

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.09.006

白喉乌头及其炮制品生物碱成分变化与细胞毒性研究*

吐尔克扎提·帕利哈提¹ 聂继红^{2,3} 张海英^{2,3} 王德奎^{2,3} 兰 卫^{1Δ}

(1 新疆医科大学中医学院 新疆 乌鲁木齐 830000; 2 新疆医科大学附属中医医院 新疆 乌鲁木齐 830000;

3 新疆中药炮制研究重点实验室 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要 目的:比较白喉乌头生品、炮制品生物碱成分的含量变化及其细胞毒性。**方法:**将白喉乌头生品及哈萨克法炮制品(以下简称"炮制品")采用高效液相色谱法(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)分析比较,测定炮制前后各提取液生物碱成分的变化;用 MTT 比色法分析比较不同浓度白喉乌头生品及炮制品提取液的细胞毒性。**结果:**白喉乌头经炮制,乌头碱及次乌头碱峰面积显著减少,降低率分别为 45.1% 和 74.5%;去乙酰高乌甲素峰面积明显升高,升高率为 62.2%;高乌甲素、冉乌头碱及去乙酰冉乌头碱峰面积基本不变;同时,有新的色谱峰产生,说明经炮制有新成分产生;白喉乌头生品及炮制品提取液浓度分别为在 5000、2500、1250、625、312.5 $\mu\text{g/mL}$ 给药 48 h,与白喉乌头生品提取液相比,其炮制品提取液细胞抑制率明显降低($P<0.05$),白喉乌头生品及炮制品的 IC₅₀ 分别是 1826.70 $\mu\text{g/mL}$ 、3192.48 $\mu\text{g/mL}$ 。**结论:**白喉乌头经炮制,主要成分的色谱峰面积发生了变化,同时有新色谱峰产生,其毒性成分乌头碱、次乌头碱峰面积明显减少,说明乌头碱、次乌头碱含量减少,通过 MTT 比色法检测细胞毒性,证明其达到减毒目的。

关键词:白喉乌头;炮制品;高效液相色谱法;毒性;H9c2 心肌细胞

中图分类号:R-33;R284 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2022)09-1630-06

Study on Alkaloid Composition Changes and Cytotoxicity of Aconitum Leucostomum Worosch and its Processed Products*

Tuerkezhati·Palihat¹, NIE Ji-hong^{2,3}, ZHANG Hai-ying^{2,3}, WANG De-xi^{2,3}, LAN Wei^{1Δ}

(1 College of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, 830000, China;

2 Affiliated Hospital of traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, 830000, China;

3 Xinjiang Key Laboratory of Processing and Research of Traditional Chinese Medicine, Urumqi, Xinjiang, 830000, China)

ABSTRACT Objective: To compare the content changes and cytotoxicity of alkaloids in raw and processed (Kazakh processing method) Aconitum leucostomum Worosch. **Methods:** The raw and processed *A. leucostomum* were analyzed and compared by high performance liquid chromatography, and the changes of alkaloids in each extract before and after processing were determined. MTT assay was used to compare the cytotoxicity of raw and processed *A. leucostomum*. **Results:** The peak area of aconitine and hypaconitine decreased by 45.1 % and 74.5 %, The peak area of N-deacetylappaconitine was increased 62.2 %. The peak areas of lappaconitine, ranaconitine and N-deacetylranaconitine were almost unchanged. New chromatographic peaks were produced, indicating that new components were produced after processing. Concentrations were 5000, 2500, 1250, 625, 312.5 $\mu\text{g/mL}$ for 48 h, Compared with the raw *A. leucostomum*, the cell inhibition rate of the processed *A. leucostomum* was significantly decreased ($P<0.05$), The IC₅₀ of raw and processed products were 1826.70 $\mu\text{g/mL}$ and 3192.48 $\mu\text{g/mL}$, respectively. **Conclusion:** After processing, the chromatographic peak area of the main components changed, and new chromatographic peaks were generated. The peak areas of aconitine and hypaconitine, the toxic components, decreased significantly, indicating that the contents of aconitine and hypaconitine decreased. The cytotoxicity was detected by MTT method, and it was proved to achieve the purpose of reducing toxicity.

Key words: Aconitum leucostomum Worosch; Processed products; High Performance Liquid Chromatography; Toxicity; H9c2 cardiomyocytes

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R284 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2022)09-1630-06

前言

白喉乌头(Aconitum leucostomum Worosch.)为毛茛科乌头属多年生草本植物,主要分布在新疆伊犁、阿勒泰地区,甘肃

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81160498)

作者简介:吐尔克扎提·帕利哈提(1995-),男,硕士研究生,主要研究方向:中药基础研究,E-mail: 474279353@qq.com

Δ 通讯作者:兰卫(1969-),男,博士生导师,教授,主要研究方向:中药基础研究,E-mail: lanwei516@sina.com,电话:18997979301

(收稿日期:2021-09-24 接受日期:2021-10-18)

西北部及东北地区也有分布^[12],因其具有毒性,对当地牧民及家畜带来安全隐患^[3,4]。同时,白喉乌头作为植物药材,在我国传统医药和民族医药中有较为广泛的使用^[5],《新疆植物志》中记载白喉乌头能祛风散寒、消肿止痛、通经活络,在治疗风湿类疾病方面,有其独特的优势^[6]。

白喉乌头中的生物碱主要为二萜生物碱^[7],二萜生物碱主要为 C18 型二萜生物碱、C19 型二萜生物碱、C20 型二萜生物碱和双二萜生物碱^[8]。二萜类生物碱具有抗炎、镇痛、抗心律失常、杀虫等作用^[9-12],是目前研究最广泛的一类生物碱,同时也是植物及药材中最具毒性的成分之一^[13]。

白喉乌头需经过炮制后才能入药,因此,如何在降低毒性的同时,保证其安全有效应用及最大化发挥其价值是白喉乌头研究的重点^[14]。经前期研究发现,与其他炮制方法相比,哈萨克炮制法对白喉乌头药效成分提取率较高且毒性较小^[15],故本文使用哈萨克炮制法。经过炮制,白喉乌头的生物碱成分可能会有变化,本研究通过分析白喉乌头炮制前后的液相图谱及不同浓度提取液对 H9c2 心肌细胞的毒性作用,为白喉乌头及其炮制品更为安全的开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 仪器

高效液相色谱仪(Waters 2695, Separations Module);超纯水仪(Heal Force);HHS-24 电热恒温水浴锅(上海东星建材试验设备有限公司);多功能粉碎机(型号:500A,上海塞耐机械

进出口有限公司);电子分析天平(新疆仁济堂药业有限公司);电子天平(余姚市金诺天平仪器有限公司);酶标仪(美国 Thermo 公司);细胞培养箱(美国 Thermo 公司)。

1.2 试剂

白喉乌头样品(采自新疆伊犁州尼勒克县,经过新疆医科大学附属中医医院李永和主任中药师鉴定为正品);高乌甲素对照品(批号:MUST-20082519)、乌头碱对照品(批号:MUST-20092510)、次乌头碱对照品(批号:MUST-20052710)、新乌头碱对照品(批号:MUST-20080210),购于成都曼思特生物科技有限公司;冉乌头碱对照品(批号:DST200410-053)、去乙酰冉乌头碱对照品(批号:DST201201-413)、去乙酰高乌甲素对照品(批号:DST200917-412),购于乐美天医药德思特生物公司;胎牛血清(批号:BCBZ5164)、二甲基亚砜(批号:WXBD4978C),购于美国 Sigma 公司;磷酸盐缓冲溶液(批号:AF29561133)、DMEM 高糖培养基(批号:AG29643090)、青霉素/链霉素溶液(批号:J200017),购于美国 Hyclone 公司;四氮唑蓝(MTT)(德国 BioFroxx 公司,批号:EZ6789D144)。

1.3 方法

1.3.1 色谱条件 色谱柱:XBridge TM-C18 生物碱专用色谱柱(250 mm× 4.6 mm, 5 μm);填充剂为十八烷基硅烷键合硅胶;流动相为乙腈-0.05%冰醋酸(三乙胺调 pH 为 7.25)梯度洗脱(洗脱程序见表 1)。检测波长:243 nm;体积流量 1.0 mL/min。柱温 30 ℃;进样量 10 μL。结果对照品和供试品色谱图呈现良好的分离度^[16]。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution procedures

t/min	Acetonitrile/%	Glacial acetic acid/%
0	25	75
60	30	70
100	35	65
120	45	55

1.3.2 对照品溶液的制备 分别取高乌甲素对照品、乌头碱对照品、次乌头碱对照品、新乌头碱对照品、冉乌头碱对照品、去乙酰冉乌头碱对照品、去乙酰高乌甲素对照品 2.0 mg 并精密称定,用色谱级乙腈定容配置成 1.0 mg/mL 的对照品溶液。

1.3.3 供试品溶液的制备 白喉乌头生品 将白喉乌头干燥块根碾成粉末(过 6 号筛),取约 5 g 并精密称定,加入氨试液 5 mL 密闭浸润后加入 50 mL 无水乙醇称定质量,超声(23 ℃, 53 kHz)提取 20 min 后再次称定质量并用无水乙醇补足,过滤,滤液 60 ℃以下挥干;残渣加 20 mL 1% HCl 调 pH 2 左右,再加入氨水调 pH 11 左右,然后用三氯甲烷萃取 3 次(每次 10 mL),合并三氯甲烷层并 60 ℃以下挥干,残渣加乙腈定容至 5 mL 容量瓶,微孔滤膜滤过,取续滤液,即得^[15]。

白喉乌头炮制品 取白喉乌头干燥块根,洗净,加 10 倍量水浸泡,然后取 8%甘草和 10%黑豆与白喉乌头共煮(浸泡 24 h、煎煮 4 h),取出晾干或烘干后,备用,待干燥后碾成粉末(过 6 号筛),其余方法同 2.3.1。

细胞实验供试品 取白喉乌头生品及炮制品的干燥块根各 150 g,加 8 倍量水浸泡 30 min,加热使其煮沸 30 min,4 层纱布过滤,重复 3 次,合并 3 次滤液,按照水煎液与 95%乙醇 5:2 比例加入 95%乙醇,置 4 ℃冰箱 80 h,以 2000 r/min 转速离心 12 min,取上清液置于 65 ℃恒温水浴锅内,浓缩为 3 倍药液,以供细胞实验使用。

成分变化率 = (白喉乌头炮制品峰面积 - 白喉乌头生品峰面积) / 白喉乌头生品峰面积

1.3.4 细胞培养 采用大鼠心肌 H9c2 细胞系(购于武汉博士德生物工程公司,货号: CX0125)。将 H9c2 细胞培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液中,置 37 ℃、5% CO₂ 的恒温培养箱中培养。

1.3.5 细胞接种 当 H9c2 细胞培养至超过培养瓶底部 80% 时,去培养液后用 PBS 清洗、离心,加入新的培养液混匀,取 10 μL 混悬液进行细胞计数,算出混悬液细胞浓度,稀释到相应浓度接种到 96 孔板细胞培养板中,每孔加入含有 2×10⁴ 个

H9c2 细胞的 100 μL 混悬液, 继续在 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 24 h。

1.3.6 细胞给药 将 96 孔板的细胞分为空白组 (不含细胞)、对照组、白喉乌头生品组 (5000、2500、1250、625、312.5 $\mu\text{g/mL}$)、白喉乌头炮制组 (5000、2500、1250、625、312.5 $\mu\text{g/mL}$), 每组设 3 个复孔。倒去旧液, 给药组各孔加入 200 μL 药液, 其余各组加入同体积的完全培养基, 边缘孔加入 200 μL PBS, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 48 h, 换新培养液, 每孔加入 20 μL 现配的 MTT 溶液, 继续在 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 4 h。弃去上清液, 每孔加入 150 μL DMSO, 摇床震荡 10 min 后用酶标仪检测 490 nm 波长处的吸光度值。

细胞抑制率 = $1 - [(\text{实验组细胞 OD 值} - \text{空白组细胞 OD 值}) / (\text{对照组细胞 OD 值} - \text{空白组细胞 OD 值}) \times 100\%]$

1.4 数据处理

统计学方法采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析, 组间采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 进行统计学分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 白喉乌头生品及炮制品成分含量变化

经考察比较白喉乌头及炮制品色谱图发现, 白喉乌头经炮制后乌头碱和次乌头碱的峰面积明显下降, 与生品相比下降率分别 45.1 % 和 74.5 %; 去乙酰高乌甲素峰面积明显升高, 与生品相比升高率为 62.2 %, 可能是因为高乌甲素水解反应生成去乙酰高乌甲素; 高乌甲素、再乌头碱及去乙酰再乌头碱的峰面积基本保持不变; 未知成分 (编号 8) 的峰面积有所下降; 炮制后新增五种成分 (编号 I - V), 具体成分有待进一步研究。见图 1、表 2。

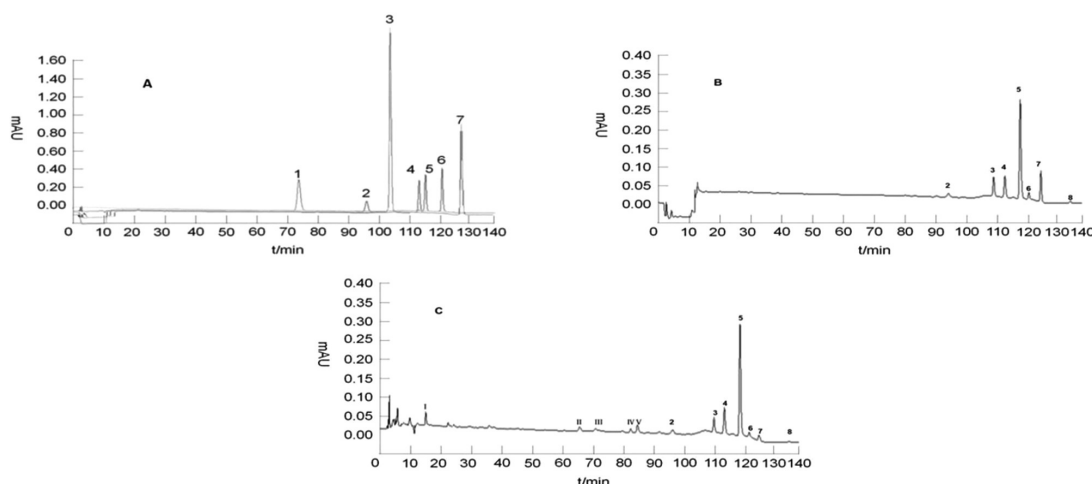


图 1 白喉乌头生品及炮制品高效液相色谱图

注: A 对照品 B 生品供试品 C 炮制品供试品

1 新乌头碱 2 高乌甲素 3 乌头碱 4 再乌头碱 5 去乙酰再乌头碱 6 去乙酰高乌甲素 7 次乌头碱

Fig.1 High performance liquid chromatography of raw and processed A. leucostomum

Note: A Reference substance B Raw A. leucostomum C Processed A. leucostomum

1 Mesaconine 2 Lappaconitine 3 Aconitine 4 Ranaconitine

5 N-deacetylranaconitine 6 N-deacetylappaconitine 7 Hypoaconitine.

表 2 各生物碱含量的变化测定结果

Table 2 Results of content determination of various alkaloids

Name	Peak time (min)	Number	Peak area	Rate of change (%)
Raw A. leucostomum	95	2	796857	
	110	3	2451627	
	114	4	2446145	
	119	5	10558176	
	122	6	664098	
	126	7	2757599	
	136	8	251333	
Processed A. leucostomum	15	I	972281	\
	66	II	524189	\
	71	III	288040	\
	83	IV	384095	\

86	V	965989	\
95	2	675489	-15.2%
110	3	1345077	-45.1%
114	4	2778802	+13.6%
119	5	11597517	+9.8%
122	6	1077001	+62.2%
126	7	678120	-74.5%
136	8	112428	-55.27%

2.2 白喉乌头生品及炮制品提取液对 H9c2 心肌细胞毒性作用

与空白对照组相比,随着给药浓度的增加,细胞皱缩成圆形、椭圆形及不规则形状的程度加深,细胞胞体的折光性下降,细胞胞浆深色沉积斑点增多。将白喉乌头生品及炮制品提取液分别配制成 5000 $\mu\text{g/mL}$ 、2500 $\mu\text{g/mL}$ 、1250 $\mu\text{g/mL}$ 、625 $\mu\text{g/mL}$ 、312.5 $\mu\text{g/mL}$ 浓度的药液,48 h 后,白喉乌头生品对 H9c2 细胞的抑制率分别为 $85.93 \pm 3.42\%$ 、 $43.12 \pm 4.30\%$ 、 $30.52 \pm 5.63\%$ 、 $21.39 \pm 1.76\%$ 、 $11.24 \pm 2.33\%$;其炮制品对 H9c2 细胞抑制率明显降低($P < 0.05$),分别为 $62.93 \pm 1.53\%$ 、 $32.65 \pm 7.16\%$ 、 $18.30 \pm 5.48\%$ 、 $15.10 \pm 5.92\%$ 、 $6.56 \pm 5.42\%$,白喉乌头生品及炮制品的 IC_{50} 分别是 1826.70 $\mu\text{g/mL}$ 、3192.48 $\mu\text{g/mL}$ 。见图 2、表 3。

3 讨论

本文使用的哈萨克炮制法来源于吾买尔夏提等编著的《新疆药用乌头的民族植物学》,该方法较成熟且为乌头类药物的常用炮制方法,具有一定的代表性。炮制方法中加入的甘草及黑豆,对减毒效果产生一定的积极作用^[17],甘草作为炮制辅料在提高药效的同时^[18],能降低毒性和副作用^[19],也有研究表明,甘草甜素对毒性成分具有一定吸附性,使毒性降低^[20];黑豆作为炮制辅料也同样能降低毒副作用^[21]。

白喉乌头是毒性药材,课题组前期研究表明,白喉乌头的 LD_{50} 为 3.21 g/kg,其中二萜类生物碱是乌头属药材的主要药物活性成分,也是毒性成分^[22,23]。有文献报道,白喉乌头中高乌甲素、去乙酰高乌甲素、乌头碱、去乙酰乌头碱均具有抗心律失常活性^[24,25],同时乌头碱有导致心律失常的毒副作用^[26],乌头碱通过兴奋迷走神经,大量释放乙酰胆碱,诱发窦性心律过缓,严重可导致窦性停搏^[27]。因此,如何在降低毒性的同时,保证其安全有效地应用于临床成为近年来白喉乌头的研究热点。

本研究中,乌头碱及次乌头碱含量明显降低,因其加热水解成亲水性较强的单酯型生物碱——苯甲酰乌头碱后其毒理性降低,仅为乌头碱的 1/200;同时再进一步水解成氨基醇类生物碱——乌头原碱,则其毒性再次降解到乌头碱毒性的 1/2000^[28],炮制后产生的生物碱可能含有水解成份苯甲酰乌头碱及乌头原碱;去乙酰高乌甲素具有一定毒性,其毒性较高乌甲素弱^[29,30],经过炮制,去乙酰高乌甲素峰面积明显升高,说明其含量增加,可能是因为高乌甲素水解反应生成去乙酰高乌甲素^[29],毒性进一步降低;炮制后,乌头碱及去乙酰乌头碱的峰面积基本保持不变,说明炮制前后其含量无明显差异,可能是因为其较

难水解;同时,乌头碱及去乙酰乌头碱作为白喉乌头的药物活性成分,炮制后其含量保持不变对炮制品的药物功效有一定积极作用,本研究结合 MTT 比色法进行细胞毒性实验为后续研究成分、毒理及药效之间的关系提供了依据。

正常 H9c2 心肌细胞呈长梭形^[31],前期实验研究发现,药物干预 4 h、12 h 细胞形态无明显变化且略出现增殖现象^[15],24 h 后出现脱壁死亡现象,故选择了 48 h 的药物干预时间。

综上所述,通过研究哈萨克炮制方法对白喉乌头的炮制减毒作用及白喉乌头炮制前后生物碱成分的变化及炮制后细胞毒性的降低,确定白喉乌头的炮制减毒存效方法,进而为白喉乌头安全有效的应用于临床奠定了基础。

参考文献(References)

- [1] 范宏,刘素红,陈吉军,等.基于深度学习的白喉乌头与牧草高精度分类研究[J].江苏农业科学,2021,49(12):173-180
- [2] Yang J L, Zhao F C, Nie J H. Anti-rheumatic effects of Aconitum leucostomum Worosch. on human fibroblast-like synovioocyte rheumatoid arthritis cells.[J]. Experimental and therapeutic medicine, 2017, 14(1): 453-460
- [3] 方玉平,常静,马龙.新源县防除草原白喉乌头毒害草的措施和成效[J].农家参谋,2021,(04):189-190
- [4] 范宏.基于 UAV 影像的草原毒害草识别检测方法研究[D].新疆大学,2020
- [5] 艾星.白喉乌头化学成分的研究[D].西南交通大学,2016
- [6] 新疆生物土壤沙漠研究所.新疆药用植物志(第一册)[M].乌鲁木齐:新疆人民出版社,1977
- [7] Nie J H, Wang F, Teng F J, et al. Assessment of in vitro cardiotoxicity of extract fractions and diterpene alkaloids from Aconitum leucostomum Worosch: A short communication [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2017, 137: 84-89
- [8] Li Y, Zeng J, Tian Y H, et al. Isolation, identification, and activity evaluation of diterpenoid alkaloids from Aconitum sinomontanum[J]. Phytochemistry, 2021, 190: 112880-112880
- [9] Wang Y Y, Liu H Z, Cao M, et al. Mechanism of miRNA-based Aconitum leucostomum Worosch. Monomer inhibition of bone marrow-derived dendritic cell maturation [J]. International Immunopharmacology, 2020, 88: 106791
- [10] Nesterova Yu V, Povet'yeva T N, Suslov N I, et al. Analgesic activity of diterpene alkaloids from Aconitum baikalensis. [J]. Bulletin of experimental biology and medicine, 2014, 157(4): 488-491
- [11] Vakhitova Y V, Farafontova E I, Khisamutdinova R Y, et al. A study of the mechanism of the antiarrhythmic action of Allapinin[J]. Russian Journal of Bioorganic Chemistry, 2013, 39(1): 92-101

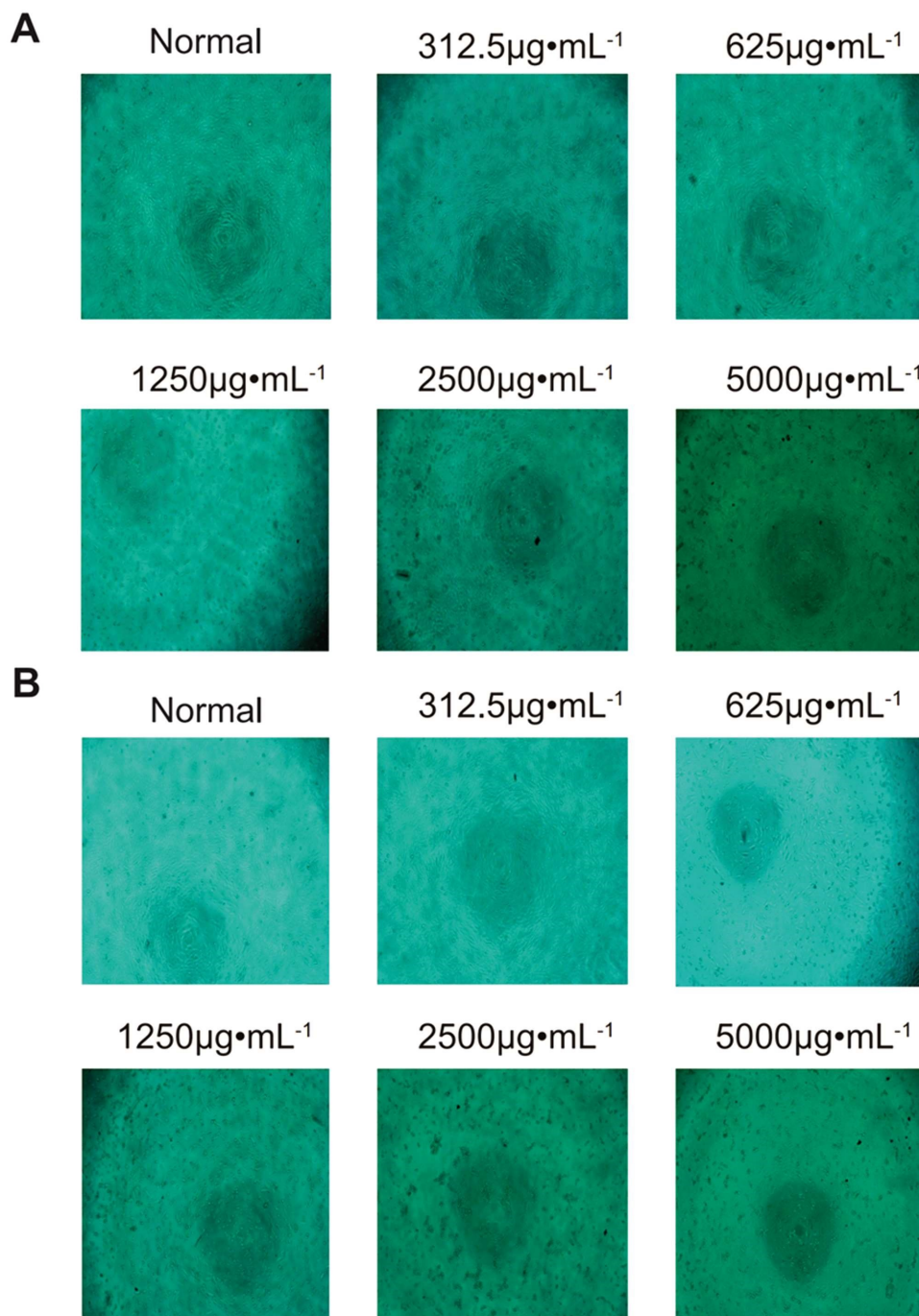


图2 白喉乌头生品及炮制品对 H9c2 心肌细胞形态影响

注:A 生品提取液 B 炮制品提取液。

Fig.2 The effects of raw and processed *A. leucostomum* Worosch on the morphology of H9c2 cardiomyocytes

Note: A Raw *A. leucostomum* Worosch B Processed *A. leucostomum* Worosch.

- [12] Thawabteh A M, Thawabteh A, Lelario F, et al. Classification, Toxicity and Bioactivity of Natural Diterpenoid Alkaloids [J]. *Molecules*, 2021, 26(13): 4103-4103
- [13] Ye Q, Liu H, Fang C X, et al. Cardiotoxicity evaluation and comparison of diterpene alkaloids on zebrafish[J]. *Drug and chemical toxicology*, 2019, pp: 1-8
- [14] 李谦, 过立农, 郑健, 等. 乌头属药用植物的研究进展[J]. *药物分析杂志*, 2016, 36(07): 1129-1149
- [15] 汪芳. 白喉乌头生物碱成分及心肌细胞毒性的研究[D]. 新疆医科大学, 2015
- [16] 王伟, 赵翡翠, 陈良, 等. HPLC 法同时测定白喉乌头中高乌甲素、乌头碱、新乌头碱[J]. *中成药*, 2014, 36(04): 796-799
- [17] Pan J H, Yan G J, Song J. The determination of aristolochic acid A in different processed *Aristolochia manshuriensis* and the test of influence about renal function in rats[J]. *journal of chinese medicinal materials*, 2010, 33(8): 1228
- [18] Wang Y, Jiang X, Wang Z, et al. Analytical Methods with Qualitative HPLC Fingerprint and Quantitative Measurement of Effective Components of Processed *Asari Radix et Rhizoma* [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2015, 38(7): 1388
- [19] Li S H, Yu H L, Wu H, et al. Effect of *Pinelliae Rhizoma* processed with lime and licorice on toxic lectin protein[J]. *Zhongguo Zhong yao*

表3 白喉乌头生品及炮制品对 H9c2 心肌细胞的毒性作用

Table 3 Toxic Effects of Raw and Processed *A. leucostomum* Worosch on H9c2 Cardiomyocytes

Name	Concentration(μ g/mL)	Inhibitory rates(%)	IC ₅₀
Normal	0	0	
Raw <i>A. leucostomum</i> Worosch	5000	85.93 $\pm$ 3.42	
	2500	43.12 $\pm$ 4.30	
	1250	30.52 $\pm$ 5.63	1826.70
	625	21.39 $\pm$ 1.76	
	312.5	11.24 $\pm$ 2.33	
Processed <i>A. leucostomum</i> Worosch	5000	62.93 $\pm$ 1.53*	
	2500	32.65 $\pm$ 7.16*	3192.48
	1250	18.30 $\pm$ 5.48*	
	625	15.10 $\pm$ 5.92*	
	312.5	6.56 $\pm$ 5.42*	

Note : Compared with the raw *A. leucostomum* * P <0.05.

za zhi = Zhongguo zhongyao zazhi = China journal of Chinese materia medica, 2020, 45(11): 2546-2551

- [20] Minsart C, Rorive S, Lemmers A, et al. N-acetylcysteine and glycyrrhizin combination:Benefit outcome in a murine model of acetaminophen-induced liver failure[J]. World Journal of Hepatology, 2020, 12(09): 68-90
- [21] Han L F, Wang P, Wang Y L, et al. Rapid Discovery of the Potential Toxic Compounds in Polygonum multiflorum by UHPLC/Q-Orbitrap-MS-Based Metabolomics and Correlation Analysis [J]. Frontiers in pharmacology, 2019, 10: 329-329
- [22] Zhou W, Liu H, Qiu L Z, et al. Cardiac efficacy and toxicity of aconitine: A new frontier for the ancient poison [J]. Medicinal Research Reviews, 2021, 41(3): 1798-1811
- [23] Dzhakhangirov F N, Kasymova K R, Sultankhodzhaev M N, et al. Toxicity and local anesthetic activity of diterpenoid alkaloids [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2007, 43(5): 581-589
- [24] Ageeva A A, Khramtsova E A, Plyusnin V F, et al. A photochemical approach for evaluating the reactivity of substituted lappaconitines. [J]. Photochemical & photobiological sciences: Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology, 2018, 17(2): 192-199
- [25] Bryzgalov A O, Romanov V E, Tolstikova T G, et al. Lappaconitine: influence of halogen substituent on the antiarrhythmic activity [J]. Cardiovasc Hematol Agents Med Chem, 2013, 11: 211-217
- [26] Pan M C, Zhou X W, Liu Y, et al. Research Progress on the Molecular Mechanisms of Toxicology of Ethanol-Aconitine Induced Arrhythmia[J]. Fa Yi Xue Za Zhi, 2020, 36(1): 115-119
- [27] Chan T Y. Aconite poisoning presenting as hypotension and bradycardia [J]. Human & Experimental Toxicology, 2009, 28(12): 795-797
- [28] Zhang H, Sun S, Zhang W, et al. Biological activities and pharmacokinetics of aconitine, benzoyleaconine, and aconine after oral administration in rats [J]. Drug testing and analysis, 2016, 8 (8): 839-846
- [29] Yang S, Zhang H, Beier R C, et al. Comparative metabolism of Lappaconitine in rat and human liver microsomes and in vivo of rat using ultra high-performance liquid chromatography-quadrupole/time-of-flight mass spectrometry [J]. Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis, 2015, 110: 1-11
- [30] Angelica M B, Alejandro A N. A QSAR analysis of toxicity of Aconitum alkaloids[J]. Fundamental & Clinical Pharmacology, 2004, 18(6): 699-704
- [31] Grasieli D O, Paccielli F P, Mieko O, et al. Osteoglycin post-transcriptional regulation by miR-155 induces cellular architecture changes in H9c2 cardiomyoblasts[J]. Gene, 2018, 676: 9-15