

# 用盐酸小檗碱作为黄连等中药质量评价指标 探讨临床用药的安全性和有效性

侯艺辉<sup>1,2</sup>, 张贵君<sup>1\*</sup>, 徐蓓蕾<sup>1</sup>

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2. 北京汉典集团汉典研究院, 北京 100102)

**[摘要]** 目的: 探讨用盐酸小檗碱作为化学对照品评价多种中药质量时确定的质控标准的合理性, 及指导临床用药的安全性和有效性, 提出关注药效组分中单一组分质控指标的建立与其临床疗效的对应性。方法: 采用 HPLC 法测定盐酸小檗碱的含量, 通过饮片、药对和复方制剂 3 层次药效与含量的对照, 探讨质量评价指标的合理性及临床用药的安全性和有效性。结果: 盐酸小檗碱的含量: 黄连及含有黄连的药对和成方中含量为 (5.52% ± 0.065%) ~ (0.12% ± 0.007%), 黄柏及含有黄柏的药对和成方中的含量为 (3.39% ± 0.065%) ~ (0.13% ± 0.005%)。结论: 中药是一个药效组分, 中药传承的标准物质是药效组分。黄连和黄柏及其药对、复方制剂中盐酸小檗碱的含量均低于现行临床用药标准。临床用药可能存在有效性和安全性的问题。关注药效组分中单一组分质控指标与其临床疗效的对应性。

**[关键词]** 盐酸小檗碱; 安全性和有效性; 药效组分; 饮片、药对和复方制剂 3 层次

**[中图分类号]** R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)18-0129-04

**[收稿日期]** 20120215(002)

**[第一作者]** 侯艺辉, 硕士, 从事中药药效组分及药效组分质量评价体系研究, Tel: 15001103474, E-mail: ghw2@sina.com

**[通讯作者]** \* 张贵君, 教授, 博导, 从事中药药效组分及药效组分质量评价体系、中药鉴定方法学、中药药效组分资源研究, E-mail: guijunzhang@163.com

2-H ~ 5-H), 1.16 (3H, d,  $J = 6.0$  Hz, Rha 6-CH<sub>3</sub>)。

<sup>13</sup>C-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 125 MHz)  $\delta$ : 176.1 (C-4), 161.3 (C-7), 161.0 (C-5), 159.6 (C-4'), 155.9 (C-2), 147.9 (C-9), 136.2 (C-3), 129.9 (C-2', 6'), 121.5 (C-1'), 115.9 (C-3', 5'), 104.9 (C-10), 99.0 (C-6), 94.5 (C-8), 98.6 (C-1''), 71.8 (C-4''), 70.4 (C-3''), 70.3 (C-5''), 70.0 (C-2''), 18.1 (C-6'')。以上 <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR 数据与文献[8]中报道的基本一致, 故鉴定化合物 5 为山柰酚-7-O- $\alpha$ -L-吡喃鼠李糖苷。

化合物 6 白色粉末, 易溶于氯仿。EI-MS  $m/z$  396 [M]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$ : 2.27 (2H, t,  $J = 7.6$  Hz), 1.56 (2H, m), 1.23 (44H, m), 0.80 (3H, t,  $J = 6.9$  Hz, -CH<sub>3</sub>)。以上理化性质和波谱数据与文献[9]基本相符, 鉴定化合物 6 为正二十六酸(n-hexacosic acid)。

化合物 7 白色片状晶体(丙酮), EI-MS  $m/z$  410 [M]<sup>+</sup>, 392 [M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 364, 336, 322 以下依次递减 14(CH<sub>2</sub>) 质量单位。其波谱数据与文献[10]报道一致, 推断化合物 7 为正二十八烷醇(*n*-octacosanol)。

## [参考文献]

- [1] 夏新中, 周思祥, 屠鹏飞. 细梗胡枝子化学成分研究(II)[J]. 中草药, 2010, 41(9): 1432.
- [2] 夏新中, 周思祥, 屠鹏飞. 细梗胡枝子三萜类化学成分研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(6): 62.
- [3] 夏新中, 周思祥, 屠鹏飞. 细梗胡枝子化学成分的研究(I)[J]. 中草药, 2009, 40(9): 1374.
- [4] 高亮亮, 许旭东, 南海江, 等. 唐古特大黄化学成分研究[J]. 中草药, 2011, 42(3): 443.
- [5] 刘元慧, 成则丰, 乔文涛, 等. 山核桃外果皮化学成分的研究[J]. 中草药, 2009, 40(9): 1359.
- [6] Xu X H, Ruan B Q, Jiang S H, et al. Megastigmanes and flavonoid glycosides of equisetum de-bile [J]. Chin J Nat Med, 2005, 3(2): 93.
- [7] 吴霞, 叶蕴华, 周亚伟. 维药野西瓜化学成分的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(6): 97.
- [8] 赵桂琴, 刘丽艳, 毛晓霞, 等. 金丝草黄酮醇苷类化学成分研究[J]. 中国新药杂志, 2011, 20(5): 467.
- [9] 刘俊岭, 热娜, 堵年生. 帕米尔红景天化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发, 1999, 12(3): 30.
- [10] 陈敏, 胡芳, 李丰, 等. 川楝子化学成分研究(III)[J]. 中药材, 2011, 34(12): 1879.

[责任编辑 邹晓翠]

# Safety and Effectiveness of Berberine Hydrochloride as Quality Indexes of Rhizoma Coptidis Chinensis in Clinical Medication

HOU Yi-hui<sup>1,2</sup>, ZHANG Gui-jun<sup>1\*</sup>, XU Bei-lei<sup>1</sup>

(1. College of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;  
2. Handian Institute for Beijing Handian Group, Beijing 100102, China)

**[Abstract]** **Objective:** Explore safety and effectiveness of medicine in clinical and reasonableness of content limitation to evaluate quality of various Chinese materia medica by berberine hydrochloride as reference substance, and propose an attention to establish quality specification corresponding to the clinical effects. **Method:** Berberine hydrochloride was determined by HPLC, and the safety and effectiveness in clinical and rationality of quality indexes were discussed by comparing assay and effect in intervention levels of traditional decoction, drugs compatibility and veritaserum. **Result:** Content of berberine hydrochloride was:  $(5.52\% \pm 0.065\%) - (0.12\% \pm 0.007\%)$  in the solution extracted traditional decoction, drugs compatibility and veritaserum of Rhizoma Coptidis Chinensis,  $(3.39\% \pm 0.065\%) - (0.13\% \pm 0.005\%)$  in the solution extracted traditional decoction, drugs compatibility and veritaserum of Cortex Phellodendri Chinensis. **Conclusion:** Chinese materia medica is the active components alignment, and the reference standard to evaluate Chinese materia medica should be the active components alignment. The content of berberine hydrochloride is lower than the current standard in clinical, and the dose in clinical would lead to effectiveness and safety problem. So should pay attention to the counterparts with the specification of single component in the active components alignment and its clinical effects.

**[Key words]** berberine hydrochloride; safety and effectiveness; the active components alignment; intervention levels of traditional decoction; drugs compatibility and veritaserum

盐酸小檗碱是中药标准规定的黄连和黄柏等多种中药的化学对照品。盐酸小檗碱可用于肠炎、痢疾等疾病。现代药理研究证明:盐酸小檗碱能使菌体表面的菌毛数量减少,使细菌不能附着在人体细胞上;对螺旋杆菌也有一定作用,而使胃炎、十二指肠溃疡减轻;也是钙通道拮抗剂,用于肠易激综合征。盐酸小檗碱药用剂量为 300 ~ 600 mg/次,每日 3 次<sup>[1]</sup>。而黄柏日用量 3 ~ 12 g(相当于 72 ~ 288 mg 盐酸小檗碱,按水提取率计算,相当于 35.4 ~ 141.6 mg 盐酸小檗碱),黄连日用量为 2 ~ 5 g(相当于 110 ~ 275 mg 盐酸小檗碱,按水提取率计算,相当于 61.4 ~ 153.5 mg 盐酸小檗碱)<sup>[2-3]</sup>。我们通过分析黄连和黄柏及其常用药对和复方制剂中的药效组分之一盐酸小檗碱的含量变化,探讨盐酸小檗碱与临床疗效对应的剂量范围和在现行临床用药标准下,临床用药的安全性和有效性。

## 1 材料

**1.1 试药** 盐酸小檗碱对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110713-200911)。黄连、黄芩、葛根、木香、干姜、栀子、苍术、白头翁。符合《中国药典》2010 年版标准,经张贵君教授鉴定。复方:白头

翁汤,当归六黄汤,黄柏苍术汤,黄连解毒汤,葛根芩连汤。

**1.2 仪器** 岛津高效液相色谱仪(紫外检测器 SPD-15C 型,四元泵 LC-15C 型,自动进样器 SIL-10AF 型),BP110S 型电子分析天平,BT25S 型电子分析天平,冷冻干燥器(NB4X-Scientz-10N 型)。

## 2 方法<sup>[2-7]</sup>

### 2.1 样品溶液的制备

**2.1.1 对照品溶液的制备** 取盐酸小檗碱对照品适量,加甲醇制成  $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的溶液。

**2.1.2 供试品溶液的制备** 醇提取物:分别取黄连,黄柏细粉各约 40 mg,分别加甲醇-盐酸(100:1)溶液适量,超声 30 min,放冷,分别转移至 10 mL 于量瓶中,用甲醇定容,再分别量取定容溶液 5 ~ 10 mL 量瓶中,用甲醇定容。水提取物:分别取黄连和黄柏及其药对、复方适量,分别加 10 倍量的纯化水,于电热套中煎煮 30 min,取上清液,再加 8 倍量的纯化水,于电热套中煎煮 20 min,趁热用纱布过滤,合并滤液,于 60 °C 减压浓缩至一定体积,分置量瓶中,用纯化水定容。分取上述溶液各 5 mL,冷冻干燥。在冻干样品中加甲醇-盐酸(100:1)溶液适量,超声

30 min,放冷,分别转移至 50 mL 量瓶中,用甲醇定容。

## 2.2 测定条件与方法

**2.2.1 色谱条件** 色谱柱  $C_{18}$  (4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m), 检测波长 345 nm, 流动相乙腈-0.05 mol·L<sup>-1</sup>磷酸二氢钾 (50:50), 每 100 mL 上述溶液中加入十二烷基磺酸钠 0.4 g, 然后用磷酸调 pH 4.0, 进样量 10  $\mu$ L。

**2.2.2 测定程序** 分别取上述对照品溶液、甲醇提取物、水提取物适量, 滤过 (0.45  $\mu$ m), 进样, 测定, 按外标法计算盐酸小檗碱含量。

**2.2.3 专属性试验** 分别取盐酸小檗碱对照品溶液和上述醇提取物及水提取物适量, 滤过 (0.45  $\mu$ m), 进样, 测定。结果盐酸小檗碱色谱峰保留时间均为 12 min, 盐酸小檗碱色谱峰与相邻色谱峰的分度度均符合要求。

**2.2.4 重复性试验** 取盐酸小檗碱对照品溶液适量, 滤过 (0.45  $\mu$ m), 进样, 测定。结果盐酸小檗碱含量 RSD 1.09%。

**2.2.5 线性关系考察** 分别精密称取盐酸小檗碱对照品适量, 配制质量浓度为 0.040 4, 0.060 6, 0.080 8, 0.101 0, 0.121 2 g·L<sup>-1</sup> 的溶液, 滤过 (0.45  $\mu$ m), 测定, 测峰面积依次为 1 559 516, 2 255 120, 2 888 724, 3 777 364, 4 457 654。以峰面积为纵坐标, 溶液浓度为横坐标, 进行线性回归, 得线性方程  $Y = 36\ 230\ 297.029\ 7X + 60\ 267.6$  ( $R^2 = 0.997\ 3$ )。

**2.2.6 回收率试验** 精密称取黄连 6 份, 分别加入精密称取的盐酸小檗碱对照品适量, 按照 2.1.2 制备项下方法配制溶液, 精密量取上述溶液 1 mL, 加甲醇-盐酸 (100:1) 溶液稀释到 10 mL, 配制质量浓度为 0.080 8, 0.101 0, 0.121 2 g·L<sup>-1</sup> 的溶液, 滤过 (0.45  $\mu$ m), 进样, 测定, 结果平均回收率为 100.01%, RSD 2.07%。

**2.2.7 定量限试验** 连续稀释盐酸小檗碱对照品溶液, 滤过 (0.45  $\mu$ m), 进样, 测定。盐酸小檗碱色谱峰高为基线噪声的 10 倍, 定量限为 1.8 ng。

**2.3 含量测定** 按上法测定盐酸小檗碱的含量 (表 1)。同时, 以黄连和黄柏甲醇提取物中的盐酸小檗碱平均含量为基础, 计算水提物样品中盐酸小檗碱的溶出率。

## 3 结果

**3.1 供试品中盐酸小檗碱含量动态**<sup>[8-9]</sup> 黄连、黄柏水提取物中盐酸小檗碱溶出率分别为 58.91%, 34.78%; 黄连、黄柏药对水提取物中盐酸小檗碱溶

表 1 供试品中盐酸小檗碱的含量

供试品	盐酸小檗碱 /%	水提取物中 盐酸小檗碱的 溶出率/%
黄连 3 g + 葛根 5 g	0.28 ± 0.012	5.45 ± 0.23
黄连 3 g + 木香 1.2 g	0.12 ± 0.007	2.28 ± 0.13
黄连 3 g + 干姜 3 g	0.63 ± 0.021	12.01 ± 0.41
黄连 3 g + 枳实 3 g	0.78 ± 0.012	14.93 ± 0.23
黄连 4.5 g 水提取物	3.07 ± 0.123	58.91 ± 2.37
黄连 0.044 1 g 甲醇提取物	5.52 ± 0.065	-
黄柏 3 g + 黄连 2 g	1.11 ± 0.036	27.06 ± 0.88
黄柏 3 g + 苍术 3 g	0.13 ± 0.005	3.72 ± 0.14
黄柏 3 g + 枳实 4 g	0.46 ± 0.035	13.60 ± 1.04
黄柏 3 g + 白头翁 4 g	0.19 ± 0.016	5.50 ± 0.47
黄柏 4.5 g 水提取物	1.18 ± 0.020	34.78 ± 0.58
黄柏 0.041 4 g 甲醇提取物	3.39 ± 0.065	-
白头翁汤 (黄柏 12 g + 黄连 9 g)	0.33 ± 0.005	7.86 ± 0.12
当归六黄汤 (黄柏 6 g + 黄连 6 g)	0.81 ± 0.012	18.90 ± 0.29
黄连解毒汤 (黄柏 6 g + 黄连 9 g)	1.08 ± 0.008	24.18 ± 0.42
黄柏苍术汤 (黄柏 9 g)	0.20 ± 0.014	5.95 ± 0.18
葛根芩连汤 (黄连 9 g)	0.80 ± 0.011	15.42 ± 0.21

出率分别为 2.28% ~ 14.93% 和 3.72% ~ 13.60%; 黄连配伍黄柏的水提取物中盐酸小檗碱溶出率为 27.06%; 黄连制剂水提取物中盐酸小檗碱溶出率为 15.42%, 黄柏制剂水提取物中盐酸小檗碱溶出率为 5.95%; 黄连加黄柏的制剂水提取物中盐酸小檗碱溶出率为 7.86% ~ 24.18%。

**3.2 盐酸小檗碱评价中药质量时确定的质控标准合理性分析** 现行标准规定黄柏用量为 3 ~ 12 g, 黄连用量为 2 ~ 5 g, 盐酸小檗碱含量的现行标准为关黄柏不少于 0.3% (或川黄柏不少于 2.4%), 黄连不少于 5.5%, 按照《中国药典》规定以最高使用剂量为标准, 盐酸小檗碱的日服用剂量应为 30 mg (关黄柏) 或 288 mg (川黄柏) 和 275 mg (黄连)。

在黄连和黄柏饮片、药对和复方制剂中, 盐酸小檗碱的有效剂量明显偏低: 黄连药对和复方中盐酸小檗碱含量低于现行标准 (不少于 5.5%) 含量下限的 5.1 ~ 45.8 倍, 如果考虑到提取溶液差异, 按照水提取率计算, 也仅为含量下限的 2.8 ~ 25.6; 黄柏药对和复方中盐酸小檗碱含量低于现行标准 [关黄柏不少于 0.3% (或川黄柏不少于 2.4%)] 含量下限 1.5 ~ 2.3 (或 5.2 ~ 18.5) 倍, 如果考虑到提取溶液

差异,按照水提取率计算,也仅为含量下限的 1.2 ~ 9.07;有效剂量仅为《中国药典》规定的盐酸小檗碱的日服用剂量的 1/5 ~ 1/2,如果考虑到提取溶液差异,按照水提取率计算,有效剂量仅为单味药日服用剂量的 1/4 ~ 5/6。

#### 4 讨论

**4.1 盐酸小檗碱的检测方法** 根据选择的中药中各药效组分的药典检测波长,为减少组分间的检测干扰,选择了 345 nm 作为检测波长。依据传统中药汤剂制备供试品,为了避免检测的时间误差,将供试品溶液冷冻干燥后备用。同时制备黄连和黄柏的醇提取溶液作为对比溶液。通过上述措施以保证检测样品与临床用药的切合性。

**4.2 黄连和黄柏中盐酸小檗碱含量动态分析** 黄连、黄柏水提取物中盐酸小檗碱的溶出率分别为 58.91%, 34.78%, 其药对和复方水提取物中盐酸小檗碱的溶出率分别为 2.28% ~ 14.93% 和 3.72% ~ 13.60%;说明内在组分和配伍对溶解度的影响具有显著性,药效组分的溶出率决定了不同的药理作用和效价<sup>[11-14]</sup>。

**4.3 盐酸小檗碱的实际用量与中药标准的相关性**

2010 年版《中国药典》规定:黄柏日用量 3 ~ 12 g, 黄连日用量 2 ~ 5 g;盐酸小檗碱的含量关黄柏不少于 0.3%、川黄柏不少于 2.4%、黄连不少于 5.5%;折算成盐酸小檗碱最高剂量分别为 30 mg(关黄柏)、288 mg(川黄柏)和 275 mg(黄连)。而盐酸小檗碱临床单独使用剂量为 0.6 ~ 1.8 g<sup>[1,10]</sup>。

虽然在 2010 年版《中国药典》中,黄连的质控指标是由盐酸小檗碱、表小檗碱、黄连碱、巴马汀 4 个成分共同决定的,而黄柏的质控指标也由盐酸小檗碱和黄柏碱 2 个成分共同决定的,中药的质量评价指标已经采纳了药效组分的概念。但是检测结果提示,上述中药中盐酸小檗碱的剂量低于药典中对盐酸小檗碱的含量要求,也远低于临床单独使用时的剂量,而传统的中药经典成方经过时间的检验,已经证明是安全的有效的,这就提示,在如此大的用药剂量差异下,临床是否存在过量用药,临床用药的有效性和安全性应该引起广泛的关注。

**4.4 实验结果的思考**<sup>[15-17]</sup> 本研究在传统中医药理论和中药药效组分理论的指导下,以饮片,药对和传统成方为研究载体,运用 HPLC 对以盐酸小檗碱为药效组分的中药进行了盐酸小檗碱单一组分的考察,发现药效组分中单一组分质控指标与临床用药剂量的不匹配,提醒关注临床用药与药效组分中单

一组分质控指标的匹配性,以更好的指导临床用药。

本研究从中医传统饮片,药对和经典成方的角度出发,旨在提醒临床使用盐酸小檗碱或含有盐酸小檗碱的药物时,对用药的有效性和安全性予以重视;进而引深到关注作为质量评价指标的药效组分中的单一组分指标的建立对临床用药的指导。

#### [参考文献]

- [1] 杨贤俊,倪根柵. 盐酸小檗碱在非感染性疾病中的应用[J]. 医药导报,1995,14(5):205.
- [2] 张贵君. 中药鉴定研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2010:13,718.
- [3] 中国药典. 一部[S]. 2010:13,57,96,231,285,286.
- [4] 晁若冰,张浩,庄燕黎. 高效液相色谱法测定黄连药材中小檗碱型生物碱的含量[J]. 药物分析杂志,2003,23(5):354.
- [5] 迟芳振,刘群,李伟妮. 黄柏胶囊中盐酸小檗碱的含量测定[J]. 医药导报,2005,24(9):821.
- [6] 曾祖平,王宏,左琳. 分提、合提对芙蓉膏中主要有效成分含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(12):51.
- [7] 李琰,傅欣彤. 石斛明目丸质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(18):65.
- [8] 许欣欣,宋敏,杭太俊. 配伍煎煮对加味二妙方中盐酸小檗碱转移率的影响[J]. 药物分析杂志,2009,29(9):1420.
- [9] 魏刚,黄月旭. 盐酸小檗碱在中药制剂中的动态变化和含量分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2000,6(4):61.
- [10] 陈波. 盐酸小檗碱治疗消化性溃疡的临床观察[J]. 中国社区医师:医学专业,2011,13(1):45.
- [11] 王桂红. 中药配伍对黄连有效成分溶出率的影响[J]. 湖北中医杂志,2001,23(6):49.
- [12] 丁林生,徐瑞华,吴振洁. 白头翁汤中小檗碱含量降低原因初探[J]. 中成药,1993,15(1):18.
- [13] 张丽艳,钟正灵,梁光义,等. 当归六黄汤中中药配方颗粒与传统汤剂中盐酸小檗碱含量的比较[J]. 时珍国医国药,2008,19(11):2642.
- [14] 王浴铭,张君增,朱凤云. 黄连配伍吴茱萸对黄连中主要化学成分的影响[J]. 中国中药杂志,1994,19(2):115.
- [15] 刘燕玲. 中药应突出“大质量观”[J]. 中国现代中药,2010,11(12):39.
- [16] 张贵君,杨晶凡. 中药标准物质的科学内涵及其研究思路[J]. 现代药物与临床,2009,24(2):11.
- [17] 景怡,任远. 中药药效物质基础研究的思路与方法[J]. 甘肃中医学院学报,2009,26(1):47.

[责任编辑 邹晓翠]