

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.19.016

在渝流通双黄连口服液质量分析

余 为

(重庆市黔江食品药品检验所,重庆 409000)

摘要:目的 分析在渝流通双黄连口服液的质量。方法 采用高效液相色谱法检测在渝流通不同厂家双黄连口服液样品中黄芩苷、绿原酸、连翘苷 3 个指标性成分的含量;对指标性成分进行聚类分析,评价样品质量。结果 5 个厂家 35 批样品均符合 2020 年版《中国药典(一部)》规定。其中,黄芩苷含量为 11.04~17.89 mg/mL,平均 12.52 mg/mL;绿原酸含量为 0.63~1.61 mg/mL,平均 1.01 mg/mL;连翘苷含量为 0.38~0.70 mg/mL,平均 0.51 mg/mL。各批样品经聚类分析可聚为三类,且同一厂家、不同批号的样品,其含量高低值相差较大。结论 需从药材源头、生产、流通等各环节对质量进行把控,以提高双黄连口服液质量的一致性。

关键词:双黄连口服液;黄芩苷;绿原酸;连翘苷;含量测定;质量分析;聚类分析

中图分类号:R932;R286.0

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2021)19-0061-04

Quality Analysis of Shuanghuanglian Oral Liquid Circulating in Chongqing

YU Wei

(Qianjiang District Institute for Food and Drug Control, Chongqing, China 409000)

Abstract: **Objective** To analyze the quality of Shuanghuanglian Oral Liquid circulating in Chongqing. **Methods** The content of baicalin, chlorogenic acid and forsythoside in Shuanghuanglian Oral Liquid from different manufacturers circulating in Chongqing were determined by the high-performance liquid chromatography (HPLC) method. The index components were analyzed by cluster analysis to evaluate the quality of the sample. **Results** A total of 35 batches of samples from five manufacturers all met the requirements of the Chinese Pharmacopoeia (2020 Edition, volume I). The content of baicalin was in the range of 11.04~17.89 mg/mL, with an average of 12.52 mg/mL. The content of chlorogenic acid was in the range of 0.63~1.61 mg/mL, with an average of 1.01 mg/mL. The content of forsythoside was in the range of 0.38~0.70 mg/mL, with an average of 0.51 mg/mL. Each batch of sample could be divided into three categories by cluster analysis, and even if the different batch of the samples from the same manufacturer had a large difference between high and low content values. **Conclusion** The quality of Shuanghuanglian Oral Liquid should be controlled from the source, production and circulation of medicinal materials to improve the consistency of the quality of Shuanghuanglian Oral Liquid.

Key words: Shuanghuanglian Oral Liquid; baicalin, chlorogenic acid, forsythoside; content determination; quality analysis; cluster analysis

双黄连口服液由金银花(双花)、黄芩、连翘经现代工艺加工制成,具有疏风解表、清热解毒等功效,主要用于治疗外感风热所致感冒、甲型 H1N1 流感、重症急性呼吸综合征、流行性腮腺炎、口腔溃疡等^[1-5]。2020 年起,双黄连因被发现口服后可通过多靶点、多通路抑制新型冠状病毒^[6-8]而热销。本研究中对 35 批在渝流通双黄连口服液中黄芩苷、绿原酸、连翘苷 3 个指标性成分进行检测,以为临床应用提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

1260 型高效液相色谱仪,含二极管阵列检测器(美国 Agilent 公司);XP205 型分析天平(美国 Mettler Toledo 公司,精度为 0.01 mg);SB-800DT 型超声波清洗仪(宁波新芝生物科技有限公司)。

1.2 试剂

黄芩苷对照品(批号为 110715-201318,含量为 93.3%),绿原酸对照品(批号为 110753-201415,含量为 96.2%),连翘苷对照品(批号为 110821-201615,含

量为 94.9%),均购自中国食品药品检定研究院;甲醇、乙腈均为色谱纯;冰醋酸、中性氧化铝均为分析纯;水为超纯水。35 批双黄连口服液(见表 1)均为 2017 年起就在重庆流通且送监督抽检的产品,被抽检单位主要来自

表 1 35 份双黄连口服液样品信息

Tabl. 1 Information of 35 samples of Shuanghuanglian Oral Liquid

编号	生产单位(委托方)	批号
1-14	河南福森药业有限公司	16112611, 16110711, 16114811*, 16122111, 16035011, 17010111*, 17011611*, 17030111, 17022522, 17010211
15-24	哈药集团三精制药股份有限公司	16111411*, 16112531*, 16120821, 16112611, 16101423*, 16091821, 17021512
25-32	河南太龙药业股份有限公司	151016022, 160811012, 160815072, 161110012, 161109052, 161114012, 160802052, 160905062
33-34	南阳市新生制药有限公司	170302, 170363
35	黑龙江珍宝岛药业股份有限公司	B13170413

注:*,#分别代表该批号有 2 份和 3 份同批号样品。

Note: * means that there are two samples with the same batch number, # means that there are three samples with the same batch number.

重庆辖区的医院、诊所、药品批发公司、连锁药店、个体药店等。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 色谱条件

色谱柱: Agilent Zorbax SR-C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 黄芩为甲醇-水-冰醋酸(50:50:1, V/V/V), 金银花为甲醇-水-冰醋酸(20:80:1, V/V/V), 连翘为乙腈-水(25:75, V/V); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 黄芩为 274 nm, 金银花为 324 nm, 连翘为 278 nm; 柱温: 25 °C; 进样量: 黄芩为 5 μL, 金银花、连翘均为 10 μL。

2.1.2 溶液制备

黄芩: 取黄芩苷对照品适量, 精密称定, 用 50% 甲醇溶解, 制成质量浓度为 0.1 mg/mL 的黄芩苷对照品溶液。精密量取样品 1 mL, 置 50 mL 容量瓶中, 用 50% 甲醇稀释, 超声(功率 800 W, 频率 40 kHz)处理 20 min, 放至室温, 用 50% 甲醇定容, 即得黄芩供试品溶液。按双黄连口服液工艺及处方制备缺黄芩的阴性样品, 并按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

金银花: 取绿原酸对照品适量, 精密称定, 置棕色容量瓶中, 加水溶解, 制成质量浓度为 40 μg/mL 的绿原

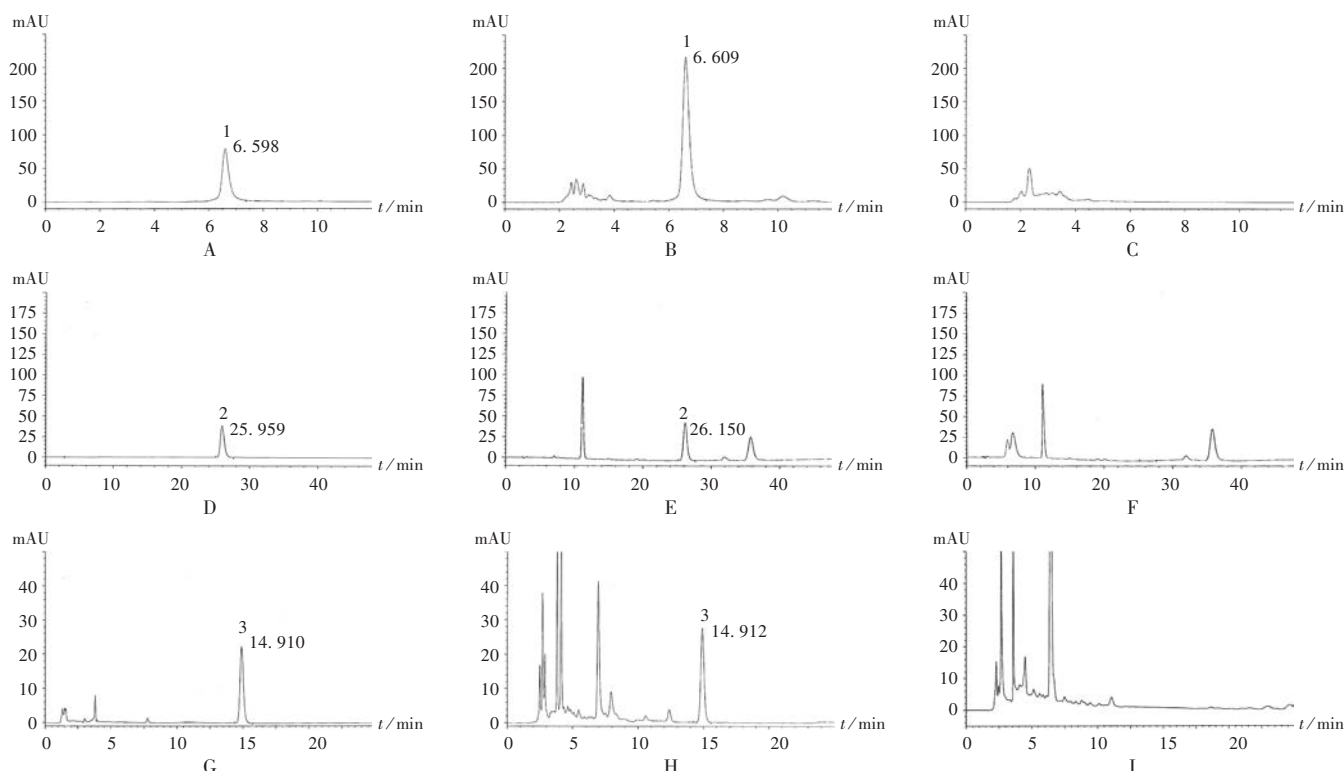
酸对照品溶液。精密量取样品 2 mL, 置 50 mL 棕色容量瓶中, 加水定容, 摇匀, 即得金银花供试品溶液。按双黄连口服液工艺及处方制备缺金银花的阴性样品, 并按供试品制备方法制备阴性对照品溶液。

连翘: 取连翘苷对照品适量, 精密称定, 加 50% 甲醇, 制成质量浓度为 60 μg/mL 的连翘苷对照品溶液。精密量取样品 1 mL, 过中性氧化铝柱(100~120 目, 6 g, 内径为 1 cm), 用 70% 乙醇 40 mL 洗脱, 然后浓缩至干, 残渣用 50% 甲醇溶解后转移至 5 mL 容量瓶中, 再用 50% 甲醇定容, 摇匀, 即得连翘供试品溶液。按双黄连口服液工艺及处方制备缺连翘的阴性样品, 并按供试品制备方法制备阴性对照品溶液。

2.1.3 方法学考察

专属性试验: 分别取 2.1.2 项下 3 种对照品溶液、供试品溶液及阴性对照品溶液各适量, 按 2.1.1 项下色谱条件进样测定。结果各测定组分能与相邻组分完全分离, 理论板数均大于 5 000。色谱图见图 1。

线性关系考察: 精密吸取 2.1.2 项下 3 种对照品溶液各 2, 5, 10, 15, 20 μL, 按 2.1.1 项下色谱条件进样测定, 以各对照品溶液质量浓度(X , μg/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归, 得回归方程, 黄芩苷



1. 黄芩苷 2. 绿原酸 3. 连翘苷

A, D, G. 对照品溶液(分别为黄芩苷、绿原酸、连翘苷) B, E, H. 供试品溶液 C, F, I. 阴性对照品溶液(分别缺黄芩、金银花、连翘)

图 1 高效液相色谱图

1. baicalin 2. chlorogenic acid 3. forsythoside

A, D, G. Reference solution(baicalin, chlorogenic acid and forsythoside respectively) B, E, H. Test solution

C, F, I. Negative reference solution(without Scutellariae Radix, Lonicerae Japonicae Flos and Forsythiae Fructus respectively)

Fig. 1 HPLC chromatograms

为 $Y_1 = 6.0334X_1 + 56.51$, $r = 0.9991$ ($n = 5$); 绿原酸为 $Y_2 = 35.095X_2 - 120.83$, $r = 0.9995$ ($n = 5$); 连翘苷为 $Y_3 = 5.8826X_3 + 42.476$, $r = 0.9998$ ($n = 5$)。结果表明, 黄芩苷、绿原酸、连翘苷质量浓度分别在 $40.77 \sim 407.68 \mu\text{g/mL}$ 、 $8.70 \sim 87.02 \mu\text{g/mL}$ 、 $12.65 \sim 126.48 \mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验: 取 2.1.2 项下各对照品溶液适量, 按 2.1.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次, 记录峰面积。结果黄芩、金银花、连翘峰面积的 RSD 分别为 0.35% , 0.21% , 0.40% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

稳定性试验: 取样品(批号为 16112611)适量, 按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液, 分别于室温下放置 0, 4, 8, 10, 12, 24 h 时按 2.1.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果黄芩、金银花、连翘峰面积的 RSD 分别为 0.93% , 0.86% , 1.02% ($n = 6$), 表明供试品溶液室温下放置 24 h 内稳定。

重复性试验: 取样品(批号为 16112611)适量, 共 6 份, 按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算含量。结果黄芩、金银花、连翘含量的 RSD 分别为 1.57% , 1.33% , 1.86% ($n = 6$), 表明方法重复性良好。

加样回收试验: 取已知含量的样品(批号为 16112611), 共 6 份, 分别加入一定质量浓度对照品溶液, 依法制备供试品溶液, 并按 2.1.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算回收率, 结果见表 2。

表 2 加样回收试验结果 ($n = 6$)

Tab. 2 Results of the recovery test ($n = 6$)

样品量(mg)			加入量(mg)			测得量(mg)			回收率(%)			$\bar{X}$ (%)			RSD (%)		
A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
64.05	11.25	1.85	47.27	8.79	1.54	110.39	19.91	3.42	98.03	98.52	101.95						
64.05	11.25	1.85	47.27	8.79	1.54	110.23	19.98	3.43	97.69	99.32	102.60						
64.05	11.25	1.85	59.09	10.98	1.92	121.65	22.02	3.78	97.48	98.09	100.52						
64.05	11.25	1.85	59.09	10.98	1.92	121.89	22.15	3.79	97.88	99.27	101.04	98.47	99.59	101.45	1.18	1.32	0.90
64.05	11.25	1.85	70.91	13.18	2.31	134.43	24.60	4.21	99.25	101.29	102.16						
64.05	11.25	1.85	70.91	13.18	2.31	135.29	24.57	4.17	100.47	101.06	100.43						

注: A 为黄芩苷, B 为绿原酸, C 为连翘苷。下表同。

Note: A is baicalin, B is chlorogenic acid, C is forsythine, as well as the following tables.

2.1.4 样品含量测定

取 35 批样品各适量, 依法制备供试品溶液, 再按 2.1.1 项下色谱条件进样测定, 平行测定 3 次, 记录峰面积, 并计算样品含量。结果见表 3。3 个指标性成分的含量均高于 2020 年版《中国药典》标准, 说明 2017 年起在渝流通双黄连口服液质量较好。产品内在质量差异较大, 同一厂家、不同批号含量高低值相差也较大。详见表 4。

表 3 不同厂家样品指标性成分含量、相对密度及 pH ($n = 3$)

Tab. 3 The content, relative density and pH of index components in the samples from different manufacturers ($n = 3$)

样品 编号	含量(mg/mL)			相对密度	pH
	A	B	C		
1-14	14.43 ± 3.06	0.92 ± 0.29	0.40 ± 0.02	1.135 ± 0.005	5.67 ± 0.37
15-24	13.84 ± 2.77	1.30 ± 0.31	0.47 ± 0.05	1.155 ± 0.005	5.86 ± 0.19
25-32	14.82 ± 3.07	1.03 ± 0.23	0.60 ± 0.10	1.145 ± 0.005	5.80 ± 0.39
33-34	11.80 ± 0.76	0.87 ± 0.02	0.55 ± 0.01	1.13	5.89 ± 0.02
35	12.52	0.91	0.53	1.16	6.31

表 4 相同厂家不同批号样品指标性成分含量、相对密度及 pH

Tab. 4 The content, relative density and pH of index components in different batches of samples from the same manufacturer

批号	含量(mg/mL)			相对 密度	pH	批号	含量(mg/mL)			相对 密度	pH
	A	B	C				A	B	C		
16112611	12.78	0.90	0.37	1.14	5.61	16112531	12.89	1.36	0.48	1.15	5.94
16110711	12.42	0.84	0.38	1.13	5.87	16112531	11.67	1.22	0.48	1.15	5.69
16114811	12.70	0.94	0.39	1.14	5.63	16120821	11.83	1.23	0.50	1.16	5.70
16114811	11.37	0.76	0.41	1.13	5.52	16112611	11.99	1.14	0.47	1.15	5.72
16122111	12.31	0.83	0.42	1.13	5.35	16101423	11.42	1.10	0.42	1.15	5.73
16035011	17.43	1.10	0.39	1.14	5.30	16101423	16.60	1.60	0.42	1.15	5.67
17010111	11.74	0.88	0.41	1.13	5.38	16091821	11.34	0.99	0.42	1.15	5.81
17010111	17.49	1.21	0.40	1.13	5.43	17021512	12.81	1.33	0.46	1.16	6.04
17011611	12.89	0.85	0.37	1.14	5.61	151016022	11.75	0.80	0.69	1.15	5.83
17011611	11.52	0.77	0.40	1.13	6.04	160811012	12.81	1.02	0.50	1.14	6.19
17011611	11.60	0.79	0.40	1.13	5.42	160815072	12.93	0.98	0.51	1.14	6.04
17030111	11.96	0.93	0.38	1.13	5.54	161110012	12.50	1.01	0.62	1.15	5.95
17022522	11.43	0.64	0.39	1.13	5.49	161109052	12.43	0.94	0.56	1.15	5.98
17010211	11.95	0.78	0.39	1.14	5.53	161114012	12.57	0.99	0.57	1.15	6.02
16111411	12.16	1.39	0.48	1.16	5.78	160802052	17.89	1.26	0.58	1.14	5.91
16111411	11.07	1.20	0.52	1.15	5.71	160905062	11.61	0.90	0.54	1.14	5.42

2.2 相对密度及 pH

参照 2020 年版《中国药典(一部)》中方法检测, 结果 35 份样品的相对密度为 $1.13 \sim 1.16$, pH 为 $5.30 \sim 6.19$, 均较稳定。详见表 4。

2.3 样品聚类分析

采用 SPSS 23.0 统计学软件对 35 批样品进行聚类分析^[9], 以各有效成分作为指标。结果可将样品聚为三类。其中, 编号 4, 7, 10-16, 18-21, 23, 25, 32, 34 样品聚为一类; 编号 1-3, 5, 9, 17, 24, 26-30, 33, 35 聚为一类; 编号 6, 8, 22, 31 聚为一类。详见图 2。需注意, 哈药集团三精制药股份有限公司及河南福森药业有限公司均有相同批号的 2 份样品分别聚在不同类, 表明即使同一厂家相同批次的样品, 内在质量依然存在较大差异。

3 讨论

程敏等^[10]发现, 山银花提取物伪品或掺伪品中绿

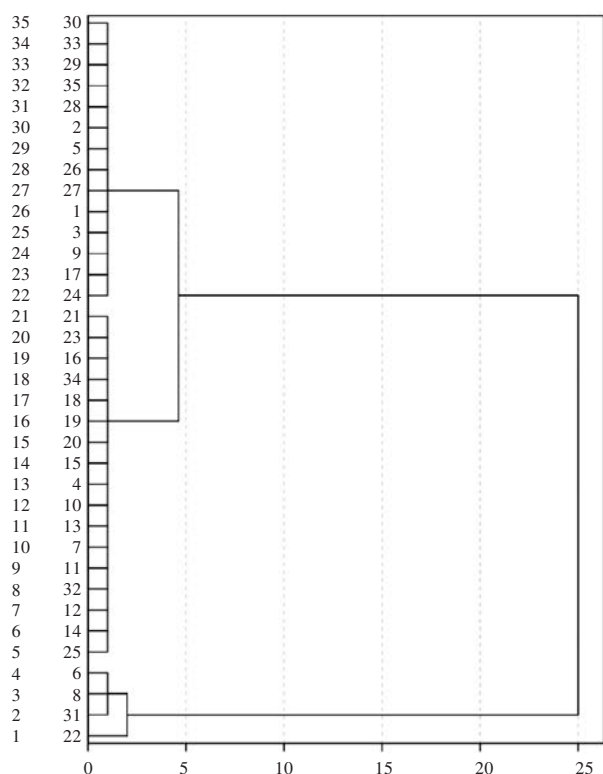


图2 聚类分析结果

Fig. 2 Results of cluster analysis

原酸含量相对较高。2020年版《中国药典(一部)》规定绿原酸含量为0.60 mg/mL, 35批样品中绿原酸含量最高达1.60 mg/mL, 是否直接添加了某提取物有待考证, 应考虑厂家是否按药品生产质量管理规范(GMP)要求生产, 是否本着节约成本的原则核算金银花投料, 可参照山银花特征图谱灰毡毛忍冬皂苷乙、指纹图谱进行考察^[11]。研究表明, 产地、采收季节及烘干方式均影响连翘苷的含量。如王琳等^[12]等发现, 连翘质量以河北产最优, 其次为山西产, 再次为河南产; 青翘优于老翘; 6月采收最优; 采后汽蒸烘干处理较自然晾晒能更好地保存药用成分。刘廷等^[13]采用超高效液相色谱串联质谱法测定双黄连口服液6个酚酸类成分、3个苯乙醇苷类成分、8个黄酮类成分, 故认为找出提取物特征图谱与原药材差异有利于从源头控制成药质量。

双黄连口服液临床应用较广, 其功效的发挥与其内在质量紧密相关, 绿原酸新批次含量几乎均高于旧批次, 原因可能由于绿原酸为苯丙酸类, 分子结构有酯键、不饱和双键及多元酚3个不稳定部分, 在储存中易水解等异构化造成含量降低。查阅文献^[14-15]可知, 不同的纯化工艺、精制等环节的处理方法对绿原酸含量均有影响。为了提供质优、稳定的双黄连口服液, 厂家需从黄芩、金银花、连翘的源头控制, 严格执行GMP生产、流通

环节的质量监管, 以更好提高其品质。

综上所述, 本研究中以黄芩苷、绿原酸、连翘苷的含量作为指标进行检测与分析, 发现目前在渝流通双黄连口服液质量较好, 但不同厂家、不同批号的双黄连口服液含量差异较大, 需从药材源头、生产、流通等各环节对质量进行把控, 以提高双黄连口服液质量的一致性。

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, 2015: 735-736.
- [2] 张治成. 双黄连口服液的种类及临床应用[J]. 内蒙古中医药, 2015, 34(8): 106-107.
- [3] 王凤斌. 双黄连口服液联合雷尼替丁治疗口腔溃疡55例[J]. 世界最新医学信息文摘, 2016, 16(42): 86.
- [4] 崔喜红, 马彩云, 崔伟丽, 等. 双黄连口服液对急性上呼吸道感染患儿炎性应激状态的影响研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(11): 2584-2586.
- [5] 孙逊, 凌晓颖, 徐秋月, 等. 14种口服中成药联合阿奇霉素治疗儿童支原体肺炎的网状Meta分析[J/OL]. 中国中药杂志, 2021(4): 1-20. [2021-04-19]. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20210408.501>.
- [6] 郑正伟, 叶文倩, 刘传锋. 基于网络药理学探讨双黄连口服液治疗新型冠状病毒肺炎的机制研究[J/OL]. 中药材, 2020(6): 1519-1526. [2021-03-08]. <https://doi.org/10.13863/j.issn1001-4454.2020.06.044>.
- [7] 徐力. 再谈大众传播的“强效果”——以“双黄连抢购事件”为例[J]. 传媒, 2020(18): 94-96.
- [8] 谢丽华, 蔺晓源, 何飘, 等. 基于网络药理学与分子对接法探寻双黄连口服液治疗新型冠状病毒肺炎的有效成分及机制研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(9): 1123-1131.
- [9] 董洋利, 王晓晓, 刘斌, 等. 不同厂家复方丹参片的质量分析[J]. 海峡药学, 2020, 32(4): 93-99.
- [10] 程敏, 梁芷韵, 张文莉, 等. 金银花提取物的质量评价研究[J]. 广州中医药大学学报, 2018, 35(3): 511-518.
- [11] 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: 32.
- [12] 王琳, 贺献林, 张海新, 等. 产地、采收期及干燥方式对连翘药用成分含量的影响[J]. 湖南农业科学, 2020(2): 76-78.
- [13] 刘廷, 狄留庆, 彭琳秀, 等. UPLC-MS/MS同时测定双黄连口服液中17种有效成分[J]. 中草药, 2015, 46(22): 3357-3363.
- [14] 李建晨, 廖明丽, 贾玉捷, 等. 双黄连口服液中绿原酸含量的影响因素研究[J]. 河北科技大学学报, 2015, 36(5): 499-503.
- [15] 邹月春. 两种制备双黄连口服液的纯化工艺对比研究[J]. 中国新技术新产品, 2019(9): 89-90.

(收稿日期: 2021-04-01)