

## 附子理中丸中制附子的6种生物碱成分含量测定

宋志前, 甘嘉荷, 董运茁, 王淳, 宁张弛, 刘振丽\*  
(中国中医科学院中医基础理论研究所, 北京 100700)

**[摘要]** **目的:**建立高效液相色谱-三重四级杆串联质谱(HPLC-QQQ-MS)法同时测定附子理中丸中制附子6种生物碱成分含量的方法。**方法:**采用 Thermo Accucore RP-MS 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 2.6 μm), 以 0.1% 甲酸水-0.1% 甲酸乙腈为流动相, 流速 0.3 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 °C。质谱条件:采用电喷雾电离源(ESI), 正离子检测模式, 扫描方式为多反应离子监测模式(MRM), 定量分析离子分别为苯甲酰新乌头碱 *m/z* 105.0, 苯甲酰乌头碱 *m/z* 105.0, 苯甲酰次乌头碱 *m/z* 542.3, 新乌头碱 *m/z* 572.3, 乌头碱 *m/z* 586.3, 次乌头碱 *m/z* 556.3。**结果:**苯甲酰新乌头碱、苯甲酰乌头碱、苯甲酰次乌头碱、新乌头碱、乌头碱、次乌头碱线性范围分别在 0.184 80 ~ 1.848 ng (*r* = 0.999 6), 0.035 36 ~ 0.353 6 ng (*r* = 0.999 6), 0.129 60 ~ 1.296 ng (*r* = 0.999 8), 0.011 65 ~ 0.116 5 ng (*r* = 0.999 8), 0.002 95 ~ 0.029 5 ng (*r* = 0.999 8), 0.036 96 ~ 0.369 6 ng (*r* = 0.999 8), 6种生物碱的含量在一定范围内线性关系良好(*r* > 0.999 6)。加样回收率在 91.93% ~ 106.70%, RSD 均 < 6.00%。**结论:**该方法简单、准确、灵敏、重复性好, 可用于附子理中丸中制附子生物碱成分的含量测定。

**[关键词]** 高效液相色谱-三重四级杆串联质谱; 附子理中丸; 含量测定; 生物碱; 制附子

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)10-0055-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017100055

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170308.0954.044.html>

**[网络出版时间]** 2017-03-08 9:54

### Determination of 6 Different Alkaloids in Processed Aconiti Lateralis Radix from Fuzi Lizhong Wan

SONG Zhi-qian, GAN Jia-he, DONG Yun-zhuo, WANG Chun, NING Zhang-chi, LIU Zhen-li\*  
(The Institute of Basic Theory of Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a HPLC-QQQ-MS method for simultaneous determination of six alkaloids in processed Aconiti Lateralis Radix Praeparata from Fuzi Lizhong Wan. **Method:** Thermo Accucore column (2.1 mm × 100 mm, 2.6 μm) was adopted and eluted with mobile phase of 0.1% formic acid in water-0.1% formic acid in acetonitrile, with a flow rate at 0.3 mL·min<sup>-1</sup>. The column temperature was set at 30 °C. The detection was accomplished in the positive ionization mode with scanning via electrospray ionization (ESI), the scanning mode was multiple-reaction monitoring (MRM). According to the quantitative analysis, the ions were benzoylmesaconine *m/z* 105.0, benzoylaconitine *m/z* 105.0, benzoylhypaconitine *m/z* 542.3, mesaconitine *m/z* 572.3, aconitine *m/z* 586.3 and hypaconitine *m/z* 556.3. **Result:** Benzoylmesaconine, benzoylaconitine, benzoylhypaconitine, mesaconitine, aconitine and hypaconitine had a good linearity in the ranges of 0.184 80-1.848 ng (*r* = 0.999 6), 0.035 36-0.353 6 ng (*r* = 0.999 6), 0.129 60-1.296 0 ng (*r* = 0.999 8), 0.011 65-0.116 5 ng (*r* = 0.999 8), 0.002 95-0.029 5 ng (*r* = 0.999 8), 0.036 96-0.369 6 ng (*r* = 0.999 8), respectively. The recoveries for the six analytes were between 91.93% and 106.70%, with RSD less than 6%.

**[收稿日期]** 20160809(001)

**[基金项目]** 中央级科研院所自主选题(YZ-1542)

**[第一作者]** 宋志前, 副主任技师, 从事中药药效物质基础及质量评价工作, Tel: 13681167811, E-mail: szy0801\_2001@126.com

**[通讯作者]** \* 刘振丽, 博士, 研究员, 从事中药药效物质基础及质量评价工作, Tel: 010-64089059, E-mail: zhenli\_liu@sina.com

**Conclusion:** This method is simple, accurate, sensitive and repeatable, and can be used to determine content of alkaloids in processed Aconiti Lateralis Radix praeparata from Fuzi Lizhong Wan.

**[Key words]** HPLC-QQQ-MS; Fuzi Lizhong Wan; content determination; alkaloid; processed Aconiti Lateralis Radix Praeparata

附子理中丸出自宋代《太平惠民和剂局方》，具有温中健脾的功效。用于脾胃虚寒、脘腹冷痛、呕吐泄泻、手足不温，收载于《中国药典》2015 年版一部，由附子（制），干姜，炒白术，党参和甘草五味药组成<sup>[1]</sup>。在含量测定项下，仅规定了佐使药甘草中甘草苷的限量标准。附子为方中君药，属有毒中药，附子理中丸采用经过炮制后的制附子粉末入药，尽管炮制后有有毒成分大大降低<sup>[2]</sup>，但不时仍有服用附子理中丸出现恶心、心悸、头晕、全身麻木或面部浮肿等中毒现象的报道<sup>[3-5]</sup>。附子毒性主要来源于双酯型生物碱，包括新乌头碱、乌头碱和次乌头碱，而主要单酯型生物碱苯甲酰新乌头碱、苯甲酰乌头碱和苯甲酰次乌头碱，也有一定毒性<sup>[6-7]</sup>。因此，建立其中毒性生物碱成分含量测定方法十分必要。

已有采用高效液相色谱（HPLC）法或液相色谱-质谱联用（LC-MS）法测定附子理中丸中生物碱含量的报道<sup>[8-11]</sup>，但还没有同时测定其中 6 种主要双酯型和单酯型生物碱成分的报道。更重要的是，《中国药典》收载的几十种含有制附子的成方制剂，还没有一种制剂建立毒性生物碱含量测定方法，这可能对中成药安全性形成隐患。制附子中生物碱含量很低，使得其在复方制剂中含量测定方法的灵敏度要求提高。中成药成分的体内作用研究是阐明其药效物质基础的手段之一，针对生物样品中复方成分的检测方法备受重视，需要发掘更具灵敏度的分析方法。LC-MS/MS 技术采用多反应检测（MRM），是目前最受关注的定量方法，具有高灵敏度、强选择性和快速分析等优势。因此本文以高效液相色谱-三重四级杆质谱联用（HPLC-QQQ-MS）技术，建立了附子理中丸中 6 种主要生物碱苯甲酰新乌头碱、苯甲酰乌头碱、苯甲酰次乌头碱、新乌头碱、乌头碱和次乌头碱的含量测定方法，同时分析了不同厂家附子理中大蜜丸和浓缩丸中的含量，为完善附子理中丸质量标准及其体内药理作用研究奠定基础，同时为其他含有附子（制）的成方制剂质量控制提供参考。

## 1 材料

1260 系列高效液相色谱仪（包括 G1322A 脱气机，G1311A 四元泵，G1313A 自动进样器，G1316A 恒温箱，HP 化学工作站），6410AQQQ 型质谱仪（美

国 Agilent 公司）；TCQ-250 型超声波清洗器（北京医疗设备二厂）；CP225D 型 1/10 万电子天平（德国赛多利斯公司）。

对照品新乌头碱（批号 110799-200404），乌头碱（批号 110720-200410），次乌头碱（批号 110798-200404），均购于中国食品药品检定研究院，纯度 > 98%；苯甲酰新乌头碱（批号 MUST-14062208），苯甲酰乌头碱（批号 MUST-14052315），苯甲酰次乌头碱（批号 MUST-14032209）均购自成都曼斯特有限公司，纯度 > 98%。附子理中丸（大蜜丸，规格均为每丸 9 g），北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂（DMW-1，批号 13013498，产地北京），北京御生堂集团石家庄制药有限公司（DMW-2，批号 20140402，产地石家庄），药都制药集团股份有限公司（DMW-3，批号 140401，产地河北），山东大陆药业有限公司（DMW-4，批号 1301052，产地山东），哈药集团世一堂制药厂（DMW-5，批号 1402130，产地哈尔滨）。附子理中丸（浓缩丸，规格均为每 8 丸相当于原生药 3 g），河南省宛西制药股份有限公司（NSW-1，批号 140402，产地河南），山东大陆药业有限公司（NSW-2，批号 1407193，产地山东），东芝堂药业有限公司（NSW-3，批号 140403，产地安徽），北京御生堂集团石家庄制药有限公司（NSW-4，批号 20131001，产地石家庄），兰州佛慈制药股份有限公司（NSW-5，批号 14C17，产地兰州）。乙腈为色谱纯，水为纯净水；其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

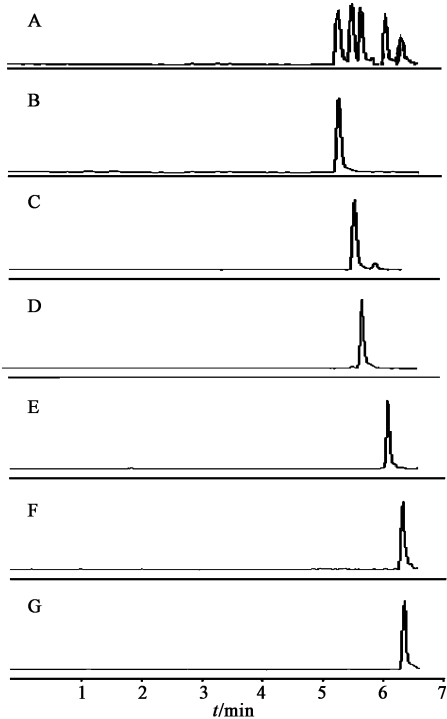
**2.1 色谱条件与质谱条件** Thermo Accucore RP-MS 色谱柱（2.1 mm × 100 mm，2.6 μm），流动相 0.1% 甲酸水（A）-0.1% 甲酸乙腈（B）（0 ~ 3 min，15% ~ 55% B；3 ~ 9 min，55% B；9 ~ 12 min，55% ~ 80% B；12 ~ 12.01 min，80% ~ 100% B；12.01 ~ 13 min，100% B），流速 0.3 mL · min<sup>-1</sup>，柱温 30 °C。质谱条件：正离子检测模式，采用电喷雾电离源（ESI），扫描方式为多反应离子监测模式（MRM），各化合物的质谱信息见表 1。干燥气流速 11 L · min<sup>-1</sup>，干燥气温度 300 °C，雾化气压力 310 kPa，毛细管电压 4 000 V。HPLC-QQQ-MS 图谱见图 1。

**2.2 混合对照品溶液的制备** 分别取苯甲酰新

表 1 6 种生物碱成分的多反应监测模式信息

Table 1 MRM information of 6 different alkaloids

成分	母离子 ( <i>m/z</i> )	子离子 ( <i>m/z</i> )	碎裂电压 /V	碰撞能量 /eV	保留时间 /min
苯甲酰新乌头碱	590.3	105	160	45	5.283
苯甲酰乌头碱	604.3	105	95	50	5.541
苯甲酰次乌头碱	574.3	542.3	115	40	5.665
新乌头碱	632.2	572.3	100	45	6.052
乌头碱	646.3	586.3	105	45	6.287
次乌头碱	616.3	556.3	115	40	6.292



A. 供试品; B. 苯甲酰新乌头碱; C. 苯甲酰乌头碱; D. 苯甲酰次乌头碱; E. 新乌头碱; F. 乌头碱; G. 次乌头碱

图 1 附子理中丸总离子流

Fig. 1 HPLC-QQQ-MS chromatograms of Fuzi Lizhong Wan

乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、新乌头碱、乌头碱、次乌头碱对照品适量,精密称定,加甲醇分别制成每 1 mL 含 0.462,0.884,0.324,1.456,1.477,0.924 mg 的溶液,作为对照品储备液。分别精密吸取上述 6 个对照品储备液适量,混合,加甲醇

表 2 6 种生物碱成分的回归方程、线性范围,LOD 及 LOQ

Table 2 LOD and LOQ value of 6 different alkaloids

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/ng	LOD/ng	LOQ/ng
苯甲酰新乌头碱	$Y = 19\ 396X + 48.2$	0.999 6	0.184 80 ~ 1.848 0	0.000 26	0.000 85
苯甲酰乌头碱	$Y = 25\ 060X + 14.133$	0.999 6	0.035 36 ~ 0.353 6	0.000 16	0.000 55
苯甲酰次乌头碱	$Y = 23\ 439X + 211.6$	0.999 8	0.129 60 ~ 1.296 0	0.000 04	0.000 12
新乌头碱	$Y = 12\ 843X + 2.533$	0.999 8	0.011 65 ~ 0.116 5	0.000 07	0.000 23
乌头碱	$Y = 18\ 746X + 4.610$	0.999 8	0.002 95 ~ 0.029 5	0.000 01	0.000 05
次乌头碱	$Y = 22\ 151X + 13.467$	0.999 8	0.036 96 ~ 0.369 6	0.000 04	0.000 14

制成每 1 mL 含 0.046 2,0.008 84,0.032 4,0.002 912,0.000 738 5,0.009 24 mg 的混合对照品溶液。

### 2.3 供试品溶液的制备

**2.3.1 大蜜丸供试品溶液制备** 取大蜜丸 10 丸,称定质量,剪成小块,混匀,取约 0.2 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,加氨试液 3 mL,精密加入乙醚 50 mL,25 °C 以下超声处理 30 min,放冷,过滤,滤液置 100 mL 量瓶中,用适量乙醚溶液洗涤药渣 2~3 次,洗液合并于同一量瓶中,加入乙醚溶液定容至刻度,摇匀。精密吸取上清液 10 mL,40 °C 以下减压回收,残渣用 0.01% 盐酸甲醇溶解并定量转移到 5 mL 量瓶中,摇匀,用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

**2.3.2 浓缩丸供试品溶液制备** 取浓缩丸适量粉碎,取约 0.050 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,其余同 2.3.1 项处理。

**2.4 线性范围的考察与定量限 (LOQ) 和检测限 (LOD)** 分别精密吸取 2.2 项下混合对照品溶液 2,4,6,8,10,20 μL 进样测定。以峰面积 (*Y*) 为纵坐标,进样量 (*X*, μg) 为横坐标,绘制标准曲线,得苯甲酰新乌头碱、苯甲酰乌头碱、苯甲酰次乌头碱、新乌头碱、乌头碱、次乌头碱的回归方程及线性范围。将对照品浓度不断稀释,测定峰面积,当信噪比 (*S/N*) 约为 3,10 时,得 LOD,LOQ。结果见表 2。

**2.5 日内和日间精密度考察** 精密吸取 2.2 项下混合对照品溶液,在同一日内连续进样 6 次,测得苯甲酰新乌头碱、苯甲酰乌头碱、苯甲酰次乌头碱、新乌头碱、乌头碱、次乌头碱峰面积的 RSD 分别为 2.9%,2.7%,2.6%,2.2%,3.0%,2.4%,表明日内精密度良好。精密吸取同一混合对照品溶液,在 3 日内进样 3 次,测得苯甲酰新乌头碱、苯甲酰乌头碱、苯甲酰次乌头碱、新乌头碱、乌头碱、次乌头碱峰面积的 RSD 分别为 3.9%,3.3%,3.6%,3.0%,3.9%,3.4%,表明日间精密度良好。

**2.6 重复性试验** 取同一大蜜丸供试品约 0.2 g,6 份,精密称定,按 2.3.1 项下方法制备成供试品溶

液,分别进行测定,计算苯甲酰新乌头碱、苯甲酰乌头碱、苯甲酰次乌头碱、新乌头碱、乌头碱、次乌头碱平均质量分数分别为 48.160, 4.611, 5.353, 5.784, 1.183, 14.740  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ , RSD 分别为 3.7%, 4.0%, 3.2%, 3.4%, 3.8%, 3.1%, 符合要求,表明该方法重复性良好。

**2.7 稳定性试验** 取同一大蜜丸供试品约 0.2 g, 6 份,精密称定,按 2.3.1 项下方法制备成供试品溶液,在制备后 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h 进样,测得苯甲酰新乌头碱、苯甲酰乌头碱、苯甲酰次乌头碱、新

乌头碱、乌头碱、次乌头碱峰面积的 RSD 分别为 3.1%, 3.8%, 3.4%, 4.0%, 3.7%, 3.2%, 符合要求,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.8 回收率试验** 取同一大蜜丸约 0.1 g, 9 份,精密称定,分别精密加入 3 种不同质量浓度的苯甲酰新乌头碱、苯甲酰乌头碱、苯甲酰次乌头碱、新乌头碱、乌头碱和次乌头碱对照品溶液适量,按 2.3 项下方法制备成供试品溶液,在上述色谱及质谱条件下进行测定,计算回收率,结果见表 3。

**2.9 含量测定** 分别取不同厂家的附子理中丸

表 3 附子理中丸中 6 种生物碱成分加样回收率试验

Table 3 Results of recovery tests of six components in alkaloids

成分	称样量/g	样品中量/ $\mu\text{g}$	加入量/ $\mu\text{g}$	测得量/ $\mu\text{g}$	回收率/%	平均值/%	RSD/%
苯甲酰新乌头碱	0.100 22	4.827	3.696	8.211	91.57	95.11	3.3
	0.100 00	4.816	3.696	8.365	96.01		
	0.100 13	4.822	3.696	8.435	97.74		
	0.100 22	4.827	4.620	9.144	93.46	94.12	5.0
	0.100 17	4.824	4.620	9.402	99.08		
	0.100 57	4.844	4.620	8.994	89.83		
	0.099 91	4.812	5.544	9.864	91.13	94.57	4.5
	0.099 72	4.803	5.544	9.976	93.32		
	0.099 95	4.814	5.544	10.316	99.26		
苯甲酰乌头碱	0.100 22	0.462	0.374	0.873	109.9	106.7	3.3
	0.100 00	0.461	0.374	0.863	107.5		
	0.100 13	0.462	0.374	0.847	103.0		
	0.100 22	0.462	0.468	0.913	96.35	95.06	3.0
	0.100 17	0.462	0.468	0.891	91.69		
	0.100 57	0.464	0.468	0.918	97.07		
	0.099 91	0.461	0.562	0.966	89.91	94.29	5.2
	0.099 72	0.460	0.562	0.984	93.27		
	0.099 95	0.461	0.562	1.020	99.48		
苯甲酰次乌头碱	0.100 22	0.537	0.432	0.939	92.36	93.70	3.8
	0.100 00	0.535	0.432	0.926	89.35		
	0.100 13	0.536	0.432	0.957	96.53		
	0.100 22	0.537	0.540	1.034	91.48	96.46	4.6
	0.100 17	0.536	0.540	1.057	95.74		
	0.100 57	0.538	0.540	1.083	100.6		
	0.099 91	0.535	0.648	1.193	102.3	102.2	4.3
	0.099 72	0.534	0.648	1.170	98.77		
	0.099 95	0.535	0.648	1.228	106.2		
新乌头碱	0.100 22	0.580	0.416	1.004	102.00	96.12	5.4
	0.100 00	0.578	0.416	0.961	91.97		
	0.100 13	0.579	0.416	0.972	94.42		
	0.100 22	0.580	0.520	1.059	92.17	95.75	3.4
	0.100 17	0.579	0.520	1.082	96.65		
	0.100 57	0.582	0.520	1.094	98.52		
	0.099 91	0.578	0.624	1.188	97.77	93.82	3.6

续表 3

成分	称样量/g	样品中量/ $\mu\text{g}$	加入量/ $\mu\text{g}$	测得量/ $\mu\text{g}$	回收率/%	平均值/%	RSD/%
乌头碱	0.099 72	0.577	0.624	1.149	91.70	93.07	4.9
	0.099 95	0.578	0.624	1.153	92.13		
	0.100 22	0.119	0.091	0.202	91.65		
	0.100 00	0.118	0.091	0.207	97.47		
	0.100 13	0.119	0.091	0.200	89.56		
	0.100 22	0.119	0.114	0.223	91.58		
	0.100 17	0.119	0.114	0.218	87.28		
	0.100 57	0.119	0.114	0.228	95.61		
	0.099 91	0.118	0.136	0.247	94.71		
次乌头碱	0.099 72	0.118	0.136	0.252	98.53	94.06	4.0
	0.099 95	0.118	0.136	0.241	90.29		
	0.100 22	1.477	1.267	2.659	93.05		
	0.100 00	1.474	1.267	2.717	98.42		
	0.100 13	1.476	1.267	2.627	90.53		
	0.100 22	1.477	1.584	3.066	100.1		
	0.100 17	1.477	1.584	2.910	90.28		
	0.100 57	1.482	1.584	2.950	92.80		
	0.099 91	1.473	1.901	3.224	92.27		
	0.099 72	1.470	1.901	3.215	91.79		
	0.099 95	1.473	1.901	3.332	97.95		

大蜜丸和附子理中丸浓缩丸,按 2.3 项下方法制备,测定 6 种成分含量,结果见表 4。

表 4 附子理中丸中 6 种生物碱成分含量测定

Table 4 Contents of six alkaloids components in Fuzi Lizhong Wan

类型	批号	苯甲酰新乌头碱	苯甲酰乌头碱	苯甲酰次乌头碱	新乌头碱	乌头碱	次乌头碱
大蜜丸	DMW-1	0.442 9	0.042 0	0.048 2	0.051 4	0.010 4	0.132 4
	DMW-2	0.199 3	0.032 4	0.044 9	0.000 6	0.000 7	0.007 3
	DMW-3	0.419 9	0.046 4	0.075 1	0.019 7	0.005 2	0.106 7
	DMW-4	0.161 4	0.001 8	0.048 6	0.001 3	0.000 7	0.012 9
	DMW-5	0.235 1	0.017 8	0.022 2	0.043 2	0.008 0	0.081 4
浓缩丸	NSW-1	0.088 6	0.021 3	0.106 5	0.000 1	0.000 1	0.004 3
	NSW-2	0.099 9	0.023 1	0.051 6	0.000 2	0.000 2	0.003 8
	NSW-3	0.064 7	0.012 2	0.038 8	0.000 1	0.000 0	0.001 0
	NSW-4	0.087 6	0.011 8	0.029 4	0.000 7	0.000 2	0.004 8
	NSW-5	0.175 3	0.032 3	0.079 3	0.000 2	0.000 1	0.006 8

注:附子理中丸大蜜丸单位为(mg/丸),附子理中丸浓缩丸单位为( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )。

### 3 讨论

制附子是附子理中丸中的君药,用以增强温中散寒之力<sup>[12]</sup>。其中所含的生物碱,既是主要的有效成分,也是有毒成分<sup>[13-14]</sup>。在《中国药典》2015 年版中,仅采用薄层色谱法对附子中的乌头碱做限量检测<sup>[1]</sup>,操作比较繁琐且制附子中的有毒生物碱不止乌头碱 1 个成分。因此,建立附子理中丸中既是有毒成分同时又是活性成分的主要生物碱含量测定方法,对于保证复方安全性和有效性很有必要。

附子理中丸作为一个复方,其药物成分复杂,因此本实验对提取溶剂、提取时间和提取方式均进行优化筛选。溶剂考察了氨试液-异丙醇-乙酸乙酯(《中国药典》方法)<sup>[1]</sup>,氨试液-乙醚<sup>[15]</sup>,0.01% 盐酸-甲醇<sup>[16]</sup>和水,提取时间考察了 15,30,60 min,比较了超声和回流提取。结果显示,以氨试液-乙醚作为提取溶剂超声提取 30 min 最佳。

有报道服用乌头碱致成人中毒量为 2 mg,为确保服用安全,每日服用乌头碱最大限量为 1 mg<sup>[17]</sup>。

附子理中丸大蜜丸每日人服用量为2到3丸,每丸9 g,本文测定的5批次大蜜丸中,乌头碱最高含量为每丸0.010 4 mg,浓缩丸乌头碱最高含量为0.000 2 mg · g<sup>-1</sup>,从结果看,远达不到中毒剂量。但除了乌头碱,测定的其他几种乌头碱都有一定的毒性,几种成分累加可能会增加毒性程度。因此,有必要建立中成药中毒性中药的质量控制方法。《中国药典》2015年版附子含量测定项下,规定附子药材含苯甲酰新乌头碱、苯甲酰乌头碱和苯甲酰次乌头碱的总量不得少于0.010%,含双酯型生物碱以新乌头碱、乌头碱和次乌头碱的总量计,不得超过0.020%,饮片含量标准同药材标准<sup>[1]</sup>。本文测定的10批次附子理中丸的3种单酯型生物碱苯甲酰新乌头碱、苯甲酰乌头碱和苯甲酰次乌头碱的总量在0.001%~0.006%,双酯型生物碱以新乌头碱、乌头碱和次乌头碱的总量在0.000 01%~0.002%。附子理中大蜜丸和浓缩丸中制附子均为粉末入药。按处方、制备工艺和丸剂质量,100 g制附子能够制备大约1 365 g大蜜丸,大约282 g浓缩丸。按附子中生物碱转移率95%计算,所测定的样品中制附子含苯甲酰新乌头碱、苯甲酰乌头碱和苯甲酰次乌头碱的总量为0.014%~0.085%,双酯型生物碱以新乌头碱、乌头碱和次乌头碱的总量计为0.000 02%~0.005 9%,从结果看,所测定的10个批次附子理中丸,原料药制附子中双酯型乌头碱和单酯型生物碱含量均符合《中国药典》规定。

本研究建立的HPLC-QQQ-MS法,能在短时间内同时检测附子理中丸中6种生物碱成分含量,最大限度排除其他化学成分的干扰,具有快速、灵敏和准确的优点。经系统适用性实验表明,该方法可靠,可用于附子理中丸苯甲酰新乌头碱、苯甲酰乌头碱、苯甲酰次乌头碱、新乌头碱、乌头碱和次乌头碱的定量测定,为该药的全面质量控制提供了依据。

[参考文献]

[1] 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,2015:192,1013.  
[2] 杨昌林,黄志芳,张意涵,等. 蒸制和烘制对附子生物碱成分含量的影响研究[J]. 中国中药杂志,2014,39(24):4798-4803.

[3] 张庆辉. 附子理中丸中毒致心律失常1例[J]. 临床荟萃,2010,25(23):2082.  
[4] 王建凯,刘国良. 附子理中丸致中毒反应2例报道[J]. 实用中医药杂志,2001,17(1):43.  
[5] 杨星辉. 服附子理中丸致面部浮肿2例[J]. 黑龙江中医药,1999(4):39.  
[6] 雷崎方,孙桂波,沈寿茂,等. 附子的化学成分研究[J]. 中草药,2013,44(6):655-659.  
[7] ZHOU G H, TANG L Y, ZHOU X D, et al. A review on phytochemistry and pharmacological activities of the processed lateral root of *Aconitum carmichaelii* Debeaux [J]. J Ethnopharmacol, 2015, 160:173-193.  
[8] 钟碧华,陆帅. HPLC法测定附子理中丸中乌头碱的含量[J]. 海峡药学,2014,26(11):115-117.  
[9] 邵峰,俞瑜,任刚,等. HPLC同时测定附子理中丸中3种单酯型生物碱含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(16):57-61.  
[10] 刘岚,范智超,张志琪. HPLC同时测定成药中4种乌头类生物碱含量[J]. 药物分析杂志,2010,30(2):236-239.  
[11] 索志荣,徐敏,秦海燕,等. LC-MS测定附子理中丸中3种双酯型生物碱含量[J]. 药物分析杂志,2010,30(12):2279-2282.  
[12] 邓中甲. 方剂学[M]. 北京:中国中医药出版社,2003:134.  
[13] ZHANG M, PENG C S, LI X B. *In vivo* and *in vitro* metabolites from the main diester and monoester diterpenoid alkaloids in a traditional Chinese herb, the aconitum species [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2015, 2015:252434.  
[14] 陈荣昌,孙桂波,张强,等. 附子毒性研究进展[J]. 中国中药杂志,2013,38(8):1126-1129.  
[15] 孙兰,周海燕,赵润怀,等. HPLC法同时测定附子中6种单酯和双酯型生物碱[J]. 中草药,2009,40(1):131-134.  
[16] 王瑞,刘芳,孙毅坤,等. 不同附子炮制品中乌头碱、新乌头碱、次乌头碱含量的HPLC测定[J]. 药物分析杂志,2006,26(10):1361-1363.  
[17] 黄光照,胡炳蔚. 法医毒理学[M]. 北京:人民卫生出版社,1988:131.

[责任编辑 顾雪竹]