

# 反相 HPLC 法测定青木香药材中马兜铃酸 A 的含量

张永萍 徐国钧 金蓉鸾 徐珞珊 赵陆华<sup>1</sup>

(生药学教研室; <sup>1</sup>分析计算中心)

**关键词** 青木香; 马兜铃酸 A; HPLC

青木香为马兜铃科马兜铃 *Aristolochia debilis* Sieb. et Zucc. 的根, 为解毒消肿、平肝止痛药物。马兜铃酸 A 是抗菌、增强机体免疫功能的主成分之一。本文用 RPHPLC 法对青木香及同属数种常作为青木香药用的药材进行了定性分析<sup>[1]</sup>, 并测定了马兜铃酸 A 的含量。

## 1 仪器和材料

**仪器** Waters Liquid Chromatograph Model 510, Waters 740 Data Module, Waters 490 Programmable Multiwavelength Detector; U6K Injector。层析条件:  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub>柱; 流动相为甲醇-水-醋酸 (60: 35: 1), 检测波长<sup>[2]</sup> 310 nm, AUFS 0.5。

**药材样品** 实验所用药材均经鉴定为下列植物的根或根茎。马兜铃 *A. debilis* (南京, 江苏东海); 北马兜铃 *A. contorta* (甘肃天水, 陕西凤县); 绵毛马兜铃 *A. mollissima* (南京); 异叶马兜铃 *A. heterophylla* (陕西南郑)。

## 2 方法和结果

### 2.1 标准曲线的绘制

精确称取马兜铃酸 A 标准品 (购自 Aldrich Chemical Company, Inc.), 加甲醇溶解, 配成标准品溶液, 浓度分别为: 0.0773, 0.1546, 0.2319, 0.3092, 0.3865  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 。回归方程为  $A = 5244706.339C - 161508.8$ ,  $r =$

0.9995。

另配一高浓度系列溶液, 浓度分别为: 1.0128, 1.3504, 1.6880, 2.0256, 2.2632  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 。其回归方程为  $A = 52683307.347C - 81751.35$ ,  $r = 0.9991$ 。

### 2.2 精密度的测定

取同一浓度的标准品溶液, 进样量相等, 共进样 12 次, 对测定的面积数据进行处理, 结果 CV 2.2% ( $n=12$ )。

### 2.3 样品的处理

精密称取药材适量, 加 5% 氨水 20 ml, 冷渍过夜, 取滤液 10 ml, 加 6 mol/L 盐酸 2~3 ml (至沉淀不再产生), 加乙醚萃取 4 次 (10 ml, 5 ml  $\times$  3), 合并醚层, 用 25 ml 含有 0.1 ml 6 mol/L 盐酸水溶液洗至中性, 过滤醚层, 回收乙醚, 加甲醇溶解并定容至 5 ml, 用微孔滤膜抽滤后, 供 HPLC 分析用。

### 2.4 回收率测定

精密称取陕西凤县产的青木香适量, 共 9 份, 在 1~5 份中加入适量的马兜铃酸 A 标准溶液 (各含马兜铃酸 A 标准品 0.2257 mg)。按“样品处理”项下操作。结果平均回收率为 100.52% ( $n=5$ ), CV=1.9%。

### 2.5 定性及定量分析

取药材样品, 经处理后 (见“药材样品处理”项), 进行液相色谱分析, 定性结果见图 1, 马兜铃酸 A 色谱峰的保留时间约为 23 min。定量结果见表 1。

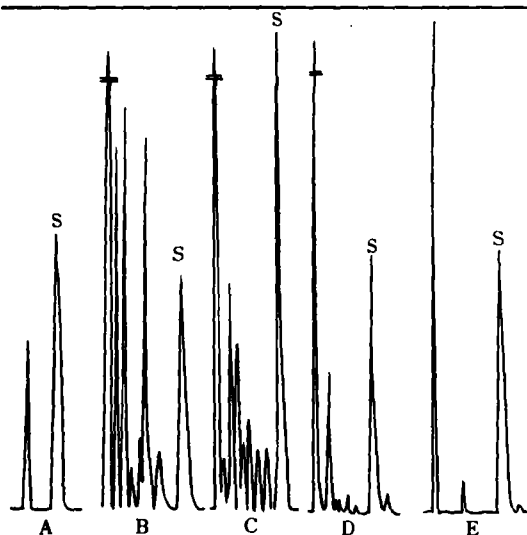


Fig 1. Chromatograms of aristolochic acid A and extracts of drugs derived from *Aristolochia*

A-standard; B-*Aristolochia contorta*; C-*Aristolochia debilis*; D-*Aristolochia mollissima*; E-*Aristolochia heterophylla*; S-aristolochic acid A

Tab 1. Contents of aristolochic acid A in drugs.  $n=3$

Species	Habitat	Contents	CV, %
<i>A. debilis</i>	Jiangsu Donghai	0.3362	2.4
	Jiangsu Nanjing	0.6679	2.1
<i>A. contorta</i>	Shangxi Fenxian	1.4097	0.55
	Gansu Tianshui	0.6725	0.63
<i>A. mollissima</i>	Nanjing	0.4686	0.47
<i>A. heterophylla</i>	Shangxi Nanzheng	2.8991	2.1

### 3 讨论

3.1 马兜铃酸类的含量测定方法有薄层光密度法、极谱法及 HPLC 法,本文用 RPHPLC 法测定了青木香药材及同属数种常作为青木香药用的药材中马兜铃酸 A 的含量。回收率实验表明该实验样品处理方法可行。

3.2 马兜铃属药材中常含有木兰碱,干扰马兜铃酸 A 的测定,我们采用以下提取方法:(1)甲醇提取,回收甲醇,残渣加酸水溶解, *N,N*-二甲基甲酰胺萃取;(2)酸水提取后用 *N,N*-二甲基甲酰胺萃取;(3)酸水湿润后用 *N,N*-二甲基甲酰胺提取;(4)5%氨水提取,酸化后用 *N,N*-二甲基甲酰胺萃取;(5)5%氨水提取,酸化后用乙醚萃取,结果表明以(5)法除去木兰碱的效果最佳。

### 参考文献

- 1 中国科学院植物研究所. 中药志. 第二册. 北京:人民卫生出版社,1982:406
- 2 Gracza L and Ruff P. Simple determination of Aristolochic acid by HPLC. *Deusch Apoth-zg*, 1981;121(51):2817

## Determination of Aristolochic Acid A in Drugs from *Aristolochia* by RP-HPLC

Zhang Yongping, Xu Guojun, Jin Rongluan, Xu Luoshan, Zhao Luhua<sup>1</sup>

Department of Pharmacognosy, <sup>1</sup>Analysis and Computer Center

Aristolochia acid A was extracted from drugs of *Aristolochia* and determined by reverse phase HPLC on u-Bondapak C<sub>18</sub> column (30 cm×3.9 mm) with methanol-acetic acid-water (60:1:35) as mobile phase (0.8 ml/min) and UV detector at ambient temperature. The average recovery of aristolochic acid A and variation coefficient were 100.5%, 1.9% respectively.

**Key words** Qing Muxiang; Aristolochic acid A; RP-HPLC