对照品(批号 110746-200204,中国药品生物制品检定所),甲醇(色谱纯,美国 Merck 公司),磷酸(AR,广东光华化学工厂有限公司),水为超纯水。

中药饮片关木通 *Aristolochia manshuriensis*、马兜铃 *A. debilis* Sieb. et Zucc、蜜马兜铃 *A. debilis* Sieb. et Zucc、青木香 *A. debilis* Sieb. et Zucc、寻骨风 *A. mollissima* 等药材均由华润三九医药股份有限公司提供,并由赖小平研究员进行鉴定;马兜铃中药配方颗粒(批号 100402,100403,100404;规格每袋装 1 g,相当于 6g 饮片)、蜜马兜铃中药配方颗粒(批号 100404,100405,100406;规格每袋装 1 g,相当于 6 g 饮片)、青木香中药配方颗粒(批号 100402,100403,100404;规格每袋装 1 g,相当于 6 g 饮片)、寻骨风

中药配方颗粒(批号 100401,100402,100403;5 种颗粒每袋装 1 g,相当于 6 g 饮片)、关木通中药配方颗粒(批号 100402,100403,100404;规格:每袋装 1 g,相当于 6 g 饮片)。以上中药配方颗粒(由与上述中药饮片相同批次的饮片制成),由华润三九医药股份有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件选择与系统适用性试验 YMC-Pack C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相甲醇(A)-0.05% 磷酸溶液(B),按表 1 规定进行梯度洗脱;检测波长 250 nm;流速 0.8 mL·min⁻¹;柱温 30 °C。在该实验条件下,理论塔板数以马兜铃酸 A 峰计不应低于 3 000。

表 1 流动相梯度洗脱程序表

t/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.00	60	40
8.00	65	55
15.00	73	27
30.00	80	20

2.2 对照品溶液的制备 精密称取马兜铃酸 A 对照品适量,加甲醇制成质量浓度为 0.052 g·L⁻¹ 的溶液,摇匀即得。

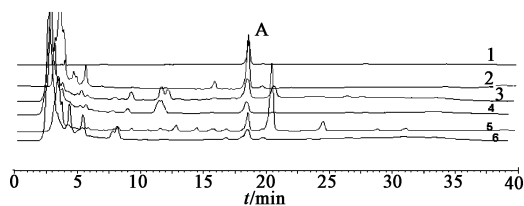
2.3 供试品溶液的制备 精密称取干燥关木通粉末 0.5 g,置于 25 mL 量瓶中,加入适量 70% 的甲醇,超声处理 60 min,冷却至室温后,加入 70% 甲醇稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,取滤液进行 HPLC 分析。

2.4 线性关系的考察 精密吸取马兜铃酸 A 对照品溶液 1,5,10,15,20,25 μL,按 2.1 项下的色谱条件测定峰面积,并以峰面积积分值(Y)对进样量(X)进行线性回归,得马兜铃酸 A 的回归方程为 $Y = 3 \times 10^6 X - 134.19$ ($R^2 = 0.9998$)。结果表明,马兜铃酸 A 进样量在 52 ~ 1300 ng 与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.5 专属性试验 分别取各供试品溶液、对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件各进样 10 μL。结果显示,所采用的分析方法对马兜铃酸 A 具有准确而专属的测定能力。见图 1,2。

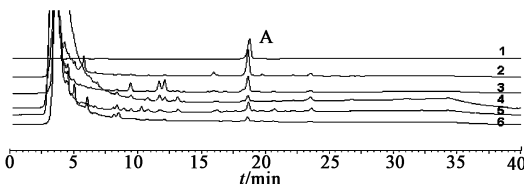
2.6 精密度试验 精密吸取 2.2 项下溶液 10 μL,按 2.1 项下色谱条件连续进样 6 次。结果,马兜铃酸 A 峰面积 RSD 1.98%。可见,仪器精密度良好。

2.7 重复性试验 按拟定的含量测定方法,取同一批号的关木通中药饮片粉末,按 2.3 项下方法制备



1. 马兜铃酸 A; 2. 关木通; 3. 马兜铃;
4. 蜜马兜铃; 5. 青木香; 6. 寻骨风

图 1 5 味中药饮片中马兜铃酸 A 色谱图



1. 马兜铃酸 A; 2. 关木通中药配方颗粒;
3. 马兜铃中药配方颗粒; 4. 蜜马兜铃中药配方颗粒;
5. 青木香中药配方颗粒; 6. 寻骨风中药配方颗粒

图 2 5 种中药配方颗粒中马兜铃酸 A 色谱图

供试品溶液,平行操作 6 份,测定马兜铃酸 A 峰面积, RSD 2.16%,可见本方法重复性较好。

2.8 稳定性试验 精密吸取同一关木通供试品溶液 10 μL,在 0,2,4,8,12,24 h 分别进样,测定并记录马兜铃酸 A 的峰面积。结果,其 RSD 2.38%。可见,供试品溶液中马兜铃酸 A 在 24 h 内稳定。

2.9 加样回收率试验 取同一批已知马兜铃酸 A 含量的关木通中药饮片粉末(4.19 mg·g⁻¹)共 9 份,每份 0.1 g,分别精密加入一定量的马兜铃酸 A 对照品溶液,再按 2.3 项下制备供试品溶液的方法制备所需溶液,进行 HPLC 分析,进样量均为 10 μL。试验结果见表 2。

2.10 5 种药材及其配方颗粒中马兜铃酸 A 含量的测定 分别取关木通、马兜铃、蜜马兜铃、青木香、寻骨风等中药饮片(各 3 批)及其相应的中药配方颗粒(各 3 批),按 2.3 项下制备供试品溶液的方法制备所需溶液,进行 HPLC 法分析,结果见表 3。

3 讨论

通过对关木通、马兜铃、蜜马兜铃、青木香、寻骨风 5 种中药饮片所含马兜铃酸 A 含量的测定,我们可以看出,其马兜铃酸 A 含量由高到低为关木通 > 青木香 > 马兜铃 > 寻骨风 > 蜜马兜铃;而在中药配方颗粒中含量由高到低为关木通 > 青木香 > 马兜铃 > 蜜马兜铃 > 寻骨风。

通过对中药饮片及其相应中药配方颗粒中马兜铃酸 A 含量的比较,我们也看到,各味药材中马

不同产地普洱茶主要化学成分的比较

金裕范¹, 高雪岩¹, 王文全^{1,2*}, 练晶军¹

(1. 北京中医药大学, 北京 100102;

2. 中药材规范化生产教育部工程研究中心, 北京 100102)

[摘要] 目的:综合比较并评价云南不同产地普洱茶的质量。方法:选择 3 年发酵的普洱饼茶,采用高效液相色谱法测定其没食子酸、咖啡因与 (+)儿茶素含量,采用 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3$ 法测定其总黄酮含量,并采用硫酸苯酚法测定其总多糖含量。结果:5 个产地普洱饼茶中,没食子酸含量差异较大,思茅产普洱茶含量最低为 0.308%,大理下关产普洱茶含量最高为 1.482%;咖啡因含量差异不大,含量均在 2.366% ~ 3.750% 之间; (+)儿茶素含量均低于 0.5%,以思茅产普洱茶含量最低。5 个产地普洱茶总黄酮和总多糖含量也有一定差异,总黄酮含量以思茅产最低为 2.93%,西双版纳产最高为 5.94%;总多糖含量以思茅产最低为 4.35%,大理下关产最高为 6.18%。结论:不同产地普洱茶化学成分存在一定的差异。

[关键词] 普洱茶;儿茶素类;总黄酮;总多糖

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)14-0078-05

[收稿日期] 20110210(002)

[第一作者] 金裕范,在读博士,研究方向:中药资源开发与利用,E-mail: new-boom@hanmail.net

[通讯作者] *王文全,教授,Tel: 010-84738334;E-mail: wwq57@126.com

表 2 马兜铃酸 A 加样回收率试验 (n = 3)

No.	取样量/g	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
1	0.102 3	0.428 6	0.340 0	0.749 4	97.5		
2	0.103 6	0.434 1	0.340 0	0.767 1	99.1		
3	0.102 8	0.430 7	0.340 0	0.754 5	97.9		
4	0.103 2	0.432 4	0.420 0	0.837 9	98.3		
5	0.102 5	0.429 5	0.420 0	0.846 1	99.6	98.1	1.2
6	0.103 9	0.435 3	0.420 0	0.834 8	97.6		
7	0.102 6	0.429 9	0.500 0	0.891 8	95.9		
8	0.102 8	0.430 7	0.500 0	0.906 5	97.4		
9	0.102 5	0.429 5	0.500 0	0.923 0	99.3		

表 3 5 种药材及其配方颗粒中马兜铃酸 A 的

平均含量测定 (n = 3)

$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

种类	名称	马兜铃酸 A
药材饮片	关木通	4.18
	马兜铃	0.77
	蜜马兜铃	0.46
	青木香	0.86
	寻骨风	0.53
中药配方颗粒	关木通	1.16
	马兜铃	0.31
	蜜马兜铃	0.10
	青木香	0.39
	寻骨风	0.04

作工艺中煎煮、干燥等过程造成的;但在另一方面也提示了,中药配方颗粒的制作工艺,会对中药饮片化学成分的组成、含量等各方面存在影响,因此,我们有必要建立一定的生产监控标准、质量控制标准,用来规范中药配方颗粒的质量,以保证中药配方颗粒的药效。

[参考文献]

- [1] 韩娜,路金才,毕开顺,等. RP-HPLC 法测定 14 种中药材中马兜铃酸 A 的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(2): 115.
- [2] 周跃华,周娟,黄莎莎,等. 部分马兜铃科药材中马兜铃酸 A 的含量测定研究[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(7): 1075.

[责任编辑 蔡仲德]