

- 2013, 54(9): 785-788.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 1部. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 270-271.
- [4] 吴新荣, 吴立宏, 赵志礼, 等. 中药秦艽和习用品中5种环烯醚萜类成分的HPLC含量测定[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(4): 715-720.
- [5] 李荣娇, 杨凤仙, 袁绿益, 等. HPLC法测定西藏秦艽花与川西秦艽花中7种成分的量[J]. 中草药, 2015, 46(8): 1227-1230.
- [6] 董琦, 吉文鹤, 肖远灿, 等. HPLC法同时测定藏药岷县龙胆中4种有效成分的含量[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(4): 561-563.
- [7] 徐敏, 张振秋. HPLC法同时测定青叶胆中獐牙菜苦苷、龙胆苦苷和獐牙菜苦苷的含量[J]. 辽宁中医杂志, 2013, 40(1): 145-147.
- [8] 张兴旺, 陶燕铎, 梅丽娟, 等. HPLC测定7种龙胆科植物花中龙胆苦苷与獐牙菜苦苷的含量[J]. 中国野生植物资源, 2010, 29(2): 38-40.
- [9] 徐康平, 申健, 李福双, 等. 多波长HPLC同时测定3种獐牙菜属植物中6种活性成分[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(11): 1384-1389.
- (责任编辑: 冯天保, 郑锋玲)

岭南特色炮天雄和传统炮附片的成分比较

覃军, 龚又明, 郑显辉, 邓广海

广东省中医院药学部, 广东 广州 510120

[摘要] 目的: 比较炮附片与炮天雄有效成分和毒性成分的差异, 从化学成分上阐述岭南炮天雄物质基础, 为其临床应用及后期研究提供参考依据。方法: 采用HPLC法同时测定炮天雄和炮附片中6种单、双酯型生物碱含量, 比较两者成分含量差异。实验采用Kromasil C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-四氢呋喃(25:15)、0.1 mol/L醋酸铵溶液为流动相, 采用梯度洗脱, 流速: 1 mL/min, 检测波长: 235 nm, 柱温: 30℃。结果: 与传统炮附片比较, 岭南特色炮天雄中单酯型生物碱含量较高, 毒性成分双酯型生物碱含量较低。结论: 炮天雄是一种“低毒高效”岭南特色的炮制品, 具有一定的药用价值。

[关键词] 炮天雄; 炮附片; 岭南炮制; 生物碱; 含量测定; HPLC

[中图分类号] R284 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415(2016)12-0220-04

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2016.12.092

Component Comparison Between Processed Tianxiong of Lingnan Characteristic and Traditional Processed Aconite Tablets

QIN Jun, GONG Youming, ZHENG Xianhui, DENG Guanghai

Abstract: Objective: To compare the difference between effective components and toxic components of processed aconite tablets and processed Tianxiong, and to illustrate the material basis of Lingnan processed Tianxiong in terms of chemical components in order to provide reference for clinical application and later research. Methods: Applied High Performance Liquid Chromatography (HPLC) to determine the six kinds of mono and double ester-alkaloids content in processed Tianxiong and processed aconite tablets at the same time, and compared the difference between the components. The experiment applied Kromasil C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm) and used acetonitrile-tetrahydrofuran(25:1500), 0.1 mol/L ammonium acetic acid solution as mobile phase. Gradient elution was performed. Velocity: 1 mL/min; determination of wavelength: 235 nm; column temperature: 30℃. Results: Compared with traditional processed aconite tablets, the mono ester-alkaloids content in Tianxiong of Lingnan characteristic was higher, while the double ester-alkaloids of toxic component in Tianxiong of Lingnan characteristic was lower. Conclusion: Processed Tianxiong is a kind of “less toxic and more

[收稿日期] 2016-07-12

[基金项目] 广东省科技计划项目(2016A040403104)

[作者简介] 覃军(1976-), 男, 副主任中药师, 研究方向: 中药饮片质量管理与控制。

[通讯作者] 邓广海, E-mail: handsomehai@126.com。

effective” processed product of Lingnan characteristic, containing certain medical value.

Keywords: Processed Tianxiang; Processed aconite tablets; Processed by Lingnan method; Alkaloid; Determination of content; High Performance Liquid Chromatography(HPLC)

炮天雄、炮附子均属于毛茛科乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 的子根的炮制品。其中, 天雄是附子的饮片商品规格之一^[1], 具有温阳、止痛、祛风的功效, 主要用于治疗肾亏阳虚、元阳素虚^[2], 同时是岭南地区习用为温阳补肾的食疗药材, 在岭南、港澳, 以及东南亚国家广泛使用。与炮附片相比, 炮天雄的制法虽与炮附片一样需要砂烫, 但炮天雄不用切片, 并且两者砂烫程度也不一样, 功效上, 它的补阳、补虚的保健功能较炮附子强^[3-4]。那么两种炮制品化学成分上是否有一定的区别, 导致其临床疗效差别的物质基础是什么? 炮天雄岭南特色炮制品, 目前关于其物质成分和质量标准方面的研究仍然处于空白阶段, 多数厂家只能借用炮制工艺相似的炮附片的质量标准, 难以保障其安全性。本文将对炮天雄和炮附片的物质成分进行研究, 同时测定其有效成分和毒性成分含量, 比较两者成分差异, 分析与总结实验数据, 为临床用药提供理论指导, 同时也为炮天雄的质量控制提供一定参考依据。

1 实验材料与仪器

1.1 药品与试剂 对照品苯甲酰新乌头原碱(批号: 111795-201102), 苯甲酰乌头原碱(批号: 111794-201102), 苯甲酰次乌头原碱(批号: 111796-201002), 新乌头碱(批号: 110799-201106), 次乌头碱(批号: 110798-201106), 乌头碱(批号: 110720-201111)均购于中国药品生物制品检定, 纯度均 $\geq 98\%$; 炮附片、炮天雄均由广州市药材公司中药饮片厂提供, 经广东省中医院主任中药师林华鉴定为毛茛科乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 的子根的炮制品; 乙腈、四氢呋喃等试剂为色谱纯(Tedia 公司), 其他试剂均为分析纯(广州化学试剂厂)。

1.2 仪器与设备 Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国安捷伦科公司); BS110S 型电子天平(赛多利斯有限公司); HWS28 型恒温水浴锅(上海一恒科技有限公司); RV10 型旋转蒸发器(德国 IKA); SHZ-D 型循环水式真空泵(上海一恒科技有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Kromasil C_{18} 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 以乙腈-四氢呋喃(25:15)为流动相 A, 0.1 mol/L 醋酸铵溶液(每 1000 mL 加冰醋酸 0.5 mL)为流动相 B。流速: 1 mL/min; 检测波长: 235 nm; 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 进样量: 10 μ L。按表 1 进行梯度洗脱。

2.2 对照品溶液的制备 取苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头、新乌头原碱、乌头原碱、次乌头原碱等对照品适量, 精密称定, 加异丙醇-二氯甲烷(1:1)混合溶液

表 1 梯度洗脱比例

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0~48	15→26	85→74
48~49	26→35	74→65
49~58	35	65
58~65	35→15	65→85

制成每 1 mL 各含 25 μ g 的混合溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品粉末(过三号筛)约 2 g, 精密称定, 按照 2015 年版《中国药典》附子含量测定项下“供试品溶液的制备”的步骤进行提取^[1]。

2.4 线性关系的考察 见表 2。取苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头、新乌头原碱、乌头原碱、次乌头原碱等对照品溶液适量, 按照上述色谱条件, 分别进样 0.5 μ L、1 μ L、2 μ L、4 μ L、8 μ L、12 μ L、20 μ L, 记录对照品峰面积, 以峰面积积分值 Y 与对照品含量 X(μ g)进行回归处理。

表 2 6 种生物碱对照品的回归方程

对照品名称	回归方程	相关系数 r	线性范围(μ g)
苯甲酰新乌头原碱	$Y=1154.34X-2.52$	0.9996	0.0482~1.9670
苯甲酰乌头原碱	$Y=1169.25X-2.41$	0.9993	0.0223~0.9352
苯甲酰次乌头原碱	$Y=1204.27X-10.42$	0.9997	0.0496~1.8990
新乌头碱	$Y=1221.50X+1.28$	0.9992	0.0235~0.9766
次乌头碱	$Y=1218.63X-2.66$	0.9992	0.0242~0.9955
乌头碱	$Y=1258.33X-3.83$	0.9990	0.0222~0.8608

2.5 精密度考察 精密吸取 6 种生物碱混合对照品溶液 10 μ L, 注入液相色谱仪, 按照上述的色谱条件重复进样 6 次, 测定 6 种生物碱的峰面积, 计算其 RSD% 值。结果苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、新乌头碱、次乌头碱、乌头碱的 RSD 分别为 0.62%, 1.18%, 0.78%, 0.82%, 0.66%, 0.81%, 表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性考察 取同一批炮附片供试品溶液, 于 0, 2, 4, 6, 12, 24 h 分别进样 10 μ L, 按照上述色谱条件下, 测定 6 种生物碱的峰面积, 并计算其 RSD% 值。结果苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、新乌头碱、次乌头碱、乌头碱的 RSD 分别为 1.23%, 0.83%, 0.94%, 1.05%, 1.17%, 1.22%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 重复性考察 取同一批炮附片的样品 6 份, 分别按供试品制备方法进行提取, 采用上述的色谱条件测定 6 种生物碱的峰面积, 并以峰面积积分值计算其 RSD% 值。结果苯甲酰

新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、新乌头碱、次乌头碱、乌头碱的RSD分别为1.65%，0.78%，2.06%，1.37%，1.22%，1.07%，表明该方法重复性良好。

2.8 加样回收率实验 取已知含量炮附片样品约1.0g，共6份，精密称定，精密加入6种生物碱对照品适量，按照供试品制备方法进行提取，采用上述的色谱条件测定6种生物碱的含量，并计算其平均回收率和RSD%值。结果苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、新乌头碱、次乌头碱、乌头碱的均回收率分别为101.86%，99.59%，97.68%，98.22%，97.31%，96.74%，其RSD%分别为

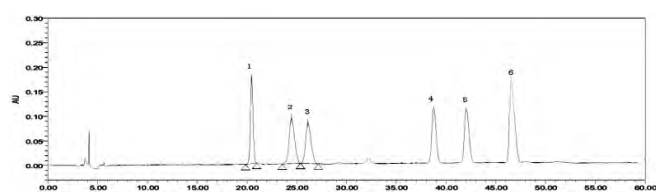
2.03%，1.80%，1.91%，1.66%，2.07%，2.14%。

2.9 样品含量测定 见表3，图1。取12个批次的炮天雄、炮附片样品(过三号筛)约2g，精密称定，按照制备供试品溶液制备方法进行提取，采用上述的色谱条件，测定6种生物碱的峰面积，并计算其含量。表3结果显示，炮附片总单酯型生物碱含量在0.0229%~0.0815%，总双酯型生物碱含量在0.0078%~0.0122%，炮天雄总单酯型生物碱含量在0.0843%~0.1042%，总双酯型生物碱含量在0.0045%~0.0087%。结果表明，与传统炮附片比较，岭南特色炮天雄中单酯型生物碱含量较高，毒性成分双酯型生物碱含量较低。

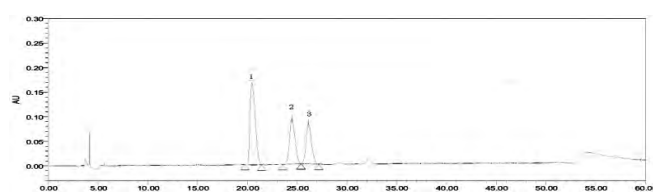
表3 炮附片和炮天雄6种生物碱含量结果(%, n=3)

样品	BMA	BAC	BHA	T-MOA	MA	HA	AC	T-DIE
炮附片1	0.0459	0.0212	0.0026	0.0696	0.0059	0.0025	0.0037	0.0121
炮附片2	0.0456	0.0211	0.0025	0.0692	0.0035	0.0033	0.0054	0.0122
炮附片3	0.0556	0.0241	0.0018	0.0815	0.0022	0.0036	0.0058	0.0116
炮附片4	0.0545	0.0236	0.0018	0.0799	0.0023	0.0040	0.0041	0.0104
炮附片5	0.0135	0.0047	0.0049	0.0231	0.0033	0.0043	0.0031	0.0107
炮附片6	0.0135	0.0046	0.0048	0.0229	0.0026	0.0016	0.0036	0.0078
炮天雄1	0.0624	0.0157	0.0062	0.0844	0.0024	—	0.0062	0.0086
炮天雄2	0.0626	0.0156	0.0061	0.0843	0.0026	—	0.0061	0.0087
炮天雄3	0.0751	0.0196	0.0045	0.0992	—	—	0.0045	0.0045
炮天雄4	0.0757	0.0195	0.0044	0.0997	—	0.0035	0.0024	0.0059
炮天雄5	0.0781	0.0205	0.0056	0.1042	0.0035	0.0031	—	0.0066
炮天雄6	0.0685	0.0189	0.0057	0.0931	0.0043	0.0025	—	0.0068

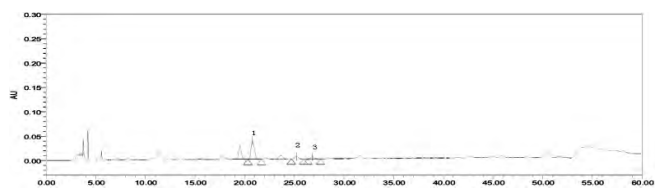
注：BMA，BAC，BHA，T-MOA，MA，HA，AC，T-DIE 分别表示：苯甲酰新乌头碱，苯甲酰乌头碱，苯甲酰次乌头碱，总单酯型生物碱，新乌头碱，次乌头碱，乌头碱，总双酯型生物碱。



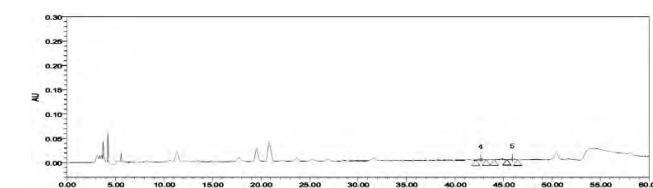
A.对照品



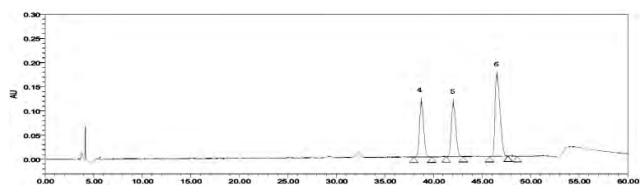
B.炮天雄 (单酯型)



C.炮附片 (单酯型)



D.炮天雄 (双酯型)



E.炮附片 (双酯型)

1. 苯甲酰新乌头碱；2. 苯甲酰乌头碱；3. 苯甲酰次乌头碱；4. 新乌头碱；5. 次乌头碱；6. 乌头碱

图1 炮天雄和炮附片6种生物碱HPLC图

3 讨论

炮附片为附子常见的炮制品,中医认为其经过砂烫后能过增强补命门之火,功效以温肾暖脾为主^[5]。炮天雄作为岭南特色炮制品,同样具有补火助阳的作用,临床研究发现其补阳、补虚的保健功效甚至强于炮附片。研究发现炮天雄的水煎剂对阳虚证小鼠的耐疲劳能力有提高作用,对肾虚证大鼠免疫有促进作用,延长其低温游泳的存活时间,在一定程度上能说明炮天雄具有补肾助阳功效,与《伤寒论》和《金匱要略》里记载的“补命门、强肾气”理论相吻合,与目前港、澳中医流派对炮天雄的应用相符^[6-7]。

从炮制工艺上分析,两者有一定的区别,炮附片为黑顺片、白附片经砂烫炮制而成,而炮天雄不用切片,且砂烫程度也不一样。从化学成分上分析,附子及其炮制品均含有生物碱类成分,包括水溶性生物碱和脂溶性生物碱,其中双酯型生物碱是其主要毒性成分,经炮制后转化为毒性较低的单酯或胺醇型生物碱。那么两种炮制品化学成分上是否有明显区别,本文采用现代技术,测定两者不同批次6种单、双酯型生物碱的含量,从化学成分上阐述物质基础,为其临床应用提供一定的参考依据。

通过实验数据分析发现,与炮附片比较,市场上炮天雄以单酯型生物碱含量较高,毒性成分双酯型生物碱含量偏低,说明炮天雄是一种“低毒高效”的炮制品,极具岭南炮制特色。炮天雄中有效成分含量较高可能有两方面原因:第一,附子一般选用个头较大,质量较好的附子为原料进行炮制,导致其中生物碱成分较高;第二,附子不需要经过切片,直接整个去皮后砂烫,减少了软化切片等环节,大大降低生物碱的流失。2015年版《中国药典》中收录了炮附片,为附片经砂烫法制成,在砂烫过程中增强了补火助阳作用,但其有效成分也容易进一步受到破坏,其炮制原理还有待进一步研究。而岭南特色炮天雄的原理就是尽可能避免有效成分的损失,同时在炮制过程中增强了补火助阳作用。

炮天雄是岭南特色的炮制品种,在国内外享誉盛名,在岭

南、港澳,以及东南亚国家广泛使用。同时作为一种食品和药膳,甚至可以用开水浸泡作茶饮用。其原因可能是炮天雄虽然为毒性中药附子炮制品,但经过炮制后其毒性成分非常低,能够保证其安全性,这与本实验含量测定的结果一致。同时有学者研究表明,炮天雄炮制后增加了单酯型生物碱含量,增强了其治疗脾阳虚症和肾阳虚症的成分^[8]。从地理环境分析,岭南地区较“湿热”,容易引起以脾胃虚弱为主征的阳虚体质^[9],因此,炮天雄更符合岭南地区使用要求和对症治疗。同时,炮天雄具有药膳同源的功用,具有巨大的市场价值,完善质量标准,有利于进一步规范炮天雄质量和开发其市场价值。

【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 1部. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 192.
- [2] 李德斌, 黄志芳, 刘云华, 等. 炮天雄质量标准研究[J]. 中国实验方剂学, 2013, 19(23): 146-150.
- [3] 曹晖, 王春燕, 王孝涛. 毒性中药天雄炮制历史沿革研究[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(6): 348-350.
- [4] 张德昌. 对药材天雄基源的商讨[J]. 中药材, 1985, 2(1): 46.
- [5] 龚千锋. 中药炮制学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 313-315.
- [6] 曹晖, 王时桃, 吴连英, 等. 香港市售天雄补肾助阳药效学研究[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(6): 369-372.
- [7] 林乾良. 经方中药研究集成[M]. 北京: 中医古籍出版社, 1992: 474.
- [8] 徐墩海, 赵洪峰, 徐雅娟, 等. 四川江油生附子强心成分的研究[J]. 中草药, 2004, 35(9): 964-966.
- [9] 曹晖. 中药天雄炮制品的生物碱含量及其急性毒性(LD₅₀)变化的初步研究[J]. 基层中药杂志, 1993, 7(2): 27-30.

(责任编辑:冯天保,郑锋玲)