

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.09.022

山东省市售龙胆泻肝丸(水丸)质量分析

李俊卿¹,王金凤^{2△},李占芳¹,宋建建¹,崔洋洋¹,路公静¹

(1. 山东省东营市食品药品检验研究院,山东 东营 257091; 2. 北京中医药大学,北京 100029)

摘要:目的 分析山东省市售龙胆泻肝丸(水丸)的整体质量。方法 从山东省12个地市抽取共30批龙胆泻肝丸(水丸)样品,生产日期均为2020年12月31日前,按2015年版《中国药典(一部)》项下规定进行检验,采用高效液相色谱法测定制剂中23-乙酰泽泻醇B的含量,并采用电感耦合等离子体质谱法检测制剂中的铅、镉、砷、汞、铜。结果 抽检龙胆泻肝丸(水丸)样品的性状、装量差异、微生物限度均符合规定,显微鉴别中有显微特征出现,薄层色谱图中有特征斑点出现,水分为2.7%~7.6%,溶散时限为31~59 min,龙胆苦苷、栀子苷、黄芩苷的含量分别为1.36~6.31 mg/g、2.24~3.77 mg/g、4.53~9.49 mg/g;23-乙酰泽泻醇B的含量为0.028~0.388 mg/g;均检出铅、镉、砷、汞、铜,部分药品生产企业的龙胆泻肝丸(水丸)样品存在铜和汞含量超标情况。结论 市售龙胆泻肝丸(水丸)的质量有一定差异,部分存在质量问题。建议药品监督管理部门加强对龙胆泻肝丸(水丸)的监管,警示药品生产企业加强对原料药的质量控制,以保障临床用药安全、有效。

关键词:龙胆泻肝丸(水丸);高效液相色谱法;电感耦合等离子体质谱法;23-乙酰泽泻醇B;重金属;有害元素;质量分析

中图分类号:R932;R284.1;R286.0 文献标志码:A 文章编号:1006-4931(2022)09-0094-04

Quality Analysis of Longdan Xiegan Pills (Water-Bindered Pills) Sold in the Market in Shandong Province

LI Junqing¹, WANG Jinfeng², LI Zhanfang¹, SONG Jianjian¹, CUI Yangyang¹, LU Gongjing¹

(1. Dongying Institute for Food and Drug Control, Dongying, Shandong, China 257091; 2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, China 100029)

Abstract: Objective To analyze the overall quality of Longdan Xiegan Pills (Water-Bindered Pills) sold in the market in Shandong Province. **Methods** Thirty batches of Longdan Xiegan Pills (Water-Bindered Pills) samples were selected from 12 cities in Shandong Province, production dates of which were before December 31, 2020. They were tested according to the provisions of the *Chinese Pharmacopoeia* (2015 Edition, Volume I). The content of 23-acetyl alisol B in the preparations was determined by the high-performance liquid chromatography (HPLC) method, and the lead (Pb), cadmium (Cd), arsenic (As), mercury (Hg) and copper (Cu) in the preparations were detected by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) method. **Results** The properties, loading differences and microbial limits of Longdan Xiegan Pills (Water-Bindered Pills) samples were in line with the requirements. There were microscopic features in the microscopic identification and characteristic spots in the thin-layer chromatography (TLC) chromatograms. The moisture were 2.7% - 7.6%, the dissolution time was 31 - 59 min, and the contents of gentiopicoside, geniposide and baicalin were 1.36 - 6.31 mg/g, 2.24 - 3.77 mg/g, 4.53 - 9.49 mg/g. The content of 23-acetyl alisol B was 0.028 - 0.388 mg/g. Pb, Cd, As, Hg and Cu were detected in the samples, and Longdan Xiegan Pills (Water-Bindered Pills) samples in some pharmaceutical manufactures contained excessive levels of Cu and Hg. **Conclusion** There are some differences in the quality of Longdan Xiegan Pills (Water-Bindered Pills) sold in the market, and some of them have quality problems. It is suggested that drug administration departments should strengthen the supervision of Longdan Xiegan Pills (Water-Bindered Pills), and warn pharmaceutical manufactures to strengthen the quality control of active pharmaceutical ingredients (APIs), so as to ensure the safety and effectiveness of clinical medication.

Key words: Longdan Xiegan Pills (Water-Bindered Pills); HPLC; ICP-MS; 23-acetyl alisol B; heavy metal; harmful element; quality analysis

龙胆泻肝丸处方源自《医方集解》,由龙胆、炙甘草、栀子(炒)、黄芩、泽泻、木通、盐车前子、柴胡、酒当归、地黄10味中药材组方,具有清肝胆、利湿热功效^[1],广泛用于慢性胆囊炎、急性带状疱疹、慢性前列腺炎等疾病的治疗^[2-3]。为加强药品质量监督管理,客观评价和提高山东省龙胆泻肝丸的质量,保障广大人民群众

发2020年山东省药品质量风险监测工作方案的通知》(局函[2020]76号)及《2020年山东省药品质量风险监测工作方案》(鲁食药检业[2020]36号)要求,开展龙胆泻肝丸(水丸)质量风险研究。本研究中采用2015年版《中国药典(一部)》标准检验与探索性研究相结合的方法,对从山东省12个地市抽取的30批龙胆泻肝丸(水丸)进行质量评价,并提出合理化建议,以进一步加强

第一作者:李俊卿,女,硕士研究生,副主任药师,研究方向为药品质量检验,(电子信箱)58040633@qq.com。

△通信作者:王金凤,女,博士研究生,助理研究员,研究方向为药品安全性与有效性检验检测新技术与新方法,(电子信箱)wangjinfengchn@163.com。

龙胆泻肝丸(水丸)的监督管理。现报道如下。

1 样品信息及检验依据

龙胆泻肝丸(水丸)来源于山东省的12个地市,涉及药品生产企业14家,共30批样品,样品信息见表1。所有样品生产日期均为2020年12月31日前,故按照2015年版《中国药典(一部)》进行检验,检验项目包括性状、鉴别、水分、装量差异、溶散时限、微生物限度和含量测定。

表1 龙胆泻肝丸(水丸)样品信息
Tab. 1 Information of Longdan Xiegan Pills
(Water - Bindered Pills) samples

生产企业	批号	生产企业	批号
A	19082018		2005015
B	471039		2005110
C	20200305		2005101
D	1906068		2005102
E	200601		2003086
F	22191204		2003064
	22200311		2002093
G	200303	I	120001
	200304	J	002002
	200302	K	200401
	200301X		200402
	200103	L	70191104
H	2003065	M	2001003
	1910028		2001002
	2005103	N	191207

2 方法与结果

2.1 法定标准检验

性状:依据法定检验标准,应为暗黄色水丸,味苦。结果30批样品均为暗黄色,味苦,颜色略有差异,但均符合标准规定。

鉴别:依据法定检验标准,包括显微鉴别1项和薄层色谱鉴别3项。结果30批样品均显示其显微特征,薄层色谱图中均有相应特征斑点出现,均符合规定。

水分:依据法定检验标准,水分应不得过9.0%。结果30批样品的水分为2.7%~7.6%,均符合规定。

装量差异:依据法定检验标准,超出装量差异限度的不得多于2袋(瓶),并不得有1袋(瓶)超出限度1倍。结果30批样品均符合规定。

溶散时限:依据法定检验标准,应在1 h内完全溶散。结果30批样品的溶散时限为31~59 min,均符合规定。

微生物限度:依据法定检验标准,结果30批样品均符合规定。

含量测定:依据法定检验标准,本品每1 g含龙胆

以龙胆苦苷($C_{16}H_{20}O_9$)计,不得少于0.80 mg;含栀子以栀子苷($C_{17}H_{24}O_{10}$)计,不得少于1.30 mg;含黄芩以黄芩苷($C_{21}H_{18}O_{11}$)计,不得少于3.80 mg。结果龙胆苦苷、栀子苷、黄芩苷的含量分别为1.36~6.31 mg/g、2.24~3.77 mg/g、4.53~9.49 mg/g,均符合规定。可见,30批样品含量有一定差异,可能与生产工艺、投料量和饮片质量有关。

2.2 探索性研究

2.2.1 仪器与试药

仪器:岛津LC-20AT型高效液相色谱仪(日本岛津公司);7900型电感耦合等离子体质谱仪(安捷伦科技有限公司);MARS6240/50型微波消解仪(美国CEM公司);BT224S型分析天平(赛多利斯科学仪器有限公司,精度为万分之一)。

试药:龙胆泻肝丸(样品信息见表1);硝酸(分析纯,太仓沪试试剂有限公司,批号为20191219);乙腈(色谱纯,国药集团化学试剂有限公司,批号为20201203);水为超纯水;23-乙酰泽泻醇B对照品(中国食品药品检定研究院,批号为111846-201504,纯度为100%);砷(As)、镉(Cd)、铬、铅(Pb)多元素标准溶液[GNM-M041940-2013,批号为20D3577,质量浓度为1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$],金单元素标准溶液[GNM-SAU-003-2013,批号为19D6574,质量浓度为1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$],锆、铟、铋多元素标准溶液(GNM-M033030-2013,批号为2D3605,质量浓度为10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$),均购自国家有色金属及电子材料分析测试中心;汞(Hg)单元素标准溶液[GBW(E)080124,批号为19052],铜(Cu)单元素标准溶液[GBW(E)080122,批号为19101],质量浓度均为100 $\mu\text{g}/\text{mL}$,均购自中国计量科学研究院。

2.2.2 高效液相色谱法测定23-乙酰泽泻醇B含量

1) 色谱条件

色谱柱:Agilent C_{18} 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(75:25, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:208 nm;柱温:30 $^{\circ}\text{C}$;进样量:10 μL 。

2) 溶液制备

取23-乙酰泽泻醇B对照品10 mg,精密称定,加乙腈制成质量浓度为100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品贮备液。取样品适量,研细,取2 g,精密称定,置具塞平底烧瓶中,加入乙腈20 mL,密塞,称定质量,超声(功率为300 W,频率为50 kHz)45 min,放冷,再称定质量,用乙腈补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

3) 方法学考察

线性关系考察:吸取溶液制备项下对照品贮备液0.2、0.4、0.8、1.0、2.0、3.0、5.0 mL,置10 mL容量瓶中,加乙腈稀释并定容,制成质量浓度分别为2.086,

4. 172, 8. 344, 10. 430, 20. 860, 31. 290, 52. 150 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 的系列对照品溶液。按拟订色谱条件进样测定,以对照品溶液质量浓度($X, \mu\text{g} / \text{mL}$)为横坐标、峰面积积分值(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 8\,118.5X - 3\,873.3 (R^2 = 1.000\,0, n = 7)$ 。结果表明,23-乙酰泽泻醇B质量浓度在2.086~52.150 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:吸取溶液制备项下对照品贮备液适量,按拟订色谱条件连续重复进样测定6次,记录峰面积。结果23-乙酰泽泻醇B峰面积的平均值为179 743, RSD 为0.72%($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:吸取溶液制备项下供试品溶液适量,分别于室温下放置0,2,4,8,12,16,24 h时进样测定,记录峰面积。结果23-乙酰泽泻醇B峰面积的平均值为181 911, RSD 为0.56%($n = 7$),表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

重复性试验:取同一批(批号为2005015)样品,依法制备供试品溶液6份,按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算含量。结果23-乙酰泽泻醇B的平均含量为0.23 mg/g, RSD 为0.63%($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取样品(批号为2005015)适量,共9份,精密称定,置100 mL锥形瓶中,分别加入23-乙酰泽泻醇B对照品0.166 9,0.208 6,0.250 3 mg,各3份,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算回收率。结果平均回收率为99.41%, RSD 为0.86%($n = 9$)。

4)样品含量测定

取30批样品各适量,精密称定,依法制备供试品溶液,各平行2份,按拟订色谱条件进样测定,按外标法计算样品中23-乙酰泽泻醇B的含量。结果见表2。可见,样品中23-乙酰泽泻醇B的含量为0.028~0.388 mg/g;H生产企业的样品含量为0.127~0.388 mg/g,批间含量差异较大;G生产企业的样品含量为0.143~0.162 mg/g,批间含量差异较小,均匀性较好;K生产企业的2批样品中的23-乙酰泽泻醇B的含量远低于其他生产企业的样品,可能存在投料不足或原料药质量不佳的情况。本研究中仅有2批样品,代表性不强,还需收集更多样品进行研究。

2.2.3 电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法测定样品中重金属及有害元素含量

《中国药典(四部)》^[9]中方法,采用电感耦合等离子体质谱仪检测样品中重金属及有害元素Pb, As, Cd, Hg, Cu的含量。结果见表3。

参考2020年版《中国药典(四部)》中植物类中药材

表2 样品中23-乙酰泽泻醇B含量测定结果(mg/g, $n = 2$)

Tab. 2 Results of content determination of 23-acetyl alisol B in samples(mg/g, $n = 2$)

生产企业	批号	含量	生产企业	批号	含量
A	19082018	0.131		2005015	0.387
B	471039	0.241		2005110	0.127
C	20200305	0.146		2005101	0.298
D	1906068	0.129		2005102	0.388
E	200601	0.103		2003086	0.153
F	22191204	0.144		2003064	0.251
	22200311	0.168		2002093	0.160
G	200303	0.162	I	120001	0.113
	200304	0.143	J	002002	0.130
	200302	0.161	K	200401	0.028
	200301X	0.161		200402	0.034
	200103	0.150	L	70191104	0.183
H	2003065	0.149	M	2001003	0.181
	1910028	0.225		2001002	0.184
	2005103	0.240	N	191207	0.112

重金属及有害元素限度规定,即 $\text{Cu} \leq 20 \text{ mg} / \text{kg}$, $\text{As} \leq 2 \text{ mg} / \text{kg}$, $\text{Cd} \leq 1 \text{ mg} / \text{kg}$, $\text{Pb} \leq 5 \text{ mg} / \text{kg}$, $\text{Hg} \leq 0.2 \text{ mg} / \text{kg}$ 。30批样品中,有2个生产企业Cu超标,有1个生产企业Hg超标。相较于中药材,中成药服用量及疗程确切,故通过计算每周的重金属摄入量,并与每周耐受摄入量($\text{Pb} = 0.025 \text{ mg} / \text{kg}$, $\text{Cd} = 0.007 \text{ mg} / \text{kg}$, $\text{As} = 0.015 \text{ mg} / \text{kg}$, $\text{Hg} = 1.6 \mu\text{g} / \text{kg}$, $\text{Cu} = 0.5 \text{ mg} / \text{kg}$)^[10]进行比较,以评价样品的安全风险。公式为 $X_i' = X_i \times I / W^{[10-11]}$,式中, X_i' 为样品中某种重金属每千克体质量的每周摄入量; X_i 为样品中某种重金属含量; I 为样品的每周最大服用量; W 为正常成年人的平均体质量,取60 kg。样品每日服用量取12 g,按上述公式计算,结果各重金属及有害元素每周摄入量均低于每周耐受摄入量,表明风险较低,但长期服用是否存在安全隐患尚需进一步评估。

3 讨论

3.1 含量测定指标性成分选择

泽泻为方中臣药,其药理活性成分主要为泽泻醇类^[12-13]。其中,23-乙酰泽泻醇B为主要成分,故以泽泻中的23-乙酰泽泻醇B为特征指标,建立了考察龙胆泻肝丸中泽泻质量的高效液相色谱法。

3.2 现行法定标准存在的问题

龙胆为方中君药,清肝胆实火,清下焦湿热;黄芩、栀子为臣药,助龙胆清泻肝火之功;泽泻、木通、车前子清下焦湿热;地黄、当归为佐药,补阴血;柴胡有疏肝之功效。本次抽检样品的执行标准为2015年版《中国药典(一部)》,其中仅对龙胆、栀子和黄芩进行质量控制,未控制其余药味。故本研究中进一步对泽泻进行探索性

表3 样品中重金属及有害元素含量测定结果(μg/g)

Tab. 3 Results of content determination of heavy metals and harmful elements in samples(μg/g)

生产企业	批号	Pb	Cd	As	Hg	Cu
A	19082018	1.48	0.19	0.46	0.01	7.77
B	471039	0.50	0.18	0.35	0.01	6.24
C	20200305	1.71	0.21	1.17	0.01	6.37
D	1906068	0.62	0.20	0.34	0.02	6.07
E	200601	0.40	0.20	0.41	0.10	5.00
F	22191204	0.17	0.18	0.28	0.12	5.45
	22200311	0.15	0.16	0.27	0.36	4.73
G	200303	0.40	0.21	0.38	0.01	5.38
	200304	0.55	0.22	0.41	0.01	6.62
	200302	0.53	0.22	0.42	0.01	5.75
	200301X	0.50	0.23	0.20	0.01	5.93
	200103	0.64	0.23	0.50	0.01	6.20
H	2003065	0.14	0.19	0.28	0.03	17.72
	1910028	0.43	0.16	0.40	0.06	45.12
	2005103	0.06	0.18	0.24	0.02	5.09
	2005015	0.34	0.18	0.23	0.03	6.99
	2005110	0.12	0.19	0.29	0.02	4.55
	2005101	0.00	0.17	0.23	0.01	5.63
	2005102	0.21	0.17	0.26	0.01	5.06
	2003086	0.12	0.19	0.24	0.02	5.76
	2003064	0.17	0.21	0.28	0.03	21.08
	2002093	0.38	0.20	0.43	0.03	4.44
I	120001	0.52	0.18	0.45	0.03	4.43
J	002002	0.67	0.43	0.56	0.01	4.93
K	200401	0.97	0.15	0.36	0.01	10.26
	200402	1.05	0.15	0.33	0.00	7.86
L	70191104	0.80	0.17	0.50	0.04	6.21
M	2001003	1.84	0.20	0.60	0.04	11.88
	2001002	2.84	0.20	0.50	0.01	7.64
N	191207	0.29	0.20	0.21	0.00	5.08

研究,建立了龙胆泻肝丸(水丸)中泽泻的含量测定方法。结合法定检验标准及探索性研究发现,不同生产企业及相同生产企业不同批次间药品的质量存在一定差异,原因可能与生产工艺、投料量和原料药质量有关。建议生产企业落实主体责任,加强原料药的质量控制,保证产品质量。

3.3 样品中重金属含量偏高

龙胆泻肝丸(水丸)方中大部分药材的药用部位为根茎,故原料药材的重金属含量可能导致成药中重金属及有害元素含量偏高。通过探索性研究发现,30批样品中均不同程度检出了Pb, As, Cu, Cd, Hg元素,参考2020年版《中国药典(四部)》中植物类中药材重金属及

有害元素限度规定,样品存在重金属Hg和Cu含量超标问题。进一步以各元素每周摄入量评价其风险,结果各元素每周摄入量均低于每周耐受摄入量,表明风险较低,但长期服用是否存在安全隐患尚需进一步评估。

3.4 建议

中药材的质量问题与中成药的重金属污染情况密切相关,中药材的重金属污染是一个长期且复杂的问题,与中药材产地、品种、入药部位、生长环境等诸多因素密切相关。建议药品监督管理部门增强对部分生产企业的监管力度,持续强化日常监督检查与专项检查工作,警示药品生产企业加强对原料药的质量控制,消除安全隐患,从源头控制药品质量,保障临床用药安全、有效。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 809.

[2] LIU N, LI YX, GONG SS, et al. Antinociceptive effects of gentiopicroside on neuropathic pain induced by chronic constriction-injury in mice: A behavioral and electrophysiological study[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2016, 94(7): 769 - 778.

[3] 哈申其木格, 道日娜. 浅谈龙胆泻肝丸临床应用[J]. 世界最新医学信息文摘, 2016, 16(97): 163.

[4] 李冬华, 张平, 张明童, 等. 全国大黄药材及其饮片评价性抽检结果分析与一测多评法研究[J]. 中国药事, 2018, 32(6): 775 - 783.

[5] 李强, 崔洋洋, 高延甲, 等. 山东省市售百合饮片质量分析[J]. 中国药业, 2021, 30(2): 55 - 58.

[6] 王莉萍, 官炜, 邓小晨. HPLC法同时测定龙胆泻肝丸中10个成分的含量[J]. 中药材, 2018, 41(8): 1923 - 1925.

[7] 关皎, 朱鹤云, 尹树铸, 等. HPLC法同时测定龙胆泻肝丸中8个活性成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(12): 2253 - 2259.

[8] 玄敏, 程雪梅, 王峥涛, 等. 不同厂家龙胆泻肝丸中龙胆苦苷、栀子苷、黄芩苷的溶出度测定和比较[J]. 中成药, 2016, 38(4): 790 - 795.

[9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 234.

[10] 邱婧, 王湘波, 李瑞莲, 等. ICP-MS法测定湖南特色中成药中的重金属及有害元素及相关风险评价[J]. 中南药学, 2019, 17(11): 1909 - 1913.

[11] 熊江云, 冯进仪, 吕冠欣. 电感耦合等离子体质谱法测定人参保脾丸中5种重金属元素[J]. 广东药科大学学报, 2021, 37(3): 88 - 92.

[12] 蔡铃英. 高效液相色谱法测定龙胆泻肝丸中泽泻的含量[J]. 海峡药学, 2017, 29(10): 64 - 65.

[13] 赵顺, 孙辉, 丁野, 等. 龙胆泻肝丸的质量标准补充研究[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(1): 133 - 138.

(收稿日期: 2021-07-15; 修回日期: 2021-11-17)