

• 综 述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.21.033

乌头碱中毒检测及抢救措施的研究进展*

李蕊娟¹, 汪叙彤², 路晓君¹, 师燕华¹综述, 崔海燕^{1△}审校
山西医科大学: 1. 法医学院; 2. 口腔医学院, 山西晋中 030600

关键词: 乌头碱; 中毒; 救治
中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2022)21-3010-03

乌头碱存在于乌头属类中药中, 常见的如草乌、川乌、附子等。因其具有镇痛、行气止血、祛风除湿、舒筋通络、抗炎、抗肿瘤等作用, 广泛应用于临床治疗^[1]。研究表明, 低剂量乌头碱还在心力衰竭、心肌梗死、神经炎性疾病的治疗中起很大作用^[2]。但由于乌头碱具有很强烈的毒性, 导致乌头属中药中毒事件时有发生, 苏玮玮等^[3]统计了 2012—2019 年云南省乌头碱的中毒情况, 8 年间发病的人数为 1 499 例, 死亡人数 65 例, 累计发病率、死亡率和病死率分别是 3.12/10 万, 0.14/10 万和 4.34%。乌头碱毒性强烈, 乌头类饮片中含有的双酯型生物碱具有致命毒性, 2~3 mg 即可致死^[4]。由于其代谢快, 中毒后不易检测, 因此掌握其精准检测和及时救治措施至关重要。陆燕萍等^[5]报道的乌头碱检测方法有高效液相色谱法、反相高效液相色谱法、液-质联用方法、双波长薄层扫描法、高效毛细管电泳法和分光光度法。何建忠等^[6]报道了乌头类生物碱检测的仪器分析方法, 包括高效液相色谱法、气相色谱法和气质联用法、毛细管电泳法、液相色谱与质谱联用法、高效液相色谱-串联质谱法、酶联免疫吸附测定法、表面增强拉曼法等。本研究通过查阅文献, 系统全面地阐述了现有乌头碱检测方法, 并阐述了各个方法的侧重点和优势, 同时在此基础上总结了乌头碱中毒之后的临床抢救措施, 以期在未来乌头碱中毒事件中, 能够充分利用文中所述的方法为司法鉴定及临床抢救中的乌头碱中毒事件提供理论依据及实践参考。

1 乌头碱中毒检测方法

1.1 化学法 乌头碱属于二元化学酯类^[7], 具有麻辣感(1/10 000 溶液即可产生麻辣感), 微溶于石油醚, 易溶于水、无水乙醇和乙醚, 其水溶液遇石蕊呈碱性反应。因其含有酯键, 可作出异羟肟酸铁反应, 如向其水溶液中(1:4 000)加醋酸酸化后再滴加 0.2 mol/L 高锰酸钾水溶液数滴, 即能产生红色簇晶。

1.2 薄层扫描法 薄层扫描法成功运用于乌头碱的检测已有报道。王丽娜等^[8]以 0.3% 羧甲基纤维素钠

为黏合剂, 环乙烷-醋酸乙酯-乙醇(6.5:3.5:1.0)为展开剂, 其中伴有 40% 的饱和氨水、显色剂、碘蒸气的溶剂系统, 采用反射式锯齿型扫描, 运用薄层扫描仪测定肾康胶囊中乌头碱含量, 结果表明其精密度、稳定性、重复性均良好, 且平均回收率可达 100.50%。杨工昶等^[9]采用双波长薄层扫描仪测定四知堂药酒中的乌头碱含量, 其平均回收率为 98.20%。薄层扫描法因其具有多通道功能, 可并行分析和分离多个样本, 且流动相用量少, 选择范围广, 易于更换的特点, 使其成为中药制剂检验的重要分析方法之一。

1.3 高效液相色谱法 梁嘉豪等^[10]建立了测定 4 种乌头属中药中的乌头碱、新乌头碱和次乌头碱的高效液相色谱法。该方法表明乌头属中药的 3 种有效成分在 2.5~250.0 μg/mL 浓度范围内, 均呈良好的线性关系, 且该检测方法的精密度、稳定性、重复性均良好。有学者比较了反向快速色谱法、反向半制备高效液相色谱法等方法在获得最高纯度乌头碱(96% 以上)的效率, 以及在半工业规模纯化过程中的适用性, 结果发现虽然高效液相色谱法有一定的优势, 但是重结晶仍然是纯化大量乌头碱的选择方法^[11]。

1.4 毛细管电泳法 有学者建立了毛细管区带电泳方法进行粗乌头和炮制乌头中的生物碱含量测定, 并用稳定性指示法对此方法进行了优化和验证, 对乌头生物碱具有很好的分离, 且稳定性、精密度良好, 回收率高^[12]。有研究人员在测定骨刺消通液中乌头碱和次乌头碱的含量时建立了一种毛细管电泳-现场放大进样法, 采用无涂层石英毛细管柱作为分离通道, 运用磷酸盐缓冲液, 该方法检测乌头碱和次乌头碱平均回收率大于 93.90%, 分别在 17.2~275.0 μg/L 和 34.4~550.0 μg/L 浓度范围内呈线性关系^[13]。与高效液相色谱法相比, 毛细管电泳法具有专属性强、叠加效率高, 分离时间短、杂质干扰少、使用有机溶剂少、操作简便等优点^[14]。

1.5 表面增强拉曼法 表面增强拉曼法测定药酒中乌头碱已有报道, 谈铭等^[15]通过对药酒中乌头碱样品

* 基金项目: 山西省应用基础研究面上青年项目(201901D211332); 山西省教育厅高校科技创新项目(2020L0191)。
△ 通信作者, E-mail: hycui1985@126.com。
网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1167.R.20220815.1820.002.html>(2022-08-16)

的前处理方式的优化,运用便携式拉曼光谱仪,得到了乌头碱的特征峰为 $(621 \pm 3)/\text{cm}$,并证明通过表面增强拉曼检测系统对乌头碱的检测限可达到 10 mg/kg 。该方法具有简便、准确、成本低等优点,适用于现场和实验室快速检测药酒中的乌头碱。

1.6 高效液相色谱-串联质谱法 该方法是目前乌头碱检测最常用的方法。刘玉婷等^[16]在研究黄芪对附子 6 种乌头生物碱大鼠药代动力学的影响时,以 Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 柱、含 0.1% 甲酸的乙腈溶液为流动相、柱温 30°C ,进样量 $5 \mu\text{L}$ 为色谱条件,质谱条件采用电喷雾电离的多反应检测模式,具体为离子化电压 5.5 Kv ,离子源温度为 550°C ,气帘气压为 241.35 kPa ,喷雾气压为 344.75 kPa ,最终经方法学验证专属性、线性范围内线性、稳定性、精密度及准确度均良好,且其回收率达到 $63.3\% \sim 80.5\%$,符合生物样品分析要求。何建忠等^[17]采用超高效液相色谱-多级串联质谱法,在多反应检测模式下测定了自制药酒中的乌头碱水平,该方法的检出限和定量限可低至 0.01 ng/mL 和 0.03 ng/mL ,且能够排除药酒中与乌头碱有相似理化性质的中药成分,对乌头碱有着更强的特异度。针对乌头碱检测,此方法具有显著的高选择性和灵敏度。

1.7 酶联免疫吸附测定法 林溢盛等^[18]成功构建了一种基于植物乌头碱酶联免疫吸附试剂盒测定乌头碱含量的方法,其利用显色液 $3,3',5,5'$ -四甲基联苯胺氧化产物对纳米金棒的刻蚀作用,在纳米金棒上呈现出色彩变化,实现了对乌头碱的可视半定量检测。本方法具有检测效率高、灵敏度高、裸眼可视化半定量等优点,在乌头碱的快速检测具有一定的实用价值。袁帅等^[19]建立了酶联免疫吸附测定法检测乌头属药材中的单酯型乌头类生物碱水平,此类方法的线性范围为 $0.005 \sim 5.000 \mu\text{g/mL}$,检测限为 139 pg ,定量限为 575 pg ,平均回收率 97.31% ,其灵敏度比高效液相色谱法高 112 倍。

2 乌头碱中毒临床表现及中毒机制

急性乌头碱中毒症状主要表现在心血管系统、消化系统和神经系统等方面。临床上心血管系统中毒表现为低血压、胸闷、心悸、心动过缓或心动过速、房室传导阻滞及其他类型的心律失常,甚至心室颤动、心搏停止、休克等。其中中毒性心律失常主要表现为频发室性早搏、短阵室性心动过速,心动过缓伴 I 度传导阻滞等^[20]。研究表明急性乌头碱的心血管系统中毒机制主要是乌头碱具有促进细胞凋亡、抑制心肌细胞生长等细胞毒性^[21]。乌头碱可以通过兴奋迷走神经、胆碱能神经抑制心脏窦房结,也可以通过直接作用于心脏,提高心肌的兴奋性^[22]。消化系统中毒表现为恶心、呕吐、咽部不适及腹胀、腹泻等^[23]。神经系统中毒表现为口部及四肢麻木、疼痛失调、晕眩、低血压、视力模糊、抽搐癫痫等。自主神经功能紊乱通过

兴奋麻痹感觉运动神经末梢,再抑制中枢神经系统。研究证明神经系统中毒机制主要为乌头碱具有不同细胞类型的神经毒性作用,如降低神经振幅、阻断神经肌肉传播和改变神经细胞兴奋性等^[24-25]。

3 乌头碱中毒治疗及抢救措施

3.1 一般治疗 对于乌头碱中毒患者的处理方法基本上按照常规中毒处理原则。根据就诊患者中毒程度不同,应在原则不变的前提下采用不同方式。面对发病短、神智清楚的患者,应直接使用压舌板刺激咽喉进行催吐治疗。面对病情稍重的患者应及时进行洗胃治疗,通过气管插管进行洗胃,可以有效降低洗胃过程中不良事件的发生率,提高抢救率。面对生命体征不稳定的患者,应以维持患者生命体征为目标,尽快建立静脉通道或心电监护等措施,监察患者的生命体征。中毒情况严重且发现时间晚、就诊时间长的患者,推荐使用血液灌流,可有效清除血液中有毒物质,预后良好^[26]。

3.2 抗心律失常治疗 由于目前尚无针对乌头碱中毒的特效解毒药,因此临床救治上主要是对症和脏器支持治疗。研究表明乌头碱中毒患者几乎均有不同程度的心律失常,且恶性心律失常是导致死亡的常见原因之一^[27]。阿托品能迅速对抗迷走神经过度兴奋,解除窦房结和房室结的抑制,促进高位起搏点自律性恢复和提高,达到迅速控制心肌异位节律的作用^[28]。对已出现恶性心律失常的患者,可以使用小剂量阿托品与胺碘酮进行复律,疗效良好^[29]。研究表明应考虑将胺碘酮作为治疗的首先药物,因为相比采用利多卡因治疗急性乌头碱中毒致室性心律失常患者,采用胺碘酮的不良反应持续时间更短,安全性更高,且二者疗效相似^[30]。对于药物无效的室性心动过速和心室颤动患者可进行电复律。对产生恶性心律失常患者进行电复律均可成功复律,成功挽回患者性命。

3.3 预防并发症 急性乌头碱中毒患者病情进展迅速,继而出现急性循环衰竭,继发严重肝、肾、呼吸等多系统功能衰竭及内环境紊乱等并发症。给予改善心肌代谢、清除氧自由基、护肝、护胃、控制血糖及预防吸入性肺炎等处理,同时进行亚低温脑保护、脱水降颅压等综合治疗,可有效预防脑水肿患者昏迷的发生。

4 结 语

上述乌头碱的诸多检测方法各有侧重。高效液相色谱-串联质谱法因其具有高灵敏度和选择性,为乌头碱的精准检测提供了技术支撑,已成为乌头碱检测的首选。在实践过程中可根据不同的检测要求和送检材料种类进行选择。对于乌头碱中毒的救治,在临床上根据其心血管系统、呼吸系统和神经系统的中毒症状,争取做到早处理,早治疗、及时清除体内毒物,再结合药物进行救治,灵活运用临床急救知识进行乌头碱中毒的救治,预防治疗及控制各种心律失

常,提高乌头碱中毒抢救的成功率。本文提供的乌头碱中毒检测手段和临床救治方法,以期为司法鉴定中乌头碱中毒案件和临床乌头碱中毒抢救提供参考价值 and 实践指导。

参考文献

- [1] 胡世文,罗静,况刚,等.长江三峡地区乌头属药用植物资源分布及其综合利用研究[J].中药材,2020,43(9):2137-2140.
- [2] LI L Y,ZHANG L M,LIAO T T,et al. Advances on pharmacology and toxicology of aconitine [J]. Fundam Clin Pharmacol,2022,36(4):601-611.
- [3] 苏玮玮,李娟娟,余思洋,等.云南省 2012-2019 年乌头类植物中毒流行特征[J].中国热带医学,2020,20(7):666-669.
- [4] 安莹波,董叶子,张新颜,等.急性重度乌头碱中毒致电风暴 4 例及文献复习[J].疑难病杂志,2015,14(6):623.
- [5] 陆燕萍,巩晓宇,陈秋燕,等.乌头碱类生物碱的含量测定方法概述[J].中国药业,2016,25(7):1-3.
- [6] 何建忠,黄丽珍.乌头类生物碱检测方法的研究进展[J].职业与健康,2021,37(19):2723-2726.
- [7] 荣宝山,黄凯丽,袁琳嫣,等.乌头类药材化学成分和药理作用研究进展[J].中国药事,2021,35(8):932-947.
- [8] 王丽娜,郭云峰,崔本连,等.薄层扫描法测定肾康胶囊中乌头碱的含量[J].长春中医学院学报,2005,16(3):39-40.
- [9] 杨工昶,杨天绪.双波长薄层扫描法测定四知堂药酒中乌头碱含量[J].时珍国医国药,2001,12(3):218-219.
- [10] 梁嘉豪,路晓君,师燕华,等.高效液相色谱法测定 4 种乌头中药中乌头碱、新乌头碱和次乌头碱[J].山西医科大学学报,2021,52(11):1487-1491.
- [11] TARBE M,DE POMYERS H,MUGNIER L,et al. Gram-scale purification of aconitine and identification of lappaconitine in Aconitum karacolicum [J]. Fitoterapia, 2017,120(1):85-92.
- [12] SONG J Z,HAN Q B,QIAO C F,et al. Development and validation of a rapid capillary zone electrophoresis method for the determination of aconite alkaloids in aconite roots [J]. Phytochem Anal,2010,21(2):137-143.
- [13] 李岑,蒋晔.毛细管电泳场放大富集技术检测骨刺消痛液中的乌头碱类毒性成分[J].中国中药杂志,2010,35(24):3287-3290.
- [14] 阮世勇,戴洁,孙志胜,等.附子中生物碱检测方法研究进展[J].现代食品,2021,8(10):26-27.
- [15] 谈铭,张洁.表面增强拉曼光谱法快速测定药酒中乌头碱[J].中国食品,2021,30(17):66-68.
- [16] 刘玉婷,蒋且英,黄国勇,等.LC-MS 法研究黄芪对附子 6 种乌头生物碱大鼠药代动力学的影响[J].药学学报,2019,54(12):2289-2295.
- [17] 何建忠,黄丽珍.药酒中乌头碱的 LC-MS/MS 检测法[J].职业与健康,2021,37(10):1323-1326.
- [18] 林溢盛,黄艳玲,何聿,等.基于纳米金棒刻蚀的多色可视化传感器应用于乌头碱快速检测[J].食品安全质量检测学报,2021,12(2):486-491.
- [19] 袁帅,许玉,黄磊,等.乌头属药材中单酯型乌头碱的 ELISA 法测定[J].中国医药工业杂志,2016,47(7):897-901.
- [20] 潘美辰,周小伟,刘艳,等.乙醇-乌头碱致心律失常的毒理分子机制研究进展[J].法医学杂志,2020,36(1):115-119.
- [21] LIU F,TAN X X,HAN X,et al. Cytotoxicity of Aconitum alkaloid and its interaction with calf thymus DNA by multi-spectroscopic techniques[J]. Sci Rep,2017,7(1):14509.
- [22] ZHANG P P,KONG DZ,DU Q,et al. A conscious rat model involving bradycardia and hypotension after oral administration:atoxicokinetic study of aconitine[J]. Xenobiotica,2017,47(6):515-525.
- [23] GAO X,HU J,ZHANG X,et al. Research progress of aconitine toxicity and forensic analysis of aconitine poisoning[J]. Forensic Sci Res,2018,5(1):25-31.
- [24] MUROI M,KIMURA I,KIMURA M. Blocking effects of hyaenitine and aconitine on nerve action potentials in phrenic nerve-diaphragm muscles of mice[J]. Neuropharmacology,1990,29(6):567-572.
- [25] LIN M W,WANG Y J,LIU S I,et al. Characterization of aconitine-induced block of delayed rectifier K^+ current in differentiated NG108-15 neuronal cells[J]. Neuropharmacology,2008,54(6):912-923.
- [26] 翟丽慧,王冲,崔岩.血液透析串联血液灌流对病人血液中分子物质清除效果[J].齐鲁医学杂志,2008,23(2):167-168.
- [27] WU J,WANG X,CHUNG Y Y,et al. L-type calcium channel inhibition contributes to the proarrhythmic effects of Aconitine in human cardiomyocytes[J]. PLoS One,2017,12(1):e0168435.
- [28] 杨发俊.45 例急性乌头碱中毒的临床表现和救治分析[J].中国医学创新,2017,14(36):94-97.
- [29] 乌日汉,孟香花,宝乐尔,等.蒙药草乌毒性研究概况[J].中华中医药杂志,2021,36(7):4159-4162.
- [30] 蒋认名.胺碘酮与利多卡因治疗急性乌头碱中毒致室性心律失常的临床效果比较[J].临床合理用药杂志,2019,12(14):30-31.

(收稿日期:2022-02-24 修回日期:2022-08-01)