

不同厂家黄连上清片质量比较

王胤¹, 沈力², 周浓^{1,2*}, 刘氏清水¹

(1. 大理学院 药学院, 云南 大理 671000; 2. 重庆三峡医药
高等专科学校 中药研究所, 重庆 404020)

[摘要] **目的:** 研究不同厂家黄连上清片的质量情况以及对问题的分析, 为提高药品标准, 正确地评价药品质量提供理论依据。**方法:** 通过对 7 家生产厂家 10 批样品进行片芯质量测定, 样品粉末显微镜观察, 建立 5 种蒽醌类化合物(芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚)含量测定方法, 并对样品中 5 种蒽醌类化合物的含量进行测定并比较。**结果:** 不同生产厂家的产品显微观察无区别, 但片重差异和 5 种蒽醌类化合物存在较大差异。**结论:** 不同厂家的黄连上清片由于制剂工艺、原材料质量等不同, 导致了产品质量存在较大差异。

[关键词] 黄连上清片; 质量研究; 高效液相色谱法; 蒽醌

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0099-05

A comparative Research on Quality of Huanglian Shangqing Tablets from Different Manufacturers

WANG Yin¹, SHEN Li², ZHOU Nong^{1,2*}, LIU Shi-qingshui¹

(1. College of Pharmacy, Dali University, Dali 671000, China;
2. Institute of Chinese Materia Medica, Chongqing Three Gorges Medical College, Chongqing 404020, China)

[Abstract] **Objective:** To improve the drug standard and provide a theoretical basis for the correct evaluation of the quality of the drugs, the qualities of Huanglian Shangqing tablets from different manufactures were investigated and some problems were analyzed. **Method:** The core tablets of 10 batches from 7 manufacturers were weighed and the powder samples were microscopically observed. Method for determination of 5 kinds of anthraquinone (aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol and physcion) was established and the content of anthraquinone was assayed. **Result:** There are no microscopic indifferences exist among different tablets, while the weight of the tablets as well as the content five kinds of anthraquinone was quite different. **Conclusion:** Big differences of the quality of the products exist among different products, which may result from different raw materials and preparation process.

[Key words] Huanglian Shangqing tablets; quality research; HPLC; anthraquinone

黄连上清片由大黄、黄芩、黄柏、黄连、石膏、栀子等 17 味中药组成的复方制剂, 具有疏风清热、泻火止痛之功效, 用于风热上攻、肺胃热盛所致的头晕

目眩、暴发火眼、牙齿疼痛、口舌生疮、咽喉肿痛、耳痛耳鸣、大便秘结、小便短赤^[1]。大黄为方中君药且用量最大^[2], 其主要有效成分为芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚等蒽醌衍生物, 占大黄成分的 3% ~ 5%, 以部分游离、大部分与葡萄糖结合成苷的形式存在^[3]。这类化合物具有较强的泻下、抗菌、抗病毒、抗炎、抗肿瘤、保肝、利胆、降血脂、镇痛等生物活性^[4], 因此, 常将其作为评价大黄药材及其含大黄成方制剂质量的指标成方^[5]。

目前其质量标准中含量测定已有黄连和黄柏的

[收稿日期] 20111213(016)

[第一作者] 王胤, 硕士, 实验师, 从事药物质量标准研究, Tel: 15894575800, E-mail: ada_wy@126.com

[通讯作者] * 周浓, 硕士, 副教授, 从事药用植物栽培与质量控制, Tel: 13398726162, E-mail: erhaizn@126.com

盐酸小檗碱^[1]、黄芩的黄芩苷^[6]、栀子的栀子苷^[7]、大黄的大黄酸、大黄素和大黄酚^[8],而无大黄的有效成分芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚。该药的生产厂家众多,临床发现,不同厂家生产的黄连上清片质量和疗效存在很大的差异^[9]。为此,本研究采用 HPLC 同时测定不同厂家黄连上清片中芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的含量,同时检查其片重差异、显微鉴定等内容,为该药的全面质量控制提供参考依据。

1 仪器与试剂

1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司), KQ-250B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), RE-2000 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂), SHZ-III 型循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司), AE240 型天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; XS-215 型生物显微镜(江南永新光学有限公司)。

黄连上清片样品(购于大理市药品零售商店); 芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为 110795-200806, 110757-200206, 110756-200110, 110796-201017, 110758-200912, 供含量测定用)。乙腈为色谱醇(美国 Tedia 试剂公司),水为娃哈哈牌纯净水,其他试剂均为国产分析纯。

2 方法与结果

2.1 片芯的质量 取黄连上清片 20 片,除去包衣,精密称定片芯总质量,求得平均片重后,再分别精密称定每片的质量,每片质量与标示片重相比较,结果见表 2。

2.2 显微镜观察 取黄连上清片粉末少量,用水合氯醛加热制片,置显微镜下观察是否含有^[10]:纤维束鲜黄色、壁稍厚、纹孔明显(黄连),草酸钙簇晶大、直径 60~140 μm(大黄),油管多已破碎、含金黄色分泌物(白芷),不规则片状晶体、无色、有平直纹理(石膏)。

2.3 含量测定

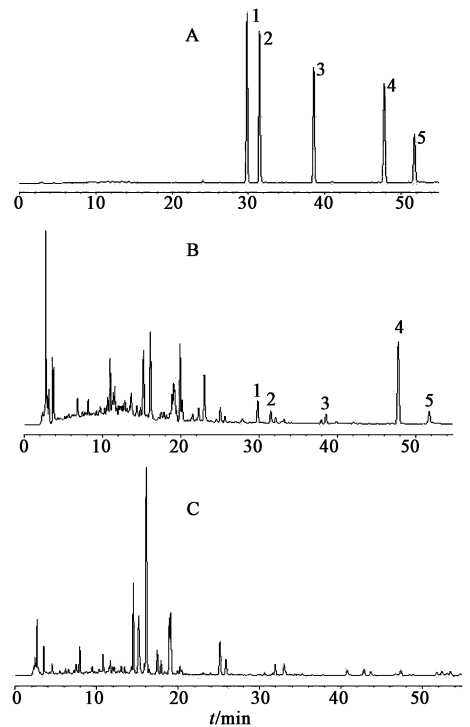
2.3.1 色谱条件 Agela Venusil XBP-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸溶液(B),进行梯度洗脱[10%~25% A(0~10.00 min), 25%~40% A(10.00~25.00 min), 40%~50% A(25.00~30.00 min), 50%~55% A(30.00~37.00 min), 55%~74% A(37.00~55.00 min)],检测波长 226 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 40 °C,进样量 5 μL。

2.3.2 溶液的制备

2.3.2.1 对照品溶液的制备 分别精密称取芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚对照品适量,置 25 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。分别精密量取上述对照品溶液适量,混匀,即得混合对照品溶液(每 1 mL 中含芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚分别为 40.0, 40.0, 40.0, 40.0, 20.0 μg)。

2.3.2.2 供试品溶液的制备 取本品 20 片,去糖衣,研细,精密称定约 0.300 g,置 100 mL 具塞锥形瓶中,加 70% 乙醇 50 mL,室温浸泡 2 h,超声处理 30 min,重复 3 次,合并提取液,减压回收溶剂至干,用甲醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中,定容至刻度,摇匀,即得。

2.3.2.3 阴性样品溶液的制备 按处方组成,取除大黄外的其余药味,按工艺要求制成缺大黄的片剂。按 2.3.2.2 项下同法操作,得阴性样品溶液。依 2.3.1 项下色谱条件测定,结果在芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚峰出现的位置上无对应峰出现,表明其他组分对测定无干扰,见图 1。



A. 混合对照品; B. 黄连上清片供试品; C. 缺大黄阴性样品
1. 芦荟大黄素; 2. 大黄酸; 3. 大黄素; 4. 大黄酚; 5. 大黄素甲醚

图 1 黄连上清片 HPLC

2.3.3 线性关系考察 分别精密吸取混合对照品溶液(分别含芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚 40.0, 40.0, 40.0, 40.0, 20.0 mg·

L^{-1}) 1, 2, 5, 10, 15, 20 μL , 注入液相色谱仪, 得进样量 $X(\mu\text{g})$ 与峰面积 Y 的线性方程。结果表明, 芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚进样量分别在 0.010 ~ 0.200, 0.040 ~ 0.800, 0.040 ~ 0.800, 0.040 ~ 0.800, 0.020 ~ 0.400 μg 与峰面积成良好的线性关系, 回归方程分别为 $Y = 7\,507.9X + 56.403 (r = 0.999\,4)$; $Y = 6\,433.7X + 46.431 (r = 0.999\,3)$; $Y = 5\,444.1X + 42.397 (r = 0.999\,2)$; $Y = 5\,729.2X + 48.774 (r = 0.999\,3)$; $Y = 5\,721.6X + 92.706 (r = 0.999\,6)$ 。

2.3.4 精密度试验 以混合对照品溶液连续进样 6 次, 测定峰面积, 计算芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的 RSD 分别为 1.77%, 1.82%, 1.57%, 1.45%, 2.74%, 表明仪器精密度良好。

2.3.5 重复性试验 取同一批号黄连上清片样品 6 份(企业 2-2, 批号 20090445), 按 2.3 项下供试品溶液的制备方法制备及 2.1 项下色谱条件测定, 计

算芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚的 RSD 分别为 2.69%, 1.98%, 0.89%, 2.41%, 2.28%, 表明本方法重复性良好。

2.3.6 稳定性试验 取同一批号黄连上清片样品溶液(企业 2-2, 批号 20090445), 室温密闭放置, 分别在制备后 0, 5, 10, 15, 20, 25 h 进样, 测定芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚峰面积, RSD 分别为 1.72%, 2.11%, 2.10%, 1.73%, 2.42%, 表明样品溶液在 25 h 内稳定。

2.3.7 加样回收率试验 精密称取已知含量的黄连上清片约 0.150 g(企业 2-2, 批号 20090445), 共 9 份, 分别精密加入一定量的芦荟大黄素、大黄酸、大黄素、大黄酚、大黄素甲醚对照品, 按 2.3.2.2 项下供试品溶液的制备方法制备及 2.3.1 项下色谱条件测定, 结果见表 1。

2.3.8 样品测定 按上述色谱条件对 7 个不同厂家 10 批黄连上清片进行含量测定, 分别精密吸取对照品、供试品溶液注入色谱仪, 测定结果见表 2。

表 1 黄连上清片中 5 成分加样回收率试验

被测成分	称样量/g	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
芦荟大黄素	0.153 6	0.089 7	0.070 0	0.163 6	105.57	101.71	2.64
	0.153 2	0.089 5	0.070 0	0.159 4	99.86		
	0.152 7	0.089 2	0.070 0	0.159 2	100.00		
	0.152 2	0.088 9	0.090 0	0.175 3	96.00		
	0.151 4	0.088 4	0.090 0	0.175 9	97.22		
	0.156 2	0.0912	0.090 0	0.181 1	99.89		
	0.153 2	0.089 5	0.110 0	0.203 6	103.73		
	0.152 8	0.089 2	0.110 0	0.197 7	98.64		
	0.152 6	0.089 1	0.110 0	0.215 0	114.45		
大黄酸	0.153 6	0.064 7	0.060 0	0.124 8	100.17	98.85	1.94
	0.153 2	0.064 5	0.060 0	0.123 8	98.83		
	0.152 7	0.064 3	0.060 0	0.122 9	97.67		
	0.152 2	0.064 1	0.070 0	0.131 0	95.57		
	0.151 4	0.063 8	0.070 0	0.133 9	100.58		
	0.156 2	0.065 8	0.070 0	0.138 0	100.14		
	0.153 2	0.064 5	0.090 0	0.154 3	99.78		
	0.152 8	0.064 4	0.090 0	0.152 4	97.78		
	0.152 6	0.064 3	0.090 0	0.153 5	99.11		
大黄素	0.153 6	0.052 3	0.052 0	0.106 0	103.27	104.65	2.57
	0.153 2	0.052 9	0.052 0	0.110 7	111.15		
	0.152 7	0.052 7	0.052 0	0.106 2	102.88		
	0.152 2	0.052 5	0.060 0	0.117 0	107.50		
	0.151 4	0.052 3	0.060 0	0.115 2	104.83		

续表 1

被测成分名称	称样量/g	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
大黄酚	0.156 2	0.053 9	0.060 0	0.114 4	100.83	98.34	2.53
	0.153 2	0.052 9	0.072 0	0.130 4	107.64		
	0.152 8	0.052 7	0.072 0	0.129 0	105.97		
	0.152 6	0.052 7	0.072 0	0.123 1	97.78		
	0.153 6	0.498 3	0.400 0	0.886 4	97.03		
	0.153 2	0.497 0	0.400 0	0.878 2	95.30		
	0.152 7	0.495 4	0.400 0	0.879 9	96.13		
	0.152 2	0.493 7	0.500 0	0.988 7	99.00		
	0.151 4	0.491 1	0.500 0	0.991 0	99.88		
	0.156 2	0.506 7	0.500 0	0.985 3	95.72		
大黄素甲醚	0.153 2	0.497 0	0.600 0	1.103 7	101.12	100.21	1.57
	0.152 8	0.495 7	0.600 0	1.105 3	101.60		
	0.152 6	0.495 6	0.600 0	1.091 2	99.27		
	0.153 6	0.095 9	0.070 0	0.168 8	104.14		
	0.153 2	0.095 6	0.070 0	0.163 9	97.57		
	0.152 7	0.095 3	0.070 0	0.164 8	99.29		
	0.152 2	0.095 0	0.080 0	0.173 4	98.00		
	0.151 4	0.094 5	0.080 0	0.174 9	100.50		
	0.156 2	0.097 5	0.080 0	0.178 1	100.75		
	0.153 2	0.095 6	0.100 0	0.197 3	101.70		
0.152 8	0.095 4	0.100 0	0.193 2	97.80			
0.152 6	0.095 3	0.100 0	0.197 4	102.10			

表 2 不同厂家、不同批号的黄连上清片的测定

(n = 3)

厂家	批号	平均片 芯重/g	重量差异 /%	显微 观察	含量/mg/片					总和	生产日期	有效期至	检验日期
					芦荟大黄素	大黄酸	大黄素	大黄酚	大黄素甲醚				
企业 1	091008	0.254 4	-15.0 ~ -3.1	a	0.098 4	0.097 9	0.153 8	1.161 1	0.234 9	1.746 1	2009-10-01	2012-09	2010-07
企业 2-1	20090443	0.325 6	0.1 ~ 19.8	a	0.156 5	0.130 8	0.103 0	0.836 4	0.147 4	1.374 0	2009-04	2012-03	2010-07
企业 2-2	20090445	0.313 9	0.2 ~ 8.1	a	0.173 5	0.142 0	0.109 8	0.943 3	0.145 2	1.513 7	2009-04	2012-03	2010-07
企业 3	100101	0.291 0	-10.7 ~ 2.1	a	0.144 1	0.257 6	0.234 9	0.913 3	0.161 9	1.711 8	2010-01-02	2011-12	2010-07
企业 4	0712011	0.228 1	-32.2 ~ -17.9	a	0.147 5	0.273 3	0.234 8	0.855 5	0.142 8	1.653 9	2007-12-04	2010-11	2010-07
企业 5	091201	0.263 6	-19.2 ~ -6.3	a	0.079 1	0.156 9	0.134 5	0.458 9	0.095 6	0.925 0	2009-12-04	2012-11	2010-07
企业 6-1	20100103	0.287 7	-10.0 ~ 4.2	a	0.133 7	0.292 7	0.266 8	0.827 7	0.163 8	1.684 7	2010-01-14	2012-01-13	2010-07
企业 6-2	20100109	0.290 0	-10.1 ~ 23.3	a	0.151 9	0.305 2	0.300 5	0.761 2	0.151 2	1.669 9	2010-01-17	2012-01-16	2010-07
企业 6-3	20100503	0.303 6	-12.2 ~ 19.0	a	0.152 8	0.311 0	0.280 9	0.602 9	0.140 3	1.487 9	2010-05-04	2012-05-03	2010-07
企业 7	100305	0.260 1	-20.0 ~ -8.3	a	0.131 6	0.104 0	0.083 8	0.718 2	0.126 2	1.163 7	2010-03-24	2012-02	2010-07

注:标示片芯重 0.3 g/片;“a”为可见;“b”为未见。

3 讨论

3.1 片芯质量的比较 10 批黄连上清片中,片芯质量最重为 0.325 6 g/片(企业 2-1),最轻为 0.228 1 g/片(企业 4),相差 42.74%,差异较明显。按标准规定,处方中 430 g 药材,提取成浸膏粉,应制成 1 000 片,如果药材质量全部符合规定,并按标准中规定工艺进行提取,正常情况下,该品种的浸膏粉平均收率约为药材的 15%^[11],即 1 000 片含 65 g,而处方中每片应含大黄、白芷、黄连、石膏粉碎成的粉末 0.225 g,以不加辅料计算,黄连上清片中浸膏粉和

原药材粉末每片质量已达 0.29 g,而市场上很多黄连上清片的片芯质量低于 0.29 g,这主要是由于浸膏粉收率太低造成,这显然有违常理,值得有关部门研究。

引起浸膏粉收率太低的主要原因可能有,一是使用的药材质量差,有效成分含量低,提取所得浸膏粉重量少;二是药材质量虽然符合规定,但是提取的生产设备或工艺参数不良,造成中药材有效成分的提取不完全,提取效率差,所得浸膏粉质量也少。由于产品含浸膏粉质量少,有效成分含量不足,质量不

一致,导致临床疗效差,这与前人在黄连上清片中得到的结果相似^[9,12]。比较片芯的质量,可反映出各生产厂家的生产状况,对判断黄连上清片质量的优劣有指导意义。

3.2 显微镜观察比较 黄连上清片现行国家药品标准中,对大黄、白芷、黄连、石膏不要求进行显微观察,通过本试验,建立了上述4种中药材具有鉴别价值的显微特征,并对10批样品进行显微观察,结果表明10批样品均能见到上述显微特征,但各自显微特征的出现频率不同,表明所有生产厂家严格按照生产工艺规程生产。因此,有必要恢复黄连上清片的显微特征^[13],必将对科学有效地检测和全面控制其质量,确保临床用药的准确、安全、有效,发挥更加重要的作用。

3.3 蒽醌类衍生物含量差异的比较 黄连上清片现行国家药品标准,对大黄的主要有效成分蒽醌类衍生物不要求进行含量测定。本文在查阅文献资料的基础上^[14-15],建立了上述黄连上清片中5种蒽醌类衍生物的HPLC含量测定方法,并对10批样品进行测定,结果表明含5种蒽醌类衍生物最高的为1.746 1 mg/片(企业1),最低的为0.925 0 mg/片(企业5),最高的是最低的1.9倍。在处方中,大黄作为君药,其有效成分的减少,将对产品的质量造成严重的影响,使治疗效果显著降低。

按标准规定,大黄是粉碎成细粉,与其他药材的浸膏混合均匀。按相同的提取方法,不同生产厂家的产品,有效成分含量相差如此之大,一是不同生产厂家选用的药材质量差别大,二是生产设备优劣不同、提取溶媒用量等工艺参数不同,对药材有效成分提取不完全,使有效成分总量减少,这是造成产品质量差别大的原因。

4 小结

由上述研究结果可知,由于不同生产厂家使用中药材质量的优劣不同、生产工艺参数的差异、生产设备性能是否优良、对中药材有效成分提取是否完全等,是造成产品质量差异,影响治疗效果的主要原因。现行标准中,还没有对黄连、黄柏以外的中药材进行含量测定的项目,对产品中其他中药材的品质优劣状况,缺乏科学的评价方法,因此建议增加多个

中药有效成分的含量测定方法,更好地完善药品标准,指导企业生产出更加优质的产品。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S]. 2010: 1067, 附录7.
- [2] 周浓.实用临床中成药学[M].北京:中国中医药出版社,2010: 42.
- [3] 张丹,蒋心惠.反相高效液相色谱法测定大黄药材中游离及结合型蒽醌衍生物的含量[J].分析化学,2003,31(4): 459.
- [4] 南海江,许旭东,陈士林,等.大黄属植物研究进展[J].天然产物研究与开发,2009,21(4): 690.
- [5] 李鑫楠,黄毅岚,张丹,等.RP-HPLC测定熊胆降热丸中的5种大黄蒽醌类化合物[J].华西药学杂志,2007,22(6): 697.
- [6] 范全民,孙冬云,周慧娟.HPLC测定黄连上清片中黄芩苷的含量[J].中成药,2006,28(10): 1545.
- [7] 王小龙,叶红.高效液相色谱法测定黄连上清片中栀子苷的含量[J].时珍国医国药,2004,15(1): 7.
- [8] 汪霞.反相HPLC法测定黄连上清片中大黄酸、大黄素、大黄酚的含量[J].药物分析杂志,2008,28(8): 1310.
- [9] 黄海燕,钟建理,薛漓.黄连上清片中黄连的鉴别及含量测定[J].中国医院药学杂志,2007,27(3): 412.
- [10] 张丽娟,宋新波,夏广萍,等.黄连上清丸质量控制[J].中草药,2000,31(3): 185.
- [11] 任军,方国民.黄连上清片提取工艺研究[J].安徽医药,2003,7(6): 470.
- [12] 刘芳,张浩,方清茂,等.黄连上清丸(片)中小檗型生物碱的含量测定[J].中成药,2005,27(12): 1393.
- [13] 卫生部药典委员会.中药成方制剂.第6册[S].北京:中华人民共和国卫生部,1992: 160.
- [14] 夏从龙,周浓,种佳.HPLC测定不同厂家牛黄消炎片中5种蒽醌类衍生物的含量[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(2): 83.
- [15] 代婉莹,孙维宏,毛淑杰,等.铨水大黄外观性状与所含5种蒽醌成分含量的关系[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(9): 1.

[责任编辑 蔡仲德]