

新疆准噶尔乌头中乌头碱及脱氧乌头碱水解机制研究

付玲¹, 戴丽莉¹, 赵翡翠^{1*}, 姜婷²

1. 新疆医科大学附属医院, 新疆 乌鲁木齐 830000

2. 新疆哈密市食品药品监督管理局, 新疆 哈密 839000

摘要: **目的** 对准噶尔乌头中2种成分水溶液在不同加热条件下稳定性进行考察, 通过液质联用方法测定其水解产物, 分析其水解变化规律, 并在准噶尔乌头药材中进行验证, 分析准噶尔乌头炮制前后生物碱类成分的变化情况, 总结其变化规律, 揭示准噶尔乌头炮制水解机制, 为准噶尔乌头炮制工艺参数的确定提供理论依据。 **方法** 采用单一成分水溶液在不同加热条件下稳定性研究方法, 以准噶尔乌头中2种主要化学成分乌头碱和脱氧乌头碱为研究对象, 结合 HPLC 和 HPLC-MS 测定结果, 总结各生物碱单体的变化规律, 并在准噶尔乌头不同时间的炮制品中进行验证。 **结果** 经过不同加热时间后, 乌头碱及脱氧乌头碱的变化最为明显, 乌头碱水溶液经过不同加热时间后主要生成一些水解产物, 随着加热时间的增加, 乌头碱逐渐减少, 直至检测不到。 **结论** 初步确定准噶尔乌头的炮制工艺参数为加热 5~6 h, 乌头碱及脱氧乌头碱发生水解产生了新的水解产物, 从而达到减毒增效的效果。

关键词: 准噶尔乌头; HPLC; 稳定性; HPLC-MS; 水解机制; 乌头碱; 脱氧乌头碱

中图分类号: R283.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)24-5794-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.24.010

Hydrolysis mechanism of aconitine and deoxyaconitine in *Aconitum soongaricum*

FU Ling¹, DAI Li-li¹, ZHAO Fei-cui¹, JIANG Ting²

1. Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China

2. Hami Food and Drug Administration of Xinjiang Province, Hami 839000, China

Abstract: **Objective** To determinate the hydrolysis products of two ingredients in *Aconitum soongaricum* under different heating conditions by liquid chromatography-mass spectrometry method, analyze its hydrolysis change rule, and verify it in *A. soongaricum*, analyze the changes of alkaloid before and after processing, and summarize the change rules and processing hydrolysis mechanism, so as to provide theoretical basis for the processing parameters of *A. soongaricum*. **Methods** Taking two kinds of main chemical constituents in *A. soongaricum*, aconitine and deoxyaconitine as the research object, the change rule of alkaloid monomer variation under different heating conditions was summarized combined with HPLC and HPLC-MS results, which was verified in different processed products in *A. soongaricum*. **Results** There was the significant change in the content of aconitine and deoxyaconitine after different heating time, the content of the mainly products from aconitine hydrolysis was increased with the increase of heating time, and aconitine and deoxyaconitine were gradually disappeared, eventually not detected. **Conclusion** The processing parameters of *A. soongaricum* were preliminarily determined as heating for 5—6 h, and the hydrolysis of aconitine and deoxyaconitine producing new hydrolysis products, thus achieving the effect of reducing toxicity and increasing efficiency.

Key words: *Aconitum soongaricum* Stapf.; HPLC; stability; HPLC-MS; hydrolysis mechanism; aconitine; deoxyaconitine

收稿日期: 2018-06-24

基金项目: 天山雪松计划: 科技创新领军人才后备人选 (2017XS12)

作者简介: 付玲 (1972—), 研究方向为中药炮制、中药鉴定。Tel: (0991)5814127 E-mail: 549812780@qq.com

*通信作者 赵翡翠 (1973—), 女, 硕士生导师, 主任中药师, 副教授, 研究方向为中药炮制、新药及质量标准研究。

Tel: (0991)5814127 E-mail: zzffcc@126.com

准噶尔乌头 *Aconitum soongoricum* Stapf. 为毛茛科 (Ranunculaceae) 乌头属 *Aconitum* L. 的多年生草本植物, 主要分布于我国新疆北疆的部分地区, 块根供药用, 在哈萨克族民间, 常将其作为法定药材草乌的代用品使用, 其味辛、苦, 大热, 有毒, 具有祛风散寒、止痛消肿、通经活络的功效^[1-2]。课题组在前期研究^[3-4]的基础上, 确定以加热水煮法作为准噶尔乌头的炮制减毒方法, 对准噶尔乌头中生物碱成分进行了分离鉴定, 并且对准噶尔乌头碱、12-表-欧乌头碱、乌头碱和脱氧乌头碱进行了含量测定^[5], 本实验采用中药模拟炮制方法, 对上述 2 种成分进行加热实验, 通过液质联用技术的分析, 确定各单体成分经过加热实验后的水解产物, 再在准噶尔乌头药材炮制品中进行验证, 阐明其炮制水解机制; 为进一步确定优化准噶尔乌头炮制工艺的评价指标, 规范准噶尔乌头的炮制工艺, 奠定其质量控制的基础。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters2695、2996 高效液相色谱仪, 美国 Waters 公司, 包括四元泵、在线脱气机、DAD 检测器; XBridgeTM-C₁₈ 色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm); Agilent 1200 G1312B 高效液相色谱仪 (配有二元低压梯度混合系统、二极管阵列检测器)、4000 Q TRAP 型三重四级杆-离子阱质谱、Agilent6300 质谱仪 (配有大气压电离源、离子阱质量分析器), 美国 Agilent 公司; Thermo Scientific LCQ 液质联用仪, 上海赛默飞世尔科技有限公司; AG-135 型电子天平, 上海梅特勒-托利多仪器有限公司, 0.01 mg; Direct-QTM5 超纯水仪, 美国 Millipore 公司; SK250LHC 型超声清洗仪, 上海科导超声仪器有限公司; DL-820E 智能超声波清洗器, 上海之信仪器有限公司; KDM 型可控温电热套, 山东城华鲁电热仪器有限公司; XMTD-4000 型电热恒温水浴锅, 北京市永光明医疗仪器有限公司; 电热恒温鼓风干燥箱, 上海跃进医疗器械有限公司; DYQ-188 流水式粉碎机, 中国浙江省瑞安市环球药械厂。

1.2 试剂与试药

甲醇、乙腈均为色谱纯, 美国 Fisher 公司; 超纯水; 甲醇、乙醇、三乙胺、石油醚 (60~90 °C)、乙醚、三氯甲烷、氨水等均为国产试剂分析纯。对照品准噶尔乌头碱、12-表-欧乌头碱、乌头碱和脱氧乌头碱, 均为新疆医科大学附属中医医院中药药

学实验室分离自制, 质量分数≥98%; 植物药材于 2014 年 8 月采自新疆伊犁尼勒克县, 经由新疆医科大学附属中医医院李永和教授鉴定, 确定其为准噶尔乌头 *Aconitum soongoricum* Stapf. 的干燥块根。

2 方法与结果

2.1 乌头碱水溶液在不同加热条件下的稳定性研究

2.1.1 液相色谱分析

(1) 色谱条件: XBridgeTM-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 填充剂为十八烷基硅烷键合硅胶; 流动相为乙腈-0.5%氨水, 梯度洗脱: 0~45 min, 30%~60%乙腈; 45~80 min, 60%~80%乙腈; 体积流量 0.5 mL/min; 检测波长 235 nm; 柱温 30 °C; 进样量 20 μL。理论板数按乌头碱计算不低于 6 500。

(2) 供试品制备: 精密称取乌头碱粉末 3.5 mg, 置 50 mL 圆底烧瓶中, 精密加入 10 mL 超纯水, 浸泡 24 h 及电热套加热至沸腾后, 微沸回流 30、50、70、100、120、240、480、600、720 min, 分别得到样品, 取样进行 HPLC 检测, 得到图谱。

(3) 结果: 对比乌头碱加热不同时间的 HPLC 图, 筛选出乌头碱变化情况较明显的图谱 (图 1) 进行分析, 发现乌头碱在浸泡过程中峰面积逐渐增大, 表明其较多的溶解在水溶液中, 尚无较明显的色谱峰出现, 在加热后开始发生变化, 20 min 内基本水解完全, 并有新的色谱峰出现, 表明有新的成分产生, 并且伴随加热时间的延长, 所生成的化合物含量有所增加而乌头碱本身含量有所下降, 表明乌头碱在加热过程中发生了变化, 转变成了其他成分, 这与文献结果^[6-8]一致。将加热不同时间的样品检测后得到色谱图中较明显的色谱峰峰面积进行比较, 选出变化较为明显的色谱图及其对应的样品, 进行液质联用测定。

2.1.2 液质联用分析

(1) 液相色谱条件: Agilent 1200 G1312B 高效液相色谱仪; 4000 Q TRAP 型三重四级杆-离子阱离子阱质谱; XbridgeTM-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 填充剂为十八烷基硅烷键合硅胶; 流动相为乙腈-1%氨水溶液, 梯度洗脱: 0~45 min, 15%~60%乙腈; 45~55 min, 60%乙腈; 柱温 25 °C; 体积流量 1 mL/min, 检测波长 230 nm; 进样量 5 μL。理论塔板数按乌头碱计算不低于 6 500。

(2) 质谱条件: ESI 离子源, 正离子模式, ESI 喷雾电压 4 500 V; 雾化气 (Gas1): 60 psi (1 psi=

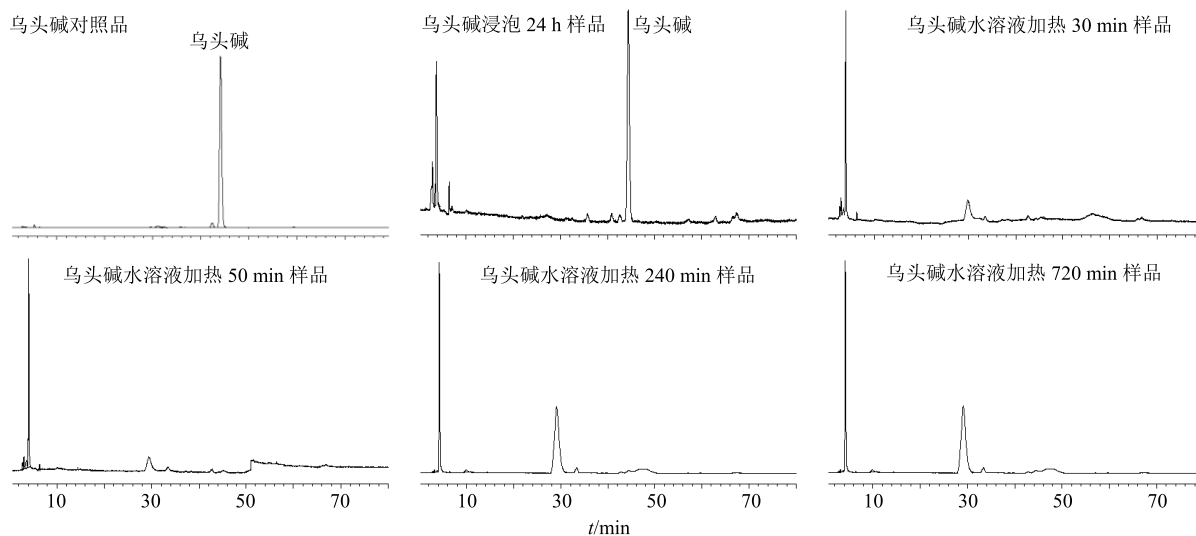


图 1 乌头碱水溶液加热不同时间的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC diagram of aconite alkali solution heated for different time

6.895 kPa); 辅助气 (Gas2): 50 psi; 气帘气 (CUR): 30 psi; 离子源温度 (TEM) 450 °C; 去簇电压 (DP) 60 V; 干燥氮气体积流量 10 L/min, 扫描范围 m/z 200~800。

(3) 供试品溶液: 样品为乌头碱浸泡 12 h 及加热 30、50、240、720 min (根据图 2 中挑选出来的时间段) 的样品。

(4) 结果: 将乌头碱水溶液加热不同时间的液相质谱图与乌头碱对照品的液相质谱图进行对比分析, 通过液质联用分析得到乌头碱水溶液加热不同时间的总离子流图, 以乌头碱水溶液加热 50 min 的样品总离子流图 (图 2) 为例, 该样品各成分的变化较为明显, 结果显示, 其在加热的过程中产生了准分子离子 m/z 500、586、604、646。准分子离子 m/z 646, 出峰时间为 41.03 min, 与乌头碱的分子离子峰一致, 认为 m/z 646 离子为乌头碱的分子离子。准分子离子 m/z 604, 出峰时间为 31.06 min, 与乌头碱 m/z 646 离子相差 42, 42 为乙酰基的相对分子质量, 参考文献报道^[9-14], 认为 m/z 604 离子为乌头次碱, 是乌头碱 C-8 位酯键水解的产物。准分子离子 m/z 586, 出峰时间为 41.47 min, 与乌头碱 m/z 646 离子相差 60, 60 为乙酸的相对分子质量, 说明该化合物是乌头碱的脱乙酸产物, 参考文献报道^[9-14], 认为 m/z 586 离子为焦乌头碱, 是乌头碱脱乙酸的热解产物。准分子离子 m/z 500, 出峰时间为 10.75 min, 分别与乌头碱 m/z 646 离子相差 146, 与乌头次碱 m/z 604 相差 104, 104 是苯甲酰基的相对分子质量, 结合乌头碱的结构和参考文献报道^[9-14], 认

为 m/z 500 离子为乌头原碱, 是乌头次碱 C-14 位苯甲酰基水解的产物。

根据以上结果表明, 乌头碱水溶液在加热的过程中生成了乌头次碱、焦乌头碱、乌头原碱, 随着加热时间的变化, 这 4 种成分的含量也随之变化, 对比乌头碱水溶液加热不同时间 (30、50、240、720 min) 的总离子流图 (图 3), 可见乌头碱在浸泡时就已经发生了少量的水解, 随着加热时间的延长, 乌头碱的含量逐渐减少, 水解产物中乌头次碱 (苯甲酰乌头原碱) 的峰面积逐渐增大, 其余 3 种水解产物较晚出现, 但其峰面积始终较小, 随时间延长呈不同的变化趋势, 有的峰面积逐渐减小, 有的峰面积先增大, 再逐渐减小, 说明乌头碱在加热的过程中, 先水解为苯甲酰乌头原碱, 再转化为其他多种成分, 且这些成分存在相互转化。乌头碱的结构见图 4, 其水解反应途径见图 5。

2.2 脱氧乌头碱水溶液在不同加热条件下的稳定性研究

2.2.1 液相色谱分析

(1) 色谱条件: XbridgeTM-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 填充剂为十八烷基硅烷键合硅胶; 流动相为乙腈-0.5%氨水, 梯度洗脱: 0~45 min, 30%~60%乙腈; 45~80 min, 60%~80%乙腈; 80~120 min, 80%乙腈; 体积流量 0.5 mL/min; 检测波长 235 nm; 柱温 30 °C; 进样量 20 μL。理论塔板数按乌头碱计算应不低于 6 500。

(2) 供试品的制备: 精密称取脱氧乌头碱 2 mg, 置 50 mL 圆底烧瓶中, 精密加入 10 mL 超纯水, 分

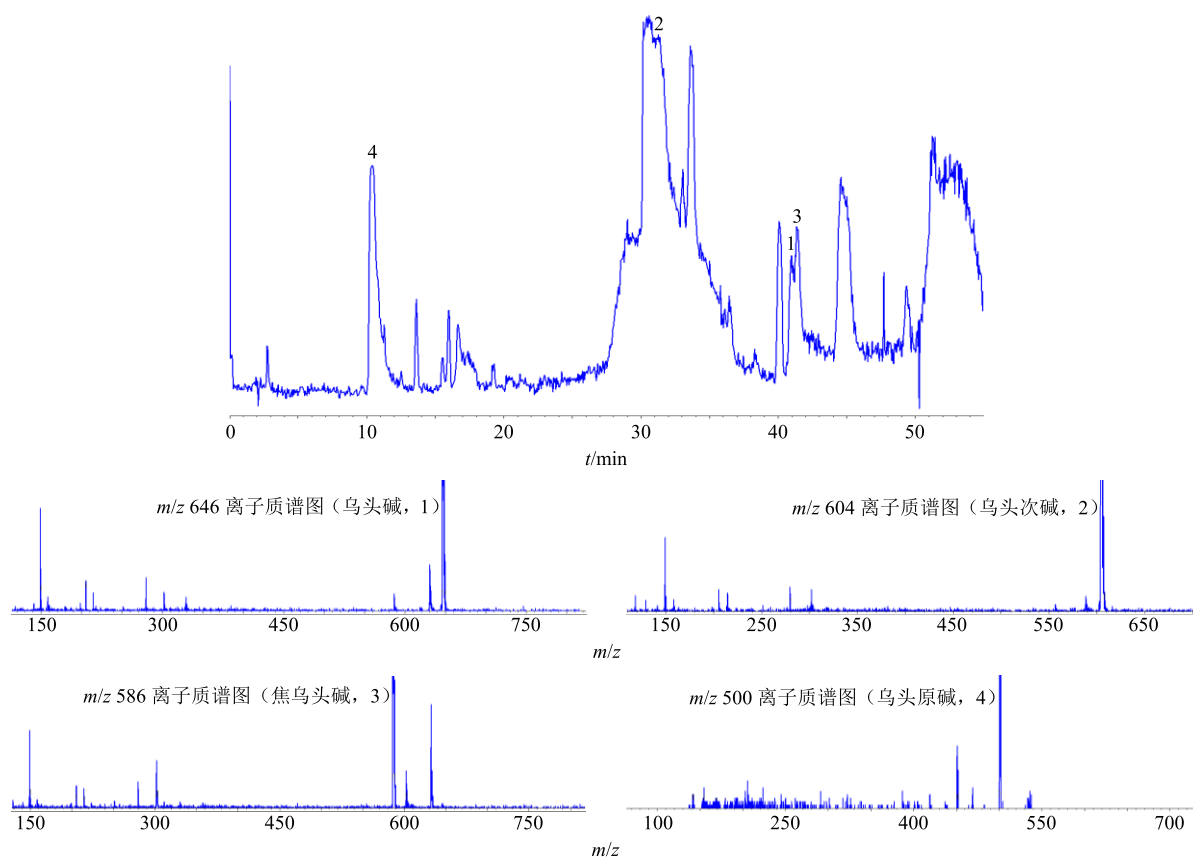


图 2 乌头碱水溶液加热 50 min 样品总离子流图与离子质谱图

Fig. 2 Total ion flow diagram of the sample was obtained by heating the aconite alkaline solution for 50 min

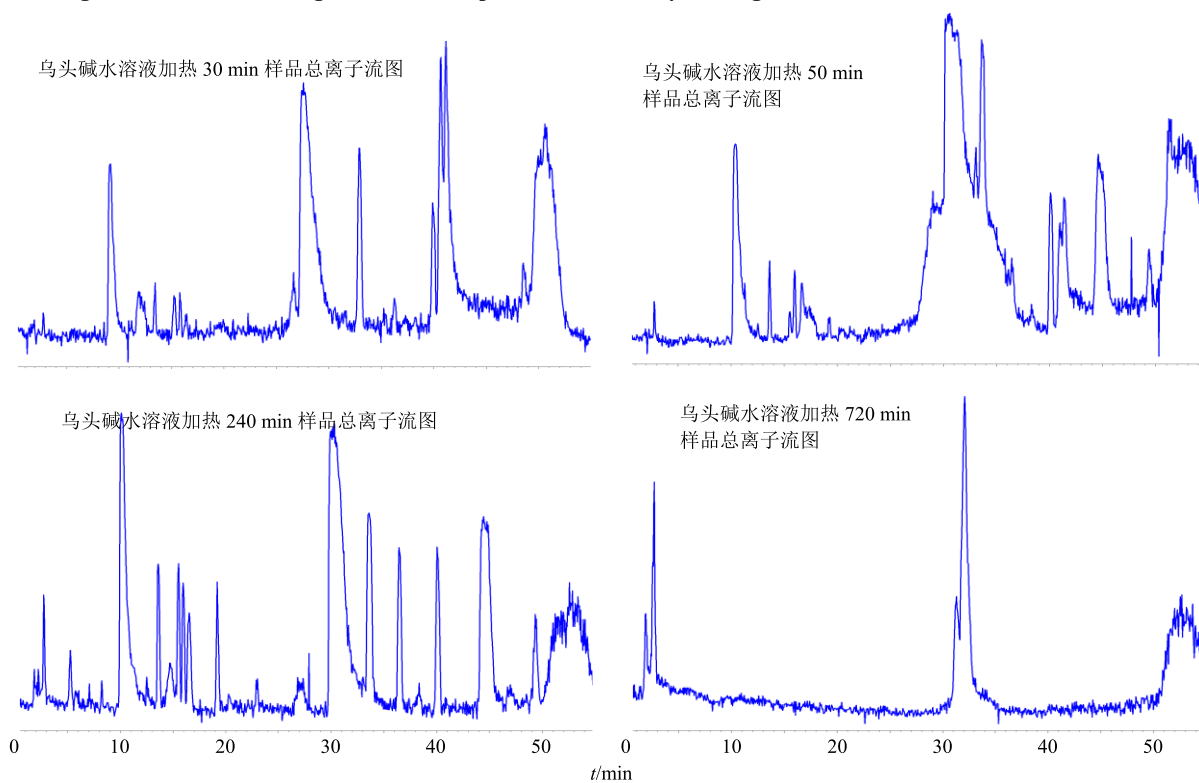


图 3 乌头碱水溶液加热不同时间段样品总离子流图

Fig. 3 Total ion flow diagram of aconitum alkalis solution heated in different time periods

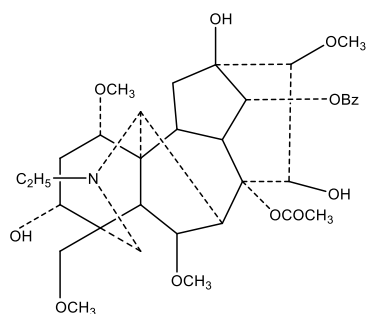


图 4 乌头碱化学结构

Fig. 4 Structure of aconitine

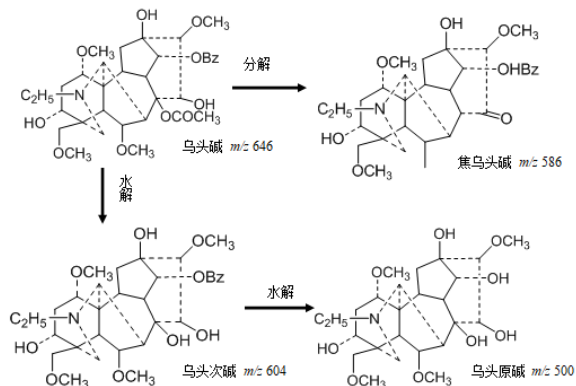


图 5 乌头碱在水中加热的反应途径

Fig. 5 Reaction pathway of aconitine in water heating

别于浸泡 12 h、浸泡 24 h 及电热套加热至沸腾，微沸回流 5、20、30、50、70、100、120、240、330、480、600、720 min。

(3) 结果：将脱氧乌头碱水溶液加热不同时间的样品进行 HPLC 检测，色谱图进行对比，筛选出变化较为明显的色谱图（图 6）进行分析。

2.2.2 液质联用分析

(1) 液质条件：Thermo Scientific LCQ 液质联用仪，XbridgeTM-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)；填充剂为十八烷基硅烷键合硅胶；流动相为乙腈-0.5%氨水溶液，等度洗脱 (80:20)，体积流量 0.5 mL/min；检测波长 235 nm；柱温 25 °C；进样量 5 μL。ESI 离子源，正离子检出模式，扫描范围 m/z 95~800。

(2) 供试品溶液：样品为脱氧乌头碱浸泡 24 h 以及加热 50、120、240、480、720 min 的样品。

(3) 结果：通过液质联用的方法分析得到脱氧乌头碱加热水解产物的总离子流图，在加热过程中分别产生了准分子离子 m/z 630、588、570、484、466，以准噶尔乌头加热 720 min 样品为例，此样品中最早出现以上几种准分子离子的量适中（图 7）。

经过脱氧乌头碱对照品、脱氧乌头碱浸泡 24 h 样品和脱氧乌头碱加热 720 min 样品的对比，可确定脱氧乌头碱在浸泡过程中未发生水解反应，经过加热以后水解生成了 4 种新成分；准分子离子 m/z 588 在 36 min 出峰，为去氧乌头次碱，是脱氧乌头碱 C-8 位酯键水解的产物；准分子离子 m/z 484 在 32 min 出峰，结合乌头碱的加热情况，认为 m/z 484 离子为去氧乌头原碱；准分子离子 m/z 570 在 54 min 出峰，确定其为去氧乌头原碱；离子 m/z 466 在 9 min 出峰，确定其为焦去氧乌头原碱，离子 m/z 630 为脱氧乌头原碱。

由脱氧乌头碱水溶液加热不同时间的质谱图来看，随着加热时间的延长，脱氧乌头碱 (m/z 630)

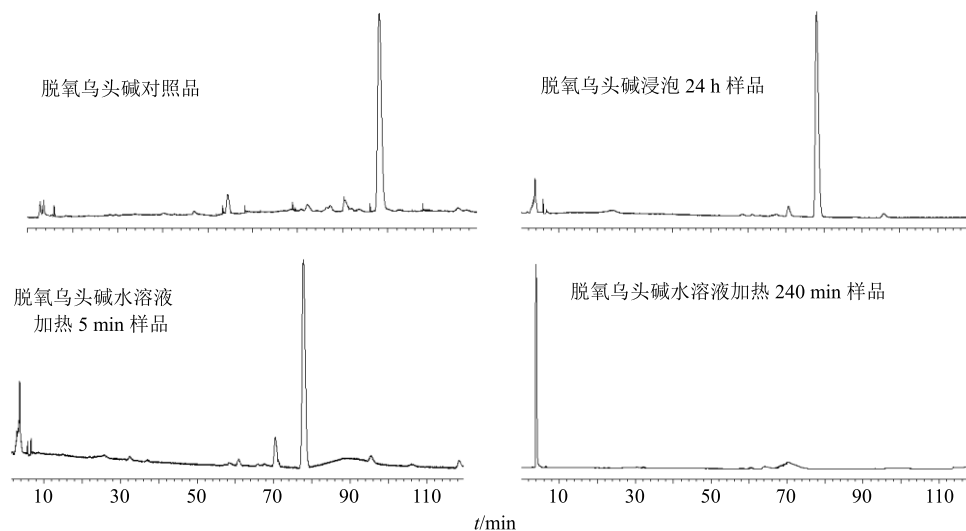


图 6 脱氧乌头碱水溶液加热不同时间的 HPLC 图

Fig. 6 HPLC diagram of different heating time of deoxyaconite alkali solution

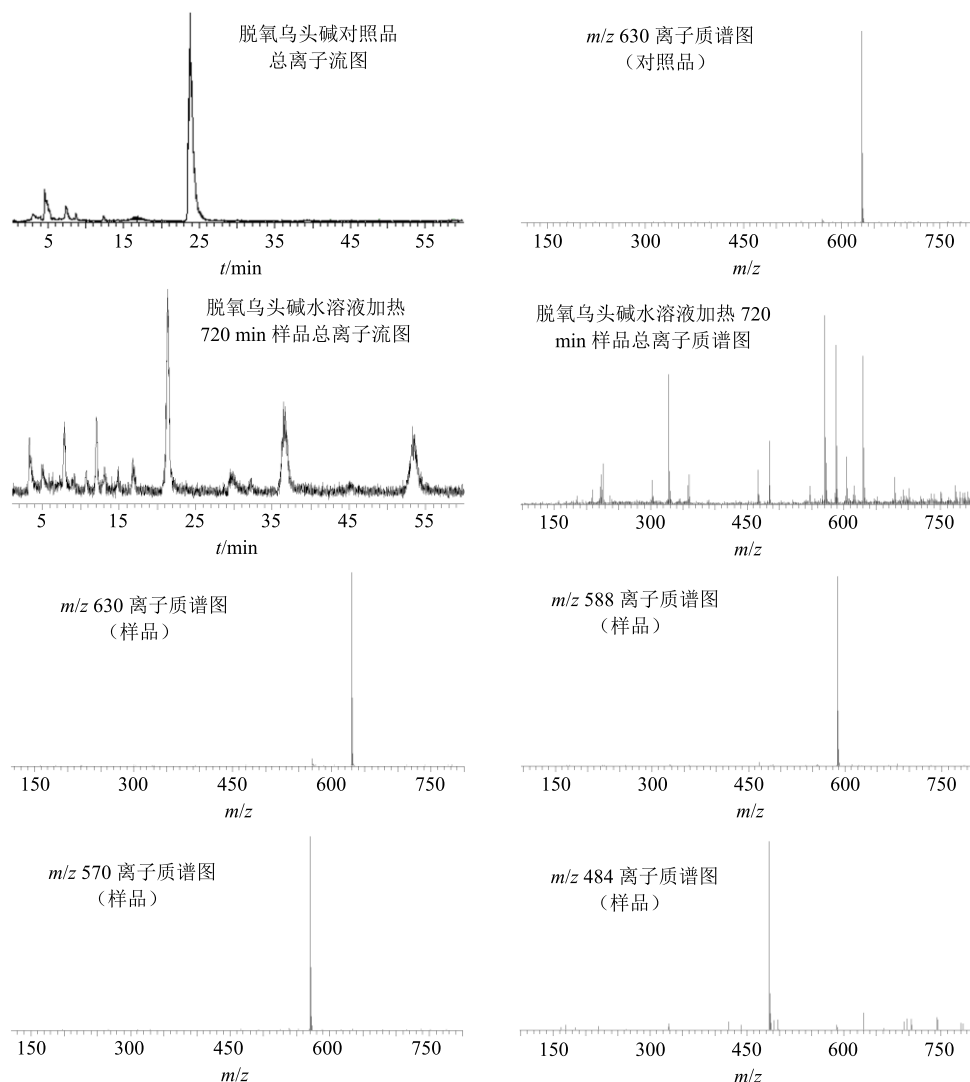


图 7 脱氧乌头碱对照品及水溶液加热 720 min 样品总离子流图及离子质谱图

Fig. 7 Total ion flow diagram and ion mass spectrometry of deoxyaconitine reference substance and sample heated for 720 min

的量逐渐减少最终消失；去氧乌头次碱 (m/z 588) 和焦去氧乌头碱 (m/z 570) 在浸泡 24 h 的样品中可以检测到；去氧乌头原碱 (m/z 484) 和焦去氧乌头原碱 (m/z 466) 在加热 50 min 的样品中可以检测到，但量较少；随着加热时间的延长，这 4 种产物的量逐渐增加，去氧乌头原碱和焦去氧乌头原碱的量在加热 480 min 时达到最大，继续延长加热时间，量会逐渐减少最后消失；去氧乌头次碱的量在 330 min 时达到最大，随后逐渐减少直至消失；焦去氧乌头碱的量 120 min 时达到峰值，随后逐渐减少直至消失。脱氧乌头碱的结构见图 8，脱氧乌头碱加热的反应途径见图 9。

2.3 准噶尔乌头药材的炮制水解机制研究

2.3.1 准噶尔乌头中乌头碱和脱氧乌头碱的含量测定 本课题组前期已对乌头碱和脱氧乌头碱含量进

行测定，并进行了方法学考察^[15]。

(1) 色谱条件：XbridgeTM-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)；填充剂为十八烷基硅烷键合硅胶；流动相为乙腈-0.5%氨水，梯度洗脱：0~45 min, 30%~60%乙腈；45~80 min, 60%~80%乙腈；80~120 min, 80%乙腈；体积流量 0.5 mL/min；检测波长 235 nm；柱温 30 ℃；进样量 20 μL。

(2) 供试品溶液的制备 将准噶尔乌头药材用水浸泡 24 h，加水煮 5、50、240、720 min 不同时间段，取出，切片，60 ℃以下烘干。

将上述加热不同时间得到的准噶尔乌头炮制品，共 35 种，粉碎 (过 3 号筛)，取粉末约 1 g，精密称定，精密加入 5 mL 10%氨水密闭浸润，加入 20 mL 乙醚，精密称定，超声 (25 ℃以下, 53 kHz) 提取 10 min，放至室温，精密称定质量，补足溶剂

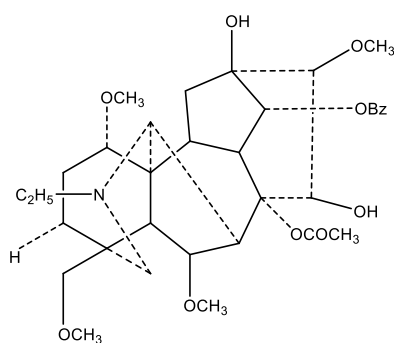


图 8 脱氧乌头碱化学结构

Fig. 8 Structure of deoxyaconitine

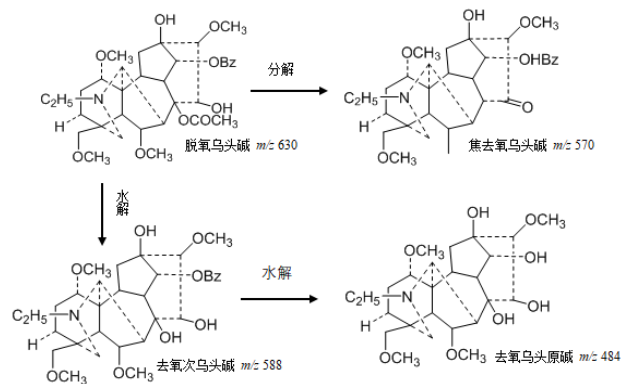


图 9 脱氧乌头碱在水中加热的反应途径

Fig. 9 Reaction pathway of deoxyaconitine in water heating

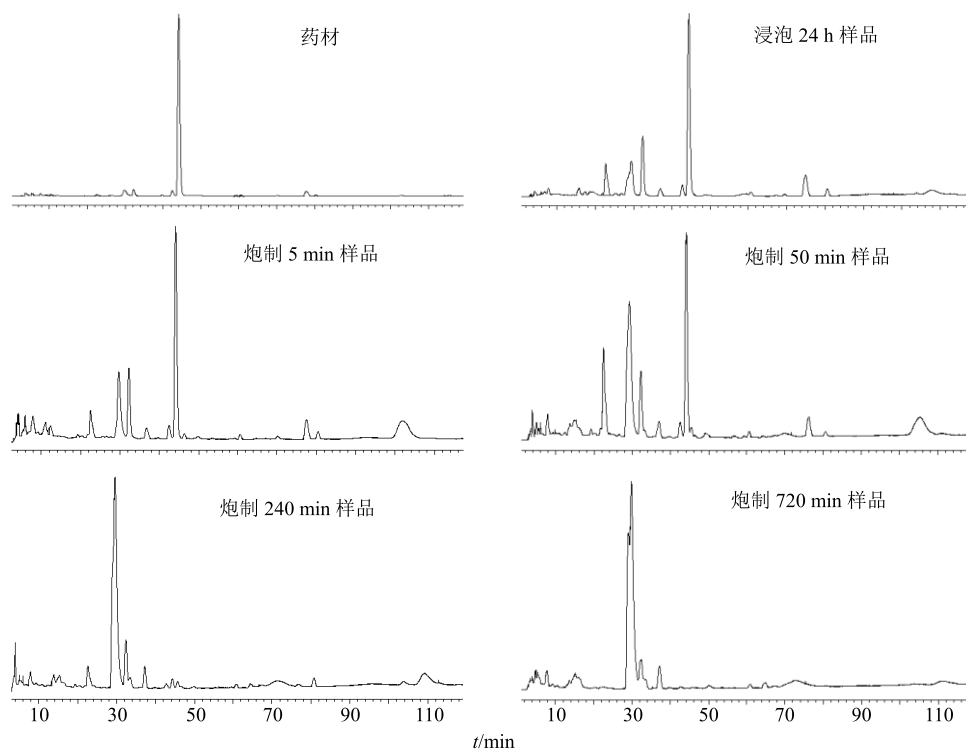


图 11 准噶尔乌头不同炮制时间的 HPLC 图

Fig. 11 Changes of liquid chromatogram in *A. soongaricum* before and after processing

质量, 静置过夜, 滤过, 并用 30 mL 乙醚溶液分 3 次洗涤药渣, 滤液于 40 °C 以下烘干, 残渣加乙腈定容至 5 mL 量瓶中, 微孔滤膜滤过, 取续滤液。

(3) 含量测定: 根据“2.3.1 (1)”项色谱条件, 样品中乌头碱和脱氧乌头碱分别为 6.484 8、0.268 5 mg/g ($n=3$)。乌头碱和脱氧乌头碱随着炮制时间的变化曲线如图 10 所示。

(4) 结果: 将准噶尔乌头不同时间的炮制品的液相色谱图进行比较, 筛选出变化较为明显的色谱图进行分析 (图 11)。

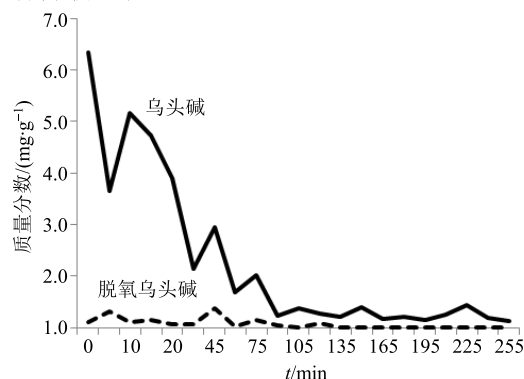


图 10 准噶尔乌头药材中乌头碱和脱氧乌头碱随炮制时间变化曲线图

Fig. 10 Curve diagram of aconitine and deoxyaconitine of aconitum in junggar with processing time

由准噶尔乌头炮制不同时间样品的 HPLC 图可以看出, 准噶尔乌头药材在炮制过程中, 乌头碱与脱氧乌头碱的色谱峰逐渐减小, 最终消失。

2.3.2 液质联用分析

(1) 液质条件: Thermo Scientific LCQ 液质联用仪, XbridgeTM-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 填充剂为十八烷基硅烷键合硅胶; 流动相为乙腈-0.5%氨水, 梯度洗脱: 0~45 min, 15%~60% 乙腈; 45~80 min, 60%~80% 乙腈; 80~120 min, 80% 乙腈; 体积流量 0.5 mL/min; 检测波长 235 nm;

柱温 30 °C; 进样量 5 μL。理论塔板数按乌头碱计算应不低于 6 500。ESI 离子源, 正离子检出模式, 扫描范围 m/z 95~800。

(2) 供试品: 将“2.3.1 (2)”项下供试品进液相-质谱检测。

(3) 结果: 将药材的总离子流图与不同时间炮制品总离子流图进行对比 (图 12), 可以总结出准噶尔乌头在炮制不同时间的样品中的变化情况, 结合各单体的加热结果, 确定药材在炮制过程中的产物。

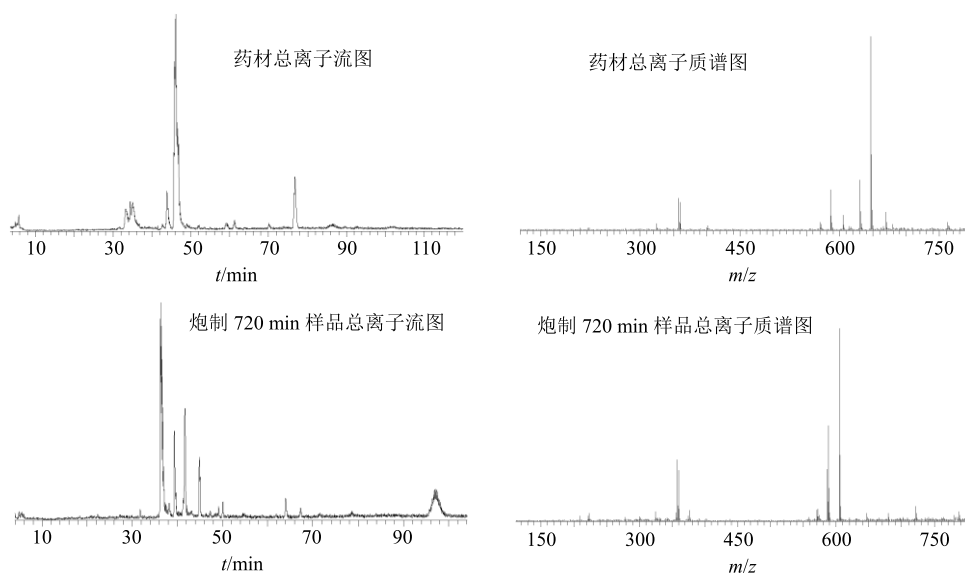


图 12 准噶尔乌头药材和炮制 720 min 样品总离子流图及质谱图

Fig.12 Mass spectrogram of *A. soongaricum* in simulation processing at different time

根据这些结果可以确定, 在准噶尔乌头的炮制过程中, 药材中含量较多的乌头碱先水解为乌头次碱 (苯甲酰乌头原碱), 继而水解为其他几种成分, 随着炮制时间的延长乌头碱的量逐渐减少, 乌头次碱的量逐渐增加, 在炮制 330 min 时达到最大, 随后逐渐减少, 但乌头碱在炮制过程中一直存在, 故乌头次碱变化趋势与乌头碱的变化趋势不呈相关关系。脱氧乌头碱的加热水解机制同乌头碱一样, 其主要水解产物去氧乌头次碱的变化趋势与脱氧乌头碱的变化趋势也不呈相关关系。

3 结论

乌头碱加热不同时间后, 乌头碱逐渐分解, 在加热 20 min 内分解较快, 苯甲酰乌头原碱 (乌头次碱) 是其主要产物, 苯甲酰乌头原碱的量随着乌头碱加热时间的延长而逐渐增加随后逐渐减少, 故二者的变化趋势并不呈相关关系。在乌头碱加热不同时间的样品中, 主要的反应产物是苯甲酰乌头原碱

和乌头原碱, 以及少量的焦乌头碱, 乌头碱的含量逐渐减少, 说明乌头碱在加热的过程中, 易先水解为苯甲酰乌头原碱, 再分解为乌头原碱, 乌头原碱没有紫外吸收, 在色谱图上没有显示, 在质谱图中能够检测到。结合文献表明, 在加热的过程中, 乌头碱先分解为以苯甲酰乌头原碱为主的多种成分, 这些成分在进一步加热的过程中存在相互转化和反应平衡, 随着加热时间的延长, 反应逐渐趋于平稳, 加热过程中的产物逐渐减少。

根据脱氧乌头碱的加热研究结果表明, 由于其与乌头碱都为 C₁₉ 二萜生物碱, 结构相似, 故二者的水解途径类似, 脱氧乌头碱在加热的过程中, 主要有去氧乌头次碱、去氧乌头原碱和焦去氧乌头碱这几种产物, 在此过程中, 脱氧乌头碱易先水解为去氧乌头次碱, 再分解为去氧乌头原碱, 该成分没有紫外吸收, 在色谱图中没有显示, 在质谱图中能够检测到。

4 讨论

虽然有大量文献报道了乌头碱的水解产物和变化规律,但本研究首次考察了准噶尔乌头中生物碱水解变化规律,结果表明其在加热的过程中,准噶尔乌头中乌头碱和脱氧乌头碱为乌头碱型 C₁₉ 二萜生物碱,发生水解反应。乌头碱和脱氧乌头碱起着主要的镇痛和抗炎的作用,但同时也是其主要毒性成分,提示准噶尔乌头应具有更广泛的药用价值,在后期毒效实验中,应多关注这种单体成分的毒性和药理活性研究。

乌头碱是乌头属植物中主要的毒性成分和药效成分,其在炮制过程中的水解变化规律关系到炮制品的安全性和有效性,因此,通过本研究表明,准噶尔乌头中的乌头碱在加热水解至 50 min 时,乌头碱已水解了 90%,其中大部分转化为苯甲酰乌头原碱,其毒性为乌头碱的 1/50~1/100,毒性大大降低。在《中国药典》2015 年版中,制川乌、制草乌、附子均将苯甲酰乌头原碱作为其质量控制的指标之一,规定其与苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱的总量为 0.07%~0.15%,根据本研究可确定,在液质联用测定得到的总离子流图中,当准噶尔乌头炮制时间为 330 min 时,炮制品中苯甲酰乌头原碱的含量最高,为原药材的 3.48 倍,可初步确定准噶尔乌头在炮制 330 min 时苯甲酰乌头原碱的含量最高,该时段炮制品中含苯甲酰乌头原碱的量为 0.025%,远低于药典规定的范围,表明其安全,可初步确定炮制工艺参数中炮制时间为 5~6 h,以苯甲酰乌头原碱为主的水解产物的毒效活性仍有待进一步研究。

参考文献

- [1] 吾买尔夏提,魏岩. 新疆药用乌头的民族植物学[J]. 中国野生植物资源, 2004, 23(4): 29-30.
- [2] 新疆生物土壤沙漠研究所. 新疆药用植物志(第一册)[M]. 乌鲁木齐: 新疆人民出版社, 1977.
- [3] 姜婷,张江,木卡代斯·斯依提,等. 基于中药模拟炮制的乌头属植物水解机制及液质联用测定方法的研究进展[J]. 中草药, 2016, 47(19): 3543-3550.
- [4] 赵翡翠. 新疆准噶尔乌头亲缘关系、炮制毒效活性及化学成分研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2015.
- [5] Singhuher J, Zhu M, Prinz S, et al. Aconitum in traditional Chinese medicine: A valuable drug or an unpredictable risk[J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 126(1): 18-30.
- [6] 龚千锋. 中药炮制学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007.
- [7] 中国药典[S]. 一部, 2015.
- [8] 刘永刚,刘倩,张宏桂,等. 高效液相色谱-质谱联用法研究乌头碱的水解产物[J]. 中国新药杂志, 2007, 16(4): 303-305.
- [9] 郝瑞云,刘永刚,张宏桂,等. HPLC-MSⁿ 法研究次乌头碱在水中的化学反应[J]. 北京中医药大学学报, 2007, 30(8): 539-541.
- [10] 刘芳,于向红,李飞,等. HPLC 测定附子及其炮制品中 3 种双酯型生物碱的含量[J]. 中国中药杂志, 2006, 3(14): 1160-1162.
- [11] 陈彦琳,李飞. 川乌炮制历史沿革研究[A]// 中华中医药学会第六届中药炮制学术会议论文集[C]. 淄博: 中华中医药学会, 2006.
- [12] 包懿,宋凤瑞,刘志强,等. 乌头碱类双酯型二萜生物碱水解反应的电喷雾质谱分析[J]. 质谱学报, 2009, 30(1): 1-5.
- [13] Desai H K, Joshi B S, Ross S A, et al. Methanolysis of the C-8 acetoxyl group in aconitine-type alkaloids: A partial synthesis of Hokbusine[J]. *Nat Prod*, 1989, 52(2): 720-725.
- [14] 魏巍,李绪文,金永日. 乌头碱水解产物的研究[J]. 分析化学, 2009, 37(10): 67-68.
- [15] 姜婷,轩辕欢,付玲,等. 准噶尔乌头中 4 种生物碱在炮制过程中的含量变化[J]. 中成药, 2016, 38(12): 2641-2645.