

麻黄附子甘草汤的不同配伍方式对其毒性成分的影响

张帆^{1,2*}, 葛亮^{1,2}, 哈木拉提·吾甫尔¹, 夏鹏飞²
(1. 新疆名医名方与特色方剂重点实验室, 乌鲁木齐 830011;
2. 新疆医科大学中医学院, 乌鲁木齐 830011)

[摘要] 目的:探讨不同配伍方式对“麻黄附子甘草汤”中毒性成分含量的影响规律,明确产生配伍减毒作用的主要配伍因素。方法:按不同组合方式对麻黄、附子和甘草进行配伍,结合酸溶碱沉和萃取方法从配伍后的复方中提取出乌头生物碱,利用紫外光谱对经过酸性染料络合的生物碱进行分析,检测其中总生物碱、酯型生物碱和非酯型生物碱的含量。结果:配伍后酯型生物碱含量从 46% 下降到 10% 以下,而非酯型生物碱含量从 54% 上升至 89% 以上。结论:麻黄和甘草对附子有显著且相当的“减毒增效”效果,而且三者同时进行煎煮的减毒效果比其他任何煎煮方式的效果都好,对揭示中药配伍机制有指导意义。
[关键词] 麻黄附子甘草汤;配伍;生物碱;毒性
[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)06-0083-03

Influences on Content of Alkaloid in Mahuang Fuzi Gancaotang by Different Compatibility Methods

ZHANG Fan^{1,2*}, GE Liang^{1,2}, Halmurat UPUR¹, XIA Peng-fei²
(1. Xinjiang Laboratory of Famous Prescription and Science of Formulas, Urumqi 830011, China;
2. Chinese Medicine College, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

[Abstract] Objective: To analyze the changing regularity of the toxicity of the Mahuang Fuzi Gancaotang through different compatibility methods, and to determine the main factor for reducing its toxicity. Method: Different compatibility methods were used to allocate *Ephedre sinica*, *Aconitum carmichaeli* and *Glycyrrhiza uralensis*. The total alkaloids in all samples were isolated by extraction methods and by different pH value solutions. And ultraviolet spectrometer was used to analyze the content of total alkaloid and ester alkaloid in all compatibility samples. Result: The content of ester alkaloid in compatibility samples was decreased from 46% to 10% , while the content of non-ester alkaloid in compatibility samples was increased from 54% to 89% . Conclusion: *E. sinica* is similar to *G. uralensis* in decreasing the toxicity of *A. carmichaeli* largely and retaining its activity. And the effect of decreasing toxicity is better than other compatibility methods when three kinds of medicines were decocted together at the same time. So, it has important significance to reveal the mechanism of compatibility.
[Key words] Mahuang Fuzi Gancaotang; compatibility; alkaloid; toxicity

“麻黄附子甘草汤”出自《伤寒论》,由麻黄、附子和甘草 3 味药材按 2:3:2 比例配伍而成。麻黄发汗解表,附子温经助阳,甘草温经散寒缓急止痛。该方可内散少阴之寒,外解太阳表邪,为表里双解之剂^[1]。其中附子一药在《神农本草经》中列为下品,有大毒,性大热,味辛甘,用以治疗阳衰欲脱,身凉肢冷和脉微欲绝;但现代药学研究表明,附子中含大量的乌头类生物碱,其中尤以酯型生物碱为毒性成分,误食附子或用药不慎可导致中毒甚至死亡,临床上中毒者并不少见^[2-3]。配伍用药是中医特色之一,实

[收稿日期] 20100921(005)
[基金项目] 国家自然科学基金项目(30801555);新疆中医药管理局青年人才专项(2009ZMY16)
[通讯作者] * 张帆,博士后,副教授,从事中药的研究与利用, Tel:13579970939, E-mail:zhangfan596 @ 163. com

验证实,将附子与甘草进行配伍,能增效减毒,扩大治疗范围及预防药物中毒^[4-6]。但是,在“麻黄附子甘草汤”中对附子毒性的主导因素和影响规律还不得而知。因此,本文按不同组合方式对麻黄、附子和甘草进行配伍,探讨与总生物碱和酯型生物碱含量变化的相关性来阐明影响该方剂毒性成分含量的规律,为临床配伍提供科学依据。

1 材料

麻黄 *Ephedre sinica* Stapf.、黑附片 *Aconitum carmichaeli* Debx. 和甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 药材购自新疆百草堂大药房,经新疆医科大学中药系张帆副教授鉴定为正品;乌头碱对照品购自天津金测分析技术有限公司;无水乙醇、甲醇、氯仿、氨水、盐酸、溴甲酚绿、高氯酸、铁粉和盐酸羟胺均为分析纯。

GBC-cintra 40 紫外-可见分光光度仪(澳大利亚生产);KQ-400DB 型数控超声器(昆山市超声仪器有限公司);RE52CS-2 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);BS2202S 分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

2 方法与结果

2.1 附子单煎液的提取 称取黑附片粗粉 27 g 置于瓶中,加入 8 倍量的 pH 2~3 酸性水,用水煎煮 30 min,过滤且收集滤液,重复提取 2 次后合并滤液;再用氨水调滤液至 pH 9~10,用等体积氯仿萃取 3 次,合并氯仿液后用旋转蒸发仪回收溶剂至干;最后用无水乙醇溶解于 50 mL 量瓶中待用。

2.2 麻黄、附子、甘草以不同方式配伍 ①麻黄 18 g 与附子 27 g 按 2:3 比例配伍,用水煎煮 30 min,得样品 1。②甘草 18 g 与附子 27 g 按 2:3 比例配伍,用水煎煮 30 min,得样品 2。③麻黄 18 g、甘草 18 g 与附子 27 g 按 2:2:3 比例配伍,用水煎煮 30 min,得样品 3。④麻黄 18 g 与甘草 18 g 混合水煎煮 30 min 以后,再加入附子 27 g 煎煮 30 min,得样品 4。⑤麻黄 18 g 与附子 27 g 混合水煎煮 30 min,得样品 5;再加入甘草 18 g 煎煮 30 min,得样品 6。⑥甘草 18 g 与附子 27 g 混合水煎煮 30 min,得样品 7;再加入麻黄 18 g 煎煮 30 min,得样品 8。

2.3 各样品中复方煎液的提取 各样品用氨水调滤液至 pH 9~10,用等体积氯仿萃取 3 次,合并氯仿液后用旋转蒸发仪回收溶剂至干;用无水乙醇将上述提取物定容于 50 mL 量瓶中,减压蒸干乙醇后再

用氯仿重新定容至 50 mL,得配伍溶液 1~8。分别将以上溶液等分为 2 份,其中 1 份用氯仿定容至 50 mL,用于测定总生物碱含量;另 1 份减压蒸干氯仿,用无水乙醇定容至 50 mL,用于测定酯型生物碱含量。

2.4 各配伍液中总生物碱含量的测定

2.4.1 对照品溶液的制备 精密称定乌头碱对照品 10 mg,置 100 mL 量瓶中,用氯仿使其溶解并稀释至刻度,待用。

2.4.2 标准曲线的绘制 精密吸取乌头碱对照品液 0.50,1.00,1.25,1.50,2.00,2.50 mL,分别置于量瓶中,各加入氯仿至 20 mL,再加入 1 mL pH 6.1 ± 0.1 溴甲酚绿染料,充分振摇后静置 1 h,氯仿层过滤至 25 mL 量瓶中用氯仿稀释至刻度。并用相同方法配制空白溶液 1 份。紫外光谱全波长扫描确定络合物最大吸收波长为 416 nm,在此波长处测定样品液和空白液的吸光度。以质量浓度为横坐标、吸光度为纵坐标,拟合标准曲线 $Y = 24.696X - 0.0263, r = 0.9995$ 。

2.4.3 配伍液中总生物碱含量测定 分别取各配伍液适量,按标准曲线绘制方法通过紫外光谱测得吸光度值,根据标准曲线计算总生物碱含量(表 1~2)。

2.5 各配伍液中酯型生物碱含量的测定

2.5.1 对照品溶液的制备 精密称取乌头碱对照品 20 mg,置 10 mL 量瓶中,用无水乙醇溶解并稀释至刻度,待用。

2.5.2 标准曲线的绘制 精密吸取对照品溶液 0.2,0.5,1.0,1.5,2.5 mL,分别置 25 mL 量瓶中,各加无水乙醇至 2.5 mL,再加入碱性盐酸羟胺试液 1.5 mL 摇匀,在 60~65 °C 水浴中保温 10 min 后放冷,加高氯酸铁试液 13 mL,摇匀后放置 5 min,再加入高氯酸试液 8 mL,用高氯酸铁试液稀释至刻度,摇匀后放置 15 min。并用相同的方法配制空白溶液 1 份,紫外光谱全波长扫描确定络合物最大吸收波长为 520 nm,在此波长处测定吸收度。以浓度为横坐标、吸光度为纵坐标,拟合标准曲线为 $Y = 3.5384X + 0.07874, r = 0.9996$ 。

2.5.3 配伍液中酯型生物碱含量的测定 取样品液适量,按标准曲线绘制方法通过紫外光谱测得吸光度值,根据标准曲线计算酯型生物碱含量(见表 1,2)。

表 1 各配伍溶液中总生物碱和酯型生物碱质量浓度 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

样品液	总生物碱	酯型生物碱	非酯型生物碱
附子提取液	0.435	0.200	0.235
配伍液 1	0.510	0.024	0.486
配伍液 2	0.509	0.023	0.486
配伍液 3	0.472	0.021	0.451
配伍液 4	0.459	0.049	0.410
配伍液 5	0.515	0.023	0.492
配伍液 6	0.678	0.053	0.625
配伍液 7	0.510	0.023	0.487
配伍液 8	0.512	0.027	0.485

表 2 各配伍溶液中酯型生物碱和非酯型生物碱
占总生物碱的比例

样品液	酯型生物碱	非酯型生物碱	%
附子提取液	46.0	54.0	
配伍液 1	4.7	95.3	
配伍液 2	4.5	95.5	
配伍液 3	4.4	95.6	
配伍液 4	10.7	89.3	
配伍液 5	4.5	95.5	
配伍液 6	7.8	92.2	
配伍液 7	4.5	95.5	
配伍液 8	5.3	94.7	

3 讨论

乌头属药材中酯型生物碱代表了毒性作用成分,而非酯型生物碱代表了有效成分。实验表明,与附子单煎液相比,麻黄、甘草分别与附子配伍后使酯型生物碱含量大幅降低,可见两者对附子均有明显的减毒作用;相反使总生物碱和非酯型生物碱含量上升,说明麻黄和甘草同时也增加了生物碱的溶出度,使附子的有效活性增加,而且两者的“减毒增效”效果相当。

对麻黄、附子和甘草 3 味药材按《伤寒论》中 2:3:2 比例配伍,如果先将任意两者先煎煮后再加入第 3 味药,都将导致毒性成分含量增加,可见配伍的先后顺序对复方毒性有直接影响。在所有配伍组合中,麻黄、甘草和附子同时进行煎煮的减毒效果比其他任何煎煮方式的效果都好,而且保存了附子的活性,说明传统的配伍方式是科学和合理的。因此,本研究结果不仅对中药配伍机制的研究有重要的意义,对揭示复方配伍规律同样具有参考价值。

前期研究证实^[5],附子与甘草配伍减毒主要是因为甘草中的成分容易与附子中酯型生物碱及其热解产物发生脂交换反应,生成毒性更小的脂类生物碱,同时有少量的酯型生物碱与甘草中的化学成分形成了难溶性的沉淀,降低了附子中酯型生物碱的含量,从而达到减毒的目的。但是,附子与麻黄配伍减毒的机制,以及三者配伍顺序对毒性的影响还待深入研究。

[参考文献]

[1] 刘爱真. 麻黄附子甘草汤临床运用体会[J]. 河南中医, 2000, 20(6):10.

[2] 王瑞,展晓日,乔延江. 附子总碱提取物的急性毒性实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(8):102.

[3] 陈学习,彭成. 附子毒性控制的多因素探析[J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(4):680.

[4] 杨明,刘小彬,黄庆德. 附子甘草配伍减毒增效机理探析[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(4):197.

[5] 越皓,皮子凤,赵宇峰,等. 电喷雾串联质谱分析附子炮制中的化学成分变化[J]. 分析化学, 2007, 35(7):959.

[6] 陈长勋,徐姗璐. 甘草干姜与附子配伍减毒的物质基础与作用环节研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17(6):472.

[责任编辑 邹晓翠]