

岭南炮天雄的炮制工艺优选

蒋丽芸¹, 黄玉梅², 吴志坚², 麦敏芯², 高明^{1*}, 温锦青¹, 叶志龙², 马恩耀¹
(1. 广州中医药大学, 广州 510006; 2. 广州市药材公司 中药饮片厂, 广州 510360)

[摘要] 目的:优化并规范岭南炮天雄的炮制工艺,为提高该产品的生产效率及质量提供参考。方法:以炮天雄中3种单酯型生物碱(苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱)和3种双酯型生物碱(新乌头碱、次乌头碱、乌头碱)质量分数为评价指标,在单因素试验基础上,通过正交试验考察浸漂时间、高压蒸制时间和砂炒温度对岭南炮天雄炮制工艺的影响。结果:最佳炮制工艺条件为浸漂时间5 d,高压蒸制时间1.5 h,砂炒温度210~230℃,姜汁比例8%。炮天雄的单、双酯型生物碱质量分数分别为0.120 5,0.031 1 mg·g⁻¹。结论:优选的岭南炮天雄炮制工艺稳定可行,能进一步规范相关指标,提高生产效率和产品质量,为该药材的大规模生产提供参考。

[关键词] 炮天雄; 附子; 双酯型生物碱; 干姜; 单酯型生物碱

[中图分类号] R283.3;R943.1;R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)21-0024-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015210024

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150924.1049.012.html>

[网络出版时间] 2015-09-24 10:49

Optimization of Processing Technology of Processed *Aconitum Carmichaelii* JIANG Li-yun¹, HUANG Yu-mei², WU Zhi-jian², MAI Min-xin², GAO Ming^{1*}, WEN Jin-qing¹, YE Zhi-long², MA En-yao¹
(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 2. Decoction Pieces Plant of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou Medicinal Materials Company, Guangzhou 510360, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize and standardize processing technology of processed *Aconitum Carmichaelii* in Lingnan for improving production efficiency and quality of this herb. **Method:** Taking contents of diester-type alkaloids and mono-ester aconitum alkaloids as index, based on single factor tests, orthogonal test was adopted to investigate effects of soaking time, steaming time and frying temperature on processing technology of processed *A. Carmichaelii*. **Result:** The best processing technology was as follows: soaked 5 d with 8% ginger juice, steamed 1.5 h with high pressure, frying temperature at 210-230℃ with sand. Contents of diester-type alkaloids and mono-ester aconitum alkaloids were 0.031 1, 0.120 5 mg·g⁻¹, respectively. **Conclusion:** This optimized processing technology is sable and feasible. It will be benefit for providing foundation for large production of processed *A. Carmichaelii* with improving product quality and production efficiency.

[Key words] Paotianxiong; Aconiti Lateralis Radix Praeparata; diester-type alkaloids; Zingiberis Rhizoma; mono-ester aconitum alkaloids

天雄属乌头类中药,是附子的一种药材规格,具有很强的毒性,主产于四川,性热,味辛,归肾经,有大毒,具有祛风散寒、益火补阳的功效,主大风、历节痛、四肢拘挛、风湿寒痹、心腹冷痛等^[1-2]。现代炮天雄因地域不同,其加工方法亦有所区别。目前岭

南炮天雄的炮制方法主要为选择个大、均匀的盐附子,洗净,浸漂至盐分漂尽取出,去皮,再用姜水润,蒸,干燥,最后砂炒至焦黄色,膨起,取出,筛去沙粒,即得。岭南炮天雄炮制最后一步用砂炒,这与四川的炮天雄最后用烤的工艺不同,天雄在经过漂、姜

[收稿日期] 20150422(017)

[基金项目] 广州市荔湾区科技计划项目(20122214066)

[第一作者] 蒋丽芸,在读硕士,从事中药品种鉴定与质量评价研究,Tel:15920196872,E-mail:656583969@qq.com

[通讯作者] *高明,副教授,从事中药品种鉴定与质量评价研究,Tel:13808876741,E-mail:906853811@qq.com

润、蒸、炒等多个炮制步骤后,其毒性成分双酯型生物碱大大降低,因此应用于临床更为安全可靠^[3-5]。而由于历史原因,岭南炮天雄在20世纪80年代停止生产,因此造成在较长一段时间内,未对岭南炮天雄的炮制工艺及质量评价进行相关研究,致使其炮制工艺缺乏统一的量化标准。然而,在21世纪初恢复生产后,该产品得到了人们的一致认可。本实验在保存传统岭南炮制工艺的基础上,以岭南炮天雄单酯型生物碱含量和双酯型生物碱含量作为评价指标,对其炮制工艺指标进行量化研究,探究岭南炮天雄的最佳工艺,为其大规模生产提供理论基础和实验依据。

1 材料

UltiMate3000型高效液相色谱仪(美国戴安),RV10型旋转蒸发仪(德国IKA),JA3003型1/1千电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司),YX-280 B型高压锅(合肥华泰医疗设备有限公司),GZX-9070 MBE型数显鼓风干燥箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂),KSW型电阻炉温度控制器(余姚市金电仪表有限公司),AR842A型测温枪(哈尔滨联华自动化仪表有限公司)。

岭南炮天雄原料、干姜(批号YPA3F0001)均由广州市药材公司中药饮片厂提供,经广州中医药大学高明副教授鉴定,分别为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* 个大形长的盐附子和姜科植物姜 *Zingiber officinale* 的干燥根茎。新乌头碱、次乌头碱、乌头碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰乌头原碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为110799-201106,110798-201103,110720-201111,111795-201102,111796-201303,111794-201102),甲醇、乙腈、异丙醇、乙酸乙酯均为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

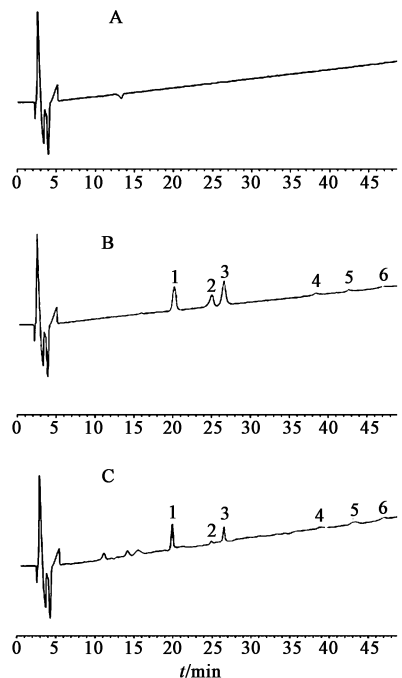
2.1 生物碱类成分的含量测定^[6]

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取新乌头碱5.20 mg,次乌头碱5.10 mg,乌头碱5.40 mg,置同一50 mL量瓶中,加0.05%盐酸甲醇溶液溶解并稀释至刻度,摇匀,得储备液;精密吸取该储备液12.5 mL至25 mL量瓶中,加0.05%盐酸甲醇溶液稀释至刻度,摇匀,得双酯型生物碱混合对照品溶液。精密称取苯甲酰新乌头原碱10.20 mg,苯甲酰次乌头原碱9.92 mg,苯甲酰乌头原碱6.02 mg,置同一50 mL量瓶中,加0.05%盐酸甲醇溶液溶解并稀释至刻度,摇匀,得储备液;精密吸取该储备液

12.5 mL至50 mL量瓶中,加0.05%盐酸甲醇溶液稀释至刻度,摇匀,得单酯型生物碱混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 每组样品各取粉末(过三号筛)约2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加氨试液5 mL,静置30 min,精密加入异丙醇-乙酸乙酯(1:1)混合液50 mL,称定质量,超声处理(300 W,40 kHz,水温<25℃)30 min,放冷,称定质量,用异丙醇-乙酸乙酯(1:1)混合液补足减失的质量,摇匀,滤过。精密量取续滤液25 mL,于<40℃减压回收溶剂至干,残渣精密加入0.05%盐酸甲醇溶液2 mL使溶解,滤过,取续滤液,即得。

2.1.3 色谱条件 GRACE Prevail™ C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-四氢呋喃(25:15)混合液(A)-0.1 mol·L⁻¹乙酸铵溶液(每1 L加冰乙酸0.5 mL)(B)梯度洗脱(0~48 min,15%~26% A;48~49 min,26%~35% A;49~58 min,35% A;58~65 min,35%~15% A),流速1 mL·min⁻¹,检测波长235 nm,柱温30℃,进样量20 μL。见图1。



A. 阴性样品;B. 混合对照品;C. 供试品;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;6. 乌头碱

图1 炮天雄 HPLC

Fig. 1 HPLC of processed *Aconitum carmichaelii*

2.2 线性范围考察 精密称取2.1.1项下双酯型生物碱混合对照品储备液2,3,4,5,6,7,8 mL,分别

置于 10 mL 量瓶中,制成系列混合对照品溶液。精密称取 2.1.1 项下单酯型生物碱混合对照品储备液 2,3,4,5,6,7,8 mL,置 10 mL 量瓶中,制成系列混合对照品溶液。按 2.1.3 项下色谱条件测定,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、新乌头碱、次乌头碱、乌头碱回归方程分别为 $Y = 9.9485X - 0.0714$ ($r = 0.9996$), $Y = 9.9827X - 0.2941$ ($r = 0.9993$), $Y = 10.5986X - 0.1007$ ($r = 0.9997$), $Y = 11.2899X - 0.2004$ ($r = 0.9992$), $Y = 9.5275X - 0.1045$ ($r = 0.9992$), $Y = 10.1847X - 0.1266$ ($r = 0.9990$), 线性范围依次为 0.816 ~ 3.264, 0.7936 ~ 3.1744, 0.4816 ~ 1.9264, 0.416 ~ 1.664, 0.408 ~ 1.632, 0.432 ~ 1.728 μg 。

2.3 精密度试验 取同一批供试品溶液,按 2.1.3 项下色谱条件连续重复进样 6 次,结果苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、新乌头碱、次乌头碱、乌头碱峰面积的 RSD 分别为 0.4%, 1.4%, 1.0%, 0.7%, 1.0%, 1.3%, 表明仪器精密度良好。

2.4 重复性试验 取同一份样品 6 份,各约 2.0 g,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.3 项下色谱条件测定,结果苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、新乌头碱、次乌头碱、乌头碱的峰面积的 RSD 分别为 0.6%, 1.7%, 0.5%, 1.1%, 0.8%, 1.2%, 说明该方法重复性良好。

2.5 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于制备后 0,2,4,8,12,24 h 按 2.1.3 项下色谱条件测定,结果苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、新乌头碱、次乌头碱、乌头碱峰面积的 RSD 分别为 0.2%, 1.7%, 0.7%, 0.9%, 0.2%, 1.6%, 说明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.6 加样回收率试验 精密称取已知各成分含量的样品 1.0053, 1.0048, 1.0024, 1.0042, 1.0057, 1.0061 g, 各精密加入等量混合对照品,按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.3 项下色谱条件测定,计算苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、新乌头碱、次乌头碱、乌头碱的平均加样回收率分别为 100.12%, 101.33%, 101.25%, 102.08%, 102.12%, 101.84%, RSD 依次为 1.9%, 2.2%, 1.1%, 0.6%, 1.7%, 1.3%, 说明该含量测定方法稳定可靠。

2.7 单因素试验考察

2.7.1 浸漂时间 取个大均匀的盐附子 5 份,每份

约 100 g,放入敞口瓶,各加水约 120 mL,水没过液面约 5 cm,分别浸泡 2,3,4,5,6 d,早晚各换水 1 次,加姜水 100 mL 浸泡(姜水为 8% 药材量的干姜经水煮 6 h 制得),取出后置高压锅蒸 1 h,摊开,80 $^{\circ}\text{C}$ 烘干,用热砂(210 ~ 230 $^{\circ}\text{C}$)拌炒,打粉,过 3 号筛,得样品粉末。按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.3 项下色谱条件测定,结果发现随着浸漂时间的增加,生物碱类成分的总含量先大幅度减少,后有所增加,增到一定程度后,又减少;而双酯型生物碱含量则呈现一直下降趋势。

2.7.2 姜汁比例 取个大均匀的盐附子 4 份,每份约 100 g,放入敞口瓶,各加水浸泡 5 d,姜水分别为 6%, 8%, 10%, 12% 药材量的干姜经水煮 6 h 制得,其他操作同 2.7.1 项,得样品粉末。结果不同姜汁比例浸漂炮天雄后,与生品比较,单、双酯型生物碱含量明显降低,但各炮制品间的变化规律不明显。

2.7.3 高压蒸制时间 取个大均匀的盐附子 3 份,每份约 100 g,放入敞口瓶,分别用高压锅蒸 1,1.5,2 h,其他操作同 2.7.1 项,得样品粉末。结果高压蒸制不同时间后,与生品比较,单、双酯型生物碱含量明显降低;短时间加热情况下,高压加热效果较好。

2.7.4 砂炒温度 取个大均匀的盐附子 3 份,每份约 100 g,放入敞口瓶,分别于 170 ~ 190, 190 ~ 210, 210 ~ 230 $^{\circ}\text{C}$ 热砂拌炒,其他操作同 2.7.1 项,得样品粉末。结果随着砂炒温度的升高,单酯型生物碱含量增加明显,而双酯型生物碱含量则一直降低。

2.8 正交试验考察 在单因素试验基础上,选取对生物碱类成分具有明显影响的浸漂时间、高压蒸制时间和砂炒温度为考察因素,按 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验。取个大均匀的盐附子 9 份,每份约 100 g,放入不同编号的敞口瓶中,各加水没过药面约 5 cm(约 120 mL),浸泡数天后(早晚各换清水 1 次),用姜水 100 mL 浸泡(姜水为 8% 药材量的干姜经水煮 6 h 制得)后取出,置高压锅中进行蒸制,干燥至七成干,用热砂拌炒,得样品 1 ~ 9。以单酯型生物碱和双酯型生物碱质量分数的综合评分为指标,权重系数分别为 0.9, 0.1。根据 2010 年版《中国药典》对双酯型生物碱含量的要求,不得 $> 0.010\%$ 。综合评分 = $90/0.1578 \times$ 单酯型生物碱质量分数 + $[(0.10 - \text{双酯型生物碱质量分数}) \times 100]$ 。试验安排和结果见表 1,方差分析见表 2。

由直观分析可知,炮天雄炮制工艺的影响因素主次顺序为 $A > C > B$ 。其中, A 因素为显著因素,因

表 1 炮天雄炮制工艺正交试验分析

Table 1 Orthogonal test analysis of processing technology of processed *Aconitum carmichaelii*

No.	A 浸漂 时间 /d	B 高压 蒸制时间 /h	C 砂炒 温度 /℃	单酯型 生物碱 /mg·g ⁻¹	双酯型 生物碱 /mg·g ⁻¹	综合评分 /分
1	4	1.0	170~190	0.154 7	0.402 5	57.98
2	4	1.5	190~210	0.122 9	0.272 2	52.88
3	4	2.0	210~230	0.102 1	0.099 8	58.25
4	5	1.0	190~210	0.108 9	0.068 4	65.27
5	5	1.5	210~230	0.157 8	0.022 5	97.75
6	5	2.0	170~190	0.112 6	0.009 4	73.28
7	6	1.0	210~230	0.098 9	0.005 7	65.84
8	6	1.5	170~190	0.085 4	0.013 5	57.36
9	6	2.0	190~210	0.102 6	0.002 8	68.24

注:单酯型生物碱包括苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱,双酯型生物碱包括新乌头碱、次乌头碱、乌头碱。

表 2 综合评分方差分析

Table 2 Variance analysis of comprehensive score

方差来源	SS	f	F	P
A	893.70	2	5.99	<0.10
B	98.72	2	0.66	>0.10
C	368.05	2	2.47	>0.10
D(误差)	74.61	4		

注: $F_{0.10}(2,4) = 4.32$ 。

素 B, C 则均无显著性影响。综合分析考虑,确定岭南炮天雄的最佳炮制工艺为 $A_2B_2C_3$, 即浸漂时间 5 d, 高压蒸制时间 1.5 h, 砂炒温度 210~230℃。分别称取样品粉末(过三号筛)2.006 8, 2.005 4, 2.008 9 g, 按优选的工艺条件进行炮制, 按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1.3 项下色谱条件测定, 结果单酯型生物碱质量分数分别为 0.119 5, 0.121 4, 0.120 5 mg·g⁻¹, 双酯型生物碱质量分数依次为 0.032 8, 0.029 3, 0.031 1 mg·g⁻¹。说明优选的炮制工艺稳定可行。

3 讨论

附子类药材经过煎煮后, 能将毒性成分双酯型生物碱首先水解为单酯类生物碱(毒性较低), 再又水解为醇胺类生物碱(毒性更小), 经过一系列水解, 毒性已降至对人体无毒副作用。随着煎煮时间的增加, 附子双酯型生物碱的含量不断减少, 而单酯型生物碱和醇胺型生物碱不断增加, 由此来判断附

子毒性会随着煎煮时间的增加而降低。随着附子炮制时间的延长, 乌头碱与附子“回阳救逆”的作用呈负相关, 而次乌头碱与附子的毒性、“回阳救逆”的作用呈正相关, 明确了新乌头碱、次乌头碱、乌头碱含量多少与饮片毒效的关系。而在配伍减毒方面, 附子与甘草、干姜、桂枝、人参等配伍使用时能增强疗效^[7]。附子的配伍中常加入干姜, 干姜味辛, 性温, 具有温中回阳的作用, 配伍干姜后, 干姜所含姜辣素等挥发油可能会对附子的毒性有一定的抑制作用^[8]。

通过对附子的炮制机制研究发现, 其加工炮制对生物碱类成分含量的变化影响较大, 且规律较为复杂, 成分分析的难度较大。因此在考察炮天雄的炮制工艺时, 结合实际生产经验, 分别对浸漂时间、姜汁比例、蒸制时间、砂炒温度等进行单因素试验考察, 发现由不同姜汁比例浸漂炮天雄加工炮制后, 单、双酯型生物碱含量明显降低, 但各炮制品之间的变化规律不明显, 故挑出影响较大且变化规律明显的 3 个因素进行正交试验考察, 同时以控制炮天雄质量的单、双酯型生物碱作为评价指标。在保存传统岭南炮制工艺的基础上, 本文按优选炮制工艺制备的 3 批岭南炮天雄中双酯类生物碱含量均低于 2010 年版《中国药典》的要求, 而单酯类生物碱含量均高于要求, 为炮天雄的大规模生产提供参考。由于炮天雄毒性方面的研究较为复杂, 本文仅作为研究资料的积累, 其药效、毒理等相关研究将继续开展。

[参考文献]

[1] 张德昌. 对药材天雄基源的商讨[J]. 中药材, 1985, 8(1):46.

[2] 周刚, 龚千锋, 徐刚. 天雄的本草考证[J]. 中药材, 2003, 26(6):441-443.

[3] 曹晖, 王春燕, 王孝涛. 毒性中药天雄炮制历史沿革研究[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(6):348-350.

[4] 张镜湖. 实用中药炮制[M]. 广州: 广东科技出版社, 1993:157.

[5] 姚景南, 肖鑫和. 中药的炮制[M]. 广州: 广东科技出版社, 1984:57.

[6] 李德斌, 黄志芳, 刘云华, 等. 炮天雄质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(23):146-150.

[7] 符黛玲. 附子配伍用药规律的研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2013.

[8] 刘永新. 附子与干姜、甘草配伍乌头碱含量的变化[J]. 中国中医药现代远程教育, 2011, 9(24):60.

[责任编辑 刘德文]