

戊己丸活性成分及质量控制的研究进展

钮英杰^{1*}, 袁瑾², 蔡巧玲², 孟祥乐^{2,3,4}(1.朱家角人民医院药剂科, 上海 201713; 2.上海中医药大学中药学院, 上海 201203; 3.上海交通大学附属第六人民医院药剂科, 上海 200233; 4.河南中医学院第一附属医院药学部, 郑州 450000)

中图分类号 R284.1; R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)07-0667-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.07.33

摘要 目的: 为戊己丸的进一步开发提供质量控制方面的参考。方法: 查阅近年来国内、外文献, 对有关戊己丸活性成分药理作用及质量控制的文献进行分析和归纳。结果与结论: 戊己丸的活性成分具有广泛的药理作用。目前质量控制方式主要有紫外分光光度法、薄层色谱法、高效液相色谱法、高效毛细管电泳法等, 但纳入研究的只有几个成分, 这与中药复方多成分质量控制研究还有较大差距, 应加大这方面的研究力度。

关键词 戊己丸; 活性成分; 质量控制; 高效液相色谱法; 研究进展

戊己丸出自宋代《太平惠民合剂局方》, 为棕黄色的水丸, 味苦, 稍有麻辣感, 处方由黄连、(炒)白芍、(制)吴茱萸3味中药组成, 具有泻肝和胃、降逆止呕之功效, 用于治疗肝火犯胃、肝胃不和所致的胃脘灼热疼痛、呕吐吞酸、口苦嘈杂、腹痛泄泻^[1]等证状, 临床常用于治疗胃溃疡^[2]。戊己丸作为治疗胃肠道疾病, 特别是胃溃疡的经典方剂, 其组方用药精准, 所含有效成分较多。方中黄连的主要活性成分是小檗碱、巴马汀、药根碱、黄连碱等; 白芍含有芍药苷、牡丹酚、氧化芍药苷、苯甲酸等成分; 吴茱萸含有吴茱萸碱、次吴茱萸碱等成分。为了保证戊己丸的安全性及有效性, 质量控制的方法与手段研究日趋重要。2005年版《中国药典》中戊己丸项下含量测定是用酸性甲醇索氏提取, 乙醇洗脱氧化铝柱分离后, 紫外分光光度法测定盐酸小檗碱的含量。2010年版《中国药典》中戊己丸项下采用高效液相色谱(HPLC)法测定盐酸小檗碱和芍药苷的含量。本文重点就近年来戊己丸活性成分药理作用及质量控制相关内容进行综述, 并对其进展进行评价。

1 活性成分及药理作用

1.1 黄连

黄连为毛茛科植物黄连(*Coptis chinensis* Franch)的根茎。有效成分有生物碱类化合物, 如小檗碱、巴马汀、药根碱、黄连碱、甲基黄连碱、表小檗碱和木兰花碱等; 也有酸性成分, 如阿魏酸、绿原酸等。其中, 生物碱类成分在抗HIV-1活性化合物中占有重要地位^[3], 具有保肝、解痉、抗肿瘤等功效^[4-5]; 小檗碱能抗氧化刺激, 保护胆碱功能^[6], 对四氯化碳诱导的大鼠急性肝毒性有保护作用^[7]; 巴马汀能改善急性心肌损伤^[8], 抑制钙钾电流从而保护肝脏细胞^[9]; 药根碱能降低糖尿病大鼠血糖指数^[10-11], 对过氧化氢导致细胞损伤具有神经保护作用^[12]。另外, 有大量研究表明, 黄连具有广谱的抗菌作用, 对链球菌、肺炎球菌、霍乱弧菌、肺炎杆菌、白喉杆菌、百日咳杆菌等均有抑菌作用^[13]; 对耐药菌也有较好的抑制作用, 如对耐喹诺酮类药物的金黄色葡萄球菌有抑制作用^[14], 对耐第1、第2、第3代 β -内酰胺类抗生素的AmpC酶有较好的抑制作用^[15-17]。

1.2 白芍

* 中药师。研究方向: 医院药学。电话: 021-59232072。E-mail: nyingjie2002@126.com

白芍为毛茛科植物芍药(*Paeonia lactiflora* Pall)的干燥根。主要成分为芍药苷、牡丹酚、氧化芍药苷、苯甲酸等。其中, 芍药苷具有神经保护作用^[18]。有研究表明, 向大鼠海马组织内注射Abeta(1-42)寡聚物可增加钙离子内流产生细胞毒性, 造成大鼠海马功能障碍, 而持续给予芍药苷可抑制海马神经元凋亡, 缓解大鼠认知障碍, 其机制可能与芍药苷显著降低细胞内钙离子有关^[19]。体外研究发现, 芍药苷可延迟整流钾离子电流及抑制电压依赖性钠离子电流, 且显著减少神经元的自发放电频率, 从而调节神经内分泌^[20]。Huang KS等^[21]通过体内、外实验发现, 芍药水溶液与芍药苷混合制成的芍药提取物可以显著提高PC12细胞的生长, 提高大鼠坐骨神经的再生速度, 说明芍药提取物有潜在的神经生长促进作用。吴玲善等^[22]采用血清药理学, 研究芍药苷含药血清对人肝癌细胞Bel-7402增殖的影响, 利用MTT比色法发现20%的芍药苷血清对人肝癌细胞Bel-7402的抑制率最高, 与阿霉素血清的作用相当。

1.3 吴茱萸

吴茱萸为芸香科植物吴茱萸(*Medicinal Evodia* Fruit.)及其变种石虎[*Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth.var.officinalis (Dode) Huang]的干燥将近成熟果实。主要成分为生物碱类化合物, 包括吴茱萸碱、吴茱萸次碱、去氢吴茱萸碱、吴茱萸卡品碱、二氢吴茱萸卡品碱等; 也有苦味素类化合物, 包括柠檬苦素、吴茱萸苦素、吴茱萸苦素乙酯、吴茱萸内酯醇等; 还有挥发油类化合物, 包括月桂烯、吴茱萸烯等。有研究表明, 吴茱萸次碱能促进内源性降钙素相关基因多肽的释放, 激活辣椒素受体, 从而对抗由乙酰水杨酸引起的急性大鼠胃黏膜损伤^[23]。吴茱萸碱对大鼠心肌缺血再灌注损伤有一定的保护作用, 能提高大鼠血浆中内源性降钙素相关基因多肽的表达, 降低肿瘤坏死因子的生成, 从而显著降低心肌梗死程度^[24]。有研究表明, 吴茱萸碱可促进细胞凋亡, 抑制细胞增殖和抑制癌细胞的转移。通过原位分析技术发现, 吴茱萸碱可抑制微管蛋白多聚化和纺锤体的形成, 其N-14位上的甲基和C-13位上的氢与吴茱萸碱的抗肿瘤活性有很大的相关性^[25]。去氢吴茱萸碱能抑制小鼠脑粒细胞中谷氨酸的摄取和释放, 兴奋神经系统^[26]。另有研究表明, 通过3d给雄性小鼠连续灌胃吴茱萸次碱, 用Western blot技术可检测到其肝脏代谢酶P₄₅₀(CYP)1A和CYP2B

表达的上调,显示吴茱萸次碱可诱导肝脏代谢酶P450的生成^[27]。Iwata H等发现,吴茱萸次碱和柠檬苦素可抑制人肝脏代谢酶CYP3A4的活性^[28]。

2 质量控制和评价

2.1 质量控制模式

在中药质量控制方面,主要有化学药模式、指纹图谱技术、生物效应模式、血清药效物质基础控制模式以及工程控制论模式。对于戊己丸,目前主要采用化学药模式、指纹图谱技术,利用现代分析技术手段对其主要化学成分进行含量测定。但研究主要集中在对黄连的活性成分小檗碱上,而对其他活性成分的研究较少。因此,对戊己丸中各活性成分应全面研究,才能更好的了解戊己丸的内在质量。

在指纹图谱研究上,主要有紫外分光光度(UV)、薄层色谱(TLC)、高效毛细管电泳(HPCE)、HPLC等方法,它们为系统控制和评价戊己丸的质量提供方法和技术上的支持。

2.2 现代分析技术

2.2.1 UV法 王义海等^[29]采用内比-UV法,将戊己丸成方的各指标成分分别与各单味药减半时的各指标成分的吸光度相比,将比值作为质量控制指标。黄莺等^[30]采用多波长紫外-可见吸收光谱法对戊己丸进行质量控制,考察了线性组合方式及试样提取方法对测定的影响。结果,线性组合法可有效消除重选光谱组分的正干扰,该法准确、简单、快速,戊己丸中盐酸小檗碱回收率高达99%。

2.2.2 TLC法 张夕村等^[31]用双波长薄层扫描法鉴定戊己丸中各单味药的存在。以硅胶G为固定相,正丁醇-醋酸-水为流动相,薄层分离之后,用双波长扫描法得到扫描图谱,然后用标准药材作阴、阳性对照,鉴别出戊己丸中各单味药。焦庆才^[32]用薄层光密度法,以硅胶GF₂₅₄为吸附剂,正丁醇、水、冰乙酸的混合溶剂作为展开剂,系统地分离了戊己丸中各有效成分。

2.2.3 HPLC法 该法是戊己丸质量控制中最常见的方法。展雪峰等^[33]采用HPLC法测定戊己丸中盐酸小檗碱的含量,色谱柱为EMG C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为0.033 mmol/L磷酸二氢钾溶液-乙腈(61:39, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为266 nm。所得结果准确,重现性好。俞学炜^[34]用HPLC法测定戊己丸中盐酸小檗碱的含量,色谱柱为Shim-pack CLC-DDS,流动相为乙腈-0.01 mol/L磷酸二氢钾溶液(含0.002 mol/L十二烷基磺酸钠,pH 4.8, 50:50, V/V),检测波长为345 nm,柱温为室温,流速为1.0 ml/min。该方法简便、快速。凌丽美^[35]用HPLC法测定戊己丸中盐酸小檗碱含量,色谱柱为Gemini C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.05 mol/L磷酸二氢钾(用100 g/L氢氧化钾溶液调pH 5.0, 35:65, V/V),检测波长为246 nm,流速为1.0 ml/min,柱温为25℃,该测定方法简便、快速而准确。金佩芬等^[36]用HPLC法测定戊己丸中盐酸小檗碱和盐酸巴马汀的含量,色谱柱为Hypersil C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为0.033 mol/L磷酸二氢钾溶液-乙腈(90:40, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为265 nm,柱温为室温。此方法分离效果较好。谭生建等^[37]用HPLC法测定戊己丸中吴茱萸碱和吴茱萸次碱含量,色谱柱为Intersil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-10%乙腈(50:50, V/V),流速为1 ml/min,检测波长为225 nm,该方法简便、可行。李荣东等^[38]利用HPLC法比较超微戊己丸和常规戊己丸中芍药苷的含量,色谱柱为Hypersil C₁₈(250 mm×4.6 mm,

5 μm),流动相为乙腈-水(14:86, V/V),流速为1 ml/min,检测波长为230 nm。结果,方法回收率均在95%以上,且超微戊己丸中芍药苷的含量明显高于常规戊己丸。HPLC法在戊己丸的含量测定中应用广泛,且以黄连活性成分盐酸小檗碱的含量来评价戊己丸较为常用。

2.2.4 HPCE法 罗敏等^[39]用HPCE法测定戊己丸中盐酸小檗碱和芍药苷的含量,测定缓冲液为50 mmol/L硼砂溶液-甲醇溶液(1/1.5, V/V),未涂层石英毛细管(50 μm×64.5 cm,有效长度:57.1 cm)为分离通道,操作电压为30 kV,检测波长为230 nm,压力进样为1.5 kPa×8 s,柱温为25℃。该方法快速、准确。近年随着科学技术的进一步发展,HPCE分析大多采用内径更细的毛细管,这样使焦耳热降低到最低程度,改善了以前谱带展宽等问题,柱效得以提高。罗东玲等^[40]利用HPCE-胶束电动色谱(MEKC)法测定戊己丸中吴茱萸碱和吴茱萸次碱含量,选用甲醇超声提取45 min,以225 nm作为测定波长,采用MEKC模式进行分离,选用50 mmol/L硼砂溶液(含SDS 50 mmol/L)-甲醇溶液(1.3:1, V/V)为缓冲液。结果,方法稳定,回收率好,且柱效远高于HPLC法。

3 结语

戊己丸作为治疗胃肠道疾病,特别是胃溃疡的经典方剂,具有高度实用价值。现代社会胃肠道疾病常见,可以考虑在戊己丸传统丸剂的基础上改变剂型,使其在胃溃疡部位停留时间更长,更好的发挥疗效。比如采用胃悬浮剂型,将戊己丸制成胃内滞留制剂,有效地调节药物释放与吸收^[41],使戊己丸的研究有更大的空间。这就迫切需要建立更加科学的戊己丸质量控制方法。目前,已有用HPLC法单独检测戊己丸中的盐酸小檗碱、芍药苷、盐酸巴马汀、吴茱萸碱和吴茱萸次碱的报道,却没有同时测定芍药苷、黄连生物碱类与吴茱萸生物碱类成分的含量以及戊己丸体内质量控制的报道。而现在的LC-MS/MS技术可以解决同时检测多种成分、基质复杂的样品的难题,它具有灵敏度高、快速高效的特点。本课题组已在进行相关方面的工作,希望能为戊己丸的开发提供质量控制方法的参考。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社, 2010:637.
- [2] 谭琥, 刘柏炎, 蔡莹, 等. 超微戊己丸治疗肝胃郁热型胃溃疡临床研究[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2010, 18(1):10.
- [3] Zhang X, Huang N, Zheng YT. Advances in the study of anti-HIV natural compounds derived from traditional Chinese medicines [J]. *Acta Pharm Sin*, 2010, 45(2):141.
- [4] Zhao M, Xian YF, Ip SP, et al. A new and weakly antispasmodic protoberberine alkaloid from *Rhizoma Coptidis* [J]. *Phytother Res*, 2010, 24(9):1414.
- [5] Tang J, Feng Y, Tsao S, et al. Berberine and *Coptidis rhizoma* as novel antineoplastic agents: a review of traditional use and biomedical investigations [J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 126(1):5.
- [6] Bhutada P, Mundhada Y, Bansod K, et al. Protection of cholinergic and antioxidant system contributes to the effect of berberine ameliorating memory dysfunction in rat

- model of streptozotocin-induced diabetes [J]. *Behav Brain Res*, 2011, 220(1):30.
- [7] Feng Y, Siu KY, Ye X, *et al.* Hepatoprotective effects of berberine on carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in rats [J]. *Chin Med*, 2010(5):33.
- [8] Kim YM, Ha YM, Jin YC, *et al.* Palmatine from *Coptidis rhizoma* reduces ischemia-reperfusion-mediated acute myocardial injury in the rat [J]. *Food Chem Toxicol*. 2009, 47(8):2 097.
- [9] Wang F, Zhou HY, Cheng L, *et al.* Effects of palmatine on potassium and calcium currents in isolated rat hepatocytes [J]. *World J Gastroenterol*. 2003, 9(2):329.
- [10] Fu Y, Hu B, Tang Q, *et al.* Hypoglycemic activity of jatrorrhizine[J]. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci*, 2005, 25(5):491.
- [11] Patel MB, Mishra S. Hypoglycemic activity of alkaloidal fraction of *Tinospora cordifolia* [J]. *Phytomedicine*, 2011, 18(12):1 045.
- [12] Luo T, Zhang H, Zhang WW, *et al.* Neuroprotective effect of jatrorrhizine on hydrogen peroxide-induced cell injury and its potential mechanisms in PC12 cells [J]. *Neurosci Lett*, 2011, 498(3):227.
- [13] 刘如玉, 陈守涛. 黄连等8种中药对常引起医院内感染的条件致病菌体外抗菌活性检测[J]. 福建中医学院学报, 2004, 14(2):26.
- [14] 李俊超, 赵迎虎, 李伟琪, 等. 黄连提取物对耐药金黄色葡萄球菌的体外抑菌试验[J]. 中兽医医药杂志, 2009(3):34.
- [15] Girlich D, Naas T, Bellais S, *et al.* Heterogeneity of AmpC cephalosporinases of *hafnia alvei* clinical isolates expressing inducible or constitutive ceftazidime resistance phenotypes[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, 44(11):3 220.
- [16] Kenneth T, Ellen M. Version 2000: the new beta-lactamases of Gram-negative bacteria at the dawn of the new millennium[J]. *Microbes Infect*, 2000, 2(6):1 225.
- [17] 刘东梅, 毕建成. 黄芩黄连乌梅金银花败酱草对产AmpC β -内酰胺酶细菌的体外抑菌作用 [J]. 河北中医, 2008, 30(6):654.
- [18] 朱叶芳, 党姗姗, 华子瑜. 芍药苷神经保护机制的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2010, 35:1 490.
- [19] Zhong SZ, Ge QH, Li Q, *et al.* Peoniflorin attenuates Abeta(1-42)-mediated neurotoxicity by regulating calcium homeostasis and ameliorating oxidative stress in hippocampus of rats [J]. *J Neurol Sci*, 2009, 280(1/2):71.
- [20] Tsai TY, Wu SN, Liu YC, *et al.* Inhibitory action of L-type Ca^{2+} current by paeoniflorin, a major constituent of peony root, in NG108-15 neuronal cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2005, 523(1/3):16.
- [21] Huang KS, Lin JG, Lee HC, *et al.* *Paeoniae alba* Radix promotes peripheral nerve regeneration[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2009, 2011(2011):109 809.
- [22] 吴玲善, 晏雪生, 刘新莲, 等. 血清药理学方法观察芍药苷对人肝癌细胞 Bel-7402 增殖的影响[J]. 中西医结合肝病杂志, 2006, 16(5):278.
- [23] Wang L, Hu CP, Deng PY, *et al.* The protective effects of rutaecarpine on gastric mucosa injury in rats [J]. *Planta Med*, 2005, 71(5):416.
- [24] Rang WQ, Du YH, Hu CP, *et al.* Protective effects of evodiamine on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats[J]. *Planta Med*, 2004, 70(12):1 140.
- [25] Huang DM, Guh JH, Huang YT, *et al.* Induction of mitotic arrest and apoptosis in human prostate cancer PC-3 cells by evodiamine [J]. *J Urol*, 2005, 173(1):256.
- [26] Lim DK, Lee YB, Kim HS. Effects of dehydroevodiamine exposure on glutamate release and uptake in the cultured cerebellar cells[J]. *Neurochem Res*, 2004, 29(2):407.
- [27] Lee SK, Kim NH, Lee J, *et al.* Induction of cytochrome P450s by rutaecarpine and metabolism of rutaecarpine by cytochrome P450s [J]. *Planta Med*, 2004, 70(8):753.
- [28] Iwata H, Tezuka Y, Kadota S, *et al.* Mechanism-based inactivation of human liver microsomal CYP3A4 by rutaecarpine and limonin from *Evodia* fruit extract [J]. *Drug Metab Pharmacokin*, 2005, 20(1):34.
- [29] 王义海, 陈建国, 周长征, 等. 内比-紫外分光光度法对戊己丸的质量控制[J]. 山东中医药大学学报, 1999, 23(6):459.
- [30] 黄莺, 徐爱良, 余丹辉, 等. 多波长紫外可见吸收光谱法[J]. 中成药, 1998, 20(4):9.
- [31] 张夕村, 张荣. 戊己丸的双波长薄层扫描鉴定[J]. 沈阳药学院学报, 1986, 3(2):113.
- [32] 焦庆才. 薄层光密度法测定中成药戊己丸中的有效成分[J]. 中国药科大学学报, 1987, 18(3):179.
- [33] 展雪峰, 张翠萍. HPLC法测定戊己丸中盐酸小檗碱的含量[J]. 齐鲁药事, 2004, 23(1):27.
- [34] 俞学炜. HPLC法测定戊己丸中盐酸小檗碱含量[J]. 苏州医学院学报, 1999, 19(4):377.
- [35] 凌丽美. HPLC测定戊己丸中盐酸小檗碱含量[J]. 安徽中医学院学报, 2008, 27(6):52.
- [36] 金佩芬, 缪华蓉, 钱亚萍, 等. HPLC测定戊己丸中盐酸小檗碱和盐酸巴马汀的含量[J]. 中成药, 2001, 23(1):24.
- [37] 谭生建, 赵炳成, 王海涛, 等. 高效液相色谱法测定戊己丸中吴茱萸碱和吴茱萸次碱含量[J]. 解放军药理学学报, 2002, 18(4):202.
- [38] 李荣东, 史俊, 蔡光先. HPLC法测定超微与常规戊己丸中芍药苷含量的比较[J]. 亚太传统医药, 2010, 6(8):23.
- [39] 罗敏, 罗东玲, 席先蓉. HPLC测定戊己丸中盐酸小檗碱与芍药苷的含量[J]. 南京中医药大学学报, 2009, 25(1):67.
- [40] 罗东玲, 席先蓉, 高言明, 等. 胶束电动毛细管色谱法测定戊己丸中吴茱萸碱和吴茱萸次碱的含量 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(18):1 936.
- [41] 冯小权, 黄可儿. 胃漂浮片的研究进展及其在中药制剂中的应用[J]. 广州中医药大学学报, 2011, 28(1):94.

(收稿日期:2012-01-26 修回日期:2012-04-22)