

丹皮与关木通配伍对马兜铃酸 I 的影响

王 勇, 邓晓春

(深圳大学生命科学学院 深圳市微生物基因工程重点实验室, 广东 深圳 518060)

摘 要:目的 研究马兜铃酸的热稳定性和配伍对关木通煎液中马兜铃酸 I 的影响, 探讨马兜铃酸 I 的配伍减毒机制。方法 HPLC 法测定关木通单煎液、关木通与丹皮共煎液、马兜铃酸 I 对照品单煎液、关木通单煎后药渣和关木通与丹皮共煎后的关木通药渣中的马兜铃酸 I 的量。结果 马兜铃酸 I 在纯水中煎煮后减少, 并在其保留时间前又出现一个色谱峰, 此峰同样出现在关木通煎液中。丹皮与关木通药对共煎液中的马兜铃酸 I 的量低于关木通单煎液, 并且共煎后的关木通残渣中的马兜铃酸 I 也低于单煎后残渣。结论 马兜铃酸 I 在加热的条件下不稳定, 部分生成另外一种物质。丹皮与关木通配伍后没有抑制关木通中马兜铃酸 I 的溶出量, 配伍减少关木通煎液中马兜铃酸 I 的原因是后者溶出后发生了化学变化。

关键词: 关木通; 丹皮; 配伍; 马兜铃酸 I

中图分类号: R286.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)12-1805-03

Effect of compatibility between *Caulis Aristolochiae Manshuriensis* and *Cortex Moutan* on aristolochic acid I

WANG Yong, DENG Xiao-chun

(Shenzhen Key Laboratory of Micro-gene Engineering, College of Life Science, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China)

Abstract: **Objective** To investigate the thermostability of aristolochic acid I and the effect of the compatibility on aristolochic acid I in *Caulis Aristolochiae Manshuriensis* decoction and to explore the detoxification mechanism of compatibility for aristolochic acid I. **Methods** Analyzing the contents of aristolochic acid I by HPLC in the single decoction of *Caulis Aristolochiae Manshuriensis*, the concoction of *Caulis Aristolochiae Manshuriensis* with *Cortex Moutan*, the residues of decocted *Caulis Aristolochiae Manshuriensis* and the residues of concocted *Caulis Aristolochiae Manshuriensis* with *Cortex Moutan*, respectively. **Results** Aristolochic acid I decreased after heating in pure water, a new peak was found in HPLC spectra and supposed to be the derivate of aristolochic acid I, which was also found in the decoction of *Caulis Aristolochiae Manshuriensis*. The content of aristolochic acid I in the concoction of *Cortex Moutan* with *Caulis Aristolochiae Manshuriensis* is lower than that in the single *Caulis Aristolochiae Manshuriensis* decoction. Furthermore, the quantity of aristolochic acid I in the residues of *Caulis Aristolochiae Manshuriensis* after concoction is lower than that in the residues of single *Caulis Aristolochiae Manshuriensis* decoction. **Conclusion** Aristolochic acid I is unstable in decoction and a part of it was changed into another compound. The stripping of aristolochic acid I from *Caulis Aristolochiae Manshuriensis* is not inhibited when *Cortex Moutan* concocted with *Caulis Aristolochiae Manshuriensis*. It is the chemical reaction of aristolochic acid I, which could decrease the toxicity in the decoction or concoction of *Caulis Aristolochiae Manshuriensis*.

Key words: *Caulis Aristolochiae Manshuriensis*; *Cortex Moutan*; compatibility; aristolochic acid I

马兜铃酸的肾毒性问题在临床上已十分清楚^[1,2], 其分子机制亦已探明^[3,4]。但众所周知, 中药的用药特色在于复方配伍, 中医认为中药复方的药性和毒性不等同于单味药和单一化学成分。关木通是马兜铃科植物东北马兜铃 *Aristolochia manshuri-*

ensis Kom. 的干燥藤茎, 是含有马兜铃酸 I 中药的典型代表, 国内学者对关木通的复方配伍化学进行了大量研究, 证明复方配伍可以降低关木通的毒性, 当归、生地、丹皮、附子都可以降低中药复方或药对中马兜铃酸的量, 减少程度与配伍比例有关^[5~7]。有

人认为配伍减毒的机制主要是影响了马兜铃酸 I 的溶出量^[8]。目前对配伍降低马兜铃酸 I 的机制报道较少,国外对复方是否真能降低马兜铃酸的毒性还存在质疑。复方中某种化学成分的减少主要由两个因素决定的:一是配伍是否影响其溶出,二是配伍是否使其发生化学变化^[9]。本实验考察了马兜铃酸的热稳定性,并分析对比关木通单煎及与丹皮共煎后残渣中剩余的马兜铃酸 I 的量,发现马兜铃酸 I 在加热条件下不稳定,部分生成了新化合物,与丹皮或丹皮酚共煎都可以促进马兜铃酸的化学反应。该结果可为该类中药的安全合理用药提供参考。

1 仪器与试剂

EYELA N-1001 型旋转蒸发仪,Agilent1100 型高效液相色谱(带有二极管阵列检测器,自动进样装置),Milli-Q 纯水机(美国 Milli-pore 公司)。

马兜铃酸 I 对照品购于中国药品生物制品检定所(批号110746-200305)。关木通购自安国中药材市场,丹皮购自深圳二天堂大药房,均经过笔者鉴定。

甲醇为色谱纯,冰醋酸、氯仿、无水乙醇、盐酸均为分析纯,水为 Milli-Q 高纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱为 Prevail ODS C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水-冰醋酸(70:29:1);体积流量为 1.0 mL/min;柱温:室温;检测波长为 315 nm;进样量为 10 μL。

2.2 马兜铃酸 I 煎煮液的制备:取马兜铃酸 I 对照品 2.3 mg 于 100 mL pH 2 水中,用氯仿萃取 3 次,每次加氯仿 30 mL,最后定容到 100 mL 量瓶中。另取马兜铃酸 I 对照品 2.3 mg 于 100 mL 水中,加热煎煮 40 min,最后定容到 100 mL 量瓶中。取马兜铃酸 I 对照品 2.7 mg 和丹皮药材 8 g 共煎,定容至 100 mL,加入 400 mL 无水乙醇,滤过蒸干,加入 pH 2 水溶液 100 mL,振荡溶解,用氯仿萃取 3 次,每次加氯仿 30 mL,最后定容到 100 mL 量瓶中。

2.3 关木通煎煮液的制备:取 5 g 关木通加水煎煮完全后,加乙醇沉淀除去多糖,滤过浓缩至干,加入 pH 2 水溶液 100 mL,振荡溶解,用氯仿萃取 3 次,每次加氯仿 30 mL,最后定容到 100 mL 量瓶中。取 5 g 丹皮或 1 mg 丹皮酚与 5 g 关木通共煎完全后,按照以上操作,即得。

2.4 关木通残渣中马兜铃酸提取液的制备:煎煮后的关木通残渣用 70% 甲醇 200 mL 浸泡过夜,超声提取 1 h,重复 3 次后合并滤液,浓缩定容到 100 mL 量瓶,即得。

2.5 线性关系的考察:取马兜铃酸 I 对照品 1.00 mg,加适量甲醇溶解后定容于 10 mL 量瓶,摇匀。分别精密吸取 0.5、1、2、4 mL 于 50 mL 量瓶中,加甲醇稀释到刻度。精密吸取 1.4 mL 定容于 10 mL 量瓶,进样 HPLC 测定。以峰面积为纵坐标,马兜铃酸 I 的质量浓度为横坐标绘制标准曲线。结果马兜铃酸 I 在 0.27~3.78 μg/mL 与峰面积有良好的线性关系,回归方程为 $Y=22.302X+0.6496$, $r=0.9994$ 。

2.6 关木通甲醇提取液和煎煮液中的马兜铃酸的分析:结果见表 1。关木通甲醇提取液中马兜铃酸 I 为主要成分,在关木通单煎液和关木通与丹皮共煎液中的马兜铃酸明显降低,这与文献报道一致^[6]。但值得注意的是,在这两种煎煮液中除了马兜铃酸 I 的量降低外,马兜铃酸 I 出现了一个相邻的色谱峰,此峰在关木通甲醇提取液中并没有出现,本实验条件下未完全分开。由于它与马兜铃酸 I 的保留时间接近,因此推测它们结构相近,新观察到的化合物有可能是在煎煮关木通的过程中马兜铃酸 I 发生化学变化所衍生的类似物。

表 1 不同体系中马兜铃酸 I 的比较

Table 1 Comparison of aristolochia acid I in different systems

体 系	马兜铃酸 I / (μg · mL ⁻¹)
关木通甲醇提取液	33.7
关木通单煎液	17.7
关木通单煎后残渣	26.9
关木通与丹皮共煎液	14.3
关木通与丹皮酚共煎液	10.4
关木通与丹皮共煎后残渣	11.4

为进一步确定以上假设,实验在纯水中煎煮马兜铃酸 I 后对产物进行分析。

2.7 马兜铃酸 I 对照品煎煮后的变化:结果见图 1。马兜铃酸 I 煎煮后同样观察到了肩峰的现象,说明马兜铃酸 I 在纯水中煎煮不稳定,发生化学变化生成了一种新的物质。进一步将马兜铃酸 I 和丹皮共煎后进行分析,发现了同样的色谱峰,并且马兜铃酸 I 的量降低更为显著,说明配伍确实导致马兜铃酸 I 发生化学变化,从而使其量降低,达到减毒增效的目的。此外,实验分别在 pH 1 和 pOH 1 的酸碱溶液中煎煮了 5 g 关木通,提取分离后检测不到任何马兜铃酸,说明在强酸或强碱的条件下马兜铃酸全部被破坏,这也进一步验证了马兜铃酸结构的不稳定性,在弱酸和弱碱条件下煎煮马兜铃酸的量下降不如在极端条件下明显。

2.8 关木通残渣中的马兜铃酸的分析:为考察配伍

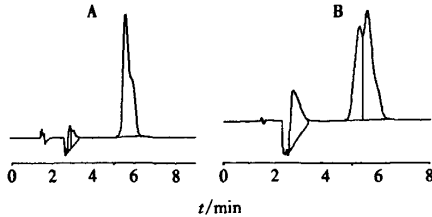


图1 马兜铃酸I对照品煎煮前(A)、后(B)的HPLC图谱比较

Fig. 1 HPLC Chromatograms of aristolochia acid I reference substance without (A) and after (B) decoction

对马兜铃酸溶出的影响,实验对单煎以及丹皮共煎后关木通残渣中的马兜铃酸进行了分析,结果见表1。如果配伍后丹皮能够抑制马兜铃酸的溶出,则在共煎后残渣中应该检测到比单煎残渣更多的马兜铃酸,但结果恰恰相反:关木通甲醇提取液中马兜铃酸的量最高,为33.7 $\mu\text{g/mL}$,关木通单煎后残渣中剩余的马兜铃酸I的量为26.9 $\mu\text{g/mL}$,而关木通与丹皮共煎后残渣中马兜铃酸I为11.4 $\mu\text{g/mL}$,此结果不仅说明煎煮3次之后还有一半以上马兜铃酸残留在药材组织中,也提示关木通配伍丹皮后马兜铃酸的溶出量增加,因而在药渣中残留的马兜铃酸的量减少,而之所以关木通与丹皮共煎液中马兜铃酸I的量(14.3 $\mu\text{g/mL}$)低于关木通单煎液(17.7 $\mu\text{g/mL}$)的原因是溶出后的马兜铃酸I发生了化学反应。马兜铃酸I在酸、碱条件下皆不稳定,所以推测复方能够降低马兜铃酸I的原因可能在于提供了适宜的反应条件或反应物。由于丹皮酚是丹皮的主要成分,因此实验用丹皮酚与关木通共煎验证其是否有助于马兜铃酸的化学反应,结果表明加入丹皮酚后马兜铃酸的量从单煎液中的17.7 $\mu\text{g/mL}$ 变为

10.4 $\mu\text{g/mL}$,丹皮酚确有助于减少煎煮液中的马兜铃酸的量,这也为马兜铃酸能够通过合理配伍减小毒性提供了更可信的物质基础。

3 讨论

本实验以关木通药对为体系验证了中药配伍能够降低马兜铃酸的毒性,并进行了马兜铃酸配伍减毒机制的研究。对丹皮和关木通共煎后药渣中马兜铃酸的分析表明丹皮不抑制马兜铃酸的溶出,煎煮液中马兜铃酸的量远低于甲醇提取液的原因是马兜铃酸I溶出不完全以及溶出后发生了化学反应,丹皮酚有助于化学反应的发生,本研究在一定程度上为马兜铃属中药提供了新的配伍减毒物质基础。

参考文献:

- [1] Nortier J L, van Herweghem J L. Renal interstitial fibrosis and urothelial carcinoma associated with the use of a Chinese herb (*Aristolochia fangchi*) [J]. *Toxicology*, 2002, 181: 577-580.
- [2] Ioset J R, Raelisona G E, Hostettmann K. Detection of aristolochic acid in Chinese phytomedicines and dietary supplements used as slimming regimens [J]. *Food Chem Toxicol*, 2003, 41: 29-36.
- [3] Hu S L, Zhang H Q, Chan K, et al. Studies on the toxicity of *Aristolochia manshuriensis* (Ganmutong) [J]. *Toxicology*, 2004, 198: 195-201.
- [4] Arlt V M, Pfohl-Leschowicz A, Cosyns J P, et al. Analyses of DNA adducts formed by ochratoxin A and aristolochic acid in patients with Chinese herbs nephropathy [J]. *Mutat Res*, 2001, 494: 143-150.
- [5] 张金莲, 张凤, 喻松仁. 关木通配伍减毒研究进展[J]. 江西中医学院学报, 2006, 18(6): 74-76.
- [6] 张岩, 刘养清, 赵慧辉. 中药配伍对关木通中马兜铃酸A含量的影响[J]. 天津药学, 2005, 17(4): 3-6.
- [7] 马红梅, 郭俊华, 戚爱球, 等. 炮附子对关木通减毒作用的初步研究[J]. 中草药, 2002, 33(4): 319-320.
- [8] 李春香, 丁里玉, 李国川, 等. 配伍减低关木通中马兜铃酸A溶出量的研究[J]. 河北医科大学学报, 2006, 27(5): 354-357.
- [9] 王勇, 石磊, 金东明, 等. 四逆汤煎煮过程中的溶出和水解平衡[J]. 中草药, 2003, 34(4): 311-314.

雪上一枝蒿控释涂膜剂的制备研究

赵颖^{1,3}, 林亚平^{2*}, 新风云³, 彭小冰³

(1. 重庆邮电大学生物信息学院, 重庆 400065; 2. 贵州省食品药品监督管理局, 贵州 贵阳 550004;

3. 贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550002)

摘要:目的 用均匀设计结合释放模型分析, 探讨雪上一枝蒿涂膜剂的最佳制剂工艺条件。方法 以制剂成型性指标和累积释药率评分为指标, 采用均匀设计法考察药物、PVA、甘油、氮酮用量对制剂外观质量及释放药物性能

收稿日期: 2008-03-03

基金项目: 贵州省跨世纪科技人才工程专项资金课题[黔科合人专字(2000)9812号]

作者简介: 赵颖(1980-), 女, 贵州安顺人, 讲师, 上海中医药大学在读博士, 主要从事中药新剂型的研究及中药新药开发。

Tel: (023)62467659 E-mail: zhaoying1997@163.com

* 通讯作者 林亚平