

# 乌头汤不同配伍对单酯型乌头生物碱含量的影响

张言, 桂蜀华\*, 谢友良, 谭庆龙, 卢瑞琦, 李国卫, 邱继远  
(广州中医药大学, 广州 510006)

**[摘要]** **目的:**考察乌头汤不同配伍对制川乌中 3 种单酯型乌头生物碱(苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱)含量的影响。**方法:**采用 HPLC 考察乌头汤不同配伍中 3 种单酯型乌头生物碱含量的变化。**结果:**与制川乌单煎相比,配伍黑豆、防风的乌头汤与原乌头汤中单酯型乌头生物碱含量由 1 338.86  $\mu\text{g}$  分别降至 349.26, 402.18  $\mu\text{g}$ , 制川乌配伍防风则降低至 680.01  $\mu\text{g}$ , 制川乌配伍黑豆则降至 667.59  $\mu\text{g}$ 。**结论:**乌头汤配伍防风、黑豆能很大程度地降低制川乌中 3 种单酯型乌头碱含量, 为揭示制川乌减毒配伍机制提供指导。

**[关键词]** 乌头汤; 配伍; 高效液相色谱; 单酯型乌头生物碱

**[中图分类号]** R283.6; R289.1; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0011-04

**[doi]** 10.11653/syfj2013170011

## Effects of Different Compatibility on Contents of Monoester-Alkaloids from Aconiti Radix Cocta in Aconitum Decoction

ZHANG Yan, GUI Shu-hua\*, XIE You-liang, TAN Qing-long, LU Rui-qi, LI Guo-wei, QIU Ji-yuan  
(Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate influence of different compatibility to the contents of three kinds of monoester-alkaloids (benzoylmesaconine, benzoylaconine, benzoylhypaconine) from Aconiti Radix Cocta in

**[收稿日期]** 20130218(004)

**[基金项目]** 广东省科技计划项目(2011B050500008)

**[第一作者]** 张言, 硕士, 从事中药新药研究与开发, Tel:13760790029, E-mail:zhangyan0779@163.com

**[通讯作者]** \* 桂蜀华, 副研究员, 从事中药新药研究与开发, E-mail:guiguihuahua@163.com

甘油外, 还加入了 PEG600 以防止囊皮脱水老化<sup>[10]</sup>。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 227.
- [2] 李晓光, 罗焕敏. 南五味子属植物化学成分及活性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(12): 1120.
- [3] 张朝波, 柳燕, 李林燕, 等. 南五味子总木脂素有效部位镇静、催眠作用研究[J]. 中药药理与临床, 2011, 27(1): 29.
- [4] 徐丽华, 黄芳, 孙萌, 等. 南北五味子镇静催眠活性部位共有成分的分析[J]. 分析化学研究报告, 2009, 37(6): 828.
- [5] 柳燕, 林勇, 李林燕, 等. 南五味子有效部位前处理及

提取的工艺研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2011, 13(7): 40.

- [6] 胡正芳, 柳燕, 贾树田, 等. 大孔树脂与氧化铝联用纯化南五味子总木脂素的工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(3): 36.
- [7] 王洛临, 宁德山, 陈路林, 等. 益妇宁软胶囊的制备工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(4): 17.
- [8] 杨金颖, 陈虎虎, 龚苏晓, 等. 正交试验法优选头痛滴丸的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(15): 59.
- [9] 许良葵, 聂阳, 曾永玉, 等. 正交试验法优选中风活心软胶囊提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(23): 40.
- [10] 石绍福, 韩豪, 刘新, 等. 软胶囊制备工艺研究现状[J]. 中国生化药物杂志, 2011, 32(1): 76.

[责任编辑 全燕]

aconitum decoction. **Method:** HPLC was applied to determine the contents of three kinds of monoester-alkaloids from *Aconiti Radix Cocta* in aconitum decoction with different compatibility. **Result:** Compared with single fried of *Aconiti Radix Cocta*, the contents of monoester-alkaloids in aconitum decoction felt from 1 338.86  $\mu\text{g}$  to 349.26, 402.18  $\mu\text{g}$  by compatibility with black beans and *Saposhnikovia Radix*, compatibility of *Aconiti Radix Cocta* and *Saposhnikovia Radix* reduced to 680.01  $\mu\text{g}$ , and felt to 667.59  $\mu\text{g}$  in compatible decoction of *Aconiti Radix Cocta* and black beans. **Conclusion:** Compatibility of *Saposhnikovia Radix* and black beans could reduce to a large extent contents of three kinds of monoester-alkaloids from *Aconiti Radix Cocta*, it provided guidance for revealing attenuated compatibility mechanism of *Aconiti Radix Cocta*.

[**Key words**] aconitum decoction; compatibility; HPLC; monoester-alkaloids from *Aconiti Radix Cocta*

乌头汤为东汉著名医家张仲景创制的名方,由黄芪、麻黄、芍药、甘草(炙)、制川乌组成,具有温经散寒、祛湿镇痛的功效,主治寒湿痹症<sup>[1]</sup>。方中以制川乌温经祛湿、散寒镇痛,芍药缓急舒经镇痛,以利筋骨屈伸<sup>[2]</sup>。制川乌与麻黄相配,祛痹镇痛之力较著<sup>[3]</sup>。名老中医李可在其基础上配伍黑豆、防风,以达到制约制川乌毒性的目的<sup>[4]</sup>,防风具有发表祛风、胜湿止痛之功效,《本草求原》中记载“解乌头,芫花,野菌诸毒”《本经集注》“杀附子毒”;黑豆活血利水、祛风解毒,《食疗本草》有云“黑豆煮食之,杀乌头、附子毒”。制川乌中乌头类生物碱为制川乌抗炎、镇痛的主要化学成分,也是毒性成分。本实验通过探究乌头汤不同配伍后 3 种单酯型乌头生物碱(苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱)含量的变化规律,以揭示乌头汤的减毒增效配伍机制,为乌头汤的临床应用提供依据。

### 1 材料

LC-20A 型高效液相色谱仪(日本岛津),L-530 型台式低速离心机(湖南湘仪公司),CP225D 型电子天平(Sartorius 公司),LE-500 型电子天平(佛山市华天力电子天平厂)。

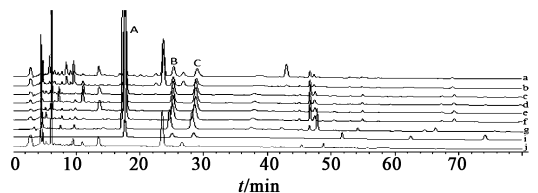
苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、新乌头碱对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为 11794-201102, 111796-200901, 111795-200901, 110799-200505),乌头碱、次乌头碱对照品(北京恒元启天化工技术研究院,批号分别为 MUST-11031101, MUST-120210303),乙腈为色谱纯,水为去离子重蒸水,其他试剂均为分析纯。

制川乌(四川江油中坝附子科技发展有限公司),黑豆、防风、黄芪、麻黄、白芍、炙甘草(广州市杏园春药店),均由广州中医药大学赖小平教授鉴定,分别为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 的干燥母根的炮制品,豆科植物大豆 *Glycine max* (L.) merr. 的干燥种子,伞形科植物防风

*Saposhnikovia divaricata* (Turcz) Schischk. 的未抽花茎植株的干燥根,豆科黄芪属植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fish.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 干燥的根,麻黄科植物草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf 的干燥草质茎,毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根,豆科植物甘草 *Glycyrrhiz uralensis* Fisch. 干燥根的蜜制品。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Inert Sustain™ C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),流动相乙腈(A)-0.04 mol·L<sup>-1</sup> 乙酸铵溶液(B, 氨水调 pH 10)梯度洗脱(0~33 min, 28%~31% A; 33~42 min, 31%~46% A; 42~52 min, 46%~58% A; 52~80 min, 58%~28% A),柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ,流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 235 nm,见图 1。



A. 苯甲酰新乌头原碱; B. 苯甲酰乌头原碱; C. 苯甲酰次乌头原碱;  
a. 样品 6; b. 样品 7; c. 样品 5; d. 样品 4; e. 样品 3;  
f. 样品 2; g. 样品 1; i. 6 种酯型乌头生物碱混标; j. 阴性

图 3 乌头汤不同配伍 HPLC

**2.2 供试品溶液的制备** 精密称取过 60 目筛的制川乌细粉约 3.0 g,加 10 倍量水浸泡,静置 30 min,沸水浴回流提取 2 h,离心(4 000 r·min<sup>-1</sup>)5 min,加 10 mL 水洗涤残渣,离心,合并上清液,加盐酸调 pH 约 2,加乙醚萃取 3 次,每次 50 mL,弃去乙醚液,酸水层加氨水调 pH 9~10,加乙醚萃取 3 次,每次 50 mL,合并乙醚液,于 55  $^{\circ}\text{C}$  蒸干,加 0.01% 盐酸甲醇溶解并定容于 5 mL 量瓶中,作为样品 1 备用。精密称取过 60 目筛的制川乌、黑豆各 3.0 g,按上述操作制备样品 2。精密称取过 60 目筛的制川乌、防风

各 3.0 g,按上述操作制备样品 3。精密称取过 60 目筛的制川乌、炙甘草各 3.0 g,按上述操作制备样品 4。精密称取过 60 目筛的制川乌、黑豆、防风、炙甘草各 3.0 g,按上述操作制备样品 5。精密称取过 60 目筛的制川乌、黑豆、防风、炙甘草、麻黄、黄芪、白芍各 3.0 g,按上述操作制备样品 6。精密称取过 60 目筛的制川乌、炙甘草、麻黄、黄芪、白芍各 3.0 g,按上述操作制备样品 7。

**2.3 阴性溶液制备** 精密称取过 60 目筛黑豆、防风、炙甘草、麻黄、黄芪、白芍各 3.0 g,按 2.2 项下方法制备供试品溶液。

**2.4 对照品溶液的制备** 精密称取苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱 1.93,1.67 mg,分别置于 2 mL 量瓶中,用 0.01% 盐酸甲醇定容至刻度,作为母液备用。精密称取苯甲酰新乌头原碱 1.26 mg 置于 2 mL 量瓶中,分别加入苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱对照品母液 0.08,0.1 mL,用 0.01% 盐酸甲醇定容至刻度,得苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱质量浓度分别为 38.60,41.75,630.00  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的单酯型生物碱混合对照品溶液。取乌头碱、次乌头碱、新乌头碱对照品适量于 5 mL 量瓶中,加 0.01% 盐酸甲醇定容至刻度,取 1 mL 置于 2 mL 量瓶中,加入 3 种单酯型生物碱对照品混合液适量,用 0.01% 盐酸甲醇定容至刻度,作为单、双酯型生物碱对照品混合液,备用。

## 2.5 方法学考察

**2.5.1 线性范围** 将上述单酯型生物碱对照品混合液过 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜,分别进样 1,2,5,10,15,20,25  $\mu\text{L}$ ,按 2.1 项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得回归方程  $Y_{\text{苯甲酰乌头原碱}} = 1.978 \times 10^6 X - 5.404 \times 10^3$  ( $r = 1.0000$ ),  $Y_{\text{苯甲酰次乌头原碱}} = 2.045 \times 10^6 X - 1.252 \times 10^4$  ( $r = 0.99998$ ),  $Y_{\text{苯甲酰新乌头原碱}} = 1.463 \times 10^6 X + 1.295 \times$

$10^5$  ( $r = 0.99992$ ),线性范围依次为 0.077 ~ 0.965, 0.084 ~ 1.044,1.260 ~ 15.750  $\mu\text{g}$ 。

**2.5.2 精密度试验** 分别取单酯型生物碱对照品混合液过 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜,连续进样 6 次,每次 10  $\mu\text{L}$ ,记录峰面积,结果苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱含量的 RSD 分别为 0.32%,1.36%,1.39%。

**2.5.3 重复性试验** 精密称取过 60 目筛的制川乌细粉 6 份,每份 3.0 g,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,进样量 20  $\mu\text{L}$ ,结果苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱含量的 RSD 分别为 2.63%,1.16%,1.88%。

**2.5.4 稳定性试验** 精密称取过 60 目筛的制川乌细粉 3.0 g,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,分别于 0,2,4,8,12,16,24 h 分别进样 20  $\mu\text{L}$ ,结果苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱含量的 RSD 分别为 0.51%,1.34%,0.64%。

**2.5.5 加样回收率试验** 取已知苯甲酰新乌头原碱、苯甲酸乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱含量的样品,精密加入对照品溶液(苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱质量浓度分别为 0.504,0.0528,0.0468  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )各 0.5 mL,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,进样,测定,计算苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱平均回收率分别为 98.56% (RSD 1.53%),99.62% (RSD 2.55%),100.86% (RSD 1.80%)。

**2.6 乌头汤不同配伍对单酯型乌头生物碱含量的影响** 精密量取适量样品 1~7,按 2.1 项下色谱条件分析,计算苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱及总单酯型乌头生物碱含量,以样品 1 中 3 种单酯型乌头生物碱含量作为参比,计算样品 2~7 中 3 种单酯型乌头生物碱的含量变化,见表 1。

表 1 乌头汤不同配伍样品中 3 种单酯型乌头生物碱含量测定

样品	苯甲酰乌头原碱		苯甲酰次乌头原碱		苯甲酰新乌头原碱		总酯型生物碱	
	提取量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	减少率/%	提取量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	减少率/%	提取量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	减少率/%	提取量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	减少率/%
1	110.24	100	101.82	100	1126.80	100	1338.86	100
2	62.54	43.27	66.25	34.94	551.22	51.08	680.01	49.21
3	62.27	43.52	61.41	39.69	543.91	51.73	667.59	50.14
4	103.03	6.54	98.93	2.84	998.41	11.39	1110.37	17.07
5	56.49	48.76	60.27	40.81	449.18	60.14	565.94	57.73
6	29.67	73.09	32.57	68.01	287.02	74.53	349.26	73.91
7	36.77	66.65	38.15	62.53	327.26	70.96	402.18	69.96

### 3 讨论

川乌中主要毒性成分双酯型乌头生物碱经炮制后分解为单酯型乌头生物碱,单酯型乌头生物碱的毒性仅为双酯型乌头生物碱毒性的 1/200,但毒性依然存在,当制川乌用量加大时,其毒性可对人身体产生危害。吕志杰等<sup>[5]</sup>在研究制川乌毒性时发现,灌服 10 g 制川乌的家兔开始出现中毒表现,并随制川乌质量的增加毒性表现更加明显,为减毒存性,或者减毒增效,中医临床常采用药物配伍来解决。

何伟等<sup>[6]</sup>发现川乌与白芍配伍后,乌头碱煎出量降低,芍药苷煎出量增加,表明配伍后降低了川乌的毒性。李晋奇等<sup>[7]</sup>发现制川乌总碱与白芍总苷、白芍多糖(1:2)配伍可减轻风寒湿证类风湿性关节炎大鼠关节肿胀和关节疼痛,升高下丘脑 L-ENK 和  $\beta$ -END 含量,降低血浆 SP、血清 IgG、血清 IL-1 $\beta$ 、血清 IL-6 含量,升高血清 IL-2 含量,抑制成纤维样滑膜细胞分泌功能的异常亢进。李可老中医在乌头汤基础上加了防风 and 黑豆,称之为改良乌头汤,以抑制乌头汤中制川乌的毒性。由表 1 可知,制川乌配伍防风、黑豆均可明显降低制川乌中单酯型乌头生物碱含量,改良乌头汤效果优于乌头汤,一定程度上说明配伍防风、黑豆能有效地降低金匱原乌头汤的毒性,一起配伍效果更佳。

提取方法考察时,曾尝试采用文献方法,但结果不理想,对含测成分产生干扰,故水煎液通过调碱乙醚萃取除杂,水层再调碱乙醚萃取,乙醚层低温蒸干,以 0.01% 盐酸甲醇为溶剂,可排除干扰,达到预期目的。

在预试验中,对制川乌在不同煎煮时间下 6 种酯型乌头生物碱的含量进行考察,结果发现,单酯型乌头生物碱含量在 0~6 h 呈上升趋势,6 h 后苯甲酰新乌头原碱含量呈下降趋势,苯甲酰乌头原碱及苯甲酰次乌头原碱则仍缓慢上升,在 0 h 仅发现次乌头碱存在且含量很低,随煎煮时间的增加,次乌头碱急剧减少,煎煮 2 h 未发现次乌头碱的存在,故单酯型乌头生物碱的煎煮时间定为 2 h。在川乌炮制过程中,绝大部分双酯型乌头生物碱已转化成毒性相对较小的单酯型乌头生物碱,若继续加热加压炮制单酯型乌头生物碱将继续转化成毒性更小的胺醇类碱<sup>[8]</sup>。

张帆等<sup>[9]</sup>发现附子配伍甘草后,酯型生物碱占总生物碱质量分数从 46% 降至 4.5%。施旭光等<sup>[10]</sup>发现制川乌与炙甘草的交互作用对次乌头碱和甘草酸的煎出存在较大影响。王峰峰等<sup>[11]</sup>发现

制川乌随甘草配伍量的增加,煎煮液中单酯型生物碱总量逐渐降低,降低达单煎的 40%。本实验中制川乌配伍炙甘草,相对制川乌单煎,单酯型乌头生物碱含量只是小幅降低,仅 17.07%,可能与提取时间、溶媒及样品处理方式有一定联系,或者炙甘草对制川乌的减毒作用在进入体内后才进一步体现。蓝娟等<sup>[12]</sup>研究炙甘草配伍的减毒机理时,发现炙甘草配伍附子显著降低游离的双酯型乌头类生物碱含量及肠道吸收率,同时促使各肠段对乌头类生物碱无差异吸收,以达到其减毒缓释的作用。炙甘草在体内均能起到减毒效果,但其减毒机制尚不明确。

### [参考文献]

- [1] 刘伟栋,施旭光,旷永强,等. 乌头汤对 RA 大鼠相关细胞因子影响的研究[J]. 中药材, 2009, 32(8):1267.
- [2] 余成浩. 乌头类有毒中药常用配伍药对的物质基础研究[D]. 成都:成都中医药大学, 2006.
- [3] 刘娜,刘文. HPLC 法测定乌头汤水煎液中盐酸麻黄碱的含量[J]. 中国民族民间医药杂志, 2008, 20(7):33.
- [4] 李可. 李可老中医急危重症疑难病经验专辑[M]. 太原:山西科学技术出版社, 2004:64.
- [5] 吕志杰,卢月英,朱方,等. 制川乌的毒性实验研究[J]. 中国中医药科技, 1996, 3(5):17.
- [6] 何伟,王宁,秦林,等. 川乌与白芍配伍前后乌头碱和芍药苷煎出量的测定[J]. 中国药学杂志, 2002, 37(9):680.
- [7] 李晋奇,彭成,姬洁莹. 制川乌总碱与白芍总苷、白芍多糖配伍治疗类风湿性关节炎大鼠的作用机制研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(22):2937.
- [8] 叶定江,张世臣. 中药炮制学[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1996:248.
- [9] 张帆,葛亮,哈木拉提·吾甫尔,等. 麻黄附子甘草汤的不同配伍方式对其毒性成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6):83.
- [10] 施旭光,王沛坚. 非线性回归分析不同剂量配伍对乌头汤中主要化学成分的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2009, 10(1):55.
- [11] 王峰峰,宋兆辉,张兰兰,等. 不同比例制川乌配伍甘草对单酯型生物碱煎出量的影响[J]. 中草药, 2012, 43(6):1101.
- [12] 蓝娟,阿衣夏木·夏衣提,何雷萍,等. 炙甘草配伍对附子水煎液中乌头类生物碱的含量和离体肠吸收的影响[J]. 中国药科大学学报, 2012, 43(5):430.

[责任编辑 仝燕]