

• 制剂与质量 •

附子与不同药味药材配伍后乌头碱类生物碱的电喷雾质谱研究

皮子凤¹, 赵 皓², 宋凤瑞¹, 刘志强¹, 刘淑莹¹

(1. 中国科学院长春应用化学研究所 长春质谱中心, 吉林 长春 130022; 2. 香港浸会大学 化学系, 中国 香港)

摘要:目的 通过研究不同药味药材与附子的配伍机制, 揭示酸、甘、辛、苦味中药对附子化学成分的影响规律。方法 利用电喷雾质谱和内标法, 分别对生附子, 生附子加五味子、黄芪、独活、黄连共煎液和药渣中乌头碱类生物碱进行考察。结果 附子与五味子合用, 双酯型和脂型生物碱的量增加, 附子与黄芪、独活配伍双酯型生物碱的量下降, 附子与黄连配伍脂型生物碱和生物碱的总量均降低, 但双酯型生物碱变化无规律。结论 附子与五味子合用毒性增加, 附子与黄芪、独活毒性降低。

关键词: 附子; 配伍; 五味子; 黄芪; 独活; 黄连; 生物碱; 电喷雾质谱**中图分类号:** R286.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2008)10-1474-04Analysis of aconitine alkaloids in compatible application of *Radix Aconiti Lateralis Preparata* with different flavour herbs by ESI-MS spectrometryPI Zi-feng¹, YUE Hao², SONG Feng-rui¹, LIU Zhi-qiang¹, LIU Shu-ying¹

(1. Changchun Center of Mass Spectrometry, Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022, China; 2. Department of Chemistry, Hong Kong Baptist University, Hong Kong, China)

Abstract: **Objective** To study the compatible application theory of *Radix Aconiti Lateralis Preparata* (RALP) with different flavour herbs, for elucidating the influence of sour, sweet, pungent, and bitter flavours about aconite alkaloids. **Methods** The aconitine alkaloids were studied in decocting the mixture of RALP with *Fructus Schisandrae Chinensis* (FSC), *Radix Astragali* (RA), *Radix Angelicae Pubescentis* (RAP), and *Rhizoma Coptidis* (RC), respectively, and extracting the residue of the above mentioned compatibility after observed by ESI-MS and internal standard. **Results** The diester-lipo type alkaloids were higher in the herb couples of RALP-FSC and RALP-RC than those of RALP-RA and RALP-RAP, while lipo type alkaloids were lower in the herb couples of RALP-RC and RALP-RAP than those of RALP-RA and RALP-FSC. There was no regularity in changes of diester alkaloids. **Conclusion** The toxicity is increased in the compatible application of RALP-FSC and decreased in RALP-RA and RALP-RAP.

Key words: *Radix Aconiti Lateralis Preparata* (RALP); compatible application; *Fructus Schisandrae Chinensis* (FSC); *Radix Astragali* (RA); *Radix Angelicae Pubescentis* (RAP); *Rhizoma Coptidis* (RC); flavours; alkaloids; ESI-MS

附子为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 的干燥子根, 味辛、甘, 以回阳救逆, 补火助阳等功效广泛应用于临床。附子在经典方剂中常与其他药材配伍使用, 是因其含有二萜类双酯型生物碱而具有毒性。本实验室已经通过电喷雾质谱系统地研究了附子配伍前后化学成分变化, 初步揭示了附子配伍减毒增效的机制^[1~3]。但对于配伍中其他药物性味、化学成分与附子的毒性变化之间关系尚未涉及。因此本实验研究了附子与五味子、黄芪、独活、

黄连共煎前后及药渣中生物碱的变化, 结合前期工作, 阐明不同药味药材对附子毒性的影响。

1 材料

Finnigan LCQ™ 离子阱质谱仪, 电喷雾离子源, 喷雾电压为 4.5 kV, 毛细管温度为 180 ℃, 注射泵进样速度为 3 μL/min。

甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。五味子、黄芪、独活、黄连购自长春市吉林大药房, 生附子购自四川江油饮片厂, 经过长春中医药大学王淑敏教

收稿日期: 2008-01-04

基金项目: “973”计划资助项目(2006CB504706); 国家自然科学基金资助项目(30672600); 吉林省科技发展计划资助项目(20050912)

作者简介: 皮子凤(1978-), 女, 山西省新绛县人, 助理研究员, 硕士, 2000年本科毕业于中国药科大学, 2005年硕士毕业于南开大学, 主要从事乌头属中药药效物质基础研究。Tel: (0431)85262079 Fax: (0431)85262886 E-mail: mslab21@ciac.jl.cn

授鉴定。氢溴酸高乌甲素对照品(批号 10289-0001)购自中国药品生物制品检定所。

2 方法与结果

2.1 共煎液和单煎液中生物碱的提取:将生附子 10 g 分别与五味子 20 g、黄芪 30 g、独活 10 g、黄连 60 g 混合粉碎,粗粉加 10 倍量水浸润后,煮沸提取 40、20 min,滤过,药渣 50 ℃ 烘干备用,滤液合并后醇沉至乙醇终体积分数为 50%,24 h 后滤过,滤液减压浓缩至 50 mL,用 10% 氨试液调节 pH 9.5,等体积乙醚萃取 3 次,萃取液合并后 50 ℃ 蒸干,得到各提取液的生物碱部分。为与药对配伍对比,另取生附子重复上述试验,得到生附子单煎液。

将烘干备用药渣分别用 10% 氨试液润湿,加 5 倍量乙醚超声提取 2 次,每次 30 min,滤过,合并滤液,50 ℃ 蒸干,得到药渣中的生物碱部分。

取生物碱部分分别用甲醇 10 mL 溶解,稀释 250 倍后,与等体积 13.5 μg/mL 内标物氢溴酸高乌甲素漩涡震荡混合 1 min,供质谱检测。

2.2 附子中的生物碱的分析:附子炮制品种类较多,临床配伍使用常根据症况不同选择^[4,5]。为了系统地比较实验结果,本实验采用生附子与其他药材配伍,更明确地阐述药味配伍与毒性的关系。

生附子单煎液中主要含有次乌头碱(m/z 616)、中乌头碱(m/z 632)、乌头碱(m/z 646)等双酯型生物碱(图 1)。苯甲酰中乌头原碱(m/z 590)、苯甲酰乌头原碱(m/z 604)、苯甲酰次乌头原碱(m/z 574)等单酯型生物碱是双酯型生物碱 C₈ 位水解的产物。8-亚油酰-苯甲酰次乌头原碱(m/z 836)、8-油酰-苯甲酰脱氧乌头原碱(m/z 852)、8-亚油酰-苯甲酰中乌头原碱(m/z 852)等脂型生物碱可由脂肪

酸与双酯型或单酯型生物碱反应生成^[6]。由于在水煎过程中生物碱骨架 C₈ 位发生了水解和脂交换反应,水煎液中的单酯型和脂型生物碱比原药材中对应的生物碱的量高^[7]。

以内标物氢溴酸高乌甲素的丰度为 100,其他成分与内标物比较的丰度结果见表 1。

表 1 附子与五味子、黄芪、独活、黄连配伍后共煎液和药渣中乌头碱类生物碱的丰度

Table 1 Abundance between aconitine alkaloids in co-decoction and residues from RALP compatibility with FSC, RA, RAPS, and RC

样 品	苯甲酰中 乌头原碱	8-亚油酰- 次乌头碱	8-油酰-苯甲酰 脱氧乌头原碱 与 8-亚油酰-苯 甲酰中乌头原碱
附子水煎液	313.11	338.64	36.34
附子药渣	61.54	34.74	91.19
附子-五味子共 煎液	223.63	855.30	633.33
附子-五味子药 渣	0.66	0.81	1.82
附子-黄芪共煎 液	30.76	3.88	95.94
附子-黄芪药渣	121.06	33.92	69.58
附子-独活共煎 液	3.22	27.74	2.08
附子-独活药渣	18.72	65.54	112.03
附子-黄连共煎 液	9.47	61.01	6.45
附子-黄连药渣	0.93	2.37	21.96

生附子药渣中主要含有脂型生物碱,而单酯型和双酯型生物碱由于水溶性较好,丰度较小。

2.3 附子与五味子的配伍:五味子性温,味酸、甘,含有三萜酸类、内酯和木脂素,单煎液 pH 2.9~3.0。五味子并不是传统中药理论中与附子禁忌使用的中药。虽然二者配伍并不多见,但因其与附子共用的中毒案例偶有发生^[8],有必要对其药在配伍过程中化学成分的变化进行深入研究,从而科学地解释临床上产生中毒的原因。

五味子与附子共煎液的质谱图见图 2-A。与生附子单煎液相比,主要毒性成分双酯型生物碱的丰度显著提高,分别为次乌头碱 2.5 倍、中乌头碱 76.4 倍、乌头碱 28.2 倍,即毒性增加。脂型生物碱 8-亚油酰-苯甲酰次乌头原碱(17.4 倍)和 8-油酰-苯甲酰脱氧乌头原碱、8-亚油酰-苯甲酰中乌头原碱混

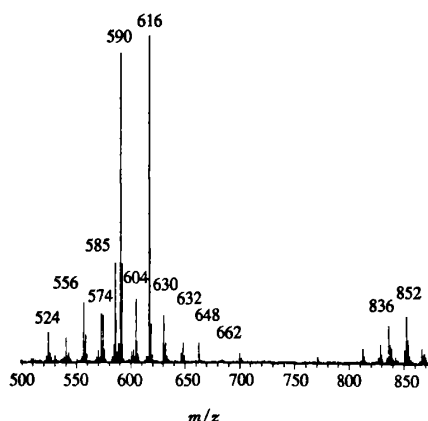


图 1 生附子的电喷雾质谱图

Fig. 1 ESI-MS Spectrum of RALP

合物(10.9倍)的丰度增加,是由于五味子中的脂肪酸与附子中的生物碱发生反应。单酯型生物碱的丰度变化不大(变化量<1倍),说明双酯型生物碱增加不是由于五味子中的化学成分抑制其水解反应造成的。共煎液药渣中生物碱的量均低于单煎液药渣中的量,说明五味子中的化学成分能够显著促进附子中生物碱的溶出。为证实上述推断,单独提取五味子中的有机酸成分,配伍后的各项数据与上述结果相似。因此认为五味子能够促进双酯型生物碱的溶出和稳定,配伍后毒性增加;同时脂型生物碱的量也增加。十八反中的半夏攻乌头禁忌原理之一也是由于共煎液的酸性能够促进双酯型生物碱的溶出,因此对于水煎液 pH 值较低的药材,应谨慎与附子等乌头属植物配伍^[7]。

《中国药典》收录的其他酸味药材,如诃子与附子配伍,也可见大量脂碱生成,合煎液中双酯型生物碱的量增加,因此传统蒙药诃子用于乌头的炮制,即通过与诃子共煮,弃去水煮液,可以使药材中的毒性成分双酯型生物碱大大降低,而产生大量的水溶性差而热稳定性好的脂类生物碱。

2.4 附子与黄芪的配伍:黄芪性微温,味甘,含有多糖、黄酮和三萜皂苷类化合物,单煎液 pH 5~5.2。配伍见于《魏氏家藏方》。附子助心肾之阳,温中焦脾阳,黄芪补肺健脾,实卫固表,配伍后用于治疗阳虚自汗,畏寒,脾肾阳虚等症。

黄芪解附子之毒显著,与单煎液比较,共煎液中双酯型生物碱的量显著降低,次乌头碱降为 1.1%,中乌头碱降为 6.5%,乌头碱降为 10.2%,见表 1。但同时单酯型生物碱的量也显著降低,见图 2-B。原因在于双酯型生物碱的量下降,使溶液中的水解平衡左移,不利于与之相对应的单酯型生物碱生成。与单煎后药渣提取液相比,共煎后药渣提取液中单酯型(增加 2~4 倍)和双酯型生物碱(增加 1~14 倍)增加,提示黄芪的解毒机制在于吸附和沉淀生物碱,减少其溶出。与单煎液及其药渣提取液相比,共煎液及其药渣提取液中脂型生物碱的总量变化不大,共煎液中脂碱增加了 1.6~2 倍,但脂交换反应并不是解毒的主要机制。其他味甘并与黄芪类似的药材,如甘草解毒机制也在于生成脂型生物碱和药材的吸附、沉淀作用,减少双酯型生物碱的煎出^[2]。

2.5 附子与独活的配伍:独活性微温,味辛、苦,含有香豆素和挥发油,单煎液 pH 5.3~5.5。配伍见于《太平圣惠方》、《奇效良方》。附子散寒除湿,独活祛风胜湿,用于风寒湿毒,脚气肿满,挛急痹痛等症。

附子与独活配伍后,全部乌头类生物碱的量显著降低,见图 2-C。说明伍用之君药为独活,附子起辅助作用。与单煎液药渣比较,共煎液药渣中生物碱的量变化不超过 1.7 倍(表 1)。此外,双酯型生物碱在共煎液中的量降低的另一个原因可能是独活中的香豆素与生物碱生成了不溶性复合物。将附子和独活的单煎液混合,发现有沉淀生成,进一步佐证了以上推断。从化学角度看,独活减附子毒性的能力与甘草相当。独活另一主要成分挥发油在共煎时损失较大,对通过化学反应方式减毒影响甚微。干姜、川芎等辛味药材与附子的配伍原理都在于机体内部抑制乌头碱样心脏毒性^[9],独活是否具有此作用尚有待进一步研究。

2.6 附子与黄连的配伍:黄连性寒,味苦,主要含有生物碱,单煎液 pH 5.2~5.4。配伍见于《伤寒论》、《证治宝鉴》、《圣济总录》。附子为臣药,助心阳、暖脾胃、补肾阳。黄连为君药,泻心胃实热、止湿热痢疾,用于心下痞满,脘腹胀痛,泄泻等症。

与生附子单煎液相比,双酯型生物碱中乌头碱和乌头碱分别增加到 3.66、1.33 倍,见表 1。除此之外,在共煎液中其他生物碱的丰度均有所降低,见图 2-D。次乌头碱减少到 18%。药渣中所有生物碱的量也不同程度地下降。附子与黄连的单煎液混合后,有沉淀生成。说明:其一,在脂交换反应方面,黄连中的生物碱与乌头类生物碱发生竞争性抑制并使平衡左移,致使易于生成脂型生物碱的中乌头碱和乌头碱未反应而相对增加。而由次乌头碱生成脂型生物碱的能力比较强^[10],推知在上述反应中由脂型生物碱到次乌头碱的量比较少;其二,黄连能够与乌头类生物碱生成不溶性的复合物;其三,能够显著抑制乌头类生物碱的溶出;其四,黄连中可能存在抑制乌头碱毒性的化合物。

苦寒类药材大黄与附子配伍的减毒原理亦在于与乌头类生物碱生成不溶性复合物^[2]。

3 讨论

采用电喷雾质谱加内标法,避免了对照品的局限性,可以对附子中的生物碱成分进行全面检测。研究结果表明,附子与酸味药材配伍,在生成脂型生物碱的同时双酯型生物碱的量明显增加,增加用药后中毒的风险。与甘味药材配伍,由于配伍药材产生物理吸附而使双酯型生物碱的量下降,并有利于脂型生物碱的生成和溶出,减毒增效,此类方式可能与药材的质地有关。与苦味药材配伍,能够通过与乌头类生物碱生成不溶性沉淀减少毒性。由于辛味药材多

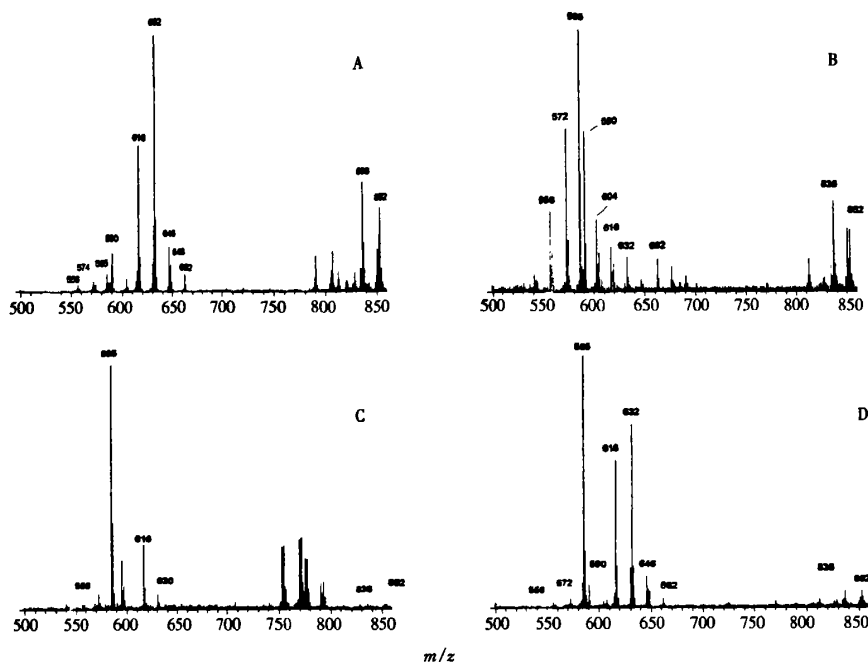


图2 附子分别与五味子(A)、黄芪(B)、独活(C)、黄连(D)共煎液的电喷雾质谱图

Fig. 2 ESI-MS Spectra of RALP+FSC (A), RALP+RA (B), RALP+RAP (C), and RALP+RC (D)

含有挥发油,共煎时挥发油对于通过化学变化的减毒作用不显著。另外,配伍中附子为臣药时,通常乌头类生物碱的总量显著下降。

参考文献:

- [1] 许庆轩,王 勇,宋凤瑞,等.八味地黄汤各药味对附子生物碱影响的电喷雾质谱研究[J].中草药,2005,36(4):519-522.
- [2] 越 皓,皮子凤,宋凤瑞,等.附子不同药对配伍中生物碱成分的电喷雾质谱分析[J].药学报,2007,42(2):201-205.
- [3] 许庆轩,刘志强,王 勇,等.八味地黄汤与人参汤共煎液中毒性物质的电喷雾质谱研究[J].中草药,2005,36(1):36-39.
- [4] 杨 栋,孙 庆.浅谈伤寒论中附子的生用与熟用[J].中成药,2000,22(8):595-596.
- [5] 杨 明,沈映君.附子生用与炮用的药理作用比较[J].中国中药杂志,2000,25(12):717-720.
- [6] Wang Y, Liu Z Q, Song F R, et al. Electrospray ionization tandem mass spectrometric study of the aconitines in the roots of aconite [J]. *Rapid Commun Mass Spectr*, 2002, 16: 2075-2082.
- [7] 王 勇,宋凤瑞,刘志强,等.四逆汤中脂类生物碱来源于酯交换反应的研究[J].中草药,2006,37(1):51-54.
- [8] Brian T, Thomas Y K C, Juliana C N C, et al. Herb-induced aconitine poisoning [J]. *Lancet*, 1993, 341: 370-371.
- [9] 展海霞,彭 成.附子与干姜配伍对心衰大鼠血流动力学的影响[J].中药药理与临床,2006,22(1):42-44.
- [10] Wang Y, Shi L, Song F R, et al. Exploring the ester-exchange reactions of diesterditerpenoid alkaloids in the aconite decoction process by electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectr*, 2003, 17: 279-284.

去甲基斑蝥素-壳聚糖纳米粒的表征和体外释放研究

张 玮,刘 杨,张学农*,陈 浩**

(苏州大学药学院,江苏 苏州 215123)

摘 要:目的 研制粒径小于 200 nm 的去甲基斑蝥素-壳聚糖纳米粒,并对其质量进行评价,对其结构、体外释放性能进行研究。方法 以低相对分子质量的壳聚糖为载体,通过离子诱导法,制备去甲基斑蝥素-壳聚糖纳米粒,并

收稿日期:2007-12-11

基金项目:国家科技支撑计划资助项目(2006BAI09B00);江苏省科技厅社会发展资助项目(BS200522);江苏省高新技术产业发展资助项目(JHB05-46);江苏省卫生厅招标课题(H200630)

作者简介:张 玮(1980—),男,广西桂林人,硕士研究生,从事靶向给药系统研究。E-mail: 22437654@qq.com

* 通讯作者 张学农 Tel: (0512)66998348 E-mail: zhangxuenong@163.com

** 陈 浩 07 届药理学本科毕业实习生

附子与不同药味药材配伍后乌头碱类生物碱的电喷雾质谱研究

作者：[皮子凤](#)，[越皓](#)，[宋凤瑞](#)，[刘志强](#)，[刘淑莹](#)，[PI Zi-feng](#)，[YUE Hao](#)，[SONG Feng-rui](#)，[LIU Zhi-qiang](#)，[LIU Shu-ying](#)

作者单位：[皮子凤, 宋凤瑞, 刘志强, 刘淑莹, PI Zi-feng, SONG Feng-rui, LIU Zhi-qiang, LIU Shu-ying \(中国科学院长春应用化学研究所长春质谱中心, 吉林, 长春, 130022I\)](#)，[越皓, YUE Hao \(香港浸会大学, 化学系, 中国, 香港\)](#)

刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**

英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)

年，卷(期)：2008, 39(10)

被引用次数：5次

参考文献(10条)

1. [许庆轩;王勇;宋凤瑞](#) [八味地黄汤各药味对附子生物碱影响的电喷雾质谱研究](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2005(04)
2. [越皓;皮子凤;宋凤瑞](#) [附子不同药对配伍中生物碱成分的电喷雾质谱分析](#)[期刊论文]-[药学报](#) 2007(02)
3. [许庆轩;刘志强;王勇](#) [八味地黄汤与人参汤共煎液中毒性物质的电喷雾质谱研究](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2005(01)
4. [杨栋;孙庆](#) [浅谈伤寒论中附子的生用与熟用](#)[期刊论文]-[中成药](#) 2000(08)
5. [杨明;沈映君](#) [附子生用与炮用的药理作用比较](#)[期刊论文]-[中国中药杂志](#) 2000(12)
6. [Wang Y;Liu z Q;Song F R](#) [Electrospray ionization tandem masa spectrometric study of the aconitines in the roots of aconite](#)[外文期刊] 2002(22)
7. [王勇;宋凤瑞;刘志强](#) [四逆汤中脂类生物碱来源于酯交换反应的研究](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2006(01)
8. [Brian T;Thomas Y K C;Julhna C N C](#) [Herb-induced aconitine poisoning](#) 1993
9. [展海霞;彭成](#) [附子与干姜配伍对心衰大鼠血流动力学的影响](#)[期刊论文]-[中药药理与临床](#) 2006(01)
10. [Wang Y;Shi L;Song F R](#) [Exploring the ester-ex-change reactions of diesterditerpenoid alkaloids in the aconite decoction process by electrospray ionization tandem maas spectrometry](#)[外文期刊] 2003(4)

本文读者也读过(10条)

1. [宋凤瑞. 闫存玉. 刘志强. 刘淑莹](#) [电喷雾质谱研究单链核苷酸与黄酮类化合物的非共价复合物](#)[会议论文]-2006
2. [王勇. 刘志强. 宋凤瑞. 刘淑莹](#) [附子配伍原则的电喷雾质谱研究](#)[期刊论文]-[药学报](#)2003, 38(6)
3. [苗彦霞. 吕娟](#) [中药七情的研究现状及思考](#)[期刊论文]-[陕西中医学院学报](#)2007, 30(1)
4. [叶强. 刘刚彦. 郭力. 彭成. Ye Qiang. Liu Gangyan. Guo Li. Peng Cheng](#) [大黄附子配伍对蒽醌类成分影响的研究](#)[期刊论文]-[现代中医药](#)2011, 31(4)
5. [梁乾德. 王红霞. 李卫华. 魏开华. 马百平. 王升启](#) [直接灌注电喷雾电离四极杆飞行时间质谱在十六种中药来源化合物定性分析中的应用](#)[期刊论文]-[质谱学报](#)2004, 25(4)
6. [张帆. 葛亮. 哈木拉提·吾甫尔. 夏鹏飞. ZHANG Fan. GE Liang. Halmurat UPUR. XIA Peng-fei](#) [麻黄附子甘草汤的不同配伍方式对其毒性成分的影响](#)[期刊论文]-[中国实验方剂学杂志](#)2011, 17(6)
7. [刘新军. 苏式兵](#) [中药及其成分配伍组方的研究方法探析](#)[会议论文]-2009
8. [越皓. 皮子凤. 宋凤瑞. 刘志强. 刘淑莹. YUE Hao. PI Zi-feng. SONG Feng-rui. LIU Zhi-qiang. LIU Shu-ying](#) [附子不同配伍药对中生物碱成分的电喷雾质谱分析](#)[期刊论文]-[药学报](#)2007, 42(2)
9. [张琦. 张大方](#) [中药“七情合和”理论研究](#)[期刊论文]-[中医临床研究](#)2010, 2(3)
10. [郑璐璐. 陈菊萍. 张贵君](#) [浅析中药药对理论](#)[会议论文]-2010

引证文献(5条)

1. 李启艳, 朱日然, 张学顺, 程明, 黄超 附子及其炮制品中生物碱类成分的ESI-MSn研究[期刊论文]-[中国实验方剂学杂志](#) 2011(17)
2. 朱日然, 李启艳, 张学顺, 朱宗敏, 黄超 附子与半夏不同炮制品种配伍应用的ESI-MSn研究[期刊论文]-[中国实验方剂学杂志](#) 2011(18)
3. 龚义明, 邓广海, 林华 不同煎煮时间对熟附子生物碱的影响[期刊论文]-[今日药学](#) 2011(12)
4. 张鲁, 李遇伯, 李利新, 王玉明, 许妍妍, 靳晶, 张秀秀, 张艳军 制川乌与法半夏不同比例配伍组合对乌头类生物碱的影响[期刊论文]-[中草药](#) 2013(6)
5. 王晖, 陈宁, 许妍妍, 程丽丽, 庄朋伟, 李遇伯, 张艳军 基于RRLC-Q-TOF-MS技术分析白芍对制川乌主要化学成分溶出的影响[期刊论文]-[中草药](#) 2013(15)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200810012.aspx