

## 基于四逆汤建立附子炮制新方法

陈雪<sup>1</sup>, 王冬阁<sup>1</sup>, 冯正平<sup>1</sup>, 李嘉欣<sup>1</sup>, 张国彦<sup>2</sup>, 刘志超<sup>2</sup>, 康杰芳<sup>1</sup>, 崔浪军<sup>1\*</sup>

(1. 陕西师范大学生命科学学院, 药用资源与天然药物化学教育部重点实验室, 西北濒危药材资源开发国家工程实验室, 陕西 西安 710062; 2. 城固县群利中药材合作社, 陕西 汉中 723200)

**摘要:** 目的 在四逆汤的基础上建立附子炮制新方法。方法 附子饮片 25% 氨水提取物的分析采用 Phenomenex RP-C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相 0.1% 二乙胺-乙腈, 梯度洗脱; 柱温 25 °C; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 230 nm。分别考察炮制过程中所用不同生物酶比例及用量、甘草与干姜的用量以及蒸制时间对附片生物碱含量的影响, 进而筛选出最优的炮制工艺。结果 6 种生物碱在各自范围内线性关系良好 ( $r > 0.997 5$ ), 平均加样回收率 91.51% ~ 102.3%, RSD 0.90% ~ 2.41%。在炮制过程中, 加入混合酶, 随后使用甘草粉-干姜粉的混合粉均匀挂粉后进行高压蒸制 40 min, 得到效毒比最高的新型附片。此新型附片的苯甲酰新乌头原碱含量可达 0.035%, 而双酯型生物碱总量低至 0.010%。结论 该方法简便易行可控, 所得附片有效且可安全使用, 可作为替代附子传统加工工艺的新方法。

**关键词:** 附子; 甘草; 干姜; 生物碱; 四逆汤; HPLC

中图分类号: R283.3

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2020)05-1255-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.05.029

## Establishment of a new method of processing *Aconiti Lateralis Radix Praeparata* based on Sini Decoction

CHEN Xue<sup>1</sup>, WANG Dong-ge<sup>1</sup>, FENG Zheng-ping<sup>1</sup>, LI Jia-xin<sup>1</sup>, ZHANG Guo-yan<sup>2</sup>,  
LIU Zhi-chao<sup>2</sup>, KANG Jie-fang<sup>1</sup>, CUI Lang-jun<sup>1\*</sup>

(1. National Engineering Laboratory for Resource Development of Endangered Crude Drugs in Northwest China, the Key Laboratory of Medicinal Resources and Natural Pharmaceutical Chemistry, The Ministry of Education, College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China; 2. Chenggu County Qunli Traditional Chinese Medicine Cooperative, Hanzhong 723200, China)

**ABSTRACT: AIM** To establish a new method of processing *Aconiti Lateralis Radix Praeparata* based on Sini Decoction. **METHODS** The analysis of 25% ammonia extract from *Aconiti Lateralis Radix Praeparata* was developed on a 25 °C thermostatic Phenomenex RP-C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of 0.1% diethylamine-acetonitrile flowing at 1 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelength was set at 230 nm. An optimal process was screened out. The parameters included the proportion and dosage of enzymes, the dosage of liquorice powder and ginger powder, and the steaming time. **RESULTS** Six alkaloids showed good linear relationships within their own ranges ( $r > 0.997 5$ ), whose average recoveries were 91.51% - 102.3%, with the RSDs of 0.90% - 2.41%. After treating with mixed enzyme powder, *Aconiti Lateralis Radix Praeparata* was mixed with glycyrrhiza and ginger powder, then steamed at high pressure for 40 minutes. In the new *Aconiti Lateralis Radix Praeparata* processed pieces, the content of benzoylmesaconine was 0.035%, and

收稿日期: 2019-04-24

基金项目: 科技部科技惠民计划 (2012GS610102, 2013GS610202); 陕西省科技攻关计划 (2016SF-376); 陕西师范大学中央高校基本科研业务费 (GK201603110); 陕西省重点产业创新链 (群) 项目 (2019ZDLSF04-01-0); 2017 年中医药公共卫生服务补助专项 (财社 [2017] 66)

作者简介: 陈雪 (1996—), 女, 硕士生, 从事中药炮制研究。Tel: (029) 85310266, E-mail: 15686080865@163.com

\* 通信作者: 崔浪军 (1977—), 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事天然产物化学研究。Tel: (029) 85310266, E-mail: ljcu@snnu.edu.cn

the total amount of diester alkaloids was as low as 0.010%. **CONCLUSION** The simple and available method can be used as a new method for replacing the traditional processing technology of *Aconiti Lateralis Radix Praeparata*.

**KEY WORDS:** *Aconiti Lateralis Radix Praeparata*; *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.; *Zingiber officinale* Rosc.; alkaloids; Sini decoction; HPLC

附子为毛茛科植物乌头 *Aconitum camichaeli* Debx. 的子根加工品, 具有回阳救逆、补火助阳、散寒止痛的功效<sup>[1]</sup>。现代药理学研究发现此类中药具有良好的抗炎、镇痛、免疫抑制、抗肿瘤、强心、降血压、扩张血管等作用, 用于治疗慢性风湿病、慢性心力衰竭、慢性肾功能衰竭等<sup>[2]</sup>。附子中的生物碱是其最受关注的活性物质, 炮制加工有助于毒性成分双酯型生物碱向有效成分单酯型生物碱转化以达到减毒增效的目的。目前附子炮制方法主要有2种形式, 一种为无胆附片, 如烘烤品、古代干热品、砂烫品、清炒品、蒸附片; 另一种为2015年版《中国药典》中所载的有胆附片, 如黑顺片、白附片、盐附子等炮制品种。无论在附子炮制过程中是否有胆巴参与, 增加药效并降低毒性始终为其加工炮制中最关注的问题。

附子最初以盐制居多, 主要由于附子有“隔夜腐”的特质, 以盐制在减毒的同时可以起到防腐作用, 延长加工周期。在附子加工炮制过程中, 高浓度胆巴浸泡后, 附子中胆巴累积量可达26%<sup>[3]</sup>, 这给后续附片加工带来诸多不便。漂洗退胆过程会使附片中生物碱大量流失<sup>[4]</sup>, 退胆不尽甚至影响附片临床用药安全, 严重的可致人昏迷, 甚至呼吸麻痹和休克, 更甚者循环衰竭死亡<sup>[5-6]</sup>。采用烘烤、砂烫、蒸制等方法炮制的无胆附片, 如炮附子与蒸附片等炮制品种, 其有效成分含有量较高, 毒性成分含有量低<sup>[7-8]</sup>, 抗炎镇痛作用效果相似<sup>[9]</sup>。故优化附子无胆巴炮制加工工艺, 生产质效佳的附片具有十分重要的意义。

古籍中有大量附子与姜和甘草相配伍的记载, 有“附子得甘草而后缓”<sup>[10]</sup>和“附子无姜不热”<sup>[11]</sup>的说法。据《本草正》中所述甘草有“毒药得之解其毒, 刚药得之和其性, 表药得之助其外, 下药得之缓其速”<sup>[12]</sup>的功效。《伤寒论》和《金匱要略》中记载的含有附子的方中, 大多配伍甘草以降低附子的毒性<sup>[13-16]</sup>, 并且甘草对于缓解服用附子中毒症状也有显著效果<sup>[17]</sup>。附子与干姜或生姜配伍后均可增强其热性, 干姜的加入使附子增强心率的作用更为强烈<sup>[18]</sup>, 且经干姜或生姜拌

蒸制得到的附片, 其毒性也可减弱<sup>[19]</sup>。张仲景在《伤寒论》中提到的四逆汤方中, 将干姜与甘草同时与附子配伍, 有回阳救逆、温中散寒的功效。本研究基于传统经方四逆汤的配伍理念, 在无胆蒸制附片的炮制方法的研究基础上, 结合现代酶提取工艺, 开发新型的优质无胆蒸附片, 并规范其生产工艺, 明确炮制参数, 以期对附片炮制加工工艺的革新提供新思路。

## 1 材料

1.1 仪器 岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪配有 SPD-20 A 紫外检测器, 岛津 LC-solution 工作站, SIL-20 A 自动进样器, LC-20AT 二元泵, CBM20 A 系统控制器, DGU-20 A 脱气机 (日本岛津株式会社); 高压灭菌锅 (上海诺顶仪器设备有限公司); 电子天平 [赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司]; 超纯水机 (美国 Milli-pore 公司); 粉碎机 (永康红太阳机电有限公司)。

1.2 试剂与试药 苯甲酰新乌头原碱 (A0632, 纯度 99.56%)、苯甲酰次乌头原碱 (A0633, 纯度 99.66%)、苯甲酰乌头原碱 (A0631, 纯度 98.90%)、乌头碱 (A0196, 纯度 98.01%)、次乌头碱 (A0906, 纯度 99.04%)、新乌头碱 (A0608, 纯度 98.12%), 均购于成都曼斯特生物科技有限公司。色谱纯乙腈、二乙胺、甲醇均购于美国 Fisher Chemical 集团; 分析纯柠檬酸、柠檬酸钠、氨水、异丙醇、乙酸乙酯均购自天津天利化学试剂有限公司。甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 及干姜 *Zingiber officinale* Rosc. 饮片购自北京同仁堂。附子于8月份采挖自陕西省汉中市城固县, 经陕西师范大学西北濒危药材资源开发国家工程实验室崔浪军副教授鉴定为毛茛科植物乌头属乌头 *Aconitum camichaeli* Debx. 的子根。

## 2 方法与结果

2.1 炮制工艺 新鲜附子洗净, 纵切成 0.5 cm 厚附片, 常温下晾干至恒定质量, 备用。取 30 g 干附片, 加入溶有纤维素酶与果胶酶的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液 (pH 4.8), 混合均匀, 50 °C 恒温恒湿箱中静置 30 min, 取出, 晾至室温。加入甘草与干

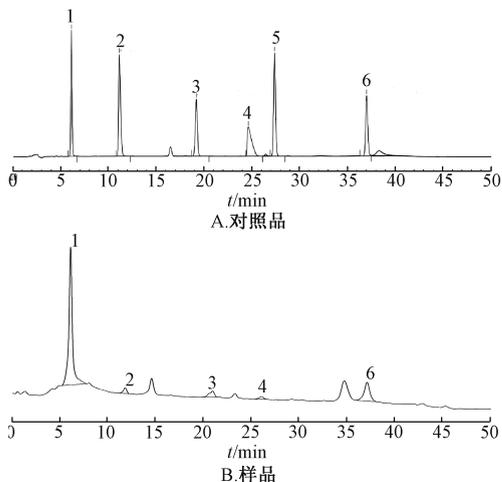
姜过3号筛的混合粉，高压蒸制后，35℃烘干，粉碎后过3号筛，备用。

## 2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液 取苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、乌头碱、次乌头碱和新乌头碱对照品各1mg，精密加入甲醇1mL，摇匀，制成1mg/mL的对照品溶液。4℃冰箱中备用。

2.2.2 供试品溶液 分别取各样品粉末2g，平行3份，置具塞锥形瓶中，加25%氨水3mL，浸润30min。精密加入异丙醇-醋酸乙醇(1:1)混合溶液50mL，密塞，称定质量。超声处理(300W, 40kHz)30min，水温在25℃以下，放冷，再称定质量，用异丙醇-醋酸乙醇(1:1)混合溶液补足减失质量，摇匀后过滤。精密量取续滤液25mL，40℃以下减压回收溶剂至干，残渣精密加入甲醇溶液2mL，转移至离心管，经0.45μm微孔滤膜过滤，即得。

2.3 色谱条件 Phenomenex RP-C<sub>18</sub>色谱柱(250mm×4.6mm, 5μm)；流动相0.1%二乙胺(A)-乙腈(B)，梯度洗脱(0~8min, 28% A; 8~12min, 28%~33% A; 12~45min, 33%~50% A; 45~55min, 50% A)；柱温25℃；体积流量1.0mL/min；检测波长230nm；进样量10μL。



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  
1. benzoylmesaconine 2. benzoylaconitin 3. benzoylhyapacoitine 4. mesaconitine 5. hyapacoitine 6. aconitine

图1 各成分HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

## 2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 称取生附子粉末，按

“2.2.1”项下方法制备对照品溶液，在“2.3”项条件下进样6次，测得乌头碱、次乌头碱、新乌头碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰乌头原碱含有量RSD分别为1.32%、0.75%、0.61%、1.22%、0.45%、0.97%，表明仪器精密度良好。

2.4.2 线性关系考察 精密称取各单对照品适量，分别配制为0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mg/mL的系列对照品溶液，在“2.3”项色谱条件下进样10μL，测定峰面积，以对照品质量浓度为横坐标(X)、峰面积积分为纵坐标(Y)进行线性回归。结果见表1，表明6种生物碱在各自范围内线性关系良好。

表1 各成分线性关系

Tab. 1 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	r	线性范围/ mg
苯甲酰新乌头原碱	$Y=76\ 079X-7\ 077.4$	0.999 3	0.250 8~0.414 8
苯甲酰乌头原碱	$Y=96\ 546X-6\ 233.6$	0.999 9	0.017 5~0.050 5
苯甲酰次乌头原碱	$Y=29\ 604X-50\ 151$	0.997 5	0.019 9~0.075 4
新乌头碱	$Y=84\ 218X+4\ 997.3$	0.999 5	0.001 6~0.007 9
乌头碱	$Y=122\ 486X-14\ 319$	0.999 7	0.043 2~0.109 5
次乌头碱	$Y=110\ 798X+3\ 716.4$	0.999 1	0.056 0~0.137 3

2.4.3 稳定性试验 选取供试品，在“2.3”项条件下进样，分别于0、1、4、8、12、24h进样，测得乌头碱、次乌头碱、新乌头碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰乌头原碱含有量RSD分别为1.21%、0.43%、0.72%、0.87%、1.60%、1.73%，表明供试品溶液在24h内稳定性良好。

2.4.4 重复性试验 选取附子饮片粉末6份，每份2g，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.3”项条件下进样。测得乌头碱、次乌头碱、新乌头碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱及苯甲酰乌头原碱含有量RSD分别为2.00%、0.59%、0.007%、1.25%、0.07%、0.59%，表明该方法重复性良好。

2.4.5 加样回收率试验 取“2.2.1”项下已知含有量的附片粉末，分别加入与样品中等量的对照品。按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.3”项条件下进样。计算苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、新乌头碱、次乌头碱、乌头碱的平均回收率，结果见表2。

表2 各成分加样回收率试验结果 (n=6)

Tab. 2 Results of recovery tests for various constituents (n=6)

成分	原有量/mg	加入量/mg	测定量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
苯甲酰新乌头原碱	1.280 7	1.253 1	2.532 4	99.09	99.76	0.90
	1.265 1	1.253 1	2.512 9	100.89		
	1.343 3	1.253 1	2.571 2	97.15		
	1.272 9	1.253 1	2.531 9	99.80		
	1.234 2	1.253 1	2.498 0	101.85		
	1.253 8	1.253 1	2.504 1	99.78		
苯甲酰乌头原碱	0.705 6	0.710 4	1.423 1	102.00	100.2	1.52
	0.708 7	0.710 4	1.411 9	98.99		
	0.688 5	0.710 4	1.420 8	104.21		
	0.687 5	0.710 4	1.400 3	100.34		
	0.728 8	0.710 4	1.430 1	98.98		
	0.714 0	0.710 4	1.417 8	96.68		
苯甲酰次乌头原碱	0.056 3	0.052 0	0.108 9	101.15	101.6	2.41
	0.051 1	0.052 0	0.102 1	98.05		
	0.050 3	0.052 0	0.104 9	105.06		
	0.054 5	0.052 0	0.107 3	101.63		
	0.054 3	0.052 0	0.106 0	99.49		
	0.054 5	0.052 0	0.108 7	104.22		
新乌头碱	0.099 1	0.104 9	0.200 6	96.72	94.19	1.82
	0.109 4	0.104 9	0.207 9	93.92		
	0.107 6	0.104 9	0.203 1	91.00		
	0.112 3	0.104 9	0.211 8	94.87		
	0.111 5	0.104 9	0.210 9	94.78		
	0.108 7	0.104 9	0.207 1	93.85		
次乌头碱	0.794 3	0.846 6	1.652 1	101.32	102.3	2.24
	0.811 6	0.846 6	1.649 1	98.92		
	0.773 6	0.846 6	1.650 9	103.63		
	0.756 0	0.846 6	1.647 5	105.30		
	0.767 7	0.846 6	1.651 2	104.36		
	0.812 3	0.846 6	1.661 2	100.27		
乌头碱	0.903 0	0.793 1	1.641 9	93.16	91.51	1.23
	0.863 4	0.793 1	1.591 1	91.76		
	0.889 5	0.793 1	1.604 2	90.11		
	0.915 9	0.793 1	1.630 5	90.10		
	0.872 3	0.793 1	1.598 1	91.51		
	0.906 2	0.793 1	1.639 2	92.42		

2.5 生物酶对新型附片的影响 取6等份干附片(30 g/份),分别加入溶有0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 g的不同比例的混合酶粉[果胶酶-纤维素酶(1:0、3:1、2:1、1:1、1:2、1:3、0:1)]的缓冲液于干附片中,搅拌均匀。置于50℃恒温恒湿箱中30 min,取出,晾至室温,于35℃烘干。粉碎后过3号筛,在“2.3”项条件下进样。计算效毒比值(苯甲酰新乌头原碱量/双酯型生物碱量),以全面分析附子在炮制过程中化学成分的变化<sup>[17]</sup>,效毒比可体现附子中毒性成分与有效成分的流失比例,效毒比越大,毒性成分的流

失程度越高于有效成分的流失程度。

2.6 粉用法对新型附片的影响 取6等份干附片(30 g/份),将溶有0.2 g混合酶粉[果胶酶-纤维素酶(1:2)]的缓冲液依次加入6等份干附片中,酶反应阶段与“2.5”项下操作相同。以不加粉的附片为参照,其余分别加入干姜粉、甘草粉及混合粉(1:1、1:2、2:1)至挂粉均匀且不掉粉,35℃烘干,粉碎后过3号筛,在“2.3”项条件下进样分析。

2.7 蒸制时间对新型附片的影响 取4等份干附片(30 g/份),酶处理与“2.6”项下操作相同。

加入混合粉至挂粉均匀且不掉粉。分别置于高压蒸制设备蒸制 20、30、40、50 min, 35 °C 烘干, 在“2.3”项条件下进样测定乌头碱含有量。

### 3 结果

3.1 生物酶对新型附片的影响 表 3 表明, 加入果胶酶与纤维素酶后, 随着细胞壁结构被破坏, 细

胞壁中生物碱溶出。未加入酶时, 附片的效毒比为 2.111; 加入酶后, 附片的效毒比降低, 当加入酶量为 0.8 g 时, 果胶酶-纤维素酶 (2 : 1), 饮片效毒比达到最低为 1.482。当加入酶量为 0.2 g 时, 果胶酶-纤维素酶 (1 : 2), 饮片效毒比达到最高 2.732。

表 3 附子饮片加入不同酶粉后的效毒比

Tab. 3 Ratio of active ingredients to toxic ingredients in *Aconiti Lateralis Radix Praeparata* decoction pieces after being added with different enzyme

加入酶量/g	混合酶粉(果-纤)						
	0 : 1	1 : 0	1 : 1	1 : 2	1 : 3	2 : 1	3 : 1
0	2.11 : 0.15	2.11 : 0.15	2.11 : 0.15	2.11 : 0.15	2.11 : 0.15	2.11 : 0.15	2.11 : 0.15
0.2	1.95 : 0.01*	2.22 : 0.04**	1.66 : 0.10**	2.72 : 0.14**	1.90 : 0.04	1.55 : 0.02**	1.95 : 0.05
0.4	2.01 : 0.12	1.18 : 0.10	1.76 : 0.15	2.20 : 0.05*	1.54 : 0.07	1.95 : 0.15	1.71 : 0.02*
0.6	2.14 : 0.20**	1.86 : 0.09*	2.17 : 0.04	1.65 : 0.03**	1.65 : 0.05*	1.73 : 0.07*	2.36 : 0.11
0.8	2.02 : 0.14	1.29 : 0.06**	1.56 : 0.08**	2.12 : 0.13	1.79 : 0.15	1.48 : 0.02**	1.86 : 0.12
1.0	1.96 : 0.03	2.15 : 0.11	1.87 : 0.02	1.50 : 0.06**	1.88 : 0.01	1.87 : 0.10	1.71 : 0.09*

注: 与无酶组比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。

3.2 甘草与干姜粉对新型附片的影响 表 4、图 2 显示, 无论是分别加入甘草粉及干姜粉还是加入两者的混合粉, 附子饮片效毒比均呈现显著性增强。与无粉组附片比较, 干姜与甘草处理组的总生物碱含有量均显著性提高, 双酯型乌头碱含有量降低, 苯甲酰新乌头碱含有量在甘草组中无显著变化, 而在干姜处理组显著增加。甘草与干姜配合使用时, 与无粉组比较, 苯甲酰新乌头原碱含有量及总生物碱含有量均提高 ( $P < 0.01$ ), 而双酯型乌头碱含有量降低。其中, 当甘草-干姜 (1 : 2) 的比例配合使用时, 双酯型乌头碱含有量降低至极显著水平, 此时附子饮片效毒比最高。图 3 表明, 当加入干姜粉比例增大时, 新乌头碱水解程度先增加后减小, 乌头碱水解程度增大。随甘草粉比例增大, 次乌头碱水解程度增大。

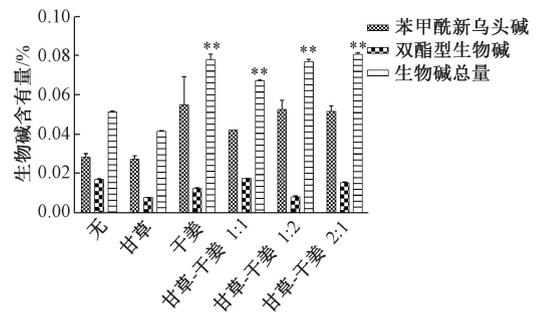
表 4 附子饮片加入辅料后的效毒比

Tab. 4 Ratio of active ingredients to toxic ingredients in *Aconiti Lateralis Radix Praeparata* decoction pieces after being added with different power

辅料	效毒比
无	2.72 : 0.14
干姜粉	3.74 : 0.34**
甘草粉	4.18 : 0.21**
甘草粉-姜粉 (1 : 1)	2.27 : 0.35**
甘草粉-姜粉 (1 : 2)	4.93 : 0.13**
甘草粉-姜粉 (2 : 1)	3.03 : 0.03*

注: 与无辅料比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。

3.3 蒸制时间对新型附片的影响 表 5、图 4 显示, 生物碱在高压蒸制过程中存在损失, 其总生物碱含有量均有所降低。随蒸制时间增加, 苯甲酰新



注: 与无粉组比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。

图 2 不同辅料对生物碱含有量的影响

Fig. 2 Effects of different excipients on alkaloid content

乌头原碱的含有量逐渐增高。当蒸制时间为 40 min 时, 双酯型乌头碱含有量达到最低 0.01%。

表 5 不同时间蒸制后附子饮片的效毒比

Tab. 5 Ratio of active ingredients to toxic ingredients in *Aconiti Lateralis Radix Praeparata* decoction pieces with different steaming time

蒸制时间/min	效毒比
20	5.51 : 0.24
30	3.20 : 0.15
40	5.72 : 0.37
50	5.21 : 0.07

### 4 讨论

乌头类中药饮片炮制是否得当, 直接关系到临床使用的安全性和有效性, 因此对该类中药材炮制工艺进行相关研究具有重要意义<sup>[20]</sup>。酶提取法以其高效、专一、反应条件温和的特点已成为植物提取中的常用提取手段, 被灵活应用于化妆品<sup>[21]</sup>、食品<sup>[22]</sup>和日用品生产中。中药提取工艺中, 相应

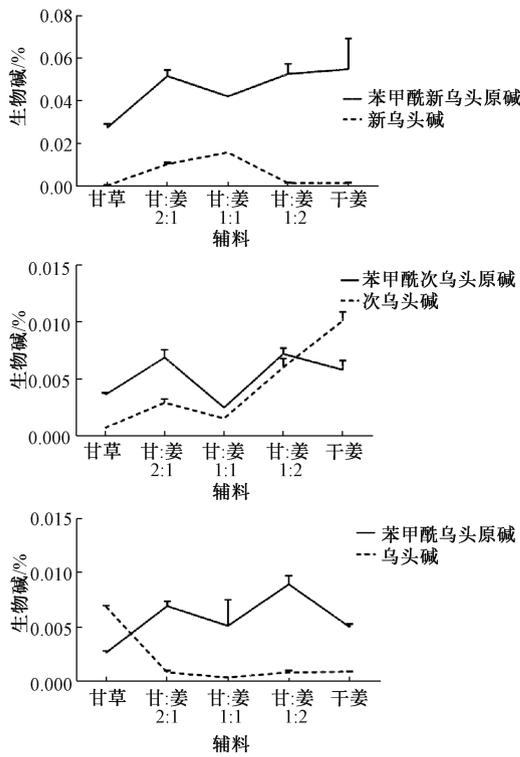


图3 不同辅料对生物碱转化的影响

Fig. 3 Effects of different power on alkaloid conversion

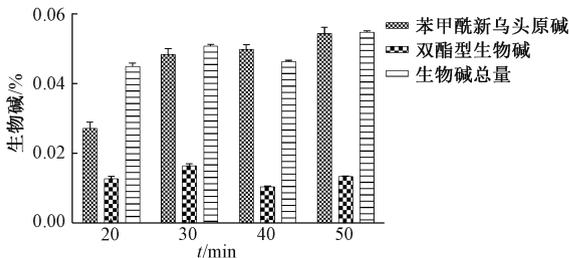


图4 不同随蒸制时间对生物碱含量的影响

Fig. 4 Effects of different steaming time on alkaloid content

的酶也被作为浸提辅助剂来促进中药中多酚<sup>[23]</sup>、多糖<sup>[24]</sup>等有效成分的溶出。由于生物碱水溶性较差，因此用酶法提取时常营造酸性环境以增加生物碱的溶出<sup>[25]</sup>。张福维等<sup>[26]</sup>通过加入 15 mg/g 纤维素酶与 10 mg/g 果胶酶，在 pH 4.5 的缓冲液环境下使得长春碱提取率达到 0.48%；梁柏林等<sup>[27]</sup>通过加入 30 mg/g 纤维素酶，在 40 ℃、pH 4.0 的条件下酶解黄连 90 min 以提取小檗碱，此方法较传统乙醇浸提法提取率提高 49%；魏金莹<sup>[28]</sup>在贝母总生物碱提取中加入纤维素酶，较不加酶提取率提高 39.2%。本研究在炮制过程中所使用的纤维素酶与果胶酶在干附片润湿时可迅速破坏植物细胞壁，促进生物碱的溶出。同时因附子毒性较强，引入效毒比概念作为评价附子质量和反映其安全性，

可较单一生物碱含有量更为全面地反映附子在炮制过程中的差异<sup>[29]</sup>。效毒比越大，附子药效越强、毒性越弱，用药安全性越高<sup>[30]</sup>。

附子与甘草配伍属于酸碱对药，甘草中甘草羧酸与生物碱中叔胺发生缩合形成沉淀物盐类进而降低附子毒性<sup>[31]</sup>。甘草酸对乌头碱有控释和促进水解的双重作用<sup>[32]</sup>。郭艳丽等<sup>[33]</sup>推测由于干姜通过对代谢酶 CYP3A4 酶的抑制，减慢附子主要药效成分乌头类生物碱的代谢，延长在体内滞留时间，进而达到增强附子药效的作用。

附子炮制过程中生物碱的水解转化规律尚不明确，但现代研究表明附子经过加水和加热处理使其毒性降低<sup>[31]</sup>。本研究结果表明，甘草可有效结合附子中的乌头碱使其含有量降低，且随干姜使用量的增加附子中苯甲酰新乌头原碱的含有量也有所增加。而次乌头碱与苯甲酰次乌头碱转化不一致，推测其进一步水解为次乌头碱原碱。由此可知干姜与甘草的加入促进了双酯型生物碱向单酯型生物碱的转化。已知湿热蒸制附子既可避免胆巴处理导致的生物碱大量流失，又可减轻附子毒性<sup>[34]</sup>。

本研究炮制的新型饮片避免了传统胆巴炮制工艺中胆巴残留引起的毒性反应，且避免了附子腐烂造成的经济损失。该新附片炮制方法简便、高效、安全且可提高附子利用价值，可作为替代附子传统加工工艺的新方法。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 191-193.  
 [2] 张金玲, 毛 绒, 杜 光. 川乌生物碱类成分及药理作用研究进展[J]. 医药导报, 2019, 38(8): 1048-1051.  
 [3] 周 林, 李 飞, 任玉珍, 等. 附子中胆巴含量随浸泡时间的变化趋势研究[J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(11): 2406-2408.  
 [4] 周 林, 李 飞, 任玉珍, 等. 附子中生物碱含量与在胆巴液中浸泡时间变化规律的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(10): 44-47.  
 [5] 谭茂兰. 黑顺片炮制过程中成分、热性、药效和毒性的变化研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2016.  
 [6] 张定堃, 韩 雪, 周永峰, 等. 附子精制饮品的研制(I): 规格大小与质量均一性研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(17): 3488-3495.  
 [7] 彭诗涛, 张先灵, 袁金凤, 等. 基于张仲景学术思想的炮附子4种炮制方法的比较研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2018, 20(5): 716-721.  
 [8] 匡青芬, 侯大斌, 孙 鸿, 等. 附子无胆炮制品的生物碱与可溶性多糖含量测定[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(4):

- 850-852.
- [ 9 ] 邵 峰, 李赛雷, 刘荣华, 等. 附子不同炮制品镇痛抗炎作用研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(10): 2329-2330.
- [10] 李 文, 杨晓琴, 章津铭, 等. 附子配伍甘草后对附子生物碱类成分大鼠在体肠吸收特性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(22): 11-16.
- [11] 黄宫绣. 本草求真: 卷三[M]. 王淑军校注. 中国中医药出版社, 1999.
- [12] 张序晴, 彭 兰, 李 赛, 等. 附子-甘草对离体蛙心的影响及其指纹图谱研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2019, 39(2): 184-189.
- [13] 贾 真, 刘艳彦. 基于均匀设计法的附子与甘草配伍减毒研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2019, 26(2): 69-73.
- [14] 李 文, 杨晓琴, 章津铭, 等. 附子配伍甘草后对附子生物碱类成分大鼠在体肠吸收特性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(22): 11-16.
- [15] 周竹晨, 裴俊弛, 武宇佳, 等. 附子与甘草不同配伍对生物碱溶出及抗炎作用的影响 [J]. 中国中医急症, 2018, 27(12): 2072-2075.
- [16] 章津铭, 傅超美, 何宇新, 等. 附子-甘草配伍前后汤液中沉积物的化学组分对比研究[J]. 中草药, 2013, 44(2): 165-169.
- [17] 杨洞洞, 张 青, 刘福存. 甘草浓煎治疗附子中毒致心律失常的回顾性临床研究[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(1): 417-419.
- [18] 童恒力, 钟凌云, 祝 婧. 姜制附子对大鼠机体热性的影响[J]. 中成药, 2019, 41(1): 197-201.
- [19] 童恒力, 钟凌云. 不同姜制附子对急性心力衰竭大鼠血流动力学的影响[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(1): 332-335.
- [20] 陈树和. 乌头类中药炮制历史沿革及发展概况[J]. 湖北中医杂志, 2017, 39(11): 58-61.
- [21] 蔡阳伦, 王 磊, 林楚宏, 等. 海鱼胶原蛋白的提取及在化妆品中应用[J]. 化工管理, 2019(3): 166-167.
- [22] 俞忠明, 汪立新, 王娜妮, 等. 响应面法优化复合酶提取黑蒜多酚的工艺研究[J]. 中药材, 2018, 41(12): 2883-2885.
- [23] 李堆淑. 复合酶提取绿茶茶多酚工艺及其抑菌性[J]. 广西林业科学, 2019, 48(2): 229-234.
- [24] 蒋德旗, 柴善怀, 张兰熙, 等. 牛大力多糖酶法提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 中药材, 2018, 41(11): 2641-2645.
- [25] 李慧婷, 伍振峰, 万 娜, 等. 浸提辅助剂在中药提取中的应用及研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(23): 212-219.
- [26] 张福维, 关崇新, 李学成, 等. 酶浸提取法对北豆根生物碱产率的影响[J]. 中成药, 2006, 28(10): 1420-1422.
- [27] 梁柏林, 周民杰. 酶法提取小檗碱工艺研究[J]. 应用化工, 2006, 35(5): 373-375; 378.
- [28] 魏金莹, 朱宏吉, 魏静娜, 等. 酶法提取贝母中总生物碱的工艺研究[J]. 中草药, 2007, 38(9): 1344-1346.
- [29] 杨千千, 郝学贤, 张辰露, 等. 不同浓度胆汁液浸泡下附子中生物碱含量变化研究[J]. 中国现代中药, 2018, 20(9): 1137-1141; 1145.
- [30] 张定堃, 王伽伯, 杨 明, 等. 中药品质整合评控实践: 附子品质综合指数[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(13): 2582-2588.
- [31] 黄勤安, 张聿梅, 何 轶, 等. 乌头碱水解转化规律的研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(20): 2143-2145.
- [32] 马鸿雁, 刘小彬, 李 楠, 等. 乌头碱和甘草酸作用的研究[J]. 时珍国医国药, 2006, 31(2): 208-209.
- [33] 郭艳丽, 张曦文, 鞠爱霞, 等. 附子配伍干姜对 CYP1A2 和 CYP3A4 酶活性影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2017, 19(3): 22-24.
- [34] 杨昌林, 黄志芳, 张意涵, 等. 蒸制和烘制对附子生物碱成分含量的影响研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(24): 4798-4803.