

附子品质评价及影响因素研究进展*

蒲婷婷¹, 王宇飞¹, 周忠瑜¹, 严靖婷², 杨 燕^{2**}, 段宝忠^{1**}

(1. 大理大学药学院 大理 671000; 2. 云南省科学技术院 昆明 650051)

摘 要: 附子为常用的大宗传统药材,其质量关系到用药安全性和有效性。本文对古代及现代附子的品质评价和影响因素进行了系统综述。研究发现,加工过程炮制不规范,以及相关标准缺乏,存在过度炮制,是导致附子饮片质量差异较大的原因;同时附子的质量控制标准不完善,如在附子重金属、农残、二氧化硫等有害物质,以及去甲乌药碱、去甲猪毛菜碱等强心成分的质量控制方面均较为薄弱,应进一步加强相关研究,建立附子炮制质量规范;此外,种质、产地、栽培方式、采收、加工、贮藏及商品规格等均是影响附子品质的重要因素,这些因素与成分及功效的相关性尚需进一步深入,上述问题的阐明,是附子品质提升和科学评价体系建立的基础。

关键词: 附子 品质影响因素 有效性 安全性

doi: 10.11842/wst.20211206011 中图分类号: R283.1 文献标识码: A

附子为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaelii* Debx. 的子根加工品,具有回阳救逆、补火助阳、散寒止痛等功效,用于亡阳虚脱,肢冷脉微,心阳不足,胸痹心痛,虚寒吐泻,脘腹冷痛,肾阳虚衰,阳痿宫冷,阴寒水肿,阳虚外感,寒湿痹痛^[1],是参附注射液、附子理中丸等300余种中成药的重要原料,其年需求量高达3000吨^[2]。然而由于产地、栽培方式、采收时间和加工炮制等因素造成附子质量参差不齐^[3],严重影响了临床疗效和用药安全。近年来,有关附子的研究不断深入,已有学者对附子的化学成分、药理作用、质量控制等进行了研究^[4-5],亦有学者从附子的化学评价、生物评价、质量标准、炮制规范和检测方法等角度,对附子的品质评价进行了综述^[6-7],但尚未见从附子品质的有效性和安全性评价,以及附子品质影响因素的系统综述,限制了对附子品质提升和评价体系建立的认识。鉴于此,本文首次对古代和现代附子品质评价及影响因素进行系统总结,以期对附子品质提升和评价体系

的建立提供科学参考。

1 古代附子品质评价

古代附子品质评价始载于南北朝时期《雷公炮炙论》,其认为底平、有九角、如铁色、一个个重一两,即是气全,堪用;此后宋代从角、节、花色角度评价附子品质,认为蹲坐正节角少,花色白为上;而明代则从肉色、皮色、角和形出发,认为色肉微黄,黑色顶全圆正者佳;清代从附子节、角、花色、皮色、产地和加工等角度,对附子品质评价方法进行了丰富,形成了以形态顶圆正底,角少,肉微黄,皮黑,花白为最佳的认识,详见表1。

2 现代附子品质评价

2.1 附子的有效性评价

2.1.1 化学成分评价

紫外分光光度法(Ultraviolet and visible

收稿日期:2021-12-06

修回日期:2022-06-08

* 云南省科技人才与平台计划院士专家工作站项目(202205AF150026):滇产高品质中药材种质创新与规范化生产示范研究,负责人:段宝忠;云南省科学技术厅重大科技专项子课题(202002AA100007):生物数字资源化开发应用,负责人:段宝忠;云南省人才工作领导小组高层次人才培养项目(YNWR-QNBJ-2020-251):万人“青年拔尖人才”计划,负责人:段宝忠。

** 通讯作者:杨燕,副研究员,主要研究方向:生物医药产业及大数据;段宝忠,教授,主要研究方向:中药资源与种质创新。

表1 附子历代品质评价

年代	品质评价	出处
南北	底平、有九角、如铁色、一个个重一两,即是气全,堪用	雷公炮灸论
南北	八月上旬采也,八角者良。其用灰杀之时,有冰强者并不佳	本草经集注
吴越	附子大短有角平稳而实	日华子本草
宋	以八角者为上。岂令人种蒔之法,用力倍至,故尔繁盛也	本草图经
宋	附子之形。以蹲坐正节角少为上,有节多鼠乳者次之,形不正而伤缺风皱者为下;附子之色。以花白为上,铁色次之,青绿为下	彰明附子记
明	以八月上旬采,八角者良。肆售者以盐水浸之,取其润湿体重卖者,当以体色、干湿度、质地干坚实,顶圆正底平者为良	本草原始
明	体重而大实,色肉微黄皮黑,气雄壮,取黑色顶全圆正者佳。一枚重一两外,力大可用	药品化义
清	附子之形以蹲坐正节,而侧子少者为上,有节多乳者次之。形不正而伤缺风皱者为下。其色以花白者为上,黑色者次之,青色者为下	本草崇原
清	皮黑体圆、底平八角、重一两以上者良	本草备要
清	必正节、角少、顶细、脐正者为上,顶粗、有节、多鼠乳者次之,伤缺偏绉者为下	本经逢原
清	陕西出者为西附,四川出者为川附,川产为胜。以皮黑体圆、底平八角,顶大者良	本草从新
清	皮黑体圆,底平八角,重三两者良	本草求真
清	则附子之形,以蹲坐正节角少者为上,有节多鼠乳者次之,形不正而伤缺风皱者为下。之色,花白者为上,铁色者次之,青绿者为下	本草述钩元
清	体松而外皮多细块,以皮黑体圆底平,八角顶大者良	本草害利

spectrophotometry, UV)主要用于附子中总生物碱含量的测定,如贝自英等^[8]建立了酸性染料萃取光度法,用于附子中乌头碱和次乌头碱含量的测定, $5\text{--}25\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,多位学者亦采用该法对附子及其炮制品中的总生物碱含量^[9-10]和镁含量及溶出率^[11]进行了测定,但由于该法灵敏度和准确性存在较大问题^[5],2015年版中国药典取消了该法用于总生物碱的检测。

红外光谱法(Infrared absorption spectrometry, IRS)被广泛用于附子质量评价研究。如采用近红外光谱(Near-Infrared spectroscopy, NIRS),结合偏最小二乘和最小二乘支持向量机法,对38批附子进行了研究,发现LS-SVM模型的相对预测偏差4.0–8.8,验证集相关系数均在0.95以上,表明NIRS可用于附子中的单酯型和双酯型生物碱总量检测^[12];亦用于附子及炮制品中双酯型生物碱含量的快速测定^[13]。此外,研究发现附子、黑顺片、白附片的近红外光谱特征存在差异^[14],与吴志生等^[15]研究结果一致。NIRS方法操作简单,无需样品预处理,实现了快速、绿色分析的目的,逐渐得到推广应用。

薄层色谱法(Thin layer chromatography, TLC)在中国药典2020年版、韩国药典-06均用于附子质量的评价,见表2;上述标准根据薄层色谱上附子提取液斑点的密度、颜色及位置来评价样品质量。曹玲丽等^[16]建立了生附子中乌头碱的薄层色谱指纹图谱法,发现TLC法的7个特征斑点颜色深浅与HPLC含量测定结

果基本相符,可用于生附子质量初步评价。此外,多位学者采用薄层色谱法,对附子中乌头碱分进行分离,发现该法分离效果良好,斑点清晰^[17-18]。TLC法简单易行,准确性和稳定性较理想,但灵敏度低,且无法测定成分的具体含量。

高效液相色谱法(High performance liquid chromatography, HPLC)是附子中生物碱成分检测最主要的方法,如2020年版中国药典、中国台湾中药材标准-03和中国香港中药材标准-07,均采用HPLC方法测定,并规定毒性成分含量上限和有效成分下限,详见表2。研究发现“一测多评法”可用于附子药材及同属植物的质量控制^[19-20],例如,Huang等^[21]采用HPLC-ELSD法同时测定了5种醇胺型二萜生物碱。此外,指纹图谱技术也被用于附子的质量评价,多位学者建立了附子的HPLC指纹图谱,用于附子药材及其炮制品的质量控制^[22-24];研究显示不同采摘批次的生附子相似度0.9以上,各主要成分组成变化不大,但成分含量存在一定差异^[25]。HPLC具有高速、高灵敏度、高分辨度等优点,因其能同时测定多种成分、结果准确而极受欢迎。

液相色谱-质谱联用(Liquid chromatography-mass spectrometry, LC/MS)被广泛用于附子中生物碱含量的测定。研究显示液相色谱-串联质谱(Liquid chromatography tandem-mass spectrometry, LC-MS/MS)可用于乌头属中药的质量评价^[26-27],共检测出145个化

表2 各主要国家或地区对附子的质量规定

标准来源	指标	质量标准	污染物监测对象	污染物限量标准 (mg·kg ⁻¹)
中国药典	苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱	≥0.010%	—	—
	乌头碱、次乌头碱、新乌头碱	≤0.020%	—	—
中国香港中药材标准	乌头碱+次乌头碱+新乌头碱	0.052%–0.18%	As	≤2.0
			Cr	≤3.0
			Pb	≤5.0
			Hg	≤0.2
			狄氏剂	≤0.05
			六六六	≤0.3
			滴滴涕	≤1
			六氯苯	≤0.1
			黄曲霉毒素	≤0.05
中国台湾中药材标准	苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱	≥0.010%	总重金属	≤10
	乌头碱、次乌头碱、新乌头碱	≤0.020%	As	≤5
日本药典	乌头碱	≤0.006%	Pb	≤10
	结乌头碱	≤0.006%	As	≤5
	次乌头碱	≤0.028%	—	—
	新乌头碱	≤0.014%	—	—
韩国药典	—	斑点密度不能多于标准溶液	Cr	≤0.3
	—	—	As	≤3
	—	—	Hg	≤0.2
	—	—	狄氏剂	≤0.01
	—	—	总六六六	≤0.2
	—	—	艾氏剂	≤0.01
	—	—	异狄氏剂	≤0.01
	—	—	总DDT	≤0.1
	—	—	SO ₂	≤30

合物以及 77 个质量标志物^[28]；LC/MS 可用于测定没有紫外吸收的胺醇型二萜生物碱含量^[29]；Zhang 等^[30]采用 UPLC-MS 技术从附子中鉴定出 99 个双酯型生物碱。此外,采用 HPLC 与电喷雾质谱联用技术检测附子研究显示,双酯型生物碱为附子主要成分,而单酯型生物碱的含量和种类较少^[31]。相比于 HPLC,LC/MS 技术测定的成分种类、数量更加丰富,还能进一步确定生物碱结构。

高效毛细管电泳法(High performance capillary electrophoresis, HPCE)亦被用于附子质量评价。韩乐等^[32]建立了检测附子中新乌头碱、次乌头碱等 6 种生物碱含量的 HPCE 法, $r^2>0.9997$, 加样回收率 95.25%–103.91%, 用于附子类药材内在质量的评价和控制；付昆等^[33]建立了分析附子多糖中单糖组分的高效毛细管电泳法, 结果显示该法灵敏度高, 分离效果好。此

外,Zhao 等^[34]发现较之传统方法, HPCE 法的分离度好且显著提高分析效率, 总分离时间只需 13 min, 但由于通常 HPCE 所采用的内径为 75 μm 的毛细管色谱柱光程较短, 其灵敏度受到影响。为增加化学成分信号响应强度, 采用场放大进样-高效毛细管电泳(Field amplified sample stacking-high performance capillary electrophoresis, FASS-HPCE)法^[35], 对 10 批附子饮片的指纹图谱进行了研究, 结果显示采用 FASS 富集后, 其检测灵敏度明显提高并在 18 min 内完成测定工作, 可用于附子的质量评价。与 HPLC 法相比, HPCE 法分析时间短、杂质干扰少、使用有机溶剂少、操作方便, 是一种很有应用前景的分析方法。

此外, 采用酶联免疫吸附剂测定法(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA 法), 对川乌和附子中双酯型生物碱的含量进行了测定, 发现与现行药典收载的

HPLC法相比,两者检测结果基本一致,但ELISA法测定灵敏度提高了约200倍,该法适用于川乌、附子药材及其饮片微量甚至痕量双酯型生物碱的检测^[36]。

2.1.2 生物效应评价

附子常见的生物效应包括强心、抗炎、镇痛和抗氧化等。采用大鼠室性早搏最小量测定法,对8种附子炮制品的生物毒性评价显示,生附片醇提液最小中毒剂量远低于其余附片,其次为黑顺片、白附片、刨附片、炮附子及蒸附片;炒附片与炮天雄未检测出毒性,安全性好^[37],且8种附片均具有明确的强心效果;黑顺片、白附片等5种附片具有中等强度强心活性,而炮附子与炮天雄强心活性最弱;强心活性验证结果显示去甲乌药碱与去甲猪毛菜碱是强心活性物质^[38]。

李立纪等^[39]发现新法加工附子总生物碱高于附片13倍,但两者抗炎、镇痛的效果无明显差异。附子水煎液可以增强老年大鼠血清中的总抗氧化能力(TAA)以及红细胞超氧化物歧化酶(SOD)的活性,降低脑组织脂褐素(LPF)和肝组织丙二醛(MDA)的含量,改善肝细胞膜脂流动性(LFU)^[40];同样Xu等^[41]也发现附子水煎液可降低心衰标志ANP、NT-proBNP等表达,改善慢性心力衰竭情况。上述研究为附子临床早期心脏毒性评价、抗炎镇痛、强心、抗氧化活性与质量控制提供了整体、综合的方法,可作为化学评价方法的有益补充。

2.2 附子的安全性评价

2.2.1 内源性有害物质

附子的内源性有害物质主要为其所含的毒性成分。现代研究表明,附子中含有大量乌头碱成分,其中新乌头碱、乌头碱和次乌头碱等双酯型生物碱既有效又是强毒性成分,苯甲酰新乌头碱、苯甲酰次乌头碱、苯甲酰乌头原碱等单酯型生物碱为低毒性有效成分,但在大剂量、高浓度条件下也有导致中毒的可能^[42]。中国药典和中国台湾中药材标准规定较为全面,使用上述6种生物碱对附子质量进行评价,但中国药典并未规定其重金属、农残、霉菌素等限量标准,详见表2。日本药典使用4个指标对附子进行质控,规定乌头碱、次乌头碱、新乌头碱、结乌头碱含量分别低于0.006%、0.028%、0.014%和0.006%;中国香港中药材标准仅规定3种有效成分之和的范围,尚未对单独成分进行规定。此外,韩国药典采用TLC,利用斑点密度

对附子进行质控,其要求明显低于中国药典。

2.2.2 外源性有害物质

外源性有害物质主要包括重金属及有害元素、真菌毒素、残留农兽药、亚硫酸盐以及有机污染物等^[43]。作为国际广泛使用的药材,附子被多个国家药典或地方标准收录。日本药典-17、韩国药典-06、中国香港中药材标准-07、中国台湾中药材标准-03均规定了附子中重金属和农药残留限量,详见表2。中国药典未对附子中重金属等相关指标作限制,依据《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》,多位学者对市售附子中的重金属及有害元素进行了研究,结果显示中国产区的附子绝大部分符合标准^[44-47]。研究发现种植环境,如土壤、大气、水源、加工等均会影响附子中重金属及有害元素的组成,土壤中的Cd、Cu、Zn等元素容易被附子吸收,而土壤中的Cr、Pb、Ni、As、Hg相对不易吸收^[48];同时水质也是影响附子重金属质量浓度的重要因素之一^[45]。此外,研究发现市售附子的胆巴残留量中钙残留较低,但Na、Mg、K残留过大,质量分数分别为88.60、1252.39、7864.12 mg·kg⁻¹,建议制定附子相关元素质量分数的限量标准^[47];附子炮制前后元素变化的结果显示,炮制后Cu、Cr和Ni营养元素的浓度分别增加至1.03、18.90、5.02 μg·g⁻¹,Pb和Cd含量分别降低44和1.4倍^[49]。目前国内外针对附子农药残留的研究报道较少,仅见对四川省抽检的100批附子进行了研究^[50],结果显示32批附子SO₂残留超标不合格,残留量为210-2079 mg·kg⁻¹;有12批次样品检测出噻禾灵,平均检出量为0.03 mg·kg⁻¹;1批次样品镉超标,含量为2.99 mg·kg⁻¹,表明附子种植中有违规使用农药。综上,外源性物质是影响附子安全性的重要因素,但目前中国药典尚未规定有关指标的检测限量,应进一步加强附子饮片质量标准研究,并完善优质种植基地和中药材溯源体系建设。

3 影响附子品质的因素

3.1 种质因素

种质是影响附子品质的重要因素之一。研究发现,不同品种附子总生物碱和双酯型生物碱含量差异较大,多糖含量差异不显著^[51]。夏燕莉等^[52]、朱彦西等^[53]对附子种质资源的生物学性状和产量进行了比较,筛选出“中附1号”、“中附2号”、“中附3号”、“中附4号”4个优良种质品系,结果表明4个新品种具有良好的丰产

性能,可作为优良株系在生产中应用^[52-53];此外,缪璐琳等^[54]比较了不同种质附子的水煎液抗炎、镇痛作用,发现四川布拖产大花叶、小花叶型附子和四川江油产小花叶附子的抗炎作用较好;布拖产小花叶附子的镇痛作用最强;高继海等^[55]研究显示小花叶与瓜叶子型附子间,其根表土壤的优势真菌种类、群落多样性均存在差异。综上,不同种质的附子在产量、成分及药效等方面存在差异,因此,筛选培育附子优质种质资源,对保障附子品质和产业可持续发展具有重要意义。

3.2 产地因素

附子在四川、陕西、云南等地均有栽培,土壤及气候的不同是影响附子品质的重要因素。研究表明,不同栽培区附子的浸出物、总生物碱、双酯型生物碱、多糖及蛋白质存在明显差异^[56-57];四川江油栽培附子的双酯型二萜生物碱远高于云南和湖北^[58];对20份不同产地的附子生物碱含量的研究显示^[59],新乌头碱与附子灵在布拖和巍山产区中含量较高,而次乌头碱、尼奥灵、卡米查林、宋果灵等在江油和汉中产区较高;研究还发现不同产区附子中附子灵、尼奥灵和宋果灵3种水溶性生物碱的含量差异较大,其中江油附子中尼奥灵含量明显高于其他产区^[60],与蒋荡等^[61]的研究结果一致;此外,对四川江油、布拖和云南的黑顺片进行研究,发现指纹图谱相似度大于0.9,化学计量学结果显示,35批样品可聚为3类,四川江油产黑顺片与四川布拖、云南产存在一定差异性^[62];四川江油产区不同商品之间的相似度均大于0.9,其它产区与四川江油产区比较,相似度小于0.9^[63-64],该研究结果与王晓雅等^[62]

结果有一定差异;梅超南等^[65]研究发现,四川产江油附子对维拉帕米注射液诱发的大鼠缓慢型心律失常作用,较四川凉山附子、云南禄劝、陕西汉中中等产区强。查阅文献整理了云南、陕西、贵州、四川的18个县市(以县为单位,同一县如有多个样品取平均值)102批生附子,对其药典指标成分单酯型生物碱(苯甲酰新乌头碱、苯甲酰乌头碱、苯甲酰次乌头碱)和双酯型生物碱(新乌头碱、乌头碱和次乌头碱)的平均含量进行分析,结果见图1。可见各产地附子所含双酯型生物碱(图1a)及单酯型生物碱(图1b)的含量不尽相同,表明产地是影响附子品质的重要因素。

3.3 栽培因素

气候、土壤因子及栽培管理方式与附子质量密切相关,且肥沃的土壤有利于产量和质量的提高^[66]。研究显示土壤养分对附子生物碱含量有较大影响,其中全氮和速效磷对附子中双酯型生物碱含量影响作用较大^[67];在同一气候条件下,不同地块附子生物碱类成分含量存在差异^[68];适时打顶可以提高附子产量和品质,同时可促进总生物碱、双酯型生物碱及单酯型生物碱的积累^[69]。此外,在生产过程中喷施烯效唑,对附子总生物碱含量无显著影响,但可增加茎粗、叶片数、须根数、干物质量^[70];6-苄氨基嘌呤和对总生物碱的含量有抑制作用^[71];萘乙酸可提高附子中新乌头碱和乌头碱的含量,降低次乌头碱的含量;赤霉素和细胞分裂素类对附子生物碱成分影响不大。锌、硼、铁、锰微量元素肥料,对附子生物碱成分含量可产生显著影响^[72]。综上,不同产区气候、土壤及栽培措施,可导致附子化学成分和产量等的不同,实际生产中,需综合

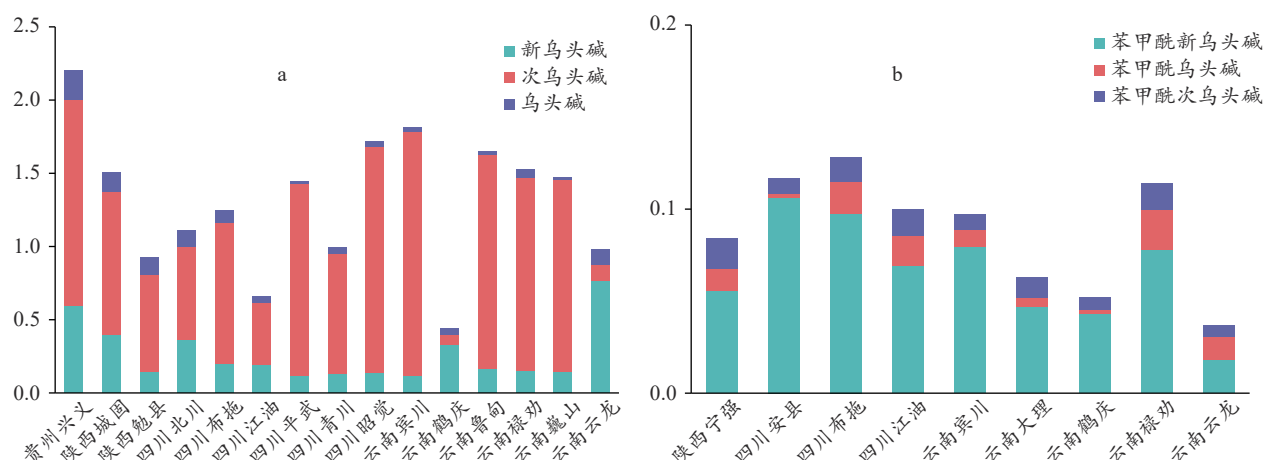


图1 各产地样本中主要化学成分含量的总结

注:a:各产地样本双酯型生物碱含量的柱状图;b:各产地样本单酯型生物碱的含量柱状图。

考虑相关因素。

3.4 加工方式

产地加工是影响附子品质的重要因素之一,不同的加工方法会导致附子的品质差异。生物碱是附子发挥药效的主要成分,但其中的双酯型生物碱具有剧毒,为临床应用所忌惮,因此附子入药前须经加工炮制以降低其毒性。此外,由于新鲜附子易腐烂变质,采收后需趁鲜加工。目前有关附子加工对品质的影响,主要集中在泡胆和不同蒸制方式领域。

3.4.1 泡胆

泡胆加工使用历史悠久,其对附子化学成分含量、饮片形态和物理性质等均会产生影响。研究发现胆与无胆两种炮制方法,均降低双酯型生物碱含量,但增加单酯型生物碱含量^[73];泡胆能使双酯型生物碱含量降低^[74],经胆巴浸泡20天后生物碱含量损失70%左右^[75];匡青芬等^[76]研究发现无胆炮制的4种附子饮片,生物碱指标符合药典规定,毒性双酯型生物碱含量明显低于有胆附片。此外,亦有研究发现泥附子洗净后在胆巴溶液中浸泡,新乌头碱、次乌头碱、乌头碱和苯甲酰新乌头原碱的含量逐渐降低,20天以后含量趋于稳定^[75],并发现浸泡25天后,胆巴含量达到饱和^[77];附子在10%浓度的胆巴液中浸泡,质量不稳定,在20%及以上浓度质量相对稳定。在胆巴液浸泡过程中,附子的效/毒比也在发生变化,18-24天期间,呈现出活性成分较高,而毒性成分较少的状态,有利于实际生产^[78]。此外,胆巴可对附子起到固形作用,30%浓度是固形的最优浓度^[79],300 g·L⁻¹氯化钠浸泡后得到的附子饮片较佳,还可避免胆巴中的重金属在附子中残留^[80]。还有报道指出,黑顺片与其他无胆及含胆少的附片相比,其对不同脏器毒性也有所不同^[81],且在黑顺片的炮制过程中,不同炮制阶段胆巴的残留量也会影响黑顺片的毒性^[82]。

3.4.2 蒸制或煎煮

附子毒性大小与加工密切相关,尤其是蒸制或煎煮时间不足或方法不当,是附子中毒的公认原因之一。多位学者对附子加工过程成分动态变化进行了研究,发现附子经煎煮炮制后,双酯型生物碱水解转化为单酯型生物碱及原碱,如焦新乌头碱、焦乌头碱、焦次乌头碱和苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱等,毒性大大降低^[83-85]。同时,附子煎煮2-10 min后,乌头碱、中乌头碱、次乌头碱等双酯

型二萜类生物碱含量较高,而苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰中乌头原碱等毒性较小的单酯型生物碱在煎煮60 min内逐渐增加,随后趋于稳定^[86];附子煎煮2 h后,双酯型生物碱无法检出,单酯型生物碱逐渐升高,在6-8 h达到峰值,后逐渐降低^[87]。综上,适宜的泡胆、煎煮及蒸制可降低附子毒性,一定程度增加有效成分含量,具有减毒增效作用,但胆巴残留量及蒸制时间等显著影响附子药材质量,目前有关炮制标准并未对这些参数进行规定,有待进一步规范。

3.5 采收时间

对不同采收期附子新乌头碱、次乌头碱和乌头碱的含量研究显示,随着时间(7-9月)的推移,新乌头碱的含量呈下降趋势,次乌头碱、乌头碱的含量呈上升趋势^[88]。拓亚琴等^[89]对陕西汉中地区不同采收期附子产量、总生物碱和乌头碱含量进行研究,认为8月15日前后为附子的最佳采收时期,此阶段附子的产量最高,含量也符合要求;对四川布拖不同生长期的附子产量和总生物碱含量研究显示,从药材内在质量和产量两方面综合考虑,8月20日-9月10日为附子的最佳采收期^[90]。此外,附子中多糖的含量因采收期不同差异较大,在生长后期含量较高^[91]。

3.6 贮藏

对附子自然堆放、麻袋覆盖、沙藏、冷藏4种贮藏方式下的含水量、生物碱、粗多糖含量变化研究显示,随着贮藏期的延长,其含水量、生物碱成分逐渐降低。冷藏条件下,附子生物碱含量由贮藏初期的1.67%逐渐下降到1.27%,品质优于其它储藏方式^[92];上述4种贮藏条件下,附子的呼吸速率、可溶性蛋白、淀粉含量及淀粉酶活性的研究显示,冷藏处理使附子外形始终完好,含水量维持在64%,保水效果最好,呼吸速率最低,淀粉酶活性最低,可溶性蛋白含量从1.56%上升到2.9%,优于其他方式。生产上有条件的地方应采用低温处理的方法保藏新鲜附子,也可采用沙藏和麻袋覆盖进行短期保存,但水分需保持在50%以上^[93]。

3.7 不同商品规格

附子常见的商品规格有泥附子、盐附子、黑顺片、白附片等^[1],研究显示不同商品规格其化学成分差异明显,如盐附子中乌头碱的含量明显高于白附片和黑顺片^[94];蒸附片中单酯型生物碱、原碱和总生物碱的含量明显高于烘附片,但双酯型生物碱含量低于烘附片^[95]。此外,研究表明不同商品规格其药理功效亦有差异,如

生附子可引起心电图异常变化和不同程度的心肌损伤,而黑顺片、白附片导致的心电异常较生附子弱^[96];强心活性分析结果显示生附片强心作用较强,明显优于黑顺片、白附片等传统饮片规格^[38];亦有研究发现黑顺片、刨附片、蒸附片、炒附片均具有镇痛、抗炎、提高免疫作用,但各商品规格的作用效果存在差异^[97];黑顺片抗炎作用优于白附片,抗免疫力作用优于淡附片;白附片的强心、耐缺氧作用较强;炮附片的镇痛效果优于黑顺片^[98];随着附子质量的增大,双酯型生物碱的含有量呈降低趋势,强心成分呈升高趋势,单酯类生物碱变化不明显;各商品规格镇痛效果无显著性差异^[99]。

4 结论与展望

附子作为传统大宗中药,其品质对临床用药的有效性和安全性意义重大,目前中国药典对其毒性成分上限和活性成分下限进行了规定,但未规定双酯型生物碱的最低含量,这导致附子饮片中的双酯型生物碱含量普遍很低,且不同厂家相差很大。已有多项研究表明,在附子加工过程中,双酯型乌头碱分解为乌头原碱,强心功效显著降低^[100],且存在炮制过度的现象,难于保证临床用药的有效性^[101]。另外已有药效研究表明,去甲乌药碱与去甲猪毛菜碱是附子的主要强心成分^[38],但目前尚缺乏这些成分与附子品质的相关研究,因此对附子品质评价指标及其限量应开展更深入

系统的研究。多个国际标准均已规定了农残、重金属、SO₂等外源性有害物质的限量,但目前中国药典尚未对附子的外源性有害物质进行规定,应加强这方面的研究,为附子进入国际贸易市场提供依据。同时,附子的药效和毒性等相关研究比较有限,现有资料还不能完全揭示其“回阳救逆”的功能本质,且当前附子加工缺乏统一炮制规范,导致其饮片质量参差不齐,胆巴残留、生物碱含量差异较大^[102],应加强相关基础研究,明确附子毒性和药效相关成分。在继承传统的基础上,对附子炮制工艺参数进行优化和确定,最大程度上保留有效成分、降低毒性,保证饮片质量的稳定、可控。此外,种质、产地、加工、栽培及采收等因素对附子品质的形成具有重要影响。鉴于上述分析,今后应进一步加强附子质量标准的研究,健全质量控制体系建设,如将强心活性成分去甲乌药碱和去甲猪毛菜碱等,作为附子质量控制指标之一,并对胆巴、农药和重金属残留限量等进行明确,以保障临床用药安全;其次,确定附子炮制过程中泡胆、蒸煮、晾晒等工艺的具体时间,保证饮片质量的均一性;加强附子优质种质的筛选培育,探究品质与其影响因素的作用机制,保障附子产业的可持续发展,制定科学规范的种植和加工技术体系,确保附子优质原料和药材饮片的供应,以满足市场对高品质附子的需求。

参考文献

- 1 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 北京, 中国医药科技出版社, 2020:200.
- 2 商务部市场秩序司. 中药材流通市场分析报告(2016)[Z]. (2017-07-20). <http://sczxs.mofcom.gov.cn/article/cbw/cl/201707/20170702612714.shtml>.
- 3 刘杰. 基于组学技术的附子品质评价研究. 大理: 大理大学硕士学位论文, 2021:47-56.
- 4 Zhou G, Tang L, Zhou X, et al. A review on phytochemistry and pharmacological activities of the processed lateral root of *Aconitum carmichaelii* Debeaux. *J Ethnopharmacol*, 2015, 160:173-193.
- 5 Csupor D, Wenzig E M, Zupkó I, et al. Qualitative and quantitative analysis of aconitine-type and lipo-alkaloids of *Aconitum carmichaelii* roots. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(11):2079-2086.
- 6 贺亚男, 张定堃, 许润春, 等. 附子品质评价方法的研究进展. 中成药, 2017, 39(12):2568-2572.
- 7 咎珂, 过立农, 马双成, 等. 附子质量控制研究进展. 中国药事, 2019, 33(7):767-773.
- 8 贝自英, 姜永. 酸性染料萃取光度法测定乌头总碱. 南京中医学院学报, 1984, 12(3):49-53.
- 9 何军, 祝林, 奉建芳. 附子总生物碱含量测定方法比较. 现代中药研究与实践, 2003, 17(6):20-22.
- 10 张敏敏, 蔡晓丹, 李耿, 等. 酸性染料比色法测定乌头属不同药材中乌头生物碱含量. 中医药导报, 2012, 18(8):78-79.
- 11 耿昭, 郭力, 姚志昂, 等. 酸性铬蓝 K 分光光度法测定附子不同炮制品中的镁含量. 成都中医药大学学报, 2013, 36(1):11-14.
- 12 戴胜云, 马青青, 蒋双慧, 等. 近红外光谱法快速测定附子中 6 个生物碱的含量. 分析测试学报, 2021, 40(1):57-64.
- 13 邓芳, 杨学军, 罗准. 近红外光谱技术快速测定附子及其炮制品中双酯型生物碱含量. 中国药业, 2018, 27(14):12-15.
- 14 吴文辉, 李文兵, 陈咏梅, 等. 附子炮制前后近红外光谱比较研究. 亚太传统医药, 2015, 11(19):28-30.
- 15 吴志生, 刘晓娜, 谭鹏, 等. 基于 2D-COS 红外光谱的附子炮制过程时序段解析研究. 光谱学与光谱分析, 2017, 37(6):1745-1748.
- 16 曹玲丽, 余马, 舒晓燕, 等. 薄层色谱法用于生附子指纹图谱及质量

- 评价的研究. 湖北农业科学, 2015, 54(11):2738-2740.
- 17 聂黎行, 张聿梅, 鲁静, 等. 附子和附片质量标准研究. 中国药学杂志, 2010, 45(15):1182-1186.
 - 18 岳玲. 附子中乌头碱限量检查方法改进. 中成药, 2002, 24(10):818.
 - 19 程丽丽, 许妍妍, Eric Nyirimigabo, 等. 一测多评法测定乌头类药材中生物碱. 现代药物与临床, 2013, 28(4):528-534.
 - 20 孙玲, 于广华, 火跃芳. 一测多评法同时测定附子中5种水溶性成分的含量. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(11):84-88.
 - 21 Huang D, Zhao X, Liu X, *et al.* Determination of five aminoalcohol-diterpenoid alkaloids in the lateral root of *Aconitum carmichaeli* by HPLC-ELSD with SPE. *J Chromatogr Sci*, 2017, 55(9):940-945.
 - 22 田孟良, 易飞, 牛应泽, 等. 附子种质资源HPLC指纹图谱的初步研究. 西南农业学报, 2007, 20(3):521-524.
 - 23 王瑞, 孙毅坤, 王耘, 等. 附子生药的高效液相色谱指纹图谱研究. 药物分析杂志, 2007, 27(5):639-642.
 - 24 闫晋晋, 王信隆, 廖国珍. HPLC指纹图谱在附子药材道地性鉴别中的应用研究. 安徽农业科学, 2012, 40(5):2690-2692.
 - 25 周书来, 吴丽. 生附子高效液相指纹图谱研究. 内蒙古中医药, 2015, 34(1):117-118.
 - 26 李萌, 张根衍, 潘桂湘. LC-MS/MS测定乌头属中药中8个生物碱含量. 辽宁中医药大学学报, 2014, 16(2):51-53.
 - 27 马芳, 赵东, 吴晓霞, 等. 利用LC/MS/MS方法检测附子水提液中乌头碱的含量方法学研究. 中国中医基础医学杂志, 2011, 17(5):564-565.
 - 28 Lei H B, Zhang Y H, Ye J, *et al.* A comprehensive quality evaluation of Fuzi and its processed product through integration of UPLC-QTOF/MS combined MS/MS-based mass spectral molecular networking with multivariate statistical analysis and HPLC-MS/MS. *J Ethnopharmacol*, 2021, 266:113455.
 - 29 张晶. 生附子化学成分及其质量控制研究. 北京: 北京协和医学院硕士学位论文, 2014. 65-80.
 - 30 Zhang N, Song Y L, Song Q Q, *et al.* Qualitative and quantitative assessments of *Aconiti Lateralis Radix Praeparata* using high-performance liquid chromatography coupled with diode array detection and hybrid ion trap-time-of-flight mass spectrometry. *J Chromatogr Sci*, 2016, 54(6):888-901.
 - 31 越皓, 皮子凤, 宋凤瑞, 等. 附子不同配伍药对中生药成分的电喷雾质谱分析. 药科学报, 2007, 42(2):201-205.
 - 32 韩乐, 陈巧霞, 刘训红, 等. 毛细管电泳测定乌头类药材中6种生物碱的含量. 中国药学杂志, 2014, 49(17):1559-1564.
 - 33 付昆, 叶强. 高效毛细管电泳法分析附子多糖中单糖组分. 中国药业, 2014, 23(13):17-19.
 - 34 Zhao S G, Pan Z W, Chen X G, *et al.* Analysis of the aconitine alkaloids in traditional Chinese medicines by nonaqueous capillary electrophoresis using a new recording mode. *Biomed Chromatogr*, 2004, 18(6):381-387.
 - 35 郭鹏, 梁勇, 王健, 等. 场放大进样-高效毛细管电泳测定中药附子指纹图谱研究. 中国现代应用药学, 2018, 35(4):537-541.
 - 36 黄磊, 许玉, 袁帅, 等. 川乌附子中双酯型生物碱的ELISA法测定. 中国医药工业杂志, 2015, 46(8):895-897.
 - 37 赵志浩, 张定堃, 吴明权, 等. 基于大鼠室性早搏心脏毒性的附子质量生物评价方法研究. 中国中药杂志, 2016, 41(20):3814-3820.
 - 38 张定堃, 赵志浩, 李春雨, 等. 基于生物毒效检测的附子不同炮制品质量评价研究. 药科学报, 2019, 54(12):2169-2177.
 - 39 李立纪, 张风雷, 吴荣祖, 等. 新法加工附子与附片抗炎镇痛作用比较研究. 云南中医中药杂志, 2004, 25(4):34-35.
 - 40 张涛, 王桂杰, 白书阁, 等. 附子对老年大鼠抗氧化系统影响的实验研究. 中国老年学杂志, 2001, 21(2):135-136.
 - 41 Xu X, Xie X, Zhang H, *et al.* Water-soluble alkaloids extracted from *Aconiti Radix lateralis* praeparata protect against chronic heart failure in rats via a calcium signaling pathway. *Biomed Pharmacother*, 2021, 135:111184.
 - 42 蒋旭萍. 附子毒性成分及不良反应. 实用中医内科杂志, 2018, 32(12):73-75.
 - 43 马双成, 金红宇, 刘丽娜, 等. 中药中外源性有害物质残留风险控制初探. 中国药学杂志, 2015, 50(2):99-103.
 - 44 周海燕, 周应群, 汪明德, 等. 附子不同主产区生长土壤和药材中重金属含量分析. 贵州: 2008:181-185.
 - 45 方成鑫, 刘红梅, 叶强, 等. 水质对附子中重金属元素的影响. 中国科技论文, 2016, 11(12):1403-1406.
 - 46 周璐, 董耀, 朱鸭梅, 等. 中药附子中重金属分析方法研究. 化工管理, 2017, (32):170.
 - 47 蓝义琨, 严慕贤, 覃军, 等. 市售附子中胆巴残留量和部分元素含量的分析研究. 广东药科大学学报, 2018, 34(4):434-437.
 - 48 韩兆诣, 梁斌, 杨大强. 江油市河西乡附子道地产地附子中重金属含量及安全性评价. 西南科技大学学报, 2017, 32(4):49-53.
 - 49 寇兴明, 顾永祚, 顾兴平. AAS法测定中药川附子微量重金属元素. 四川环境, 1999, 18(2):28-31.
 - 50 张文强, 吴锐. 2016年四川省附子药材及饮片抽检结果质量分析. 亚太传统医药, 2018, 14(3):204-207.
 - 51 舒晓燕, 侯大斌, 李凤. 不同品种附子生物碱和多糖含量的比较. 中国药房, 2010, 21(31):2916-2918.
 - 52 夏燕莉, 舒光明, 胡平, 等. 附子新品种中附1号、中附2号多点品比试验研究. 中药材, 2014, 37(8):1331-1336.
 - 53 朱彦西, 杨玉霞, 胡平, 等. 附子新品种“中附4号”选育. 时珍国医国药, 2021, 32(2):441-443.
 - 54 缪璐琳, 熊秋韵, 高继海, 等. 不同产地和叶形附子水煎液的抗炎、镇痛作用比较. 中国药房, 2017, 28(25):3483-3486.
 - 55 高继海, 王伟, 谢晓芳, 等. 附子品种的抗病性及根表真菌多样性研究. 世界中医药, 2017, 12(11):2563-2567.
 - 56 舒晓燕, 余马, 侯大斌, 等. 不同栽培区附子生物碱含量的比较研究. 安徽农业科学, 2014, 42(30):10519-10520.
 - 57 岳聪慧. 附子不同栽培产区质量的比较研究. 绵阳: 西南科技大学硕士学位论文, 2015:12-29.
 - 58 袁小红, 杨婷, 刘卓, 等. 生附子总生物碱及其水解产物中双酯型和单酯型二萜生物碱的分析. 安徽农业科学, 2013, 41(6):2385-2386.
 - 59 张定堃, 韩雪, 李瑞煜, 等. UPLC-Q-TOF-MS分析不同产地泥附子化学成分的差异. 中国中药杂志, 2016, 41(3):463-469.

- 60 罗春梅,夏燕莉,黄志芳,等. 附子水溶性生物碱含量测定与道地性相关分析. 天然产物研究与开发, 2019, 31(10):1704-1711.
- 61 蒋荡,侯大斌,邓文伟,等. 不同产地附子中附子灵和宋果灵含量的比较. 北方园艺, 2013, (6):159-161.
- 62 王晓雅,熊亮,蒙春旺,等. 基于指纹图谱和化学计量法评价不同产地黑顺片的质量. 中药新药与临床药理, 2020, 31(3):353-358.
- 63 黄慧莲,刘科兰,邵峰,等. 不同主产地白附片的指纹图谱研究. 南昌:2010:234-242.
- 64 黄慧莲,刘科兰,邵峰,等. 不同主产地黑顺片的指纹图谱研究. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16):44-49.
- 65 梅超南,曾瑾,赵军宁. 不同产地附子炮制品抗休克、抗缓慢型心律失常作用的品质评价研究. 中药药理与临床, 2014, 30(1):67-70.
- 66 周海燕,周应群,羊勇,等. 附子不同产区生态因子及栽培方式的考察与评价. 中国现代中药, 2010, 12(2):14-18.
- 67 岳聪慧,侯大斌,匡青芬. 附子不同栽培区土壤养分对其双酯型生物碱的比较研究. 湖北农业科学, 2014, 53(11):2594-2597.
- 68 杨正明,威则日沙,李学学,等. 基于多元统计分析的川产道地药材江油附子和川乌中6种生物碱含量比较研究. 中草药, 2019, 50(6):1461-1471.
- 69 赵利华,罗霞,余马,等. 打顶对附子的产量及有效成分的影响. 时珍国医国药, 2018, 29(7):1732-1734.
- 70 刘莎,陈兴福,杨文钰,等. 喷施烯效唑对附子原植物植株形态及总生物碱含量的响应. 中药材, 2011, 34(3):332-335.
- 71 赵祥升,侯大斌,甘炳春,等. 植物激素对附子中生物碱含量的影响. 中国农学通报, 2010, 26(22):179-182.
- 72 罗意. 微肥配施对附子生长及产、质量的影响. 雅安:四川农业大学硕士学位论文, 2011:17-24.
- 73 刘雨诗,刘红梅,叶强,等. 胆巴炮制对附子生物碱类成分的影响研究. 中药新药与临床药理, 2019, 30(4):472-477.
- 74 侯新莲,刘杰,周鑫,等. 泡胆和漂洗炮制环节对黑顺片质量影响研究. 时珍国医国药, 2020, 31(7):1626-1628.
- 75 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. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(10):44-47.
- 76 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. 时珍国医国药, 2014, 25(4):850-852.
- 77 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. 中华中医药学刊, 2013, 31(11):2406-2408.
- 78 杨千千,郝学贤,张辰露,等. 不同浓度胆巴液浸泡下附子中生物碱含量变化研究. 中国现代中药, 2018, 20(9):1137-1141.
- 79 陈雪,王冬阁,冯正平,等. 胆巴浸泡在附子加工中固形作用的探究. 时珍国医国药, 2019, 30(10):2384-2388.
- 80 陈雪,毕淮龙,牛豆,等. 基于HPLC法考察不同盐配比对附子片型及6种生物碱含量的影响. 西北药学杂志, 2020, 35(3):325-329.
- 81 温瑞卿,李东辉,赵昕,等. 基于化学分析的毒性中药附子炮制方法的合理性研究. 药学报, 2013, 48(2):286-290.
- 82 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. 成都:成都中医药大学硕士学位论文, 2016:5-29.
- 83 刘春叶,于周龙,田凯,等. 附子在炮制中主要生物碱含量变化的研究. 时珍国医国药, 2012, 23(4):960-962.
- 84 国伟,谭鹏,费淑琳,等. 炮制对淡附子中3种双酯型生物碱及其水解产物的影响. 河南中医, 2016, 36(6):1096-1099.
- 85 陈东安,易进海,黄志芳,等. 附子煎煮过程中酯型生物碱含量的动态变化. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3):64-68.
- 86 周思思,马增春,梁乾德,等. 基于UPLC/Q-TOF-MS分析附子煎煮过程中化学成分的变化. 中西医结合学报, 2012, 10(8):894-900.
- 87 黄志芳,唐小龙,罗恒,等. HPLC-Q-TOF-MS分析附子的化学成分及煎煮过程中的变化规律. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(1):57-63.
- 88 秦利芬,杨玉琴. 不同采收期的附子中3种乌头碱的含量比较. 微量元素与健康研究, 2012, 29(6):31-32.
- 89 拓亚琴,慕小倩,梁宗锁. 乌头附子最佳采收时期的初步研究. 西北农业学报, 2007, 16(2):146-148.
- 90 杨秀英,王书林,叶冰,等. 布拖附子最佳采收期的研究. 中国现代中药, 2007, 9(5):22-23.
- 91 舒晓燕,侯大斌. 不同采收期附子多糖含量的比较研究. 中成药, 2008, 30(10):1512-1514.
- 92 舒晓燕,赵祥升,侯大斌. 附子不同贮藏条件下相关品质的变化分析. 中药材, 2009, 32(1):29-31.
- 93 徐敏,张岳峰,侯大斌,等. 附子贮藏过程中相关生化指标的变化分析. 中国中药杂志, 2008, 33(22):2704-2706.
- 94 刘科兰,刘荣华,黄慧莲. 附子不同炮制品三种单酯型生物碱的含量差异研究. 时珍国医国药, 2016, 27(4):864-866.
- 95 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. 中国中药杂志, 2014, 39(24):4798-4803.
- 96 唐恬,赵婷,赵晖,等. 附子及其炮制品对大鼠心脏毒性的影响. 中国中医急症, 2016, 25(12):2286-2289.
- 97 熊秋韵,李梦婷,缪璐琳,等. 附子不同炮制品抗炎、镇痛和提高免疫功能作用的比较研究. 中药药理与临床, 2017, 33(1):123-127.
- 98 蓝鲜艳,周畅均,毛敏,等. 附子不同炮制品的相关差异及临床合理选用探讨. 中成药, 2021, 43(4):994-997.
- 99 李潘,贺亚男,罗杰,等. 泥附子商品等级划分合理性分析. 中成药, 2019, 41(6):1321-1327.
- 100 陈彦琳,杜杰,梁焕,等. 道地药材附子炮制加工规范化探讨. 中国现代中药, 2009, 11(7):42-44.
- 101 杜贵友,方文贤. 有毒中药现代研究与合理应用. 北京:人民卫生出版社, 2003:286-292.
- 102 王治纯. 川产道地药材附子的品质研究. 成都:成都中医药大学硕士学位论文, 2011:32-35.

Research Progress on Quality Evaluation and Influencing Factors of Aconiti Lateralis Radix Praeparata

Pu Tingting¹, Wang Yufei¹, Zhou Zhongyu¹, Yan Jingting², Yang Yan², Duan Baozhong¹

(1. College of Pharmaceutical Science, Dali University, Dali 671000, China ;

2. Yunnan Provincial Academy of Science and Technology, Kunming 650051, China)

Abstract: Aconiti Lateralis Radix Praeparata has been used as a traditional medicinal plant for centuries in China, and its quality is closely related to its safety and effectiveness. This review systematically summarized the quality evaluation and influencing factors of Aconiti Lateralis. The results indicated significant differences in decoction pieces of Aconiti Lateralis due to the presence of nonstandard in the manufacturing process and lack of relevant standards. Meanwhile, the criteria for quality control of Aconiti Lateralis are not comprehensive. Based on our research, some cardiotonic components and harmful substances (heavy metals, agricultural residues, sulfur dioxide, etc.) of Aconiti Lateralis are rarely evaluated. Besides, the quality of Aconiti Lateralis is affected by factors such as germplasm, origin, cultivation, harvest, process, storage, product specifications, etc.. The correlation between these factors and efficacy or components needs further exploration. This review provides a solid basis for the quality scientific evaluation system for Aconiti Lateralis.

Keywords: Aconiti lateralis radix praeparata, Factors of quality evaluation, Validity, Safety

(责任编辑: 李青, 审稿人: 王瑀、张志华)