

## UPLC-波长切换法同时测定双黄连注射剂中5种成分含量及差异性分析

孙慧珠<sup>1</sup>, 王晓蕾<sup>1</sup>, 李冬梅<sup>2</sup>, 王冰<sup>2</sup>, 苏建<sup>1</sup>, 张丽<sup>1</sup>, 刘永利<sup>1\*</sup>

1. 河北省药品医疗器械检验研究院 河北省中药质量评价与标准研究重点实验室, 河北 石家庄 050227

2. 河北省药物警戒中心, 河北 石家庄 050090

**摘要:** 目的 建立UPLC波长切换法同时测定双黄连注射剂〔双黄连注射液、注射用双黄连(冻干)、双黄连粉针剂〕中5种特征成分, 并对87批样品(注射液63批, 冻干剂15批, 粉针剂9批)进行测定, 对批次间、企业间及剂型间样品结果差异性进行分析。方法 样品经提取后, 采用UPLC波长切换法, 同时测定了绿原酸、咖啡酸、连翘酯苷A、黄芩苷、连翘苷5种特征成分, 色谱柱: Waters HSS T3 C<sub>18</sub> (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 以乙腈-0.1%磷酸溶液为流动相进行梯度洗脱, 体积流量0.3 mL·min<sup>-1</sup>, 绿原酸、咖啡酸及连翘酯苷A检测波长为324 nm, 黄芩苷检测波长为276 nm, 连翘苷检测波长为228 nm; 进行专属性、线性关系、精密度、重复性、准确度、稳定性方法学考察; 取样品3批, 分别按建立的方法、现行质量标准测定方法检测, 对比2种方法的检测结果; 采用建立的方法对87批样品进行测定。绘制各测定指标结果的频率分布直方图或箱式图, 进行注射液不同企业间、批次间各成分含量差异性分析; 绘制5个成分及绿原酸和咖啡酸总量的平均含量分布情况雷达图, 进行不同剂型之间结果差异性分析; 采用minitab软件对87批样品测定结果进行主成分分析。结果 建立UPLC波长切换法经方法学考察符合要求; 与现行质量标准测定方法比对, 建立的方法检测结果无差异。注射液2个生产企业样本数相当, 绿原酸和咖啡酸总量的均值及离散程度无差异, 但不同企业2种成分比例存在差别; 黄芩苷、连翘苷及连翘酯苷A含量均值一致, 离散程度一致, 不同生产企业、不同批次间无显著性差异。雷达图结果显示, 冻干剂与粉针剂工艺除干燥方式外完全一致, 其绿原酸、咖啡酸、两者总量及黄芩苷含量比例落点几乎重合; 连翘苷与连翘酯苷A在粉针剂中含量是冻干剂的近2倍, 且批次间差异性大; 纵向比较3个剂型, 除连翘苷含量相近外, 其余成分含量差别均较大。主成分分析结果显示, 3个不同剂型被明显区分, 现行质量标准控制项目越多的剂型, 样品越集中。结论 建立的方法准确可靠, 在多样本测定的基础上为标准统一及药品质量标准制定的合理性提供参考。

**关键词:** 双黄连注射液; 注射用双黄连(冻干); 双黄连粉针剂; UPLC; 一致性; 含量测定; 绿原酸; 咖啡酸; 连翘酯苷A; 黄芩苷; 连翘苷

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2023)04-0821-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.04.016

## Determination and difference analysis of five components in Shuanghuanglian Injection by UPLC wavelength switching method

SUN Huizhu<sup>1</sup>, WANG Xiaolei<sup>1</sup>, LI Dongmei<sup>2</sup>, WANG Bing<sup>2</sup>, SU Jian<sup>1</sup>, ZHANG Li<sup>1</sup>, LIU Yongli<sup>1</sup>

1. Hebei Institution of Drug and Medical Device Control, Shijiazhuang 050227, China

2. Hebei Provincial Pharmacovigilance Center, Shijiazhuang 050090, China

**Abstract: Objective** To establish a UPLC method for simultaneous determination of five components in Shuanghuanglian Injection (injection, lyophilized powder and powder-injection) by switching wavelength, and 87 batches of samples were determined. The differences of results among batches, enterprises and dosage forms were analyzed. **Methods** The sample were ultrasound-treated with appropriate solvents, UPLC was used to simultaneously determine five components of chlorogenic acid, caffeic acid, forsythiaside A, baicalin and forsythin. Waters HSS T3 C<sub>18</sub> (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) column was used for gradient elution with acetonitrile-0.1% phosphoric acid as mobile phase at a flow rate of 0.3 mL·min<sup>-1</sup>. The detection wavelength of chlorogenic acid, caffeic acid and forsythiaside A was 324 nm, baicalin was 276 nm, forsythin was 228 nm. Conduct methodological studies on specificity, linear relationship, precision, repeatability, accuracy, and stability was carry on. Three batches of samples were tested

收稿日期: 2022-10-10

第一作者: 孙慧珠(1985—),女,硕士,主要从事中药质量标准研究。E-mail:sunhuizhu@163.com

\*通信作者: 刘永利,男,主要从事中药质量控制方法研究。E-mail:liuyongli2008@126.com

according to the established method and the current quality standard measurement method, and the test results of the two methods were compared. 87 batches of samples were determined. The established method was used to determine 87 batches of samples. Draw a frequency distribution histogram or box chart of the results of each measurement index, and analyze the content differences of various components among different enterprises and batches of injection. The average content distribution of five components and the total amount of chlorogenic acid and caffeic acid was plotted using a radar chart, and the difference in results between different dosage forms was analyzed. The results of 87 batches of samples were analyzed by principal component analysis using minitab software. **Results** The establishment of UPLC wavelength switching method meets the requirements through methodological investigation. Compared with the current quality standard measurement method, the established method has no difference in detection results. The sample numbers of the two injection production enterprises were similar, and there was no difference in the mean value and dispersion degree of the total amount of chlorogenic acid and caffeic acid, but there were differences in the proportion of components between different enterprises. The mean values of baicalin, forsythrin, and forsythrin A content were consistent, and the degree of dispersion was consistent. There was no significant difference between different manufacturers and different batches. The radar chart results show that the freeze-dried agent and powder injection process are completely consistent except for the drying method, with the total amount of chlorogenic acid, caffeic acid, and baicalin content ratio falling points almost coincident. The content of forsythrin and forsythrin A2 in powder injection was nearly twice as high as that in freeze-dried formulation, and there was significant difference between batches. Longitudinal comparison of the three dosage forms showed that except for the similar content of phillyrin, the content of other components varied significantly. The results of principal component analysis showed that three different dosage forms were clearly distinguished, and the more dosage forms controlled by current quality standards, the more concentrated the samples. **Conclusion** The method established in this study is accurate and reliable, and provides a basis for the unification of standards and the rationality of drug quality standards on the basis of multi-sample determination.

**Key words:** Shuanghuanglian Injection; Shuanghuanglian Injection (freeze-dried); Shuanghuanglian Powder Injection; UPLC; consistency; assay; chlorogenic acid; caffeic acid; forsythiaside A; baicalin; forsythrin

双黄连注射剂包括双黄连注射液、双黄连粉针剂及注射用双黄连(冻干)3个剂型,处方均由连翘、金银花、黄芩3味药材组成,具有清热解毒的功效,用于外感风热引起的发热、咳嗽、咽痛,适用于上呼吸道感染、肺炎等。双黄连注射液现有生产企业11家,现行标准为国家药品标准WS<sub>3</sub>-B-2104-96-2010,采用3个HPLC系统测定了绿原酸和咖啡酸、黄芩苷、连翘苷4种成分的含量;注射用双黄连(冻干)现有生产企业2家,批准文号5个,现行标准为《中国药典》2020年版一部,采用3个HPLC系统测定了绿原酸、黄芩苷、连翘苷3种成分的含量;双黄连粉针剂为独家品种,现行标准为新药转正标准第18册,采用2个HPLC系统测定了绿原酸、黄芩苷2种成分的含量。3个剂型的处方工艺、功能主治一致,但现行质量标准检验项目差别较大。一些学者认为双黄连注射剂中有效成分既是起效的物质基础,也是致敏的物质基础<sup>[1-3]</sup>。因此对双黄连注射剂中特征成分及其含量的研究较多,李文春等<sup>[4]</sup>采用HPLC-DAD同时测定双黄连粉针剂中15种成分的含量;罗玲等<sup>[5]</sup>采用UPLC-MS-MS同时测定双黄连粉针剂中7种活性成分;Zhang等<sup>[6]</sup>采用HPLC-ESI-MS建立双黄连注射液的色谱指纹图谱。亦有文献关

注批次间差异性,如Luan等<sup>[7]</sup>采用HPLC结合化学计量学定量分析6种成分比较双黄连注射剂;及采用比较指纹图谱<sup>[8-9]</sup>比较注射用双黄连(冻干)不同批次间或不同处置情况间的差别,但均局限于同一生产企业同一剂型,没有比较企业间及剂型间差异性。本研究建立了适用于双黄连注射剂3个剂型的UPLC法同时测定5种特征成分,并对收集的87批次不同企业的注射剂(63批注射液、15批冻干粉、9批粉针剂)进行测定,对样品的批次间、企业间、剂型间差异性进行分析。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

超高效液相色谱仪(美国Waters公司);XPE26型电子天平(美国Mettler Toledo公司,感量0.001 mg);XS105型电子天平(美国Mettler Toledo公司,感量0.01 mg);Integral10超纯水仪(美国Millipore公司);KQ-5000DE型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

### 1.2 药物与主要试剂

对照品:绿原酸(批号110753-201817,质量分数97.3%)、咖啡酸(批号110885-201703,质量分数100%)、连翘酯苷A(批号110810-201707,质量分数

96.3%)、黄芩苷(批号 110715-201821, 质量分数 96.5%)、连翘苷(批号 110821-201615, 质量分数 100%), 均购自中国食品药品检定研究院。

样品 87 批, 其中注射液 63 批[规格 20 mL, 其中 30 批为黑龙江省格润药业有限责任公司(简称格润)生产, 33 批为河南福森药业有限公司(简称福森)生产]; 冻干剂 15 批(规格 600 mg, 哈药集团中药二厂); 粉针剂 9 批(规格 600 mg, 哈药集团中药二厂)。

甲醇、乙腈、磷酸均为色谱纯; 水为去离子水。

## 2 方法与结果

### 2.1 混合对照品溶液制备

取绿原酸、咖啡酸、连翘酯苷 A、黄芩苷、连翘苷对照品适量, 精密称定, 加 70% 甲醇制成各含  $60 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $0.2 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $2 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $60 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的混合溶液, 即得。

### 2.2 供试品溶液制备

注射液: 精密量取本品 3 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

冻干粉或粉针剂: 取装量差异项下本品, 约 80 mg, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 加 70% 乙醇适量, 超声处理(功率 250 W、频率 33 kHz) 20 min, 取出, 放冷, 加 70% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

### 2.3 阴性样品溶液制备

按处方比例及工艺分别制备缺金银花、连翘、

黄芩的阴性样品, 并按“2.2”项下方法制备溶液, 即得。

### 2.4 色谱条件

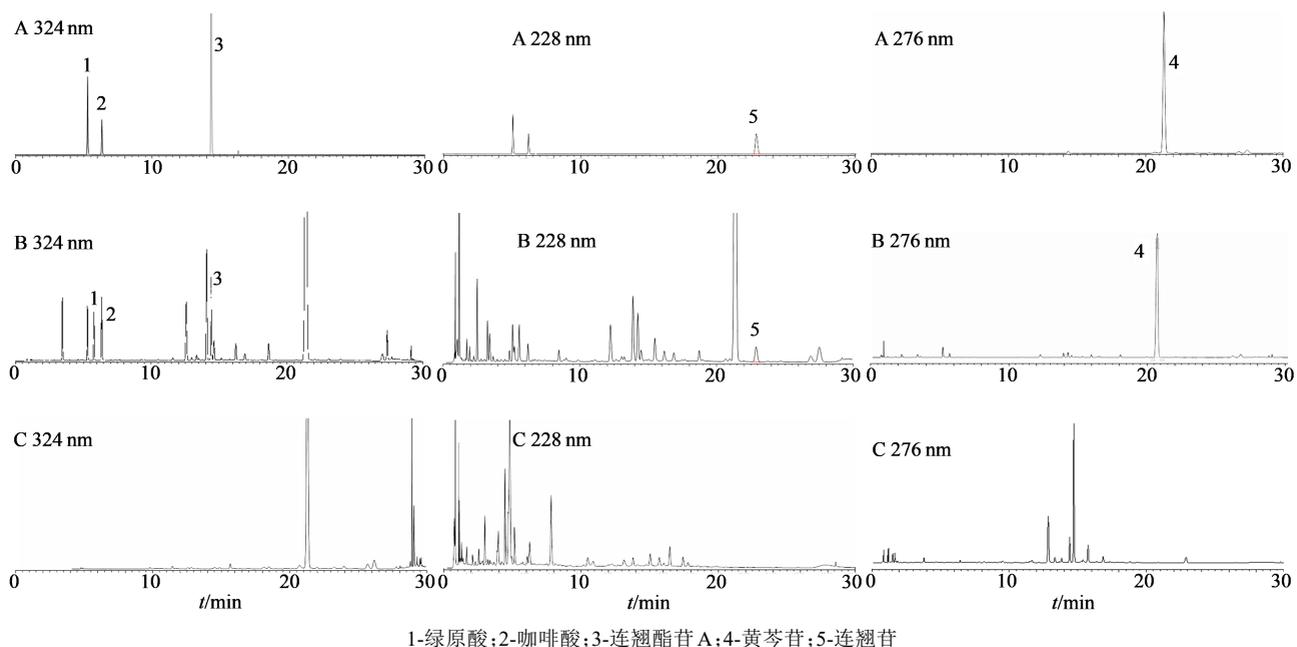
色谱柱: Waters HSS T3  $\text{C}_{18}$  (100 mm × 2.1 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ ), 流动相为乙腈(A)-0.1% 磷酸溶液(B), 梯度洗脱(0~5 min, 10%→16% A; 5~10 min, 16%→17% A; 10~15 min, 17%→23% A; 15~25 min, 23%→25% A)。绿原酸、咖啡酸、连翘酯苷 A 检测波长为 324 nm, 黄芩苷检测波长为 276 nm, 连翘苷检测波长为 228 nm。理论板数按绿原酸峰计算应不低于 6 000。体积流量  $0.3 \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 进样量 1  $\mu\text{L}$ 。

### 2.5 专属性考察

分别取混合对照品溶液、供试品溶液及阴性样品溶液, 按“2.4”项下色谱条件进样分析, 结果见图 1, 样品色谱中在各检测波长下与对照品色谱相同保留时间处出现色谱峰, 而阴性样品相应位置无相应峰, 不干扰测定; 待测成分与杂质峰分离度良好, 方法专属性良好。

### 2.6 线性关系考察

分别精密量取各对照品配制系列浓度混合对照品溶液, 各精密吸取 1  $\mu\text{L}$ , 注入液相色谱仪, 测定, 记录峰面积, 以对照品进样浓度为横坐标, 峰面积分值为纵坐标, 绘制标准曲线。结果表明 5 种成分在各自线性范围内线性关系良好。结果见表 1。



1-绿原酸; 2-咖啡酸; 3-连翘酯苷 A; 4-黄芩苷; 5-连翘苷

1-chlorogenic acid; 2-caffeic acid; 3-forsythiadin A; 4-baicalin; 5-forsythidin

图 1 对照品(A)、样品(B)、阴性样品(C)方法专属性试验色谱图

Fig. 1 Chromatogram of standards (A), sample (B), and negative sample (C)

表1 各待测成分线性关系考察结果

Table 1 Results of linear regression of the investigated compounds

待测成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
绿原酸	$Y=8\,504.4 X-3\,927.6$	0.999 9	1.406~281.100
咖啡酸	$Y=1.457\,8\times 10^4 X-1\,626.4$	0.999 9	0.531 0~21.240 0
连翘酯苷 A	$Y=6\,037.8 X-62174.4$	0.999 7	23.95~958.10
黄芩苷	$Y=4.827\times 10^6 X+7.643\times 10^5$	0.999 6	0.194 0~9.699 3
连翘苷	$Y=7\,998.7 X-6156.3$	0.999 9	2.997~299.700

## 2.7 精密度考察

取混合对照品溶液连续进样6次,分别计算各待测成分的精密度。结果绿原酸、咖啡酸、连翘酯苷 A、黄芩苷、连翘苷的 RSD 分别为 0.7%、1.7%、0.8%、0.4%、1.1%,表明仪器精密度良好。

## 2.8 重复性试验

取同1批注射液样品(批号 1908093),精密量取 2、3、4 mL,各平行取 3 份,共 9 份,分别置 10 mL 量瓶中,加 70% 甲醇至刻度,摇匀,按“2.4”项色谱条件测定,结果绿原酸、咖啡酸、连翘酯苷、黄芩苷、连翘苷质量浓度分别为 0.183 9、0.065 3、0.543 8、7.5030、0.186 3  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ , RSD 分别为 2.0%、2.0%、2.0%、1.6%、1.5%,表明本方法重复性良好。

## 2.9 准确度试验

精密量取已知含量的注射液样品 9 份,每份取样量为供试品溶液制备时取样量的 50%,以当前取样含量的 0.5、1.0、1.5 倍,分别精密加入混合对照品溶液,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,按含量测定方法测定,计算加样回收率。结果 5 种待测成分平均加样回收率为 99.4%~103.6%,RSD 为 1.3%~1.7%,表明该方法具有良好的准确度,方法可行。

## 2.10 冻干剂的重复性及准确度考察

取冻干剂样品(批号 1909002)适量,分别称取高、中、低 3 种不同质量,每个浓度平行 3 份,共 9 份,按“2.2”项下方法制备供试品溶液进行测定,结果各待测成分 RSD 为 1.8%~2.5%,方法重复性良好。取该样品进行准确度试验,结果 5 种待测成分平均加样回收率为 98.3%~100.9%,RSD 为 0.8%~2.1%,表明该方法具有良好的准确度,方法可行。

## 2.11 供试品溶液稳定性考察

分别取注射液样品(批号 1908093)、冻干剂样品(批号 1909002)溶液,于 0、3、6、12、18、24 h 进样测定,记录各峰面积,计算 RSD 值。结果各待测成分峰面积的 RSD 均小于 3.0%,表明供试品溶液在室温密封条件下稳定性较好。

## 2.12 与现行质量标准测定方法比对研究

取各剂型样品 3 批,分别按 2 种方法检测,计算相同待测成分含量(表 3),二者无显著性差异。

## 2.13 样品测定结果分析

取全部双黄连注射剂样品,分别按“2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.4”项下色谱条件进行测定,记录峰面积,采用外标法分别计算各待测成分的含量,对全部样品测定统计结果见表 4、5。

## 2.14 注射液不同企业间、批次间各成分含量差异性分析

注射液 2 个生产企业样本数相当,采用 SPSS 25.0 软件,绘制各测定指标结果的频率分布直方图或箱式图。绿原酸和咖啡酸总量的均值及离散程度无差异,但不同企业 2 种成分比例存在差别,福森样品中绿原酸含量较高,咖啡酸含量较低;而在格润样品中 2 种成分含量差别较小。频率分布直方图与箱式图见图 2。

2 个生产企业样品黄芩苷、连翘苷及连翘酯苷 A 含量均值一致,离散程度一致,不同生产企业不同批次间无显著性差异,频率分布直方图见图 3。

## 2.15 不同剂型之间结果差异性分析

为了更直观反映不同生产企业及不同剂型样品间化学成分分布,绘制了 5 种成分及绿原酸和咖啡酸总量的平均含量分布情况雷达图。不同剂型不同规格样品含量计算单位不同,10 mL 注射液与 600 mg 冻干剂或粉针剂所含生药量一致,为统一比较,注射液含量以“每 10 mL”计,冻干粉或粉针剂以“每 600 mg”计。因不同待测成分的含量数值差异大,将不同剂型各生产企业中待分析成分含量的平均值分别进行加和,再以各生产企业每种待分析成分含量的平均值与相应总和比较,得到的比值采用 Excel 绘制雷达图(图 4)。

2 个注射液生产企业的样品中,标准控制项目

表3 不同方法测定相同待测成分结果对比

Table 3 Results of different methods for components

品种	批号	绿原酸、咖啡酸总量/(mg·mL <sup>-1</sup> )		黄芩苷/(mg·mL <sup>-1</sup> )		连翘苷/(mg·mL <sup>-1</sup> )	
		现标准	建立的方法	现标准	建立的方法	现标准	建立的方法
双黄连注射液	1908093	0.25	0.25	75	75	0.16	0.17
	1910081	0.24	0.23	75	74	0.15	0.16
	1906143	0.22	0.22	74	74	0.16	0.17
品种	批号	绿原酸/(mg·瓶 <sup>-1</sup> )		黄芩苷/(mg·瓶 <sup>-1</sup> )		连翘苷/(mg·瓶 <sup>-1</sup> )	
		现标准	建立的方法	现标准	建立的方法	现标准	建立的方法
注射用双黄连(冻干)	1909002	9.6	9.6	158	156	1.7	1.8
	1907014	9.8	9.8	144	146	1.8	1.9
	1910418	9.8	9.8	150	149	1.9	2.0
品种	批号	绿原酸/(mg·瓶 <sup>-1</sup> )		黄芩苷/(mg·瓶 <sup>-1</sup> )			
		现标准	建立的方法	现标准	建立的方法		
双黄连粉针剂	1910604	10.4	10.2	156.3	155.9		
	1909601	10.2	10.5	149.2	150.5		
	2002605	9.9	9.6	150.1	149.4		

注射液标准:国家药品标准 WS3-B-2104-96-2010;注射用双黄连(冻干)标准:《中国药典》2020年版一部;双黄连粉针剂标准:新药转正标准第18册,WS-183(Z-033)-98(Z)

Injection standard: National Drug Standard WS3-B-2104-96-2010; Standard for Shuanghuanglian (lyophilized) for Injection: Chinese Pharmacopoeia, Volume 1, 2020 Edition; Shuanghuanglian Powder Injection standard: New Drug Conversion Standard Volume 18, WS-183 (Z-033)-98(Z)

表4 注射液样品含量测定结果按企业分类统计

Table 4 Statistical table of results of injection samples

企业	成分	n	最小值/(mg·mL <sup>-1</sup> )	最大值/(mg·mL <sup>-1</sup> )	均值/(mg·mL <sup>-1</sup> )	RSD/%
注射液I(福森)	绿原酸	33	0.165	0.205	0.186	5.6
	咖啡酸	33	0.049	0.096	0.066	16.1
	绿原酸、咖啡酸	33	0.220	0.280	0.252	5.7
	黄芩苷	33	6.600	7.700	7.212	3.6
	连翘苷	33	0.140	0.180	0.162	5.7
	连翘酯苷 A	33	3.770	6.990	5.086	15.9
注射液II (格润)	绿原酸	30	0.102	0.152	0.137	7.8
	咖啡酸	30	0.085	0.133	0.116	8.5
	绿原酸、咖啡酸	30	0.211	0.280	0.252	6.4
	黄芩苷	30	6.700	8.101	7.181	4.6
	连翘苷	30	0.141	0.170	0.157	4.8
	连翘酯苷 A	30	2.862	6.090	4.834	11.6

成分的结果落点几乎重合,而绿原酸与咖啡酸的量存在差异。冻干剂与粉针剂工艺除干燥方式外完全一致,其绿原酸、咖啡酸、2者总量及黄芩苷含量比例落点几乎重合;连翘苷与连翘酯苷 A 2种成分在粉针剂中含量是冻干剂的近2倍,且批次间差异性大(表5)。纵向比较3个剂型,待测成分对应的生药量一致,工艺基本一致,除连翘苷含量相近外,其余成分含量差别均较大。

## 2.16 主成分分析

主成分分析利用少量的主成分解释大量变量之间的相关性,进而有效地把多维原始数据降维<sup>[10]</sup>。采用minitab软件对87批样品测定结果进行主成分分析,对各待测成分结果进行处理,优选出尽可能少地能反映原来指标信息的变量差异。以特征值>0.5为提取标准,得到前2个主成分的方差累积贡献率为93.4%,因此2个主成分代表了双黄

表5 冻干剂与粉针剂含量测定结果统计表

Table 5 Statistical table of results of lyophilized powder and powder-injection

剂型	成分	n	最小值/(mg·瓶 <sup>-1</sup> )	最大值/(mg·瓶 <sup>-1</sup> )	均值/(mg·瓶 <sup>-1</sup> )	RSD/%
冻干剂	绿原酸	15	9.600	10.601	9.833	2.9
	咖啡酸	15	0.233	0.311	0.279	8.8
	黄芩苷	15	141.0	158.0	148.7	3.6
	连翘苷	15	1.700	2.000	1.913	5.5
	连翘酯苷 A	15	6.806	11.025	8.851	13.8
粉针剂	绿原酸	9	9.600	10.300	9.878	2.5
	咖啡酸	9	0.210	0.310	0.268	15.0
	黄芩苷	9	138.2	160.1	150.1	4.6
	连翘苷	9	2.740	4.371	3.891	12.8
	连翘酯苷 A	9	10.640	13.811	12.325	7.9

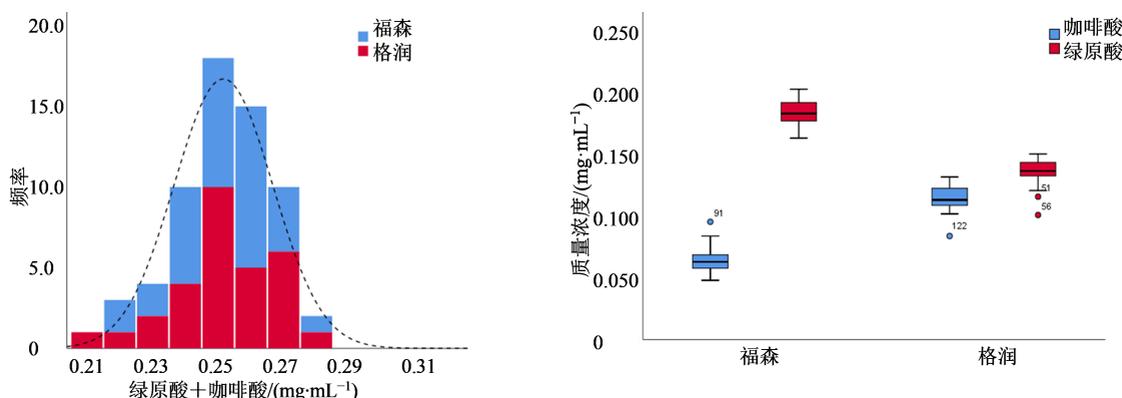


图2 绿原酸、咖啡酸总量分布直方图及各成分含量箱式图

Fig. 2 Distribution histogram and box diagram of chlorogenic acid and caffeic acid

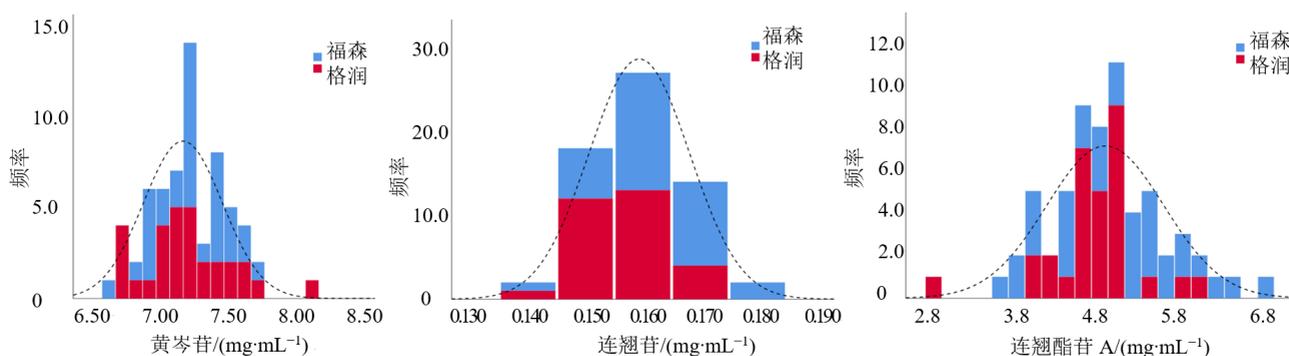


图3 黄芩苷、连翘苷和连翘酯苷 A 结果分布

Fig. 3 Distribution of results of baicalin, forsythiin, and forsythiaside A

连注射剂中6个特征值93.4%的信息量。主成分分析得分图见图5,3个不同剂型被明显区分,现行质量标准控制项目越多的剂型,样品越集中,粉针剂分布较为分散。

### 3 讨论

#### 3.1 提取溶剂与检测波长的选择

分别取注射液、冻干剂、粉针剂样品,以甲醇、70%甲醇、乙醇、70%乙醇为溶剂进行测定,结果注

射液以70%甲醇为溶剂,冻干粉、粉针剂以70%乙醇为溶剂,待测成分提取率较高。因此,不同剂型采取不同溶剂进行提取,各待测成分均能得到较高的结果。

各待测成分性质各异,紫外吸收特性不一,且含量差别较大,因此本研究采取二极管阵列检测器对各待测成分紫外吸收光谱进行扫描,选定各待测成分最大吸收波长处切换波长进行检测,各待测成

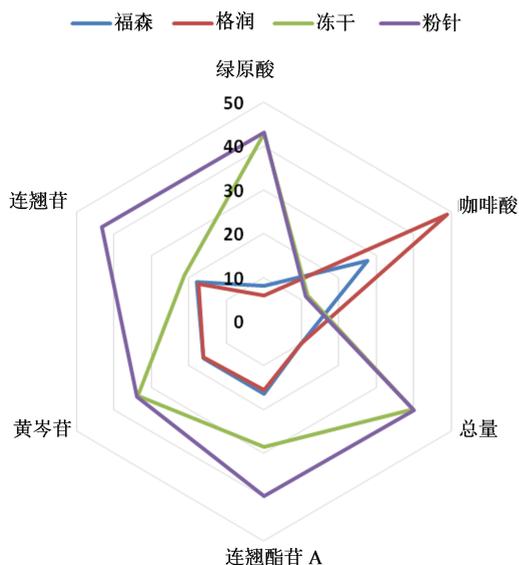


图4 2个生产企业注射液样品、冻干剂、粉针剂中6种监测指标平均含量的分布雷达图

Fig. 4 Radar chart of average content of six index in samples of Shuanghuanglian Injection of two production enterprises, lyophilized powder and powder-injection

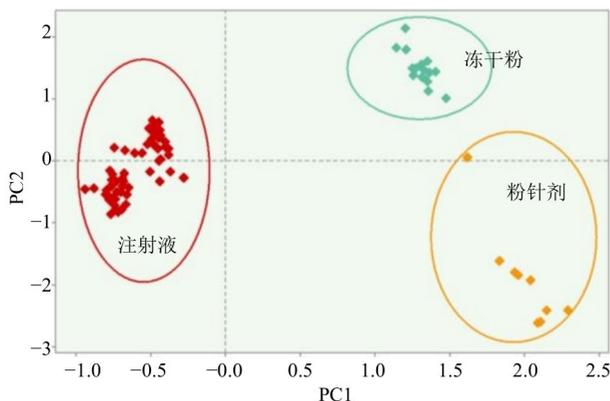


图5 主成分分析得分图

Fig. 5 Figure of principal component analysis

分响应良好且无干扰,方法专属性良好。

### 3.2 粉针剂及冻干剂的重复性及回收率考察

粉针剂与冻干剂的差别在于干燥工艺,粉针剂为喷雾干燥之后进行分装;而冻干剂采用冷冻干燥工艺,制得疏松固状物。在本实验前期对指纹图谱的研究中,粉针剂与冻干剂标准指纹图谱的相似度均大于0.93,说明干燥工艺对物质基础几乎无影响,因此在本实验中省略对粉针剂的重复性及回收率考察。

### 3.3 结论

注射用双黄连(冻干)与双黄连粉针剂均为双黄连注射液的改剂型品种,根据调研资料显示,冻干剂与粉针剂因未收集到注射液原研企业样品及资料,限度依据为10批样品测定结果的平均值±15%。3种剂

型处方、工艺及用法用量一致,但特征成分含量有较明显差别,有学者认为绿原酸等小分子属于半抗原,可与人体内蛋白质相结合,导致机体I型超敏反应<sup>[11-12]</sup>,有报道分析出黄芩苷为双黄连潜在过敏成分<sup>[13]</sup>。因此各测定成分含量与其有效性和不良反应息息相关,3种剂型现行质量标准差异较大,在检测项目设置及检验方法上有提高的空间。本研究建立的检测方法以及对样品测定结果的分析为双黄连注射剂系列品种标准的提高和统一提供参考。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] 袁强,王莉,成岚,等. 国家基本药物目录(2004年版)33种中药注射剂不良反应/不良事件文献分析[J]. 中国循证医学杂志, 2010, 10(2): 132-139.  
Yuan Q, Wang L, Cheng L, et al. Adverse drug reactions and adverse events of 33 varieties of traditional Chinese medicine injections on the national essential drugs list (2004 edition) of China: An overview on published literatures [J]. Chin J Evid Based Med, 2010, 10(2): 132-139.
- [2] 田锋奇. 黄芩苷的致过敏作用机制[D]. 郑州: 郑州大学, 2007.  
Tian F Q. Sensitization mechanism of baicalin [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2007.
- [3] 刘兆华,程芳,周庚寅,等. C57BL/6J小鼠腭窝淋巴结试验评价注射用双黄连的致敏性研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2010, 30(1): 64-67.  
Liu Z H, Cheng F, Zhou G Y, et al. Study on the sensitizing potential of Shuanghuanglian Injection using poplite lymph node assay in C57BL/6J mice [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2010, 30(1): 64-67.
- [4] 李文春,孙永慧,解黎雯,等. HPLC同时测定双黄连粉针剂中15种成分的含量[J]. 中国新药杂志, 2014, 23(22): 2614-2618, 2630.  
Li W C, Sun Y H, Xie L W, et al. Simultaneous determination of fifteen components in Shuanghuanglian Powder for Injection by HPLC [J]. Chin J New Drugs, 2014, 23(22): 2614-2618, 2630.
- [5] 罗玲,黄玉婵,黄琴,等. UPLC-MS-MS同时测定双黄连粉针中7种活性成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(13): 80-84.  
Luo L, Huang Y C, Huang Q, et al. Simultaneous determination of seven components in Shuanghuanglian Injection Powder by UPLC-MS-MS [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2014, 20(13): 80-84.
- [6] Zhang Q, Cai C K, Wang P L, et al. Baicalin and rutin are major constituents in Shuanghuanglian Injection

- involving anaphylactoid reaction [J]. *J Tradit Chin Medn*, 2017, 37(3): 412-420.
- [7] Luan L, Wang G L, Lin R C. HPLC and chemometrics for the quality consistency evaluation of Shuanghuanglian Injection [J]. *J Chromatogr Sci*, 2014, 52(7): 707-712.
- [8] 赵丹, 朱乃亮, 孙桂波, 等. 基于聚类分析的不同批次注射用双黄连冻干粉 HPLC 指纹图谱研究 [J]. *中国药师*, 2019, 22(7): 1193-1196.
- Zhao D, Zhu N L, Sun G B, et al. Study on the HPLC fingerprints of Shuanghuanglian Powder for injection with different batches based on cluster analysis [J]. *China Pharm*, 2019, 22(7): 1193-1196.
- [9] 冯五文, 王晶, 张世洋, 等. 注射用双黄连(冻干)的 UPLC 指纹图谱研究及质量评价 [J]. *中药与临床*, 2018, 9(6): 31-33, 8.
- Feng W W, Wang J, Zhang S Y, et al. UPLC fingerprint study and quality evaluation of Shuang-Huang-Lian Lyophilized Powder [J]. *Pharm Clin Chin Mater Med*, 2018, 9(6): 31-33, 8.
- [10] Worley B, Powers R. Multivariate analysis in metabolomics [J]. *Curr Metabolomics*, 2012, 1(1): 92-107.
- [11] 何洲, 屈会化, 王雪茜, 等. 绿原酸作为半抗原的致敏性研究 [J]. *北京中医药大学学报*, 2010, 33(10): 667-669, 680.
- He Z, Qu H H, Wang X Q, et al. Allergenicity of chlorogenic acid as hapten [J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med*, 2010, 33(10): 667-669, 680.
- [12] 帅维维, 朱丹凤, 蒋宝平, 等. 绿原酸对 BN 大鼠的致敏性研究 [J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(7): 1566-1568.
- Shuai W W, Zhu D F, Jiang B P, et al. A study of chlorogenic acid to anaphylactic reaction of BN rat [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2019, 30(7): 1566-1568.
- [13] Han S L, Zhang T, Huang J, et al. New method of screening allergenic components from Shuanghuanglian injection: With RBL-2H3/CMC model online HPLC/MS system [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 88: 602-608.

[责任编辑 兰新新]