

马蹄香植物不同器官中马兜铃酸A含量的测定

张 萍

(咸阳职业技术学院, 陕西 咸阳 712000)

摘 要: 目的: 测定马蹄香不同部位马兜铃酸A的含量。方法: 提取分离马蹄香根、茎、叶不同部位, 通过高效液相色谱法分别测定马蹄香不同部位中马兜铃酸A的含量。结果: 通过检测得知马兜铃酸A主要存在与马蹄香的地下根部位, 地上茎中含有少量的马兜铃酸A, 叶中不含马兜铃酸A。

关键词: 马蹄香; 马兜铃酸A; 高效液相

中图分类号: S58

文献标识码: A

文章编号: 94047-(2011)01-041-03

1 引 言

马蹄香 (*Saruma Henryi* Oliv.) 属马兜铃科马蹄香属植物, 为我国特有的单属植物, 也是我国高等植物中的珍稀濒危物种之一。为多年生草本, 根及根状茎鲜时为淡灰黄色, 干后呈灰和褐色至灰黑色, 揉搓有芳香气。分布于长江流域^[1], 如陕西、四川、贵州、湖北、江西河南、甘肃等省^[2]。其干燥的根及根茎在民间药用, 习称马蹄香、冰水丹、高脚细辛、马头细辛。性温, 味辛、苦, 有小毒, 具温中散寒、理气镇痛的功能, 主治胃寒痛、心前区痛和关节痛等症。

马兜铃酸(Aristolochic Acid)属于碳环芳香族酚类化合物。马兜铃酸是带光泽的棕色叶状结晶(二甲基甲酰胺-水), 熔点281-286℃。溶于甲醇、乙醇、氯仿、乙醚、丙酮、醋酸、苯胺及碱, 几乎不溶于苯及二硫化碳。目前, 马兜铃酸的检测方法主要有薄层层析、离子交换柱层析、质谱法、荧光分析和气相色谱分析、紫外分光光度法、紫外光谱扫描法、高效液相色谱法和反相高效液相色谱法。这些方法都具有简便、快速准确、灵敏和回收率高的优点。

目前, 有关马蹄香植物中马兜铃酸含量的研究尚不多见^[3], 本实验采用高效液相色谱法对马蹄香植物体不同部位进行定量分析测定。通过实

验, 了解马兜铃酸A在马蹄香植物体中的分布情况以及含量。

2 实验材料、试剂及仪器设备

2.1 材料

采集于汉中留坝的马蹄香药材, 烘干。

2.2 试剂

马兜铃酸A对照品(批号: 110746-200406中国药品生物制品鉴定所)。甲醇, 乙醚等试剂均为分析纯。

2.3 仪器

高效液相色谱仪(HP1100), 微型植物试样粉碎机(FZ102), 电子天平, 索氏提取仪, 回流提取仪, 电热恒温水箱等。

3 实验方法与结果

3.1 材料粉碎、过筛

分别粉碎马蹄香材料的根、茎、叶, 过40目筛, 盛于洁净干燥的白色广口瓶中备用。

3.2 供试样品的配制

分别称取马蹄香不同器官样品粉末1g, 置于50ml三角瓶中, 加乙醚10ml, 冷浸12h, 挥尽乙醚, 分别加甲醇回流提取3次, 每次加10ml回流15min, 滤过。收集合并各自滤液, 分别浓缩至2ml, 得三种检测样品(马蹄香根、马蹄香茎、马蹄香叶)。

收稿日期: 2011-06-15

作者简介: 张萍(1983-), 女, 陕西永寿人, 助教职称, 研究方向: 植物学及生物技术。

3.3 马兜铃酸A标准品的配制

取马兜铃酸A标准品加甲醇配制成0.5mg/ml的标准品溶液。

3.4 高效液

相法测定马蹄香不同器官中马兜铃酸A的含量供试样品与标准品在3.3中已制备。

3.4.1 色谱条件 高效液相色谱仪 (HP1100), 色谱柱为Hypersil ODS ($4.6 \times 100\text{mm}, 5\mu\text{m}$); 以己腈-5%的冰醋酸 (60: 40) 溶液为流动相; 流速为1ml/min; 马兜铃酸A的保留时间为17min。

3.4.2 检测波长的确定 取马兜铃酸A标准品储备液稀释浓度至0.020mg/ml, 在200~400nm波长范围内扫描。扫描结果表明, 在390, 315nm处有最大吸收峰。高效液相色谱实验结果表明, 在315nm处干扰弱, 灵敏度高, 因此选择315nm为检测波长。

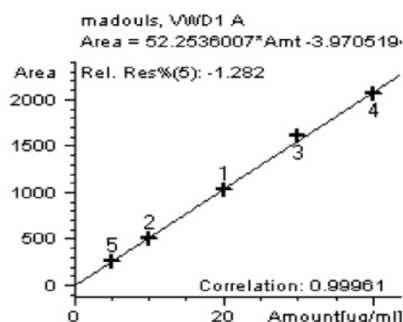


图 1 高效液相测定的马兜铃酸A标准曲线图

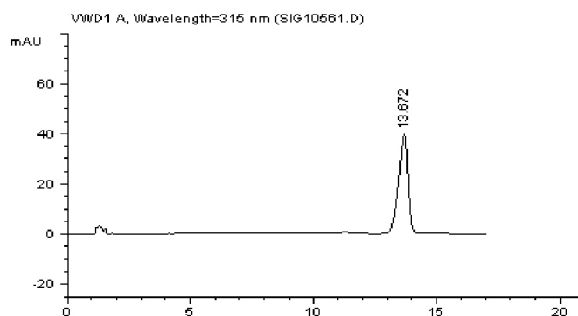


图2 马兜铃酸A标准曲线

3.4.3 线性关系的考察 将马兜铃酸A标准品储备液稀释, 分别得到浓度为10, 20, 30, 40 $\mu\text{g/ml}$ 的标准品溶液, 各取5 μl 注入高效液相色谱仪分析。进样的浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。马兜铃酸A峰面积 (A) 与进样浓度 (Amt) 呈良好的线性关系, 如图7相关系数为 $r=0.99961$, 标准曲线回归方程为 $A=52.2536007\text{Amt} - 3.970519$ 。

3.4.4 仪器精密度实验 精密吸取质量浓度为20 $\mu\text{g/ml}$ 的马兜铃酸A的标准品溶液5 μl , 注入高效液相色谱仪中分析, 连续进样5次, 计算峰面积的RSD为1.55%。

3.4.5 回收率实验 精密吸取浓度为10, 30 $\mu\text{g/ml}$ 的两种马兜铃酸A标准品5ml, 将其等体积混合, 然后注入高效液相色谱仪中分析, 重复做3次, 进行回收率测定。结果显示, 平均回收率为105%。

3.4.6 含量的测定 分别取马蹄香样品溶液, 用微孔滤膜过滤, 吸取5 μl 注入高效液相色谱仪分析。检测结果显示马蹄香不同部位含马兜铃酸的含量。

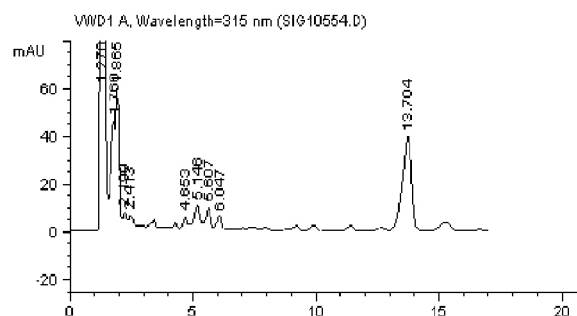


图3 马蹄香根中马兜铃酸A的

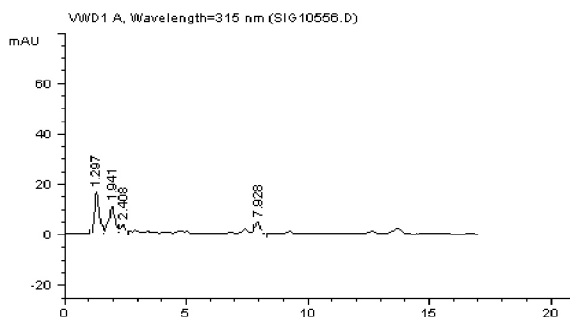


图4 马蹄香茎中马兜铃酸A的含量

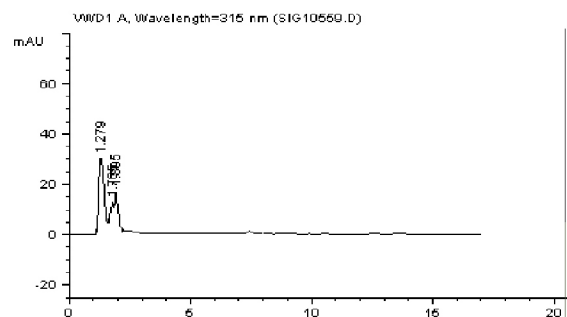


图5 马蹄香叶中马兜铃酸A的含量

根据标准曲线喝回归方程计算马兜铃酸A的含量，结果见表1

表1 马蹄香中马兜铃酸A的含量

样品来源	浓度(μg/ml)	含量(%)
马蹄香根	19.95015	0.1995015
马蹄香茎	1.15774	0.0115774
马蹄香叶	无	无

3.4.7 结果分析 从马蹄香标准品的检测图可以看出在12~13min之间有一个吸收峰，峰值为13.672。马蹄香根的检测图在12~13min也有一个吸收峰，峰值为13.704。马蹄香茎的检测图在12~13min有一个吸收峰，但由于茎中马兜铃酸A的含量较少，所以峰值也很小。马蹄香叶的检测图在相应的位置上是没有吸收峰的，说明马蹄香叶中不含马兜铃酸A。

4 讨论

4.1 马蹄香植物体中的马兜铃酸A主要存在于根茎部分

本实验我们采用高效液相色谱法分别定量检测了马蹄香的根、茎、叶中马兜铃酸A的含量，分析得出马兜铃酸A主要存在于马蹄香根中，含量约为0.19%。马蹄香茎中只含有少量的马兜铃酸A，含量约为0.01%。马蹄香叶中不含马兜铃酸A。

4.2 供试样品制备法对含量测定有明显的影响

在制备马蹄香样品提取液时，由于马蹄香中含有多种杂质，特别是茎和叶中含有较多叶绿素，会干扰我们实验结果，因此，我们根据马兜铃酸A可溶于碱的原理，在碱液中用乙醚萃取除去杂质后，分离效果较好。碱化时碱性要达到PH=10，否则马兜铃酸A不能完全溶解，酸化时酸性要达到PH=2，否则马兜铃酸A不能完全析出，萃取不完全。

参 考 文 献

[1] 中国科学院西北植物研究所.秦岭植物志,第一卷,种子植物(第二册)[M].北京:科学出版社,1974.129-130.
[2] 马金双.马兜铃科植物的地理分布及其系统[J].植物分类学报,1990(5):269-271.
[3] 赵桦,杨培君,李会宁.马蹄香种子生物学特性研究[J].广西植物,2006(1):14-17

The Assay of Aristolochic Acid A in Different Organs of Saruma

ZHANG Ping

(Xianyang Vocational Technical College, Shaanxi, Xianyang 712000)

Abstract: By extracting and separating root, stem and leaf of saruma and with the method of High Performance Liquid Chromatography (HPLC), the research aims to assay aristolochic acid A in different organs of saruma, and concludes the following findings: aristolochic acid A mainly exists in the underground root of saruma, while a small amount exists in the over-ground stem of saruma but no aristolochic acid A exists in the leaf of saruma.

Key Words: Saruma, Aristolochic Acid A, High Performance Liquid Chromatography