

诃子草乌配伍与诃子制草乌水煎液中生物碱含量的比较 ——诃子制草乌炮制原理探讨 II

刘畅, 李飞, 侯跃飞, 刘帅, 谭鹏, 李向日, 杜红*
(北京中医药大学, 北京 100029)

[摘要] 目的:对生草乌、诃子制草乌水煎液及草乌诃子共煎液中生物碱含量进行比较验证蒙医理论“诃子可解乌头毒”。方法:采用 HPLC 测定生草乌水煎液、诃子制草乌水煎液及诃子草乌共煎液中新乌头碱、乌头碱、次乌头碱以及苯甲酰新乌头碱、苯甲酰乌头碱、苯甲酰次乌头碱的含量。色谱条件以乙腈-四氢呋喃(25:15)为流动相 A,以 0.1 mol·L⁻¹ 醋酸铵溶液(每 1 000 mL 加冰醋酸 0.5 mL)为流动相 B。结果:双酯型生物碱的含量为诃子草乌共煎液 > 诃子汤制草乌煎液 > 生草乌煎液;单酯型生物碱的含量为生草乌煎液 > 诃子草乌共煎液 > 诃子汤制草乌煎液。结论:诃子可以使草乌中双酯型生物碱缓慢水解,诃子制草乌的毒性低于诃子草乌配伍。

[关键词] 诃子; 草乌; 水煎液; 炮制; 生物碱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0130-03

Comparison of Contents of Aconitum Alkaloids between the Decoctions of Aconitum Processed with Myrobalan and Co-decoctions of Aconitum and Myrobalan ——Principal of Aconitum Processed with Myrobalan II

YANG Chang, LI Fei, HOU Yue-fei, LIU Shuai, TAN Peng, LI Xiang-ri, DU Hong*
(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[收稿日期] 20121120(019)

[基金项目] 北京中医药大学自主选题(2011-MZYY-07);中医药行业科研专项项目(201107008);国家自然科学基金项目(81102807)

[通讯作者] * 杜红, 博士, 副教授, 从事中药炮制研究, Tel: 010-84738616, E-mail: duhong@vip.163.com

以指标性成分含量最低的且得率也是最低的百合皂苷有效部位为基准,使其质量浓度不低于 2 g·L⁻¹ 的基础上进行混合配制,否则色谱图的峰则相对不明显。这也是导致加样回收率实验中对照品的添加量较高的原因。

[参考文献]

- [1] 王华富,许惠琴,陈敏敏,等. 百合知母汤不同配比对去势围绝经期综合征肾阴虚证大鼠子宫系数及血清性激素的影响[J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(4):531.
- [2] 王迪,姜艳艳,石任兵. 中药知母质量控制方法研究[J]. 北京中医药大学学报, 2011, 34(4):263.
- [3] 秦昆明. 百合知母汤质量控制及药效物质基础研究

[D]. 南京:南京中医药大学, 2010:14.

- [4] 杨秀伟,吴云山,崔育新,等. 卷丹中新甾体皂苷的分离和鉴定[J]. 药学学报, 2002, 37(11):863.
- [5] 周中流,石任兵,刘斌. HPLC 法测定卷丹有效部位中 3 种甾体皂苷的含量[J]. 北京中医药大学学报, 2010, 33(4):277.
- [6] 陈沛鑫,李卫民,帅颖. HPLC 测定知母-黄芪药对中芒果苷毛蕊异黄酮苷和毛蕊异黄酮[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22):72.
- [7] 黄江剑,李卫民,叶雪兰. HPLC-ELSD 测定不同产地百合中薯蓣皂苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5):110.
- [8] 王可人. 知母百合药对的化学成分分析及药动学研究[D]. 上海:第二军医大学, 2011:17.

[责任编辑 邹晓翠]

[Abstract] Objective: To verify mongolian medicine theory ‘myrobalan can decrease the toxicity of aconitum’, comparing the contents of aconitum alkaloids among decoctions of aconitum processed with myrobalan, crude aconitum and co-decoctions of aconitum and myrobalan. **Method:** The HPLC method was used for determination of the contents of aconitine, hyaconitine, mesaconitine, benzoyl aconine, benzoyl hyaconitine and benzoyl mesaconitine in decoctions of aconitum processed with myrobalan, crude aconitum and co-decoctions of aconitum and myrobalan. **Result:** The contents of diester-diterpene type aconitum alkaloids during processing in order were co-decoctions of aconitum and myrobalan, decoctions of aconitum processed with myrobalan, decoctions of crude aconitum. **Conclusion:** Diester-diterpene type aconitum alkaloids in aconitum could hydrolysis slowly under the action of myrobalan decoctions, and the toxicity of aconitum processed with myrobalan is lower than the compatibility of aconitum and myrobalan.

[Key words] Chebulae Fructus; Aconiti Kusnezoffii Radix; decoctions; processing; aconitum alkaloid

草乌是毛茛科北乌头的干燥块根,蒙医学认为草乌(泵阿)味辛,性温,效轻,有大毒,功能杀“黏”,止痛,燥“协日乌素”,用于瘟、黏、奇哈、刺痛、结喉、痧症、痛风、游痛证、关节“协日乌素”、风湿病、心“赫依”、牙痛等^[1]。蒙医用草乌必用诃子,或以药对形式配伍入煎剂,或以炮制品入丸散剂^[2]。笔者前期对诃子制草乌的研究结果表明,诃子汤制草乌样品中双酯碱含量较高,这与传统蒙医药理论相悖。本研究继续通过比较生草乌、诃子制草乌水煎液及草乌诃子共煎液中双酯型生物碱和单酯型生物碱的含量差别,探讨诃子中的鞣质与生物碱结合后,经进一步加热后的水解情况,为验证蒙医理论“诃子可解乌头毒”提供参考。

1 材料

诃子购自安国药材市场,经北京中医药大学生药系张贵君教授鉴定为使君子科植物 *Terminalia chebual* Refz 的干燥成熟果实。生草乌购自北京华邈中药工程技术开发中心,经鉴定为毛茛科植物北乌头 *Aconitum kusnezoffii* Reichb 的块根。

乌头碱、新乌头碱、次乌头碱、苯甲酰乌头碱、苯甲酰新乌头碱、苯甲酰次乌头碱,供含量测定用(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110720-201111, 110798-201106, 110799-201106, 111794-201102, 111795-201002, 111796-201002)。其他化学试剂均为分析纯。

Waters 高效液相色谱仪(1525 色谱泵,2428 双波长紫外检测器,Breeze 工作站)。

2 方法和结果

2.1 诃子草乌共煎液制备 按照诃子与草乌的用量比为 1:3 分别取草乌 50 g,诃子 17 g,适当粉碎。置圆底烧瓶中,加水没过药面,浸泡 30 min。回流提取 1 h,药渣再加水煎煮 2 次,每次 30 min。合并 3

次水煎液,滤过备用。

2.2 诃子制草乌水煎液制备 诃子汤的制备^[3] 取诃子肉适量,粉碎成 0.8 cm 左右碎块。40 倍量清水浸泡 12 h,回流煎煮 1 h。冷却滤过,即得诃子汤。

诃子汤制草乌^[4-5] 取大小分档的草乌,加诃子汤至没过药面浸泡。每日换液,共浸泡 3 日,低温烘干,即得。诃子与草乌的用量比为 1:3。

取上述诃子汤制草乌 50 g,按 2.1 的方法制备水煎液,滤过备用。

2.3 生草乌水煎液制备 取生草乌 50 g,按 2.1 项下方法制备水煎液,滤过备用。

2.4 供试药的制备^[6-9] 将上述水煎液浓缩至 200 mL,用浓 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 调 pH 10,冷却至室温。用等体积的氯仿多次萃取至氯仿层几乎无色,合并萃取液。减压回收氯仿,用异丙醇-三氯甲烷(1:1)混合液溶解并定容到 10 mL 量瓶中,即得供试药液,备用。

2.5 生物碱成分的含量测定^[10] 对照品溶液的制备 取乌头碱对照品、次乌头碱对照品、新乌头碱对照品、苯甲酰乌头原碱对照品、苯甲酰次乌头原碱对照品、苯甲酰新乌头原碱对照品适量,混合。加异丙醇-三氯甲烷(1:1)混合溶液定容成 10 mL,制成每 1 mL 含乌头碱 0.034 mg、次乌头碱 0.01 mg、新乌头碱 0.087 mg、苯甲酰乌头原碱 0.023 mg、苯甲酰次乌头原碱 0.095 mg、苯甲酰新乌头原碱 0.125 mg 的对照品溶液,备用。

供试品溶液的制备 精密量取 2.4 制备的供试药 1 mL,用异丙醇-三氯甲烷(1:1)混合液定容到 10 mL 量瓶中,密塞,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

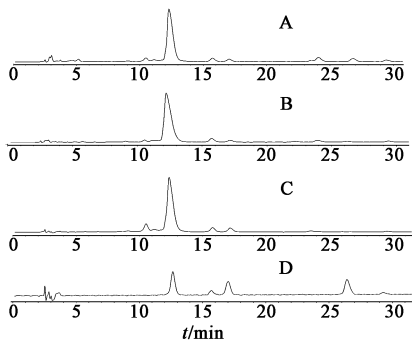
色谱条件 以乙腈-四氢呋喃(25:15)为流动相 A,以 0.1 mol·L⁻¹ 醋酸铵溶液(每 1 000 mL 加冰醋酸 0.5 mL)为流动相 B,按表 1 中的规定进行梯度洗脱。检测波长为 235 nm,流速 1 mL·min⁻¹。

表 1 梯度洗脱条件

t/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0 ~ 48	15 ~ 26	85 ~ 74
48 ~ 48.1	26 ~ 35	74 ~ 65
48.1 ~ 58	35	65
58 ~ 65	35 ~ 15	65 ~ 85

表 2 各样品中乌头类生物碱含量

样品	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	单酯型生物 碱总含量	双酯型生物 碱总含量
生草乌煎液	0.629 5	0.033 8	0.040 9	0.003 7	/	0.015 7	0.704 2	0.015 7
诃子汤制草乌煎液	0.334 5	0.018 0	0.014 0	0.004 1	0.028 7	/	0.366 5	0.032 8
诃子草乌共煎液	0.509 6	0.022 4	0.020 8	0.024 4	0.035 4	/	0.552 8	0.059 8



A. 诃子草乌共煎液; B. 诃子汤制草乌煎液;
C. 生草乌煎液; D. 对照品

图 1 诃子草乌共煎液后液相色谱

由结果可知,双酯型生物碱的含量,诃子草乌共煎液 > 诃子汤制草乌煎液 > 生草乌煎液;单酯型生物碱的含量,生草乌煎液 > 诃子草乌共煎液 > 诃子汤制草乌煎液。

3 讨论

前期的研究表明,诃子中的鞣质成分可有效保护诃子汤制草乌饮片中的生物碱,使其不被水解或流失较少。本实验的研究结果显示,诃子汤制草乌水煎液及诃子草乌共煎液中双酯碱含量高于生草乌水煎液,单酯型生物碱含量低于生草乌水煎液,说明诃子汤制草乌经水煎煮或诃子草乌共煮后,双酯碱的水解速度明显低于生品。因此,蒙医药“诃子可解草乌毒”一说,并不是由于在炮制或配伍过程中诃子直接降低了极毒的双酯型生物碱的含量,而是其中的鞣质成分与生物碱结合生成难溶物质,该难溶物质在水煎煮的过程中可缓慢释放并发生水解,降低毒性的同时,可保证持续的发挥作用。

诃子汤制草乌水煎液与诃子草乌共煎液比较,前者的双酯型生物碱含量更低,说明炮制品中的双酯型生物碱较配伍使用更易水解;诃子汤制品水煎液中单酯型生物碱的含量也低于诃子草乌共煎液,

样品测定 分别精密量取对照品及各供试品溶液 10 μL,注入液相色谱仪,按上述色谱条件进行测定。外标法计算各供试品溶液中乌头碱、新乌头碱、次乌头碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱的含量。结果见表 2,图 1。

推测可能是单酯型生物碱又进一步发生了二级水解,生成毒性更低的氢醇型乌头原碱。综上所述,经诃子汤炮制后的草乌饮片毒性小于诃子草乌配伍使用,更适宜丸、散等成方制剂。因此,诃子制草乌与诃子草乌配伍,二者虽然草乌与诃子的比例相同,但煎煮液中生物碱的含量有较大差别,不能混用。蒙医临床中也是入煎剂多为配伍使用,丸散剂多使用炮制品,本实验的结果与蒙医临床使用经验相吻合。

【参考文献】

- [1] 图雅,张贵君,刘志强,等.蒙药草乌的研究进展[J].时珍国医国药,2008,19(7):1581.
- [2] 赵丽娟,杜遵义.诃子在蒙藏药中应用研究概述[J].中国民族医药杂志,2007(4):31.
- [3] 杨红霞,杜玉枝,肖远灿,等.诃子制草乌的炮制工艺研究[J].华西药学杂志,2011,26(6):572.
- [4] 高宝芝,陈涛.草乌在中医药和蒙医药研究的概述[J].北方药学,2010,7(1):38.
- [5] 侯敏,李娜,任芳,等.诃子制草乌九种炮制方法抗炎作用的正交试验[J].中国民族医药杂志,2010(12):66.
- [6] 王梦德,张述禹,包存刚,等.诃子对草乌水煎液双酯型二萜类生物碱溶出率的影响[J].中国民族医药杂志,2001,7(3):29.
- [7] 赵玉英.诃子中多糖的提取及无机元素的含量测定[J].中国民族医药杂志,1999(5):129.
- [8] 杨云.附子理中口服液乌头类生物碱的含量测定[J].中国实验方剂学杂志,1997,3(3):43.
- [9] 边宝林,司南,王宏洁,等.附子单煎以及与浙贝母合煎后乌头碱、次乌头碱、新乌头碱等有毒成分的含量变化研究[J].中国实验方剂学杂志,2006,12(4):9.
- [10] 中华人民共和国国家药典委员会.中华人民共和国药典.一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:220.

[责任编辑 邹晓翠]