

北细辛不同提取物中总马兜铃酸的含量测定

于艳¹,修丽丽²,魏新智¹,孙科峰^{1*}

(1. 辽宁中医药大学附属医院,沈阳 110032; 2. 辽宁中医药大学,辽宁 大连 116600)

〔摘要〕 目的:测定北细辛不同提取物中总马兜铃酸的含量,为其临床应用提供实验依据。方法:以水、乙酸乙酯、30%乙醇、50%乙醇、70%乙醇、95%乙醇提取北细辛药材,以马兜铃酸 A 为对照,采用紫外分光光度法,检测波长为 390 nm。结果:马兜铃酸 A 含量在 3.0 ~ 30.0 mg·L⁻¹与吸收度呈良好线性关系, $Y = 19.844X + 0.0272$ ($r = 0.9996$),平均回收率为 98.51%,RSD 1.32%。北细辛不同提取物中总马兜铃酸的含量为 1.34% ~ 3.15%,以水提取物含量最低,95%乙醇提取物含量最高。结论:方法测定结果准确可靠,重复性好,可用于北细辛提取物中总马兜铃酸的含量测定。

〔关键词〕 北细辛; 提取物; 总马兜铃酸; 紫外分光光度法

〔中图分类号〕 R284.1 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2012)24-0141-03

Determination of Total Aristolochic Acid
in Different Extracts of *Asarum heterotropoides*

YU Yan¹, XIU Li-li², WEI Xin-zhi¹, SUN Ke-feng^{1*}

(1. Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China;
2. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

〔Abstract〕 Objective: To determine the content of total aristolochic acid in different extracts of *Asarum*

〔收稿日期〕 20120607(011)

〔第一作者〕 于艳,硕士,主管中药师,从事中药制剂分析和中药新药研发, Tel:18909816763, E-mail: yuyangirl@yahoo.com.cn.

〔通讯作者〕 *孙科峰,博士,主任医师,从事中药复方配伍规律及中药药效组分筛选评价研究。

[11] 宋志斌,朱成琳,师方园,等. 人参皂苷 Re 体外抗氧化能力及其对血清剥夺神经细胞作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(7):225.

[12] 高莹,杨积武,王艳春,等. 人参皂苷 Re 对大鼠心肌缺血再灌注细胞凋亡及 Caspase-3 的影响[J]. 辽宁中医药大学学报,2011,13(2):123.

[13] 蔡宝昌,秦昆明,吴皓,等. 中药炮制过程化学机理研究[J]. 化学进展,2012,24(4):637.

[14] 曾庆荣,刘放,张振坤. 从人参茎叶中提取人参皂苷的研究[J]. 化工时刊,2009,23(6):26.

[15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:8.

[16] 张兆旺. 中药药剂学[M]. 2 版,北京:中国中医药出版社,2007:454.

[17] 王芳. 初均速法预测人参茎叶皂苷的稳定性[J]. 中国现代应用药学杂志,2007,24(3):217.

[18] 林美好,刘海宇,刘金平,等. 人参皂苷的化学研究进展[J]. 人参研究,2011,4:43.

[19] 郭娜. 人参皂苷的化学研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2005:10.

[20] 郑志忠,明艳林. 人参皂苷体内代谢及其产物的生物活性[J]. 海峡药学,2012,24(1):9.

[21] 马晓宁,李巍,赵余庆;西洋参花蕾总皂苷水解产物中稀有抗肿瘤成分的化学研究//2009 年中国药学会暨第九届中国药师周论文集[C]. 长沙:中国药学会,2009-11-21.

[22] 马佳慧. 人参二醇制备新型人参皂苷元的化学研究[D]. 长春:吉林大学,2010:6.

[23] 陈木洲,刘延辉,黄姬,等. 酸碱度对人参皂苷提取率及其稳定性影响分析[J]. 中国实用医药,2011,20(6):146.

[24] 尹建元,孟勤,李巍,等. 人参皂苷酸降解物制备工艺及其应用,中国:CN101828712A[P],2010-09-15.

[25] 宋学洲,高文斌,郑毅男,等. 人参皂苷生物转化研究最新进展[J]. 人参研究,2012,1:34.

〔责任编辑 顾雪竹〕

• 141 •

heterotropoides, and provide the basis for clinical application of *A. heterotropoides*. **Method:** *A. heterotropoides* was extracted with water, ethyl acetate, 30% ethanol, 50% ethanol, 70% ethanol and 95% ethanol as extracting solvent. The ultraviolet spectrophotometry was used with aristolochic acid A as the chemical reference. The UV detector wavelength was set at 390 nm. **Result:** The content of aristolochic acid A showed a linear relation with the spectrophotometric absorbance within the range of 3.0-30.0 mg · L⁻¹, and the linear equation was $Y = 19.844X + 0.0272$ ($r = 0.9996$). The average recovery was 98.51%, and RSD was 1.32%. The total aristolochic acid content varied from 1.34%-3.15%. It was the lowest in the water extract and highest in the 95% ethanolic extract. **Conclusion:** The method is reliable, accurate and suitable for determining the content of the total aristolochic acid in extracts of *A. heterotropoides*.

[Key words] *Asarum heterotropoides*; extracts; total aristolochic acid; ultraviolet spectrophotometry

细辛为马兜铃科植物北细辛 *Asarum heterotropoides* Fr. Var. *mandshurium* (Maxim.) Kitag.、汉城细辛 *A. sieboldii* Miq. Var. *seoulense* Nakai 或华细辛 *Asarum sieboldii* Miq. 的干燥根和根茎,其性味辛,温,归心、肺、肾经,具有祛风散寒、祛风止痛、通窍、温肺化饮之功效,用于风寒感冒,头痛,牙痛,鼻塞流涕,鼻鼾,鼻渊,风湿痹痛,痰饮喘咳^[1],其中北细辛产量大,品质好,分布广,为临床所常用^[2]。近年来由于马兜铃酸已确定为一种具有肾毒性和致癌作用的物质,使有关马兜铃科中药的安全性受到了密切的关注^[3],马兜铃酸是马兜铃科马兜铃属植物中一类非类化合物,主要由马兜铃酸 A、B、C、D、E 等及其衍生物组成,目前的研究和报道多集中于马兜铃酸 A^[4],而对北细辛中总马兜铃酸的含量测定未见报道。本文以不同的提取溶剂提取北细辛药材,采用紫外分光光度法测定北细辛不同提取物中总马兜铃酸的含量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 UV-1100 紫外-可见分光光度计(北京瑞利分析仪器公司),KH-400DB 型数控超声波清洗器。

1.2 试剂 马兜铃酸 A 对照品(中国药品生物制品检定所,批号 746-9002)。北细辛药材购自辽宁本溪,经辽宁中医药大学鉴定教研室翟延君教授鉴定为马兜铃科植物北细辛 *A. heterotropoides* Fr. var. *mandshurium*(Maxim.) Kitag. 的干燥根及根茎。所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 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 0.6 g · L⁻¹ 的对照品溶液,摇匀,即得。

2.2 供试药品的制备 称取北细辛药材 200 g,共计 6 份,分别装于圆底烧瓶中,分别加入水、乙酸乙

酯、30% 乙醇、50% 乙醇、70% 乙醇、95% 乙醇,加热回流提取 2 次,每次 1.5 h,每次加溶剂 10 倍量,合并两次提取液,减压回收溶剂,水浴蒸干,残渣于烘箱中(70 ℃)烘干,计算出膏率,即得(表 2)。

2.3 供试品溶液的制备^[5] 取北细辛不同提取物干膏约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称定质量,超声处理 30 min,放置至室温,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密吸取续滤液 1.0 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释刻度,摇匀,即得。

2.4 标准曲线的测定 精密吸取马兜铃酸 A 对照品溶液(0.6 g · L⁻¹) 50,100,200,300,500 μL,分别置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释刻度,摇匀,分别在 390 nm 处测定吸收值。以吸光度为纵坐标,对照品的浓度为横坐标,得线性回归方程 $Y = 19.844X + 0.0272$ ($r = 0.9996$),线性范围 3.0 ~ 30.0 mg · L⁻¹。

2.5 精密度试验 取马兜铃酸 A 对照品溶液(12 mg · L⁻¹),在 390 nm 处测定吸收值,共测定 6 次,结果吸光度的 RSD 0.10%。

2.6 重复性试验 取北细辛水提取物干膏 6 份,分别制备成供试品溶液,在 390 nm 处测定吸收值,计算总马兜铃酸的含量分别为 1.34%,1.31%,1.35%,1.36%,1.33%,1.34%,平均含量为 1.34%,RSD 1.29%,表明本方法重复性良好。

2.7 稳定性试验 取北细辛水提取物干膏,制备成供试品溶液,分别于 0,2,4,6,8,10 h 在 390 nm 处测定吸收值,结果吸光度分别为 0.295,0.296,0.296,0.293,0.294,平均吸光度为 0.295,RSD 0.44%,表明本品溶液 10 h 内稳定性良好。

2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的北细辛水提取物干膏 0.25 g,6 份,置具塞锥形瓶中,分别精密加入马兜铃酸 A 对照品溶液(0.6 g · L⁻¹)

5.0 mL,蒸干溶剂,按供试品溶液的制备方法制备, RSD 1.24%,结果见表1。
在 390 nm 处测定吸收值,平均回收率为 98.36%,

表 1 马兜铃酸回收加样率试验

No.	称样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	实测量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD/%
1	0.251 1	3.364 7	3.000 0	6.317 0	98.41	98.36	1.24
2	0.249 2	3.339 3	3.000 0	6.243 3	96.80		
3	0.252 2	3.379 5	3.000 0	6.362 1	99.42		
4	0.248 4	3.328 6	3.000 0	6.262 9	97.81		
5	0.251 7	3.372 8	3.000 0	6.375 8	100.10		
6	0.249 8	3.347 3	3.000 0	6.275 4	97.60		

2.9 样品测定 取北细辛不同提取物干膏,按供试品溶液的制备方法制备,在 390 nm 处测定吸收值,代入线性回归方程,计算含量,结果见表2。

表 2 样品中总马兜铃酸的含量(n=3)

北细辛供试样品	出膏率 /%	总马兜铃酸 含量/%	RSD /%
水提取物	19.21	1.34	0.58
乙酸乙酯提取物	0.71	2.37	0.67
30% 乙醇提取物	17.96	1.83	1.26
50% 乙醇提取物	17.63	2.12	1.97
70% 乙醇提取物	16.99	2.62	1.06
95% 乙醇提取物	9.09	3.15	0.89

3 讨论

北细辛属辽细辛的一种,为辽宁的道地药材,目前,我国已批准的药物中含有细辛药材的约 176 种。马兜铃酸是马兜铃属植物的主要成分,具有致癌及肝、肾损害的作用,近年来关于其引起肾脏损害的临床报道和毒理研究已受到广泛重视^[2]。本试验所检测的北细辛种提取物中,总马兜铃酸的含量从高到低的顺序依次为 95% 乙醇提取物、70% 乙醇提取物、乙酸乙酯提取物、50% 乙醇提取物、30% 乙醇提取物、水提取物。

供试药品的制备时,北细辛的乙酸乙酯提取物与 95% 乙醇提取物在烘干过程中不易干燥,因此加入少许硅藻土以利干燥。

检测波长的选择时,曾参照文献以 390^[6],

250^[7],310 nm^[8]为检测波长,结果以 390 nm 为好。以甲醇为空白对照,在 200 ~ 450 nm 测定吸光度,马兜铃酸 A 对照品在 390 nm 处有最大吸收,故选择 390 nm 为检测波长。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:214.
[2] 杨纯,田德娟,李季. 高效液相色谱法检测北细辛药材不同部位的马兜铃酸[J]. 中国药业,2010,19(13):24.
[3] 薛燕,童湘晖,王峰,等. 细辛饮片中马兜铃酸 A 痕量检查方法的建立[J]. 药物分析杂志,2010,30(5):842.
[4] 胡志祥,王永红,彭崇胜,等. 近 5 年细辛及其制剂中马兜铃酸的研究进展[J]. 中草药,2010,41(2):318.
[5] 顾健,仇焱,龙绍疆. 关木通水煎剂总马兜铃酸含量测定及大黄、川芎对关木通致大鼠急性肾毒性影响[J]. 中药材,2005,28(8):695.
[6] 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.
[7] 刘学湘,潘扬,蒋亚,等. 青木香发酵后总马兜铃酸和马兜铃酸 I 的含量测定[J]. 食品与生物技术学报,2010,29(2):201.
[8] 尚明英,李军,胡波,等. 中药关木通中总马兜铃酸的含量测定[J]. 中草药,2000,31(12):899.

[责任编辑 顾雪竹]