

木香马兜铃与七味红花殊胜丸中马兜铃酸 A 测定研究

魏玉海, 王慧春, 刘亚蓉, 刘海青, 韩晓萍, 宋 霞
(青海省药品检验所, 青海 西宁 810016)

摘要:目的 建立 HPLC 法测定木香马兜铃及七味红花殊胜丸中马兜铃酸 A。方法 采用 HPLC 法, Sunfire-ODS C₁₈ (5 μ m, 250 mm $\times$ 4.6 mm) 色谱柱; 流动相为乙腈-0.05% 磷酸溶液 (45 : 55); 检测波长为 322 nm。结果 马兜铃酸 A 在 0.014 8 ~ 0.294 μ g ($r=0.999\ 9$) 的范围内线性关系良好; 平均回收率为 98.9%, RSD 为 1.0%。结论 本法操作简便, 准确性、重复性好, 可用于木香马兜铃与七味红花殊胜丸中马兜铃酸 A 的测定。

关键词: 七味红花殊胜丸; 木香马兜铃; 马兜铃酸 A

中图分类号: R 284.1

文献标志码: B

文章编号: 1001-4528(2011)12-2186-03

七味红花殊胜丸为藏医传统名方, 藏文名“苦空确屯日布”, 由红花、天竺黄、獐牙菜、诃子、麻黄、木香马兜铃、五脉绿绒蒿七味藏药材组成。具有清热消炎、保肝退黄。用于新旧肝病、劳伤引起的肝血增盛、肝肿大、巩膜黄染、食欲不振^[1-2]。木香马兜铃为马兜铃科植物木香马兜铃 *Aristolochia moupinensis* Franch. 的干燥茎及根茎^[3-5]。陈娅娟等^[6]、周娜等^[7]、姚冬琴等^[8]均分别报道了马兜铃酸 A 的肾毒性及其机制, 因此有必要对含马兜铃酸 A 的木香马兜铃及其制剂七味红花殊胜丸中的马兜铃酸 A 量进行测定。本实验建立了测定七味红花殊胜丸及木香马兜铃中马兜铃酸 A 的测定方法, 该方法能够准确的测定木香马兜铃与七味红花殊胜丸中马兜铃酸 A。

1 仪器与试剂

Waters2695 型高效液相色谱仪, Waters2998 二极管阵列检测器, Empower 化学工作站(美国 Waters 公司); 电子天平 (METTLER AB204-S, 瑞士 METTLER 公司); 电子天平 (METTLER TOLEDO, 瑞士 METTLER 公司); 超声波清洗器 (B2500s-MT, 上海必能信超声波清洗仪器有限公司)。

马兜铃酸 A 对照品 (110746-200204) 购自中国药品生物制品检定所; 甲醇、乙腈均为色谱纯, 其余试剂为分析纯, 水为超纯水。七味红花殊胜丸样品、木香马兜及处方中相应药材由两家不同药厂提供, 5 批七味红花殊胜丸批号分别为: 06343A、09177A、090401、090701、100501。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Sunfire-ODS C₁₈ 柱 (5 μ m, 250 mm $\times$ 4.6 mm); 柱温 30 $^{\circ}$ C 室温; 流动相为乙腈-0.05% 磷酸溶液 (45 : 55) (按此比例混合后 pH 大于 3); 体积流量 1 mL/min; 检测波长为 322 nm。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取马兜铃酸 A 对照品 7.40 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇

匀, 取 2 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度摇匀, 即得, 马兜铃酸 A 对照品溶液质量浓度为 14.8 μ g/mL。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 七味红花殊胜丸供试品溶液制备 取本品中粉约 1 g 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 25 mL, 摇匀, 超声处理 (功率 250 W, 频率 50 kHz) 40 min, 取出, 过滤, 同时用少量 70% 甲醇冲洗药渣, 并入滤液, 滤液蒸干, 残渣加 25 mL 水使溶解, 水液用 6 mol/L 盐酸调 pH 值至 1, 用三氯甲烷萃取 4 次 (每次 20 mL), 合并三氯甲烷, 蒸干, 残渣用甲醇溶解并转移至 25 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3.2 木香马兜铃供试品溶液制备 取本品中粉约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 50 mL, 摇匀, 超声处理 (功率 250 W, 频率 50 kHz) 40 min, 取出, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性对照溶液的制备 按处方比例称取除去木香马兜铃药材的其他药材适量, 依照上述供试品溶液的制备方法, 制成阴性对照溶液。

2.5 系统适应性试验 在上述色谱条件下, 精密吸取供试品溶液、对照品溶液、阴性对照溶液各 10 μ L, 分别注入液相色谱仪。供试品色谱图中, 在与对照品色谱图相应保留时间上, 有相同的色谱峰, 而阴性对照在此无干扰, 阴性色谱图见图 1。

2.6 马兜铃酸 A 峰的证明 为进一步证明供试品中所检测的色谱峰为马兜铃酸 A 的色谱峰, 在提取色谱峰的同时, 用二极管阵列检测器同时进行了光谱扫描, 结果对照品与供试品相同的保留时间主峰的最大吸收分别均为: 225、249、322、394 nm, 而在与对照品与供试品相同保留时间的主峰处及前后均无相应光谱图, 证明了样品中所测得主峰为马兜铃酸 A 的峰。

收稿日期: 2011-07-05

基金项目: 国家药典委员会药品标准提高项目 (700)

作者简介: 魏玉海 (1980—), 男, 硕士, 从事中藏药分析研究工作。

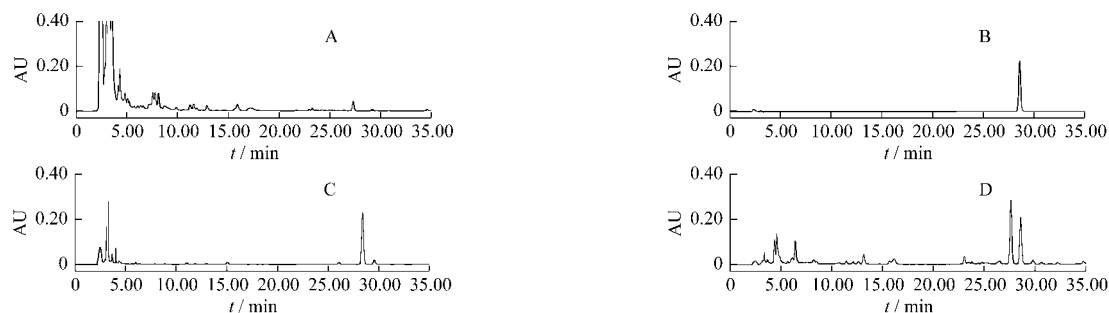


图 1 阴性对照、对照品、样品 HPLC 色谱图

A. 阴性对照 B. 对照品 C. 木香马兜铃药材供试品 D. 七味红花殊胜丸供试品

2.7 线性关系考察 按上述色谱条件,分别将上述马兜铃酸 A 对照品溶液(14.8 $\mu\text{g/mL}$) 稀释成 0.74、2.96、5.92、8.88、11.84、14.8 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,分别精密吸取各对照品溶液 20 μL 注入液相色谱仪,测得峰面积。以峰面积(Y)为纵坐标,马兜铃酸 A 对照品进样量(X)为横坐标,绘制标准曲线,计算得回归方程: $Y = 5.02 \times 10^6 \times X - 368 \times 10$, $r = 0.9999$ 。试验结果表明在 0.0148 μg ~ 0.294 μg 的范围内,马兜铃酸 A 进样量与峰面积值呈良好的线性关系。

2.8 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液(14.8 $\mu\text{g/mL}$) 连续进样 6 次,每次进样体积为 10 μL ,测得马兜铃酸 A 峰面积 RSD 为 0.26%。结果表明精密度良好。

2.9 稳定性试验 取批号为 06343A 的七味红花殊胜丸样品,按供试品制备项下的方法制成供试品溶液,按上述色谱条件分别于 0、2、4、6、8、12 h 注入液相色谱仪,每次进样体积为 10 μL ,测定峰面积,按马兜铃酸 A 峰面积计算 RSD 为 1.2% ($n=6$)。结果表明:供试品中马兜铃酸 A 在 12 h 内稳定性良好。

2.10 重复性试验 取批号为 06343A 的七味红花殊胜丸样品 5 份,按供试品制备项下的方法制成供试品溶液,每份样品进 2 针,每次进样体积为 10 μL ,在上述色谱条件下,测定马兜铃酸 A,按马兜铃酸 A 峰面积计算 RSD 为 1.1% ($n=6$)。结果表明供试品重现性良好。

2.11 加样回收率试验 取已知马兜铃酸 A 量样品(批号 06343A, 0.3848 mg/g) 0.5 g,精密称定共 9 份,平均分为 3 组,依次加入马兜铃酸 A 对照品溶液(0.074 mg/mL) 2 mL、2.5 mL、3 mL,按供试品溶液方法制成所需溶液。依法测定,计算收率。结果见表 1,回收率为 98.9%,RSD 为 1.0%。

表 1 回收率试验结果

样品取样量/g	原有量/mg	标准品加 入量/mg	测得总量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.501 2	0.192 9	0.148	0.338 7	98.54		
0.500 7	0.192 7	0.148	0.339 7	99.35		
0.513 4	0.197 6	0.148	0.341 6	97.34		
0.511 7	0.196 9	0.185	0.382 1	100.12		
0.502 8	0.193 5	0.185	0.376 0	98.66	98.9	1.0
0.497 1	0.191 3	0.185	0.371 5	97.40		
0.500 9	0.192 7	0.222	0.411 8	98.69		
0.523 4	0.201 4	0.222	0.423 9	100.21		
0.513 5	0.197 6	0.222	0.418 2	99.35		

2.12 样品测定 分别取七味红花殊胜丸与木香马兜铃药材,按照上述 2.3 项下七味红花殊胜丸与木香马兜铃供试品溶液的制备方法,分别制备七味红花殊胜丸与木香马兜铃的供试品溶液,并按上述 2.1 项下色谱条件进行测定,测得两批次木香马兜铃药材(样品 1、样品 2)及 5 批次七味红花殊胜丸(06343A、09177A、090401、090701、100501) 中马兜铃酸 A 量结果见表 2。

表 2 木香马兜铃与七味红花殊胜丸中马兜铃酸 A

	批号	马兜铃酸 A/%	平均含量/%
木香马兜铃	样品 1	1.312	1.13
	样品 2	0.954	
七味红花殊胜丸	06343A	0.038 5	0.03
	09177A	0.037 2	
	090401	0.024 1	
	090701	0.026 9	
	100501	0.028 1	

3 讨论

3.1 检测波长的选择 以二极管阵列检测器对马兜铃酸 A (质量浓度为 0.0148 mg/mL) 在 200 ~ 400 nm 进行紫外扫描,在 225、249、322、394 nm 处分别均有最大吸收,通过试验发现 225 nm 处为末端吸收,因此在色谱图上反应出杂质峰面积较高,在 394 nm 长波长处,选择 394 nm 的为检测波长时测得马兜铃酸 A 主峰面积有所降低,参考文献[9-10]及实际测得色谱峰情况,认为在选择 322 nm 波长为检测波长为最适条件,不过以 225、249、394 nm 为检测波长时也可以进行测定。

3.2 流动相的选择 分别考察了乙腈-水、甲醇-水、乙腈-0.05% 磷酸溶液、甲醇-0.05% 磷酸溶液,结果用乙腈-0.05% 磷酸溶液(45:55) 时的分离效果良好^[11-13]。0.05% 磷酸溶液 pH 约为 2.5,当与乙腈按上述比例混合后, pH 大于 3,对普通色谱柱有较好耐用性。

3.3 供试品提取方式的选择 在供试品的提取过程中选择了回流、超声、索氏提取的方法,结果对于七味红花殊胜丸供试品溶液制备在超声处理后,用三氯甲烷从酸水液中提取,所得样品回收率高,且杂质无干扰^[11-14];对于木香马兜铃供试品溶液制备经过超声处理便可进样,分离良好,杂质峰无干扰。

3.4 5 批次七味红花殊胜丸马兜铃酸 A 的平均质量分数为

0.03% ,两批木香马兜铃药材中平均质量分数为 1.13% 。谭睿等测得二十五味松石胶囊中马兜铃酸 A 平均质量分数为 $0.03 \mu\text{g/g}$ [9] ,陈燕等测得二十五味绿绒蒿丸中马兜铃酸 A 平均质量分数为 0.11 mg/丸 [10] 。英锡相等 [15] 、周跃华等 [16] 、韩娜等 [17] 、刘丽芳等 [18] 等均测定了部分含马兜铃酸 A 的药材及成药 ,而谭睿等 [9] 、陈燕等 [10] 测定了含木香马兜铃药材成药中的马兜铃酸 A ,但均未见直接测定木香马兜铃药材中马兜铃酸 A 的报道。《中国药典》2010 年版一部细辛中所含马兜铃酸 A 质量分数限度为不得过 0.001% [11] ,我们所测成药与药材中的马兜铃酸 A 均高于此限度。根据文献报道与本实验中测得的部分含木香马兜铃的藏成药中马兜铃酸 A 的含量比较高 ,考虑到马兜铃酸 A 的肾毒性 ,在临床使用含木香马兜铃药材成药过程中 ,长期服用或不同年龄阶段的患者要慎重服用 ,对于藏成药中马兜铃酸 A 的含有量较高的 ,考虑替换处方中木香马兜铃药材。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部. 卫生部药品标准: 藏药第一册[S]. 北京: 人民卫生出版社, 1995: 221.
- [2] 青海省药品检验所. 青海省藏药标准[S]. 青海: 青海省卫生厅印制, 1992: 112.
- [3] 左振常, 叶宝林, 尕布藏, 等. 中国藏药[M]. 上海: 上海科技出版社, 1990: 307-312.
- [4] 青海省卫生厅. 六省区藏药标准[S]. 青海: 青海省人民出版社出版, 1979: 14.
- [5] 丘华兴, 林有润, 等. 中国植物志: 第 24 卷[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 213-215.
- [6] 陈娅娟, 吴俏银, 叶兰慧, 等. 马兜铃酸毒理研究进展[J]. 广东药学院学报, 2003, 19(2): 156-158.
- [7] 周娜, 李晓玫. 马兜铃酸肾病研究的新进展[J]. 药物不良反应杂志, 2007, 9(1): 1-6.
- [8] 姚冬琴, 张的凤, 张金莲. 马兜铃肾病的研究[J]. 江西中医药, 2010, 41(332): 60-62.
- [9] 谭睿, 杨金敏, 刘静, 等. HPLC 法测定二十五味松石胶囊中马兜铃酸的含量[J]. 学术动态, 2005(1): 23-26.
- [10] 陈燕, 黄志芳, 刘玉红, 等. 二十五味绿绒蒿丸中马兜铃酸 A 的分析[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(2): 1458-1461.
- [11] 张萍, 冉海琳, 肖新月, 等. 细辛类植物中马兜铃酸 A 的定性及定量分析[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(6): 811-814.
- [12] 吴艳蓉, 王宇杰, 孙启时. 辽细辛果实中马兜铃酸 A 的含量测定[J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(5): 288-291.
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 214-215.
- [14] 李琳, 王智民, 高慧敏, 等. 含马兜铃酸类中药材中马兜铃总酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(2): 11-13.
- [15] 英锡相, 袁昌鲁, 曲贤广, 等. 11 种中药材及 3 种中成药马兜铃酸的含量测定[J]. 辽宁中医杂志, 2003, 30(5): 404.
- [16] 周跃华, 周娟, 黄莎莎, 等. 部分马兜科药材中马兜铃酸 A 的含量测定研究[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(7): 1075-1080.
- [17] 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): 115-118.
- [18] 刘丽芳, 曹素萍, 及莹, 等. 中药材及中成药中马兜铃酸类成分的定性、定量分析[J]. 中成药, 2005, 27(8): 938-941.

气相色谱法测定艾纳香中左旋龙脑的研究

夏稷子¹, 彭金咏², 赵智³, 安军¹

(1. 贵州省黔南州药品检验所, 贵州 都匀 558000; 2. 大连医科大学药学院, 辽宁 大连 116400; 3. 贵州省黔南州食品药品监督管理局, 贵州 都匀 558000)

摘要: 目的 建立气相色谱法测定艾纳香药材中左旋龙脑。方法 以水杨酸甲酯为内标物, 采用 PEG20M(10%) 填充柱 (2 m × 3 mm × 2 μm), FID 检测器; 气化温度 180 ℃; 柱温 150 ℃; 检测器温度 200 ℃; 进样量为 1 μL。结果 左旋龙脑在 0.312 ~ 10.000 mg/mL 范围内与峰面积比值的线性关系良好, 平均回收率为 100.9%, RSD 为 2.2%。结论 本方法简便、准确、可用于艾纳香药材的质量评价。

关键词: 艾纳香; GC; 左旋龙脑

中图分类号: R 284.1

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2011)12-2188-03

艾纳香为菊科艾纳香属植物艾纳香 *Blumea balsamifera* (L.) DC. 的新鲜或干燥地上部分, 临床上用于风寒感冒、寒

湿泻痢、风湿痹痛、跌打伤痛等, 具有开窍醒神、清热止痛的功效^[1], 收载于《贵州省中药材、民族药材质量标准》2003 年

收稿日期: 2011-06-29

基金项目: 贵州省黔南州科技局资助项目(黔南科合 2010 药字 01 号)

作者简介: 夏稷子(1964—), 女, 副主任药师, 从事药品检验工作。Tel: 13885440999, E-mail: jizixia@yeah.net.