

# 川乌微波炮制工艺优选

区炳雄\*, 龚又明, 林华, 邓广海  
(广东省中医院药学部, 广州 510120)

**[摘要]** 目的: 研究川乌的微波炮制工艺。方法: 采用 HPLC 测定川乌不同微波炮制品中 6 种生物碱和总生物碱的含量, 并以其为指标与传统炮制工艺进行比较, 全面评价川乌微波炮制工艺。结果: 最佳的微波炮制工艺为川乌经润透法处理后, 于 60% 微波火力下炮制 18~20 min, 与传统炮制法比较, 其总生物碱含量较高, 且 6 种单、双型生物碱的含量均符合 2010 年版《中国药典》的要求。结论: 该方法简单、可行而且易于控制, 可作为川乌炮制的新方法。

**[关键词]** 川乌; 微波炮制; 单酯型生物碱; 双酯型生物碱; 总生物碱; 高效液相色谱法

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)01-0039-04

## Microwave Processing Technology of Radix Aconiti

OU Bing-xiong\*, GONG You-ming, LIN Hua, DENG Guang-hai  
(Pharmaceutical Department, Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study on microwave processing technology of Radix Aconite. **Method:** The content of six kinds of alkaloids and total alkaloids from different microwave processed products of Radix Aconite were determined by HPLC, and used them as index to compare with traditional processing technology, comprehensive evaluated microwave processing technology of Radix Aconite. **Result:** Optimum microwave process technology was as follows: after treated by moistening, processed 18-20 min under microwave heating with 60%, and the content of total alkaloids was higher than processed with traditional technology, the content of six kinds of single and double type alkaloids met requirements of 2010 "China Pharmacopoeia". **Conclusion:** This method was

**[收稿日期]** 20110728(017)

**[通讯作者]** \* 区炳雄, 副主任药师, 从事医院药学及中药质量鉴定研究, Tel: 13543441848, E-mail: obx1848@163.com

目前, 通过剂型改变提高熊果酸体内生物利用度成为主要的途径之一。现有的报道中, 已制备成缓释片、脂微球等剂型<sup>[4,7]</sup>, 但其生物利用度依然不高。自微乳化给药系统是药物在油相、表面活性剂和助表面活性剂作用下形成的均一透明的溶液, 目前多用于疏水性、难吸收或易水解药物的载体<sup>[8]</sup>。因此本研究将其制备成自微乳, 以提高其体内的生物利用度。从药动学及生物利用度结果可看出, 所制备的自微乳的生物利用度高于缓释片。

### [参考文献]

- [1] 孟艳秋, 陈瑜, 王赓, 等. 熊果酸的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2007, 16(1): 25.
- [2] 陈武, 熊筱娟, 李开泉, 等. 乌索酸治疗急性病毒性

肝炎的临床研究[J]. 宜春医学, 2001, 13(1): 1.

- [3] 赖玲, 杨光, 杨昕. 熊果酸固体分散体的制备与体外溶出度测定[J]. 医药导报, 2005, 24(6): 517.
- [4] 詹琳, 刘亚妮. 熊果酸缓释片的质量控制与稳定性考察[J]. 医药导报, 2011, 30(5): 658.
- [5] 程晓华, 熊玉卿. Caco-2 细胞单层模型中熊果酸摄取转运机制的研究[J]. 中草药, 2009, 40(12): 1935.
- [6] 任华益. 熊果酸抑制 P-糖蛋白外排功能[J]. 中草药, 2009, 40(7): 493.
- [7] 欧苏, 尹爱梅. 一种熊果酸脂微球制剂及其制备方法中国: CN200610020604.8[P]. 2006-11-08.
- [8] 杨蕊, 苏乐群, 黄欣. 齐墩果酸自微乳的制备及质量评价[J]. 食品与药品, 2008, 10(01): 40.

[责任编辑 仝燕]

simple, feasible and easy to control, it could be used instead of traditional processing technology of Radix Aconiti as a new method.

[Key words] Radix Aconiti; microwave processing; monoester alkaloids; diesterifiable alkaloids; total alkaloids; HPLC

川乌为毛茛科植物乌头的干燥母根,具有祛风除湿、温经止痛等功效<sup>[1]</sup>。生品有毒,一般要炮制后才能入药,而由于历史和地域等原因,川乌炮制工艺繁多,缺乏规范统一的炮制方法,造成市场上制川乌的质量参差不齐,影响了其临床疗效。2010 年版《中国药典》一部制川乌项下的炮制工艺为常压蒸制和煮制<sup>[1]</sup>,该工艺操作繁琐,有效成分流失较大。微波炮制法具有省时高效,且操作简单、可控,经膨化作用后有效成分易于溶出等优点。川乌微波炮制工艺的研究较少,舒晓燕<sup>[2]</sup>研究发现微波加热处理时应选择中火,加热 4 min,切片厚度 3 mm 为最佳工艺。本实验对川乌微波炮制工艺的主要影响因素进行考察,采用 HPLC 同时测定其生品及其炮制品中 6 种生物碱的含量,同时测定其总生物碱的含量,并且与 2010 年版《中国药典》制川乌项的炮制方法进行比较,多指标的评价川乌微波炮制工艺,力求为川乌寻找一种“低毒高效”的炮制方法。

### 1 仪器与试剂

Agilent-1100 型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技公司),WD800B 型格兰仕微波炉(广东格兰仕集团有限公司),BS210S 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

乌头碱(批号 0720-9807)、新乌头碱(批号 799-9403)、次乌头碱(批号 110798-200404)等对照品均购买于中国药品生物制品检定所(纯度≥98.0),苯甲酰新乌头原碱(批号 20100823)、苯甲酰乌头原碱(批号 20100703)、苯甲酰次乌头原碱(批号 20100712)等对照品由成都瑞芬思生物科技有限公司提供(纯度≥98.0),川乌药材由康美药业股份有限公司提供(产地四川),经广州中医药大学中药鉴定教研室黄海波副教授鉴定为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 的干燥母根,乙腈、四氢

呋喃均为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为超纯水。

### 2 方法与结果

#### 2.1 6 种生物碱 HPLC 含量测定<sup>[3]</sup>

2.1.1 色谱条件 Dikma kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-四氢呋喃(25:15) A-0.1 mol·L<sup>-1</sup> 乙酸铵(1 000 mL 加乙酸 0.5 mL) B,梯度洗脱 0~15 min(16%~19% A),15~45 min(19%~22% A),45~60 min(22%~35% A),65~75 min(35% A);检验波长 235 nm,柱温 30 °C,流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>。

2.1.2 对照品溶液制备 分别精密称取新乌头碱 2.37 mg,乌头碱 2.04 mg,次乌头碱 1.61 mg,苯甲酰新乌头原碱 4.02 mg,苯甲酰乌头原碱 3.04 mg,苯甲酰次乌头原碱 3.19 mg 置于 10 mL 的量瓶中,加入 0.05% 盐酸-甲醇液,溶解并稀释至刻度,摇匀,即得混合对照品 a 溶液,然后精密移取该溶液 1.0 mL 置于 10 mL 量瓶中,用 0.05% 盐酸-甲醇液稀释至刻度,摇匀,即得混合对照品 b 溶液。

2.1.3 供试品溶液制备 取川乌炮制品粉末(50 目)2.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入氨试液 3 mL 与异丙醇-乙酸乙酯(1:1)混合溶液 50 mL,摇匀,称重,放置 16 h,连续超声 30 min,冷却,称重,用混合溶液补足减失重量,摇匀,滤过,精密移取续滤液 25 mL,40 °C 以下减压回收溶剂至干,残渣精密加入 0.05% 的盐酸-甲醇溶液 5 mL 溶解,摇匀,过 0.45 μm 滤膜,取续滤液,即得。

2.1.4 标准曲线的绘制 精密吸取混合对照品 a 溶液 2,4,6,8,10,12,16,20 μL,混合对照品 b 溶液 1,2,4,6,8,10 μL 按照 2.1.1 项下色谱条件,测定 6 种生物碱的峰面积。结果见表 1。

表 1 6 种生物碱的标准曲线

对照品	线性范围/μg	回归方程	R <sup>2</sup>
苯甲酰新乌头原碱	0.040 2~4.02	Y = 1.494.3X + 17.895	0.999 6
苯甲酰乌头原碱	0.030 4~3.04	Y = 1.443.7X + 11.828	0.999 7
苯甲酰次乌头原碱	0.031 0~3.19	Y = 1.398.5X + 11.483	0.999 7
新乌头碱	0.023 7~4.47	Y = 1.551.2X + 12.359	0.999 9
次乌头碱	0.016 1~3.22	Y = 1.567.4X + 18.962	0.999 6
乌头碱	0.020 4~4.08	Y = 1.467.3X + 6.471	0.999 9

**2.1.5 精密度试验** 精密吸取混合对照品 b 溶液 10  $\mu\text{L}$ ,按上述色谱条件重复进样 5 次,结果新乌头碱、次乌头碱、新乌头碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱 RSD 分别为 0.76%, 0.72%, 0.98%, 1.74%, 1.78%, 1.76%。

**2.1.6 稳定性试验** 取同一份川乌炮制品供试品溶液,按照 2.1.3 项下的方法进行提取,采用上述色谱条件,在 0,4,8,16,24 h 进样 10  $\mu\text{L}$ ,结果新乌头碱、次乌头碱、新乌头碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱 RSD 分别为 2.17%, 1.32%, 1.78%, 1.35%, 1.82%, 1.45%。

**2.1.7 重复性试验** 取同一份川乌炮制品粉末 5 份,按 2.1.3 项下供试品溶液制备方法操作,依上述色谱条件分别进样 10  $\mu\text{L}$ ,由标准曲线求出其含量,

结果新乌头碱、次乌头碱、乌头碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱 RSD 分别为 4.17%, 3.78%, 3.24%, 2.18%, 2.04%, 1.87%。

**2.1.8 加样回收率试验** 取同 1 份川乌炮制品粉末(50 目)1.0 g,精密称定,加入 6 种生物碱对照品适量,测定其含量。结果新乌头碱、次乌头碱、乌头碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱的平均回收率为 101.46%, 100.11%, 101.62%, 97.18%, 98.33%, 98.12%。

**2.1.9 含量测定** 按照上述 2.1 项下的含量测定方法,对川乌炮制品中新乌头碱、次乌头碱、乌头碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱进行含量测定。结果见表 2。

表 2 川乌微波炮制品及传统炮制品含量测定

mg·g<sup>-1</sup>

名称	苯甲酰新 乌头原碱	苯甲酰 乌头原碱	苯甲酰次 乌头原碱	总单酯型 生物碱	新乌头碱	次乌头碱	乌头碱	总双酯型 生物碱	总生物碱
生川乌	0.268 6	0.030 1	-	0.298 7	1.542 0	0.128 4	0.306 8	1.977 2	7.383 6
润片	0.302 5	0.036 2	-	0.338 6	1.477 0	0.087 7	0.302 2	1.866 9	6.569 9
微波 2 min	0.318 7	0.095 2	0.025 3	0.439 3	1.363 0	0.105 9	0.284 5	1.753 4	6.527 7
微波 3 min	0.345 0	0.048 5	0.009 2	0.402 7	1.377 9	0.098 4	0.282 3	1.758 6	6.609 2
微波 4 min	0.380 5	0.049 0	-	0.429 6	1.249 9	0.110 1	0.260 3	1.620 3	6.522 3
微波 5 min	0.340 9	0.043 0	0.006 9	0.390 8	1.247 1	0.094 9	0.263 1	1.605 1	6.345 8
微波 6 min	0.354 5	0.045 8	0.004 9	0.405 2	1.203 8	0.093 2	0.260 2	1.557 2	6.378 4
微波 8 min	0.404 4	0.051 0	0.009 9	0.465 2	1.062 2	0.062 9	0.225 5	1.350 6	6.350 7
微波 10 min	0.626 7	0.089 4	-	0.716 1	0.985 6	0.099 2	0.202 6	1.287 4	6.432 1
微波 12 min	0.569 9	0.072 9	-	0.642 9	0.432 8	0.037 7	0.093 4	0.563 9	6.423 5
微波 15 min	0.722 0	0.099 7	-	0.821 8	0.349 7	0.038 7	0.076 5	0.464 9	6.493 7
微波 18 min	0.808 3	0.116 6	0.015 9	0.940 8	0.227 9	0.023 7	0.047 8	0.299 4	6.552 7
微波 20 min	0.940 0	0.140 8	0.027 1	1.108 0	0.109 7	-	0.022 3	0.132 0	6.593 3
常压煮 5.0 h	1.670 4	0.227 6	0.033 5	1.931 4	-	-	-	-	5.627 9
常压蒸 6.5 h	1.837 5	0.256 9	0.052 6	2.147 1	-	-	-	-	5.472 1

注:标注中“-”代表其含量未能测得。

**2.2 总生物碱的含量测定**<sup>[1]</sup> 按照 2005 年版《中国药典》一部制川乌项下总生物碱含量测定方法进行的操作,选择甲基红-溴甲酚绿混合指示剂测定川乌炮制品及生品中总生物碱的含量。结果见表 2。

从表 2 可知,川乌经为波炮制后毒性成分双酯型生物碱的含量随着炮制时间的延长,其含量逐渐降低,而单酯型生物碱的含量则明显增加,当炮制时间为 18 min 后,其总单酯型生物碱为 0.940 8 mg·g<sup>-1</sup>,符合 2010 年版《中国药典》要求,双酯型生物碱的含量为 0.299 4 mg·g<sup>-1</sup>也符合 2010 年版《中国药典》要求,总生物碱的含量炮制前后则变化不

大;与传统炮制法(常压蒸煮法)比较,其总生物碱的含量较高。

**2.3 传统炮制工艺**<sup>[4]</sup> 按照 2010 年版《中国药典》一部制川乌项的炮制工艺进行操作,分别在常压下煮 5.0 h 和蒸 6.5 h,取出,切厚片 2~4 mm,放凉,置于 50  $^{\circ}\text{C}$  恒温烘箱中干燥,即得。

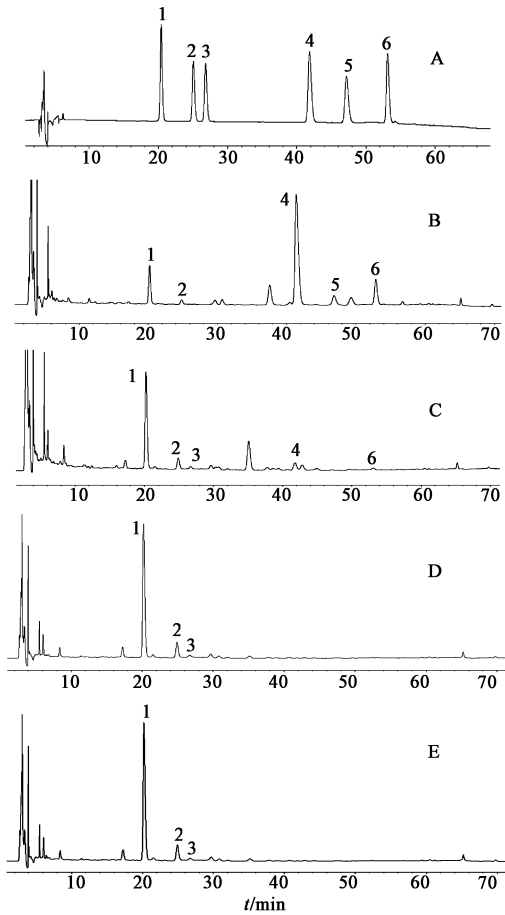
## 2.4 微波炮制工艺

**2.4.1 软化方式 润透法:**取大小均匀的生川乌,除去杂质,置于密闭容器中,喷洒适量的清水,使药材全部湿润,底部不积水为度,上盖湿布,每隔 1 h 拌润 1 次,至实心个大药材切开内无干心,取出,切

厚片 2~4 mm, 备用。

**2.4.2 微波炮制** 取川乌润片 300 g, 置于微波炉中, 叠置厚度约为 1 cm, 调节 60% 微波火力(中火), 分别炮制 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 20 min, 取出, 放凉, 置于 50 °C 恒温烘箱中干燥, 即得。

川乌各炮制品及生品 HPLC 见图 1。



A. 6 种混合对照品; B. 生川乌; C. 微波制品(20 min);  
D. 常压煮制品(5.0 h); E. 常压蒸制品(6.5 h);  
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 川乌炮制品及生品 HPLC

### 3 讨论

对于微波火力的选择, 我们比较了中低火力(40%)、中火(60%)和中高火力(80%), 试验发现中低火力的炮制对川乌炮制品“去毒”的效果较差, 而中高火力容易造成炮制品焦化, 影响其外观和功效, 因此微波炮制的强度选择中火(60%); 对饮片叠置厚度也进行了比较, 最终确定叠置厚度 1 cm 最佳; 为充分考察炮制时间对其成分的影响, 设计炮制时间为 2~20 min。

炮制时间超过 20 min 后出现焦化的现象, 其总生物碱的含量明显减少。因此可认为川乌最佳的微波炮制工艺为润透法处理后, 叠置厚度为 1 cm, 于 60% 的微波火力下炮制 18~20 min, 该工艺操作简单可控, 是一种较为理想的炮制方法。

微波炮制法作为川乌的新型炮制工艺, 能够明显降低双酯型生物碱的含量, 而最大限度的保存总生物碱的含量, 经炮制后其 6 种主要成分均符合 2010 年版《中国药典》的限量要求, 但是考虑到川乌为毒性药材, 与传统的炮制工艺比较, 微波炮制改进太大, 因此有必要进行毒理与药理试验来评价其安全性与有效性。

### [参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2010:26,36.  
[2] 舒晓燕, 赵祥升, 侯大斌, 等. 两种炮制方法对附子品质的影响[J]. 湖北农业科学, 2009, 48(3):704.  
[3] 邓广海, 林华. 川乌高压蒸制工艺的优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2):21.

[责任编辑 仝燕]