

· 药剂与炮制 ·

## 附子不同炮制品对麻黄细辛附子汤煎剂质量的影响

邱丽丽<sup>1,2</sup>, 李灿<sup>1</sup>, 范珊珊<sup>1</sup>, 韩旭<sup>1</sup>, 杨勇<sup>1</sup>, 容蓉<sup>1\*</sup>

(1. 山东中医药大学山东省经方研究重点实验室, 中医药抗病毒协同创新中心, 济南 250355;  
2. 胜利油田中心医院, 山东 东营 257034)

**[摘要]** **目的:**比较不同附子炮制品制备所得麻黄细辛附子汤(MXF)的质量差异,探析经方中炮制品规格选用的科学性。**方法:**采用临床常用的5种附子炮制品规格分别制备MXF煎剂,选取MXF中具有效毒二重性的化学成分为评价指标,考察不同附子炮制品对MXF煎剂中效毒成分含量的影响。**结果:**建立了MXF中13种指标成分的含量测定方法。采用多元统计分析筛选出区别附子不同炮制品制备所得煎剂的指标性成分有卡枯醇、甲基丁香酚、细辛脂素、新乌头碱、次乌头碱和乌头碱。与附子的其他炮制品规格相比,炒附片制备所得煎剂中,双酯型生物碱类成分的含量较低但其单酯型生物碱类成分的含量最高。**结论:**附子不同炮制品制备所得MXF煎剂中效毒成分的含量存在较大差异,可为经方的古为今用提供参考。

**[关键词]** 麻黄细辛附子汤; 附子; 炮制品; 效毒成分; 煎剂; 双酯型生物碱; 麻黄生物碱

**[中图分类号]** R22;R289;R283;R284;R943.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)10-0001-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20181002

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180309.1059.047.html>

**[网络出版时间]** 2018-03-09 16:21

## Effect of Different Processed Products of Aconiti Lateralis Radix Praeparata on Quality of Mahuang Xixin Fuzitang

QIU Li-li<sup>1,2</sup>, LI Can<sup>1</sup>, FAN Shan-shan<sup>1</sup>, HAN Xu<sup>1</sup>, YANG Yong<sup>1</sup>, RONG Rong<sup>1\*</sup>

(1. Collaborative Innovation Center of Antivirus of Traditional Chinese Medicine (TCM), Shandong Key Laboratory of Classic Chinese Materia Medica Recipe, Shandong University of TCM, Ji'nan 250355, China;  
2. Shengli Oilfield Central Hospital, Dongying 257034, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the quality difference between Mahuang Xixin Fuzitang (MXF) prepared by different processed products of Aconiti Lateralis Radix Praeparata for exploring the scientificity of selection of processed products specification in classic Chinese materia medica recipe. **Method:** By taking effect-toxic components in MXF as evaluation indexes, this article investigated MXF decoction prepared by five different processed products of Aconiti Lateralis Radix Praeparata from the quantitative determination of effect-toxic components in MXF. **Result:** After multivariate statistical analysis, six characteristic constituents were identified as kakuol, methyl eugenol, asarinin, mesaconitine (MA), hyaconitine (HA) and aconitine (AC), respectively. Compared with other processed products, the processed product prepared by stir-frying had the lower content of diester alkaloids and the highest level of monoester alkaloids. **Conclusion:** There are differences on the content of effect-toxic components in MXF prepared by different processed products of Aconiti Lateralis Radix Praeparata, which can provide a reference for making the past serve the present of classic Chinese materia medica

**[收稿日期]** 20171104(006)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81774167);山东省重点产业关键技术创新工程项目(2016CYJS08A01-5)

**[第一作者]** 邱丽丽,在读博士,主管药师,从事中药及复方活性成分与质量控制和中药临床药学研究,Tel:0546-8770114,E-mail:qiulili\_hospital@126.com

**[通信作者]** \*容蓉,博士,教授,从事中药及复方活性成分与质量控制研究,Tel:0531-89628085,E-mail:rosierong@163.com

recipe.

[Key words] Mahuang Xixin Fuzitang; Aconiti Lateralis Radix Praeparata; processed products; effect-toxic components; decoction; diester alkaloids; alkalioids in Ephedrae Herba

中药炮制是中医长期临床用药经验的总结,选用不同中药炮制品规格会直接影响临床疗效。古代的中医医家多为“上山采药、下山行医”和“前店后厂”模式,可根据自己的临床需求进行中药炮制,并通过验证疗效对炮制方法进行改进,医药结合促进了中药炮制学的发展。随着现代社会发展和行业分工的细化,致使中医和中药分离愈加严重。麻黄细辛附子汤出自《伤寒论》301 条<sup>[1]</sup>:“少阴病,始得之,反发热脉沉者,麻黄细辛附子汤主之”,由麻黄、细辛、附子 3 味药组成,主治太阳少阴两感证<sup>[2-4]</sup>。其中,附子为毛茛科植物乌头的子根的加工品<sup>[5]</sup>,2015 年版《中国药典》收录了炮附片、黑顺片、淡附片和白附片 4 种炮制品规格。但根据文献考证,《伤寒论》中所用的附子为炒附片<sup>[6]</sup>,该炮制品规格虽然在 2015 年版《中国药典》并未收录<sup>[7-8]</sup>,但已增录进入 2015 年版《四川省中药饮片炮制规范》。经方所选用的附子炮制品规格较之其他炮制品规格所制备的复方汤剂质量是否存在差异尚未见报道。

本实验参照《伤寒论》的煎煮方法,选取临床常用的不同炮制规格附子(炮附片、黑顺片、淡附片、白附片、炒附片)为研究对象,分别制备麻黄细辛附子汤,选取麻黄细辛附子汤中具有有效毒二重性的化学成分为评价指标,通过测定上述成分在煎液中含量,从效毒成分含量的角度研究附子不同炮制品规格对麻黄细辛附子汤煎剂质量的影响,为经典名方的古为今用提供参考。

## 1 材料

1260 型高效液相色谱仪和 6420 型 Triple Quad LC/MS 系统(美国 Agilent 公司),DW-HL668 型超低温冰箱(中科美菱低温科技有限责任公司),LGJ-18A 型冷冻干燥机(北京四环科学仪器厂有限公司),AE240 型 1/10 万电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),NJ08818 型涡旋仪(美国 Benchmark Scientific 公司)。

麻黄、细辛饮片(安徽协和成药业饮片有限公司,批号分别为 17022808 和 17021707)和黑顺片、淡附片、白附片、炮附片、炒附片(四川江油中坝附子科技发展有限公司,批号分别为 151006,151006,160901,160901,161201)均经山东中医药大学李峰教授鉴定,麻黄为麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica*

的干燥草质茎,细辛为马兜铃科植物北细辛 *Asarum heterotropoides* var. *mandshuricum* 的干燥根和根茎,附子 5 种炮制品均为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* 的子根加工品,按 2015 年版《中国药典》相关项下要求检查,均符合规定。盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、盐酸甲基麻黄碱、甲基丁香酚、细辛脂素、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、新乌头碱、苯甲酰次乌头原碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 0714-9903,171213-200807,171247-200301,111642-200301,111889-201504,111795-201303,111794-201304,110799-201307,111796-201304,纯度均 >99%),卡枯醇、芝麻脂素、乌头碱、次乌头碱对照品(武汉天植生物技术有限公司,批号分别为 CFS201601,CFS201601,CFN99915,CFN99200,纯度均 >98%),水为娃哈哈纯净水,甲醇、乙腈、甲酸和磷酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法和结果

**2.1 煎剂的制备** 参照《伤寒论》的煎煮方法“以水一斗,先煮麻黄,减二升,去上沫,内诸药,煮取三升,去滓,温服一升,日三服”<sup>[9]</sup>。精密称取同一批次麻黄 15 g,共 5 份,加水 1 L,浸泡 30 min。武火煎煮浓缩至 800 mL,去上沫,分别加细辛 15.0 g 和附子 7.5 g 后调文火,保持微沸,浓缩至 300 mL,将浓缩液置于 -80 °C 冰箱冻至块状后,再置于冷冻干燥器中干燥成粉末状,加水溶解并定容至 50 mL。附子分别以黑顺片、淡附片、白附片、炮附片和炒附片加入,按上述方法和条件分别制备煎液,分别得 MXF(黑),MXF(淡),MXF(白),MXF(炮)和 MXF(炒)的浓缩药液,药液质量浓度相当于复方生药材 0.75 g·mL<sup>-1</sup>。

**2.2 供试品溶液的制备** 精密吸取 2.1 项下的 5 种浓缩药液各 100 μL,分别精密加入 0.2% 磷酸水 100 μL,涡旋 10 min,35 °C 氮气吹干。残渣分别精密加入 0.2% 磷酸水溶液 1 mL 使溶解,涡旋 5 min,离心 10 min(转速 13 000 r·min<sup>-1</sup>,下同),取上清液经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,精密吸取滤液 200 μL,加初始流动相 0.2% 磷酸水溶液-乙腈(96:4)定容至 1 mL,作为测定盐酸麻黄碱(E),盐酸伪麻黄碱(PE),盐酸甲基麻黄碱(ME)的供试品溶液 M

(黑), M(淡), M(白), M(炮)和 M(炒), 置于 4 °C 冰箱避光保存。

精密吸取 2.1 项下的 5 种浓缩药液各 500  $\mu\text{L}$ , 加乙腈稀释并定容至 1 mL, 涡旋 3 min, 离心 5 min, 取上清液经 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 作为测定卡枯醇、甲基丁香酚、芝麻脂素、细辛脂素的供试品溶液 X(黑), X(淡), X(白), X(炮)和 X(炒), 置于 4 °C 冰箱避光保存。

精密吸取 2.1 项下的 5 种浓缩药液 100  $\mu\text{L}$ , 精密加入氨水 100  $\mu\text{L}$ , 涡旋 5 min, 35 °C 氮气吹干; 残渣分别精密加入初始流动相[0.1% 甲酸乙腈溶液-0.1% 甲酸水溶液 (20:80)] 1 mL 使溶解, 涡旋 5 min, 离心 10 min, 取上清液经 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 作为测定苯甲酰新乌头原碱(BMA), 苯甲酰乌头原碱(BAC), 苯甲酰次乌头原碱(BHA), 新乌头碱(MA), 次乌头碱(HA), 乌头碱(AC)的供试品溶液 F(黑), F(淡), F(白), F(炮)和 F(炒), 置于 4 °C 冰箱避光保存。

**2.3 对照品溶液的制备** 称取 E, PE, ME 对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成质量浓度分别为 70.06, 41.25, 12.17  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的对照品储备溶液; 精密吸取上述对照品溶液适量, 置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 制成质量浓度分别为 280.24, 164.98, 24.34  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的混合对照品 I 溶液, 置于 4 °C 冰箱避光保存。

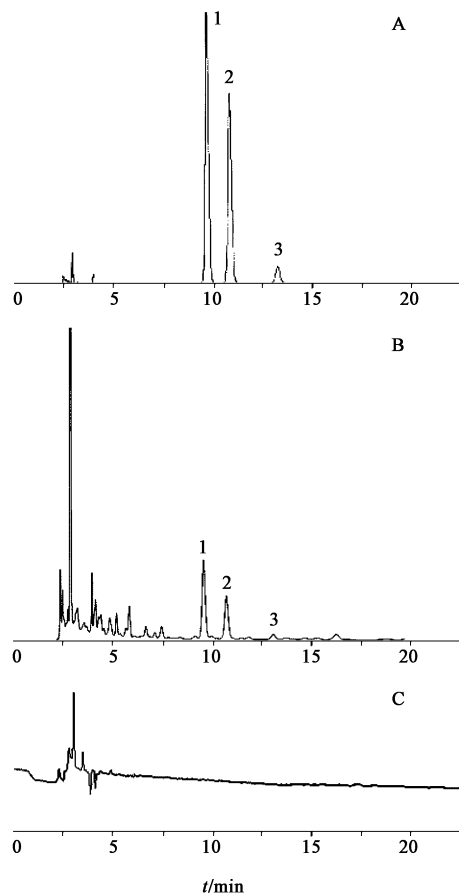
称取卡枯醇、甲基丁香酚、芝麻脂素、细辛脂素对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成质量浓度分别为 2.24, 2.00, 2.20, 1.84  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的对照品储备溶液; 精密吸取上述对照品溶液适量, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 制成质量浓度分别为 54.320, 0.064, 23.100, 594.320  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的混合对照品 II 溶液, 置于 4 °C 冰箱避光保存。

称取 BMA, BAC, BHA, MA, HA, AC 对照品适量, 精密称定, 加初始流动相[0.1% 甲酸乙腈溶液-0.1% 甲酸水溶液 (20:80)] 制成质量浓度分别为 14.000, 0.900, 12.000, 0.012, 0.101, 0.014  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的对照品储备溶液。精密吸取上述对照品溶液适量, 置于 50 mL 量瓶中, 加上述初始流动相稀释至刻度, 制成质量浓度分别为 28.000, 1.800, 24.000, 0.024, 0.201, 0.028  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的混合对照品 III 溶液, 置于 4 °C 冰箱避光保存。

## 2.4 检测条件

**2.4.1** E, PE 和 ME ZORBAX SB-Phenyl 色谱柱 (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), 流动相 0.2% 磷酸水溶

液-乙腈 (96:4), 流速设定 1.0  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 检测波长 210 nm, 柱温 35 °C, 进样量 10  $\mu\text{L}$ 。见图 1。



A. 混合对照品 I; B. 供试品; C. 阴性样品; 1. 盐酸麻黄碱; 2. 盐酸伪麻黄碱; 3. 盐酸甲基麻黄碱

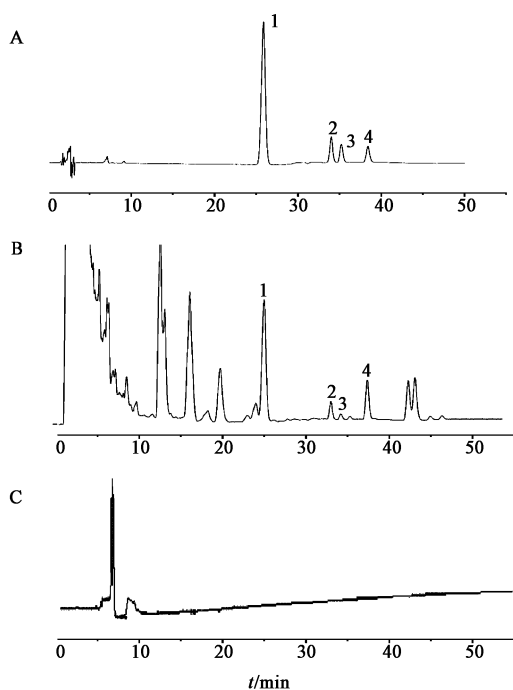
图 1 M(黑)样品的 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of sample M (black)

## 2.4.2 卡枯醇、甲基丁香酚、芝麻脂素和细辛脂素

Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), 流动相水 (A)-乙腈 (B) 梯度洗脱 (0 ~ 10 min, 20% ~ 25% B; 10 ~ 25 min, 25% ~ 35% B; 25 ~ 30 min, 35% ~ 45% B; 30 ~ 45 min, 45% ~ 55% B; 45 ~ 65 min, 55% B; 65 ~ 70 min, 55% ~ 100% B), 梯度流速 (0 ~ 30 min, 1.0  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ; 30 ~ 65 min, 0.8  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ; 65 ~ 70 min, 1.0  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ), 检测波长 230 nm, 柱温 30 °C, 进样量 40  $\mu\text{L}$ 。见图 2。

**2.4.3** BMA, BAC, BHA, MA, HA 和 AC 色谱条件为 Eclipse Plus C<sub>18</sub> 色谱柱 (2.1 mm  $\times$  150 mm, 3.5  $\mu\text{m}$ ), 流动相 0.1% 甲酸水溶液 (A)-0.1% 甲酸乙腈溶液 (B) 梯度洗脱 (0 ~ 10 min, 20% ~ 26% B; 10 ~ 12.5 min, 26% ~ 35% B; 12.5 ~ 27.5 min, 35% B; 27.5 ~ 30 min, 35% ~ 50% B), 流速 0.2  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 检测波长 235 nm, 柱温 30 °C, 进样



A. 混合对照品 II; B. 供试品; C. 阴性样品; 1. 卡枯醇; 2. 甲基丁香酚; 3. 芝麻脂素; 4. 细辛脂素

图 2 X(黑)样品的 HPLC

Fig. 2 HPLC chromatograms of sample X (black)

量 4  $\mu\text{L}$ 。质谱条件为电喷雾电离离子源 (ESI), 正离子检测模式, 扫描范围  $m/z$  400 ~ 700, 干燥气温度 350  $^{\circ}\text{C}$ , 干燥气流速 10  $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ , 雾化器压力设定 345 kPa, 毛细管电压 4 kV, 采用多重反应监测模式 (MRM), 6 种乌头碱型生物碱化合物的质谱分析条件参数见表 1。见图 3。

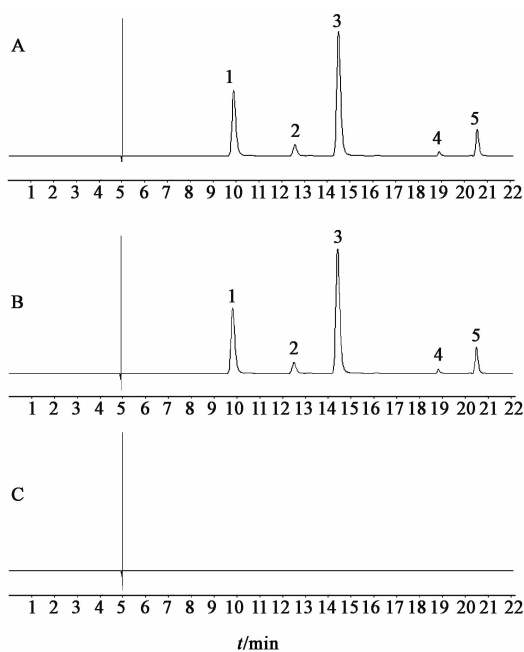
表 1 麻黄细辛附子汤中 6 种乌头碱型生物碱化合物的主要质谱检测参数

Table 1 Main mass spectrometry parameters of six aconitine alkaloids in Mahuang Xixin Fuzitang

化合物	母离子 $m/z$	子离子 $m/z$	裂解电压 /V	碰撞能量 /eV
苯甲酰新乌头原碱	590.2	540.2	230	36
苯甲酰乌头原碱	604.2	554.1	240	38
苯甲酰次乌头原碱	574.2	542.2	220	35
新乌头碱	632.2	572.2	220	32
次乌头碱	616.2	556.1	220	32
乌头碱	646.2	586.1	230	32

## 2.5 方法学考察

**2.5.1 线性关系考察** 分别精密吸取 2.3 项下混合对照品 I 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 得系列



A. 混合对照品 III; B. 供试品; C. 阴性样品; 1. 苯甲酰新乌头原碱; 2. 苯甲酰乌头原碱; 3. 苯甲酰次乌头原碱; 4. 新乌头碱; 5. 次乌头碱、乌头碱 (两者保留时间基本相同)

图 3 F(黑)样品的 LC-MS/MS

Fig. 3 LC-MS/MS chromatograms of sample F (black)

混合对照品 I 稀释液。精密吸取上述系列混合对照品 I 稀释液各 10  $\mu\text{L}$ , 按 2.4.1 项下色谱条件测定, 以待测成分峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标, 得 E, PE, ME 的回归方程分别为  $Y = 1966.6X + 0.3095 (r = 0.9999)$ ,  $Y = 2605.6X - 0.0655 (r = 0.9998)$ ,  $Y = 1937.8X + 0.4164 (r = 0.9995)$ , 线性范围分别为 0.056 ~ 0.841, 0.033 ~ 0.495, 0.005 ~ 0.073  $\mu\text{g}$ 。

分别精密吸取 2.3 项下混合对照品 II 溶液 5, 10, 20, 30, 40, 50  $\mu\text{L}$ , 按 2.4.2 项下色谱条件分析, 以待测成分峰面积对其进样量进行线性回归, 得甲基丁香酚、卡枯醇、芝麻脂素及细辛脂素的回归方程分别为  $Y = 3099.3X - 31.847 (r = 0.9997)$ ,  $Y = 3277.1X - 47.599 (r = 0.9998)$ ,  $Y = 1058.6X + 1.116 (r = 0.9999)$ ,  $Y = 1926.7X - 84.339 (r = 0.9999)$ , 线性范围分别为 0.32 ~ 3.20 ng 和 0.272 ~ 2.720, 0.116 ~ 1.155, 2.972 ~ 29.716  $\mu\text{g}$ 。

分别精密吸取 2.3 项下混合对照品 III 溶液适量, 稀释成 6 组不同质量浓度的系列混合对照品溶液, 每个梯度质量浓度进样 4  $\mu\text{L}$ , 按 2.4.3 项下条件测定, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得 BMA, BAC, BHA, MA, HA, AC 回归方程分别为  $Y = 49.12X + 794.35 (r = 0.9998)$ ,  $Y = 61.75X - 365.59$

( $r = 0.9995$ ),  $Y = 159.72X - 345.72$  ( $r = 0.9996$ ),  
 $Y = 213.95X + 4.85$  ( $r = 0.9997$ ),  $Y = 146.22X - 26.86$  ( $r = 0.9994$ ),  $Y = 134.38X + 5.00$  ( $r = 0.9995$ ), 线性范围分别为 350.00 ~ 2 800.00, 22.51 ~ 180.08, 30.00 ~ 239.94, 0.150 ~ 1.500, 1.256 ~ 12.560, 0.175 ~ 1.750  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

**2.5.2 精密度试验** 精密吸取混合对照品 I, II, III 稀释溶液, 分别按 2.4 项下色谱条件连续进样 6 次, 计算 E, PE, ME, 卡枯醇, 甲基丁香酚, 芝麻脂素, 细辛脂素, BMA, BAC, BHA, MA, HA, AC 峰面积的 RSD 均 < 1.0%, 说明仪器精密度良好。

**2.5.3 稳定性试验** 取 2.2 项下同一供试品溶液 M(黑), X(黑), F(黑), 按 2.4 项下色谱条件分别于 0, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样, 计算 E, PE, ME, 卡枯醇, 甲基丁香酚, 芝麻脂素, 细辛脂素, BMA, BAC, BHA, MA, HA, AC 峰面积的 RSD 均 < 3.0%, 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

**2.5.4 重复性试验** 取 2.1 项下同一样品溶液 MXF(黑), 分别按 2.2 项下方法制备供试品溶液 M

(黑), X(黑), F(黑), 各 6 份, 分别按 2.4 项下色谱条件测定, 结果 E, PE, ME, 卡枯醇, 甲基丁香酚, 芝麻脂素, 细辛脂素, BMA, BAC, BHA, MA, HA, AC 平均质量分数的 RSD 均 < 4.0%, 表明该方法重复性良好。

**2.5.5 加样回收试验** 取 2.1 项下已知含量的同一样品溶液 MXF(黑) 共 18 份, 等分成 3 组, 分别精密加入混合对照品 I, II, III 溶液适量, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液 M(黑), X(黑), F(黑) 各 6 份, 分别按 2.4 项下色谱条件测定, 结果 E, PE, ME, 卡枯醇, 甲基丁香酚, 芝麻脂素, 细辛脂素, BMA, BAC, BHA, MA, HA, AC 的平均回收率分别为 99.1%, 99.6%, 100.8%, 97.7%, 98.6%, 97.6%, 99.7%, 101.1%, 102.4%, 100.68%, 99.8%, 97.2%, 98.5%, RSD 均 < 3.5%, 表明该方法准确度良好。

**2.6 样品的测定** 取 M(黑), M(淡), M(白), M(炮), M(炒), X(黑), X(淡), X(白), X(炮), X(炒), F(黑), F(淡), F(白), F(炮), F(炒) 各 3 份, 分别按 2.4 项下色谱条件测定, 结果见表 2。

表 2 附子不同炮制品制备的 MXF 样品中指标成分的含量 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 2 Contents of tested components in samples of MXF prepared by different processed products of Aconiti Lateralis Radix Praeparata ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

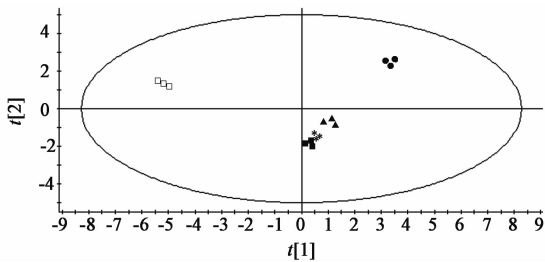
样品	盐酸麻黄碱 / $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	盐酸伪麻黄碱 / $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	盐酸甲基麻黄碱 / $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	卡枯醇 / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	甲基丁香酚 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	芝麻脂素 / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	细辛脂素 / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
MXF(黑)	1.326 ± 0.011	0.436 ± 0.003	0.110 ± 0.010	49.590 ± 0.520	35.671 ± 0.164	47.790 ± 0.859	65.223 ± 3.762
MXF(淡)	1.284 ± 0.010	0.434 ± 0.003	0.110 ± 0.009	50.895 ± 0.122	23.479 ± 0.006	54.810 ± 0.715	73.934 ± 0.884
MXF(白)	1.235 ± 0.001	0.441 ± 0.003	0.092 ± 0.008	43.719 ± 0.146	32.093 ± 0.289	38.909 ± 0.968	55.368 ± 0.407
MXF(炮)	1.352 ± 0.011	0.463 ± 0.004	0.110 ± 0.009	49.279 ± 0.264	45.904 ± 0.035	44.780 ± 1.015	58.862 ± 2.262
MXF(炒)	0.694 ± 0.009	0.219 ± 0.008	0.067 ± 0.009	50.444 ± 0.199	57.379 ± 0.390	37.138 ± 0.345	50.235 ± 0.498

样品	苯甲酰新乌头 原碱/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	苯甲酰乌头原碱 / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	苯甲酰次乌头 原碱/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	新乌头碱 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	次乌头碱 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	乌头碱 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
MXF(黑)	5.175 ± 0.080	0.793 ± 0.017	1.441 ± 0.018	5.662 ± 0.888	409.384 ± 5.012	5.358 ± 0.298
MXF(淡)	5.839 ± 0.040	0.709 ± 0.010	0.957 ± 0.002	87.028 ± 0.684	1 118.375 ± 3.183	42.211 ± 0.836
MXF(白)	4.768 ± 0.197	0.625 ± 0.023	1.092 ± 0.042	14.076 ± 2.103	592.349 ± 4.520	10.902 ± 1.005
MXF(炮)	4.634 ± 0.142	0.683 ± 0.029	1.581 ± 0.007	-	13.771 ± 1.197	-
MXF(炒)	37.563 ± 0.974	4.164 ± 0.137	17.403 ± 0.046	3.956 ± 0.210	124.631 ± 0.923	2.195 ± 0.037

**2.7 数据统计** 将表 2 中数据导入 SIMCA-P 11.0 进行无监督的主成分分析 (PCA) 和监督的偏最小二乘法-判别分析 (PLS-DA), 寻找指标性成分, 见图 4。该模型的  $R^2X = 0.997$ ,  $Q^2 = 0.968$ , 说明该模型稳定可靠, 5 种附子炮制品制备所得煎剂中剧毒成分溶出度能明显区分。

在 5 组数据的 PLS-DA 结果中, 所建模型对自变量的拟合能力指数 ( $R^2X$ ) = 0.99, 说明模型对自变量的拟合能力良好; 对因变量的拟合能力指数 ( $R^2Y$ ) = 0.993, 说明模型对因变量的拟合能力良好;  $Q^2 = 0.917$  (该值越大表示模型的预测能力越强), 提示模型分类结果可靠, 结果见图 5, 说明 5



▲. 黑顺片; ●. 淡附片; \* . 白附片; ■. 炮附片; □. 炒附片(图 5 同)

图 4 附子不同炮制品制备的 MXF 样品中效毒成分含量的 PCA  
Fig. 4 PCA for distinguishing content of effect-toxic components in MXF prepared by different processed products of Aconiti Lateralis Radix Praeparata

种附子炮制品制备所得煎剂中效毒成分溶出度能明显区分。采用排列试验进行外部模型验证, 设定  $Y$  变量的随机排列数为 50 次, 观察与原始  $Y$  变量模型之间的差异, 并对随机化产生的  $R^2$  及  $Q^2$  与原始累积的  $R^2$  及  $Q^2$  进行回归, 见图 6。结果显示  $R^2$  及  $Q^2$  的斜率较大, 与  $Y$  轴截距分别为 0.201, -0.547, 提示外部模型预测能力好, 模型质量好, 可以作为后续模型指标性成分寻找的前提。变量投影重要性 (VIP) 值用来描述自变量对因变量的解释能力, VIP 值越大, 自变量  $X$  对  $Y$  的解释能力越强。用 VIP 值  $> 1$  的变量建立不同煎煮方法所得煎剂中各类成分的 PLS 回归模型, 分析所测各成分与 5 种附子炮制品制备所得煎剂的相关性。结果发现 VIP 值  $> 1$  的指标性成分有卡枯醇, 甲基丁香酚, 细辛脂素, MA, HA 和 AC, 见图 7。

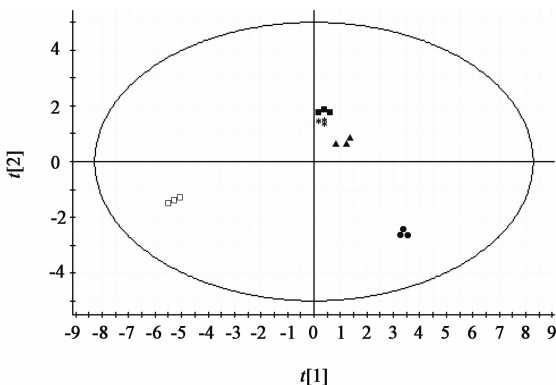


图 5 附子不同炮制品制备的 MXF 样品中效毒成分含量的 PLS-DA  
Fig. 5 PLS-DA of content of effect-toxic components in MXF prepared by different processed products of Aconiti Lateralis Radix Praeparata

### 3 讨论

现代药理研究表明<sup>[10]</sup>, 附子具有明显的心脏和神经毒性, 因炮制能降低附子毒性, 故临床应用附子

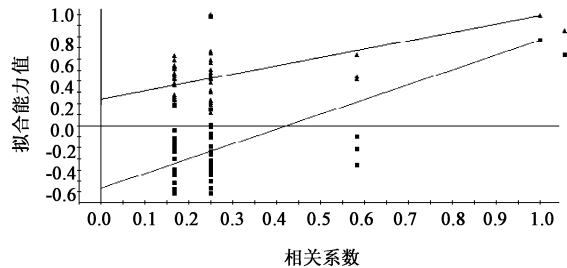


图 6 附子不同炮制品制备的 MXF 样品的预测模型

Fig. 6 Prediction model of MXF prepared by different processed products of Aconiti Lateralis Radix Praeparata

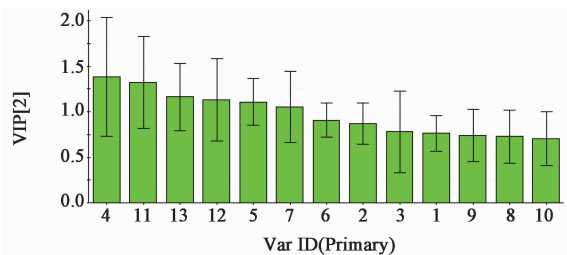


图 7 附子不同炮制品制备的 MXF 样品中指标性成分的 VIP ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

1. 盐酸麻黄碱; 2. 盐酸伪麻黄碱; 3. 盐酸甲基麻黄碱; 4. 卡枯醇; 5. 甲基丁香酚; 6. 芝麻脂素; 7. 细辛脂素; 8. 苯甲酰新乌头原碱; 9. 苯甲酰乌头原碱; 10. 苯甲酰次乌头原碱; 11. 新乌头碱; 12. 乌头碱; 13. 次乌头碱

多使用炮制品。自汉代以来, 附子炮制方法炮、煨、黑豆制、密制、姜制等均有使用, 因附子采收后极易腐烂, 明清时期开始采用胆巴溶液腌制防腐<sup>[11-13]</sup>。2015 年版《中国药典》收录的 4 种附子炮制品规格 (黑顺片、白附片、淡附片、炮附片) 均经过了“泥附子洗净, 浸入胆巴的水溶液中”<sup>[4]</sup>的处理过程, 此过程中附子会吸收部分胆巴, 故规定需要进行水漂处理, 但是在利益驱动之下, 许多炮制者减少了漂洗次数, 致使附子成品中过度残留胆巴成分。同时, 有文献报道<sup>[14]</sup>, 附子经胆巴溶液浸泡后虽然双酯型生物碱含量降低使毒性减小, 但也会造成单酯型生物碱等有效成分的流失。因此, 2015 年版《中国药典》中附子采用胆巴浸泡的工序, 虽可有效去毒, 但存性不足, 且会导致胆巴中所含  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgCl}_2$  等无机杂质进入<sup>[15]</sup>, 进而影响附子的质量和疗效。

《伤寒论》记载的麻黄细辛附子汤, 方中炮附片的炮制方法不同于 2015 年版《中国药典》记载的炮附片, 为“炮去皮, 破八片”, 《大宋重修广韵》中解释“炮”为“裹物烧也”, 推测汉代炮附子为放入火灰中

加热且去皮<sup>[16]</sup>,这与2015年版《四川省中药饮片炮制规范》收录的炒附片炮制方法相似,炒附片是将河砂投入炒锅内,炒至滑利状态,投入净生附片,炒制外表深棕黄色,断面棕黄色,取出迅速筛去砂子<sup>[17]</sup>。有文献研究表明<sup>[18]</sup>,附子中双酯型生物碱遇高热易被破坏,可见经方所用的附子炮制方法不但能降低附子的毒性,还可有效避免有效成分的流失。

本研究结果表明附子不同炮制品规格所制备的MXF煎剂质量差异较大,采用多元统计分析方法,共找出6种指标性成分用于明显区分这5种MXF煎剂。其中,炒附片较其他附子炮制品规格所制备的MXF煎剂,双酯型生物碱含量较低、单酯型生物碱含量最高,且麻黄类生物碱的含量最低。说明经方所用附子炮制品具有一定的科学性,为经方的古为今用提供了实验依据。考虑到市售附子不同炮制品因产地和基原不同,本身就可能造成成分种类和含量差异。为了避免上述问题,本研究调研了出售附子炮制品的饮片厂,选择了具有附子生产质量管理规范(GAP)种植基地和规范化附子炮制方法的饮片厂,指定购买同批次的附子药材,以避免因产地、基原、采收时间、炮制方法等因素造成的干扰。

综上所述,中药汤剂的质量不仅与煎煮方法(煎煮火候、煎煮水量、煎煮次数、煎煮时间等)相关,与炮制品的选用也息息相关,如此才能确保临床疗效。针对目前附子加工方法为了充分“减毒”,多存在胆巴过量、增加毒性、增白等质量问题<sup>[16]</sup>,建议后续版本《中国药典》可以遵从经方炮制品用药,考虑增补“炒附片”这一炮制规格。

[参考文献]

[1] 张仲景. 伤寒论[M]. 北京:人民卫生出版社, 2005:175.  
[2] 席恒. 麻黄细辛附子汤新用[J]. 西部中医药, 2007, 20(8):16-17.  
[3] 李灿,孙启慧,付业佩,等. 基于粪便代谢物组学分析麻黄细辛附子汤干预H1N1流感病毒感染小鼠的作

用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(9): 74-79.

[4] 文颖娟,梁振平. 麻黄细辛附子汤文献研究探析[J]. 陕西中医学院学报, 2014, 37(6):103-105.  
[5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2015:191-192.  
[6] 陈利平,孙志高,王发渭,等. 麻黄临床功用探索[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(7):1576-1577.  
[7] 周林,任玉珍,李飞,等. 不同炮制方法对附子生物碱类成分的影响[J]. 安徽中医学院学报, 2012, 31(5): 71-74.  
[8] 席恒. 麻黄细辛附子汤新用[J]. 西部中医药, 2007, 20(8):16-17.  
[9] 杜茂波,刘淑芝. 《伤寒论》制剂工艺初探[J]. 中医杂志, 2015, 56(24):2133-2136.  
[10] 李燕,赵梦杰,袁岸,等. 给药剂量对附子总生物碱在大鼠体内药代动力学特征的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(22):82-85.  
[11] 张介宾. 景岳全书[M]. 北京:人民卫生出版社, 2007:737.  
[12] 吴仪洛. 本草从新[M]. 北京:人民卫生出版社, 1990:72.  
[13] 唐荣川. 本草问答[M]. 太原:山西科学技术出版社, 1991:19.  
[14] 周林,李飞,任玉珍,等. 附子中生物碱含量与在胆巴液中浸泡时间变化规律的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(10):44-47.  
[15] 温瑞卿,李东辉,赵昕,等. 基于化学分析的毒性中药附子炮制方法的合理性研究[J]. 药科学报, 2013, 48(2):286-290.  
[16] 刘潺潺,程铭恩,段海燕,等. 古今附子加工方法的沿革与变迁[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(7): 1339-1344.  
[17] 周林,任玉珍,李飞,等. 不同炮制方法对附子生物碱类成分的影响[J]. 安徽中医学院学报, 2012, 31(5): 71-74.  
[18] 张菊花,张晓艳. 探析不同炮制方法对附子药理作用及毒性的影响[J]. 海峡药学, 2008, 20(10):89-91.

[责任编辑 刘德文]