

• 质量标准 •

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

边宝林*, 司南, 王宏洁, 杨健, 何希荣
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 应用反向高效液相色谱法(RP-HPLC)测定附子中有毒成分乌头碱、次乌头碱、新乌头碱的色谱方法, 比较附子单煎、附子与浙贝母合煎后有毒成分的变化趋势, 从而从化学成分变化角度证明中医理论——十八反的科学内涵; 方法: 试用二氯甲烷(CH₂Cl₂)和三氯甲烷(CHCl₃)分别对采用同一煎煮条件得到的单煎、合煎物进行萃取处理, 并根据《中华人民共和国药典》2000年版一部附录VID 高效液相色谱法中规定对该样品进行HPIC测定; 结果: 发现在相同处理条件下, 附子与浙贝母合煎样品中的有毒成分乌头碱、次乌头碱、新乌头碱的含量高于附子单煎样品; 在此测定条件下可以有效的分离上述3种成分, 且测定成分附近没有干扰峰; 结论: 经过与浙贝母合并煎煮后, 有毒成分乌头碱、次乌头以及新乌头碱的含量显著提高, 从化学成分变化的角度证明中药配伍理论——“十八反”具有科学内涵。

[关键词] 反向高效液相色谱法; 附子; 浙贝母; 有毒成份; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)04-0009-02

附子是常用中药, 为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 的子根。味辛、性大热, 有毒。有回阳补火、散寒止痛等功能。用于亡阳虚脱、四肢厥冷、脉微; 阳萎尿频、虚寒泄泻、风湿痹痛等症。现代研究证明其具有强心、抗炎、镇痛等作用, 能抗心律失常。临床用于治疗心力衰竭、休克及缓慢性心律失常等^[1]。

中药配伍理论中有“相反”之说, 即两药同用, 能产生有害的副作用。附子配贝母即为十八反中的相反药对。

附子中化学成分主要以生物碱为主, 另外还有醇胺、脂类及多糖等^[2]。其中生物碱类成分主要含有二萜双酯类生物碱: 乌头碱(Aconitine)、中乌头碱(新乌头碱)(Mesaconitine)、次乌头碱(Hypaconitine)^[2]、新乌宁碱(Neoline)、及具有强心作用的去甲猪毛菜碱(Salsolinol); 另外还有具有强心作用的微量有效成分消旋去甲基乌药碱(dH-

Demethylcoclaurine Higenamine) 以及棍掌碱(Coryneine)等^[1]。

国内外对附子的研究很多, 而对其质量控制标准未见同时测定3种有毒成份的RP-HPLC方法。本文就以附子中有毒成分乌头碱、次乌头碱、新乌头碱为目标物质, 建立同时测定这三种有毒生物碱成分的RP-HPLC方法, 并观察单煎附子、附子与浙贝母合煎后, 3种有毒生物碱的含量变化情况。

1 试验材料

仪器: 安捷伦 1100 型高效液相色谱仪, LD5-2A 型低速离心机(北京医用离心机厂), DZKW-D 水浴锅(河北省黄骅航天仪器厂)。

药材: 生附片为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 的子根; 浙贝母为百合科植物浙贝母 *Fritillaria thunbergii* Miq. 的干燥鳞茎。以上药材均由中国中医科学院中药所何希荣老师鉴定。

试剂: 二氯甲烷, AR, 北京化学试剂公司; 氯仿, AR 北京化工厂; 甲醇, 色谱纯, 天津四友生物医学技术有限公司。

对照品: 乌头碱 Aconitine(中国药品生物制品检定所 批号: 0720-9807); 次乌头碱 Hypaconitine(中国药品生物制品检定所 批号: 0798-9403); 新乌头碱

[收稿日期] 2005-08-12

[基金项目] 国家重点基础研究发展规划支柱项目
(G19990554)

[通讯作者] 边宝林, Tel: (010) 64021008

Mesaconitine(中国药品生物制品检定所批号: 0799-9403)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[3] 色谱柱: YMC ODS-C₁₈ 4 μ m 4.6mm × 150mm; 流动相: MeOH-H₂O-CHCN (65: 33: 2, 内含 6mmol/LSDS 及 0.02mol/L NaH₂PO₄, pH = 4.5 ± 2); 柱温: 35 °C; 检测波长: 235nm; 流速: 1.0mL/min。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取乌头碱 1.114mg、次乌头碱 1.361mg、新乌头碱 1.057mg, 分别加甲醇溶解并定容 10mL, 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 即得 3 种对照品溶液。将上述 3 种对照品溶液按照 1: 1: 1 比例混合, 即得混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 ①精密称取生附片 50g, 冷水浸泡 30min, 煎煮 60min; ②分别精密称取生附片 50g 和浙贝母 50g, 冷水浸泡 30min, 共同煎煮 60min; ③精密称取生附片 50g 冷水浸泡 30min, 先煎煮 30min, 再入浙贝母 50g 共同煎煮 60min。(注: 各煎煮方法平行提取 3 份。)

将以上提取的药液分别精密量取 25mL, 分别用 CH₂Cl₂ 和 CHCl₃ 各萃取三次, 25mL/次, 合并 CH₂Cl₂ 和 CHCl₃ 层萃取液, 55 °C 减压回收至干, 加甲醇定容 2mL, 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

2.4 样品的测定 根据《中华人民共和国药典》2000 年版一部附录 VID 高效液相色谱法中规定, 分别精密吸取上述混合对照品溶液 2 μ L、供试品溶液 5 μ L 注入 HPLC 进行测定并计算。(结果见表 1; 色谱图见图 1, 2, 3, 4)

表 1 不同煎煮方式乌头碱、次乌头碱、新乌头碱含量变化表

煎煮方法	平均含量 (mg/mL)		
	乌头碱	次乌头碱	新乌头碱
附子单煎	0.053	0.399	0.009
附子浙贝母合煎	0.076	2.468	0.028
附子先煎	0.057	0.457	0.013

3 讨论

由以上试验结果可以看到, 煎煮过程中, 次乌头碱的溶出量最高。因此推测, 附子煎煮溶液中主要毒性成分可能是次乌头碱, 与浙贝母合煎后, 乌头碱、次乌头碱及新乌头碱的含量均有显著的增加, 也就是说, 附子与浙贝母合煎时, 乌头碱类有毒成份溶出率显著增加。而附子先煎后生物碱类有毒成份先被破坏一部分, 可以起到一定的减毒作用。

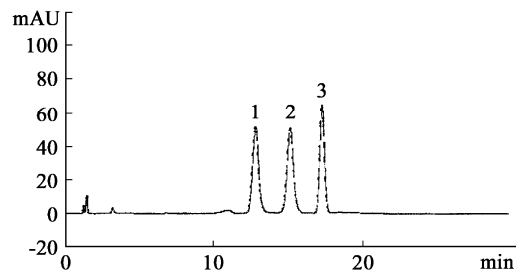


图 1 标准品色谱图

1. 新乌头碱; 2. 乌头碱; 3. 次乌头碱

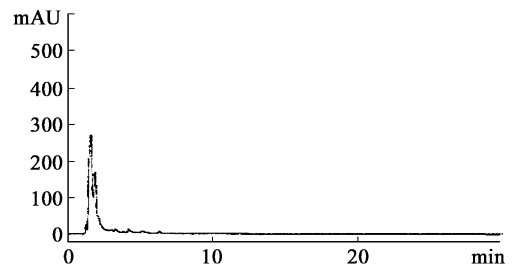


图 2 空白对照(浙贝母单煎样品)

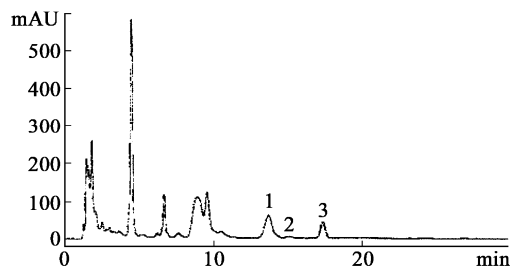


图 3 附子单煎色谱图

1. 新乌头碱; 2. 乌头碱; 3. 次乌头碱

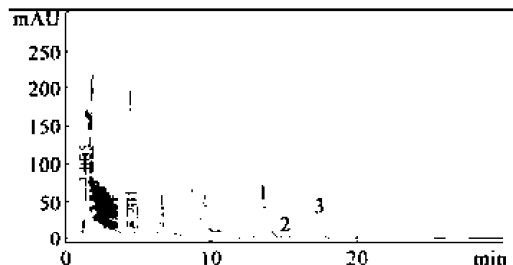


图 4 附子与浙贝母合煎色谱图

1. 新乌头碱; 2. 乌头碱; 3. 次乌头碱

本试验结果证明, 附子配浙贝母时有毒成份含量增加, 因此毒性增加, 即“十八反”——附子反贝母具有科学性。

[参考文献]

[1] 肖培根. 新编中药志[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001. 536-539.
[2] 张卫东, 韩公羽, 梁华清, 等. 国内外对中药附子成分与活性的研究[J]. 药学实践杂志, 1996, 2(14): 91-95.
[3] 孙文基, 谢世昌. 天然药物成分定量分析[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2003. 2-6.