

丹红注射液多元指纹图谱及多成分定量分析研究

汪悦, 邵青*, 瞿海斌, 刘宇峰

浙江大学药物信息学研究所, 浙江 杭州 310058

摘要: 目的 采用 HPLC-UV-MS 法建立丹红注射液多元指纹图谱, 并对其中 9 种主要药效成分同时定量分析。方法 采用 Atantis T3 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.05% 甲酸水溶液-50% 乙腈水溶液, 梯度洗脱; 质谱检测采用负离子选择离子 (SIM) 模式。结果 该多元指纹图谱较全面地体现了制剂中 2 味处方药材丹参与红花的化学信息, 11 批制剂指纹图谱相似度均在 0.988 以上。5-羟甲基糠醛、丹参素钠、原儿茶醛、香豆酸、丹酚酸 D、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷 9 种成分在各自质量浓度范围内呈良好线性关系, $r \geq 0.999$ 0; 9 种化合物的平均加样回收率分别为 (99.0±1.4) %、(102.0±1.7) %、(99.3±1.6) %、(97.6±1.6) %、(100.0±1.8) %、(97.9±1.6) %、(100.5±4.4) %、(100.6±2.0) %、(106.0±4.7) % ($n=9$); 方法重复性的 RSD 均小于 1.45%; 测定的 11 批制剂中 9 种成分总量在 2.61~3.06 mg/mL。结论 该方法简单、准确、重复性好, 多元指纹图谱结合定量测定能更全面地反映丹红注射液的质量, 可用于制剂的质量控制。

关键词: 丹红注射液; 多元指纹图谱; HPLC-UV-MS; 5-羟甲基糠醛; 丹参素钠; 原儿茶醛; 香豆酸; 丹酚酸 D; 迷迭香酸; 丹酚酸 B; 丹酚酸 A; 山柰酚-3-*O*-芸香糖苷

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)04-0490-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.04.008

Multiple fingerprints and multi-component quantitative analysis of Danhong Injection

WANG Yue, SHAO Qing, QU Hai-bin, LIU Yu-feng

Pharmaceutical Informatics Institute, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

Abstract: Objective To establish the multiple fingerprints of Danhong Injection (DI) using HPLC-UV-MS method and to simultaneously determine nine kinds of the medicinal components in DI. **Methods** Separation was performed on Atantis T3 analytical column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with the mobile phase of 0.05% formic acid-50% acetonitrile by gradient elution, and negative-ion SIM mode was selected for mass spectrometric detection. **Results** The multiple fingerprints reflected the chemical information of *Salvia miltiorrhiza* and safflower in DI. The similarity of the fingerprints was higher than 0.988 in all 11 batches of DI. 5-Hydroxymethyl furfural, sodium danshensu, protocatechuic aldehyde, coumaric acid, salvianolic acid D, rosmarinic acid, salvianolic acid B, salvianolic acid A, and kaempferol-3-*O*-rutinoside showed the good linearity in their respective ranges of concentration, $r \geq 0.999$ 0. The average recovery of low-, mid-, and high-dose medicinal components ($n=9$) was (99.0±1.4)%, (102.0±1.7)%, (99.3±1.6)%, (97.6±1.6)%, (100.0±1.8)%, (97.9±1.6)%, (100.5±4.4)%, (100.6±2.0)%, and (106.0±4.7)%, respectively. The relative standard deviation for the method reproducibility was lower than 1.45%. The total contents of nine medicinal components in the 11 batches of DI were 2.61—3.06 mg/mL. **Conclusion** This method is simple, accurate, and with good reproducibility, and the multiple fingerprints combined with the quantitative analysis could reflect the quality of DI better, which could be used to control the quality of DI.

Key words: Danhong Injection; multiple fingerprints; HPLC-UV-MS; 5-hydroxymethyl furfural; sodium danshensu; protocatechuic aldehyde; coumaric acid; salvianolic acid D; rosmarinic acid; salvianolic acid B; salvianolic acid A; kaempferol-3-*O*-rutinoside

丹红注射液 (Danhong Injection, DI) 是由中药丹参、红花通过现代工艺精制而成的中药复方制剂, 具有活血化瘀、通脉舒络的功效, 临床主要用于冠心病、心绞痛、心肌梗死、脑血栓等的治疗^[1]。

收稿日期: 2013-09-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81273992)

作者简介: 汪悦 (1989—), 女, 在读硕士, 从事药物分析研究。Tel: (0571)81916809 E-mail: wangyue19890527@126.com

*通信作者 邵青 Tel: (0571)88208426 E-mail: shaoq@zju.edu.cn

丹参中主要含丹参素、原儿茶酸、咖啡酸、迷迭香酸及丹酚酸 A、B、D 等酚酸类化合物及丹参酮等脂溶性化合物^[2], 酚酸类化合物均具有抗心肌缺血与缺氧作用, 是治疗冠心病的主要活性成分^[3-5]。红花的化学成分主要为黄酮类化合物, 其具有抗心肌缺血、抑制血小板聚集、抗氧化等作用^[6]。目前研究建立的丹红注射液 HPLC-UV 指纹图谱^[7]及 HPLC 定量分析方法^[8-10]大多只反映了制剂中丹参成分, 而红花中所含成分极少得到体现。本研究建立了丹红注射液的 HPLC-UV-MS 多元指纹图谱及山柰酚-3-*O*-芸香糖苷、香豆酸、丹参素钠、原儿茶醛、迷迭香酸、丹酚酸 D、丹酚酸 B、丹酚酸 A 及 5-羟甲基糠醛 9 种主要药效成分^[11-13]的定量分析方法。利用丹参中酚酸类化合物在 280、326 nm 波长处有良好的紫外吸收特点, 建立了主要反映丹红注射液中丹参信息的 HPLC-UV 指纹图谱, 而利用质谱的高灵敏度、高选择性特点, 建立了主要反映制剂中红花各成分信息的 HPLC-MS 指纹图谱, 结合定量分析方法能更全面地反映丹红注射液的质量, 为该制剂的质量控制提供研究基础。

1 仪器与材料

Agilent 1100 型液质联用仪, 配脱气机、四元梯度泵、自动进样器、柱温箱、紫外检测器、1946D 质谱检测器 (Agilent 公司); XS105 型分析天平 (Mettler Toledo 公司)。乙腈、甲醇为色谱纯 (Merck 公司), 甲酸为色谱纯 (ROC Scientific 公司), 其余试剂均为分析纯, 水为 Milli-Q 超纯水。

丹红注射液 (批号分别为 12111078、12102023、12101060、12101024、12101023、12101022、12092036、12092032、12092025、12091030、12081078) 由菏泽步长制药有限公司提供。对照品 5-羟甲基糠醛 (批号 121031, 99.47%, HPLC 归一化法测定)、丹参素钠 (批号 120916, 99.13%, HPLC 归一化法测定)、原儿茶醛 (批号 121109, 99.53%, HPLC 归一化法测定)、香豆酸 (批号 121121, 99.06%, HPLC 归一化法测定)、迷迭香酸 (批号 121213, 99.17%, HPLC 归一化法测定)、丹酚酸 A (批号 130309, 99.34%, HPLC 归一化法测定)、丹酚酸 B (批号 130224, 99.39%, HPLC 归一化法测定)、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷 (批号 121109, 99.17%, HPLC 归一化法测定) 均购于上海融禾医药科技发展有限公司; 丹酚酸 D (批号 FY1169031, 质量分数 > 95%, HPLC 归一化法测定) 购于南通飞宇生物科技有限公司。

2 方法与结果

2.1 混合对照品溶液的制备

分别精密称取 5-羟甲基糠醛、丹参素钠、原儿茶醛、香豆酸、丹酚酸 D、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷适量, 加含 2% 甲酸的 20% 甲醇水溶液溶解, 制成各对照品储备液; 再精密吸取各对照品储备液适量于同一 10 mL 量瓶中, 加入含 2% 甲酸的 20% 甲醇水溶液定容, 制成分别含 5-羟甲基糠醛 77.6 $\mu\text{g/mL}$ 、丹参素钠 1.240 mg/mL、原儿茶醛 201.0 $\mu\text{g/mL}$ 、香豆酸 14.5 $\mu\text{g/mL}$ 、丹酚酸 D 160 $\mu\text{g/mL}$ 、迷迭香酸 237.2 $\mu\text{g/mL}$ 、丹酚酸 B 388 $\mu\text{g/mL}$ 、丹酚酸 A 300 $\mu\text{g/mL}$ 、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷 3.36 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液, 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液备用。

2.2 供试品溶液的制备

精密吸取丹红注射液 1 mL 于 2 mL 量瓶中, 用含 2% 甲酸的 20% 甲醇水溶液稀释至刻度, 混匀, 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液备用。

2.3 缺丹参或红花的阴性供试品溶液制备

分别称取丹参及红花药材, 按处方工艺制得缺丹参或缺红花的阴性供试品溶液。

2.4 HPLC-MS 条件

2.4.1 色谱条件 色谱柱为 Atiantis T3 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相为 0.05% 甲酸水溶液 (A) - 50% 乙腈水溶液 (B); 线性梯度洗脱程序: 0~43 min, 0~18% B; 43~54 min, 18%~25% B; 54~73 min, 25%~38% B; 73~79 min, 38%~48% B; 79~89 min, 48% B; 89~108 min, 48%~60% B; 108~112 min, 60%~100% B。体积流量 0.9 mL/min; 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$; 进样量 20 μL ; 紫外检测波长: 0~75 min, 280 nm; 75~130 min, 326 nm。

2.4.2 质谱条件 ESI 源; 检测方式: 负离子、选择离子 (SIM) 模式, 指纹图谱各检测离子 m/z 及对应源内裂解电压见表 1, 定量测定选择山柰酚-3-*O*-芸香糖苷 m/z 为 593 的检测离子, 源内裂解电压 230 V; 离子源温度 350 $^{\circ}\text{C}$; 雾化气体积流量 13 L/min; 雾化压力 413.7 kPa; 毛细管电压 4 500 V。

2.5 色谱条件的优化

2.5.1 流动相体系、色谱柱、体积流量、柱温的选择 考察了不同型号的色谱柱对丹红注射液分离的影响, 结果 Atiantis T3 色谱柱分离效果为佳。考察了甲醇-水体系与乙腈-水体系, 发现乙腈-水体系分离得到的峰较多, 且峰形好。由于丹红注射液中主

要为酚酸、黄酮类化合物,考察了不同酸度对其分离的影响,结果以 0.05%甲酸水溶液-50%乙腈水溶液体系为佳。在该体系下色谱峰峰形对称,分离较好。同时考察了柱温(20、25、30、35℃),体积

表 1 检测离子及源内裂解电压

Table 1 Detected ions and fragmentor voltage

检测离子 (<i>m/z</i>)	源内裂解 电压 / V	检测离子 (<i>m/z</i>)	源内裂解 电压 / V	检测离子 (<i>m/z</i>)	源内裂解 电压 / V
121	110	353	50	475	80
163	50	355	50	485	230
164	50	357	50	487	140
187	50	361	110	503	170
287	230	371	50	535	230
293	110	373	50	591	140
295	50	407	110	593	230
309	50	431	50	595	140
321	80	435	80	609	50
329	50	455	50	611	50
345	80	461	50		

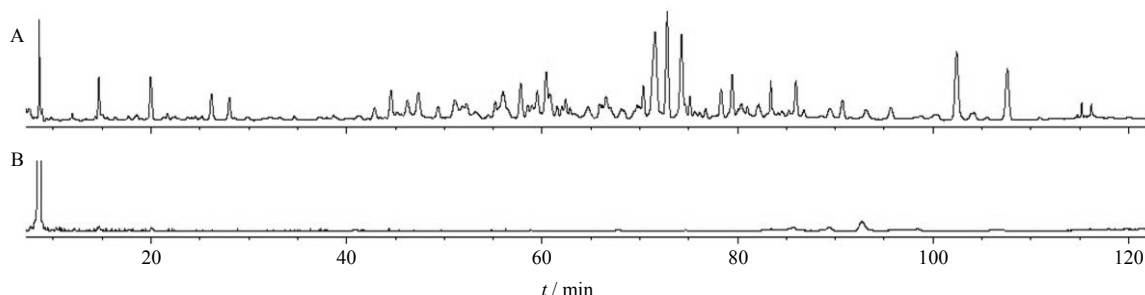
流量(0.7、0.8、0.9、1.0 mL/min)对分离的影响,以柱温 25℃、体积流量 0.9 mL/min 为佳。

2.5.2 检测波长的选择 5-羟甲基糠醛、丹参素钠、原儿茶醛最大吸收波长在 280~284 nm,而香豆酸、丹酚酸 D、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A 最大吸收波长在 288~328 nm,且这些峰的保留时间均在 70 min 后,综合考虑,选择变波长方式进行检测。0~75 min 为 280 nm,75~130 min 为 326 nm。

2.6 质谱条件的优化

2.6.1 选择离子确定 由于 HPLC-UV 指纹图谱主要反映的是丹红注射液中丹参各成分的信息,红花的信息极少得到体现。串联质谱检测器检测的目的是为了弥补 HPLC-UV 指纹图谱的缺陷,在选择离子确定时主要选取了反映红花化合物的离子信息,使得 HPLC-MS 指纹图谱主要体现丹红注射液中红花各成分的信息,具有很好的专属性,可以更好地体现红花的内在质量,所选离子 *m/z* 见表 1,丹红注射液 HPLC-MS 指纹图谱专属性见图 1。

2.6.2 其他参数优化 分别对离子源温度、雾化气



A-丹红注射液 HPLC-MS 图 B-缺红花的阴性丹红注射液 HPLC-MS 图
A-HPLC-MS fingerprint of DI B-HPLC-MS fingerprint of negative DI lack of safflower

图 1 丹红注射液 HPLC-MS 指纹图谱专属性考察

Fig. 1 Specificity of HPLC-MS fingerprint of DI

体积流量、雾化压力、毛细管电压、源内裂解电压进行了优化,结果以离子源温度 350℃;雾化气体积流量 13 L/min;雾化压力 413.7 kPa;毛细管电压 4 500 V;表 1 的各离子源内裂解电压为佳。

2.7 供试品溶液制备方法优化

由于丹酚酸 A 在溶液中的稳定性较差,酸性溶剂有利于丹酚酸 A 的稳定^[14],溶液制备时考察了不同酸度对丹红注射液中丹酚酸 A 及丹酚酸 A 对照品溶液稳定性的影响,结果丹红注射液中的丹酚酸 A 在含 0.5%~2%甲酸的 20%甲醇水溶液中室温下 24 h 内稳定性良好,丹酚酸 A 对照品溶液在含甲酸低于 1%的 20%甲醇水溶液中不稳定,而在含 2%甲酸

的 20%甲醇水溶液中室温 48 h 内稳定性良好,选择含 2%甲酸的 20%甲醇水溶液为稀释溶剂。

2.8 指纹图谱方法学考察

2.8.1 精密度试验 取批号为 12101023 的丹红注射液,按“2.2”项下供试品溶液制备方法制样,按“2.4”项下 HPLC-MS 条件连续进样 6 次分析,分别对 HPLC-UV、HPLC-MS 指纹图谱各共有峰的保留时间及峰面积的变化情况进行考察。各共有峰保留时间的 RSD 分别小于 0.4%和 0.5%,单峰面积占总峰面积 2%以上的峰峰面积 RSD 分别小于 1.2%和 3.8%。表明仪器精密度良好。

2.8.2 稳定性试验 取批号为 12101023 的丹红注

注射液,按“2.2”项下供试品溶液制备方法制样一份,室温放置 0、5、10、15、20、25 h,按“2.4”项下 HPLC-MS 条件进样分析,考察 HPLC-UV、HPLC-MS 指纹图谱各共有峰的保留时间及峰面积的变化情况,结果各共有峰保留时间的 RSD 均小于 1.7%,单峰面积占总峰面积 2%以上的峰峰面积 RSD 分别小于 1.6%和 4.1%。表明供试品溶液在室温 25 h 内稳定。

2.8.3 重复性试验 取批号为 12101023 的丹红注射液,按“2.2”项下供试品溶液制备方法平行制样 6 份,按“2.4”项下 HPLC-MS 条件进样分析,考察 HPLC-UV、HPLC-MS 指纹图谱各共有峰的保留时间及峰面积的变化情况,结果各共有峰保留时间的 RSD 分别小于 1.1%和 0.7%,单峰面积占总峰面积 2%以上的峰峰面积 RSD 分别小于 2.4%和 6.9%。表明本方法重复性较好。

2.9 指纹图谱的建立

将 11 批丹红注射液按“2.2”项下方法制备供试品溶液,以“2.4”项下 HPLC-MS 条件进行测定,记录 HPLC-UV-MS 图。丹红注射液的 HPLC-UV-MS 指纹图谱见图 2、3。如图所示,HPLC-UV 指纹图谱主要反映丹参药材的化学组成特征,有 36 个共有峰,HPLC-MS 指纹图谱主要反映红花的化学组成特征,有 42 个共有峰。由于 HPLC-UV 与 HPLC-MS 指纹图谱中各谱峰响应差异较大,因此先对 2 组原始数据进行归一化处理。然后采用串行信息融合法^[15]对 2 张指纹图谱进行数据融合。其中组合系数依据处方中 2 味药材的投料比确定。以融合后的指纹图谱平均值为对照指纹图谱,采用夹角余弦测度^[16]计算各批次丹红注射液多元指纹图谱相似度。结果表明,各批次相似度均在 0.988 以上。

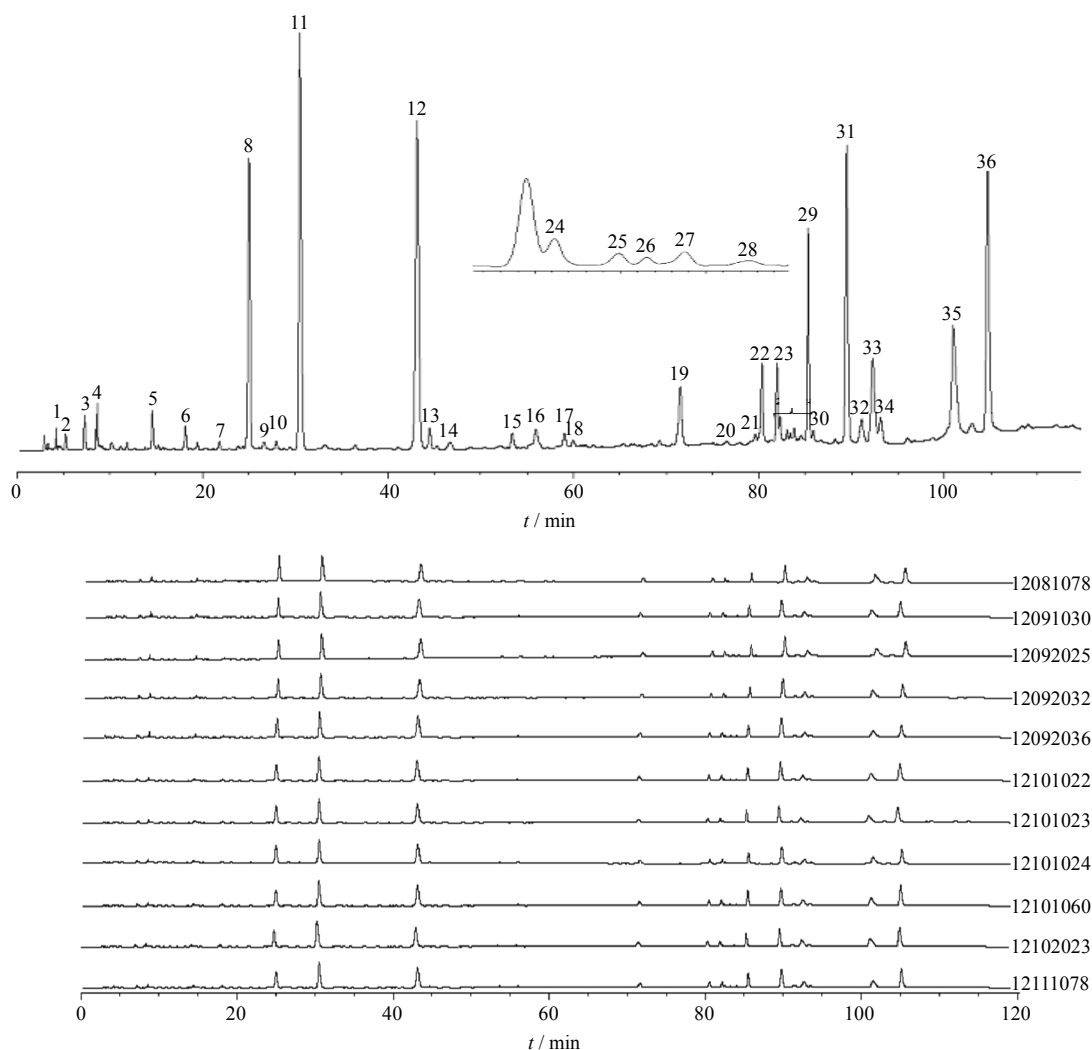


图 2 丹红注射液 HPLC-UV 指纹图谱

Fig. 2 HPLC-UV fingerprint of DI

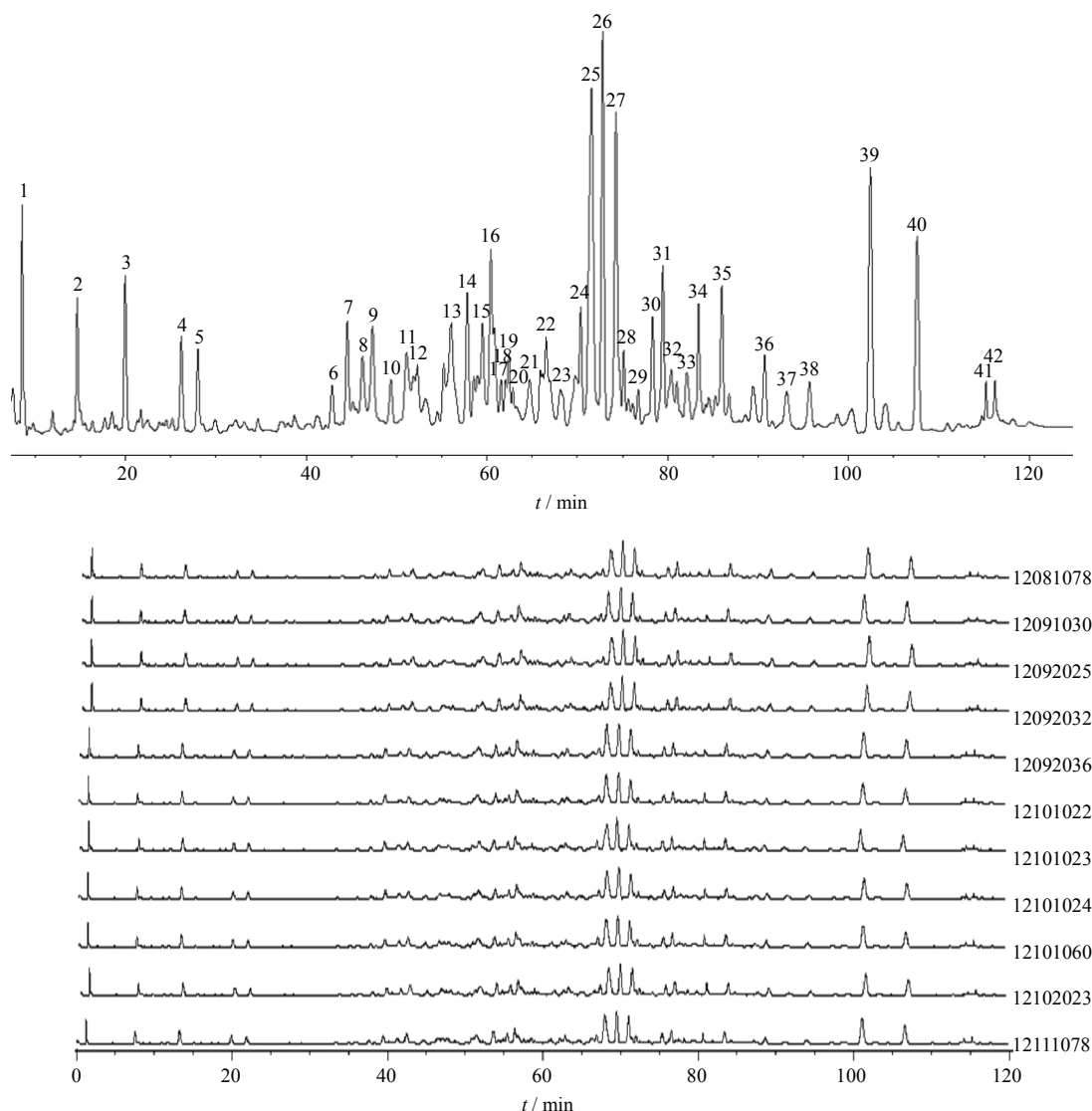


图3 丹红注射液 HPLC-MS 指纹图谱

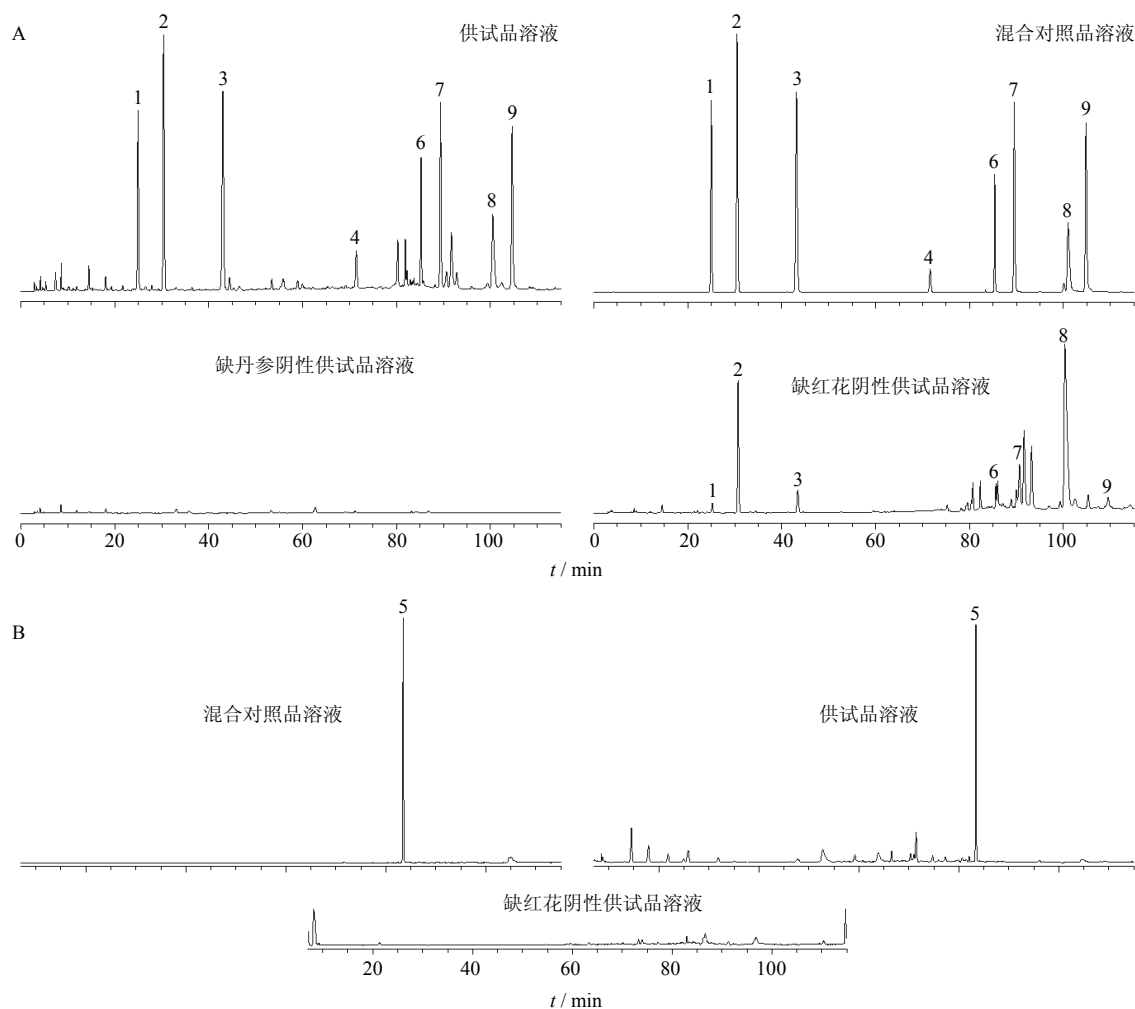
Fig. 3 HPLC-MS fingerprint of DI

2.10 定量测定方法学考察

2.10.1 专属性考察 分别取混合对照品溶液、供试品溶液及缺丹参和缺红花的阴性供试品溶液，按“2.4”项下 HPLC-MS 条件进样分析，结果见图4。除2种药材中均含有的5-羟甲基糠醛成分外，在丹参素钠、原儿茶醛、丹酚酸D、迷迭香酸、丹酚酸B、丹酚酸A对照品出峰位置上缺丹参阴性供试品溶液未见干扰峰，说明红花中的各成分不干扰丹参中6种化合物的测定。而在山柰酚-3-O-芸香糖苷、香豆酸出峰位置上，缺红花阴性供试品溶液未见干扰峰，说明丹参中各成分不干扰红花中山柰酚-3-O-芸香糖苷、香豆酸的测定。

2.10.2 线性关系、检出限及定量限 精密吸取“2.1”项下的混合对照品储备液适量，加含2%甲酸的20%

甲醇水溶液稀释制成质量浓度分别为混合对照品储备液75%、50%、25%、10%、5%、1%的混合对照品溶液。按“2.4”项下 HPLC-MS 条件进行测定，以峰面积为纵坐标(Y)，质量浓度为横坐标(X)，绘制标准曲线，得回归方程：5-羟甲基糠醛 $Y=167.2X+18.2$, $r=0.9999$, 线性范围 $0.776\sim77.600\mu\text{g/mL}$ ；丹参素钠 $Y=15.6X+33.2$, $r=0.9999$, 线性范围 $12.40\sim1240.00\mu\text{g/mL}$ ；原儿茶醛 $Y=100.6X+12.3$, $r=0.9999$, 线性范围 $2.010\sim201.00\mu\text{g/mL}$ ；香豆酸 $Y=148.7X-4.3$, $r=0.9999$, 线性范围 $0.145\sim14.500\mu\text{g/mL}$ ；丹酚酸D $Y=41.2X-109.8$, $r=0.9995$, 线性范围 $1.60\sim160.00\mu\text{g/mL}$ ；迷迭香酸 $Y=62.7X-69.8$, $r=0.9999$, 线性范围 $2.372\sim237.200\mu\text{g/mL}$ ；丹酚酸B $Y=24.0X-62.1$,



A-HPLC-UV 色谱图 B-山柰酚-3-*O*-芸香糖苷的 m/z 为 593 的选择离子图 1-5-羟甲基糠醛 2-丹参素钠 3-原儿茶醛 4-香豆酸 5-山柰酚-3-*O*-芸香糖苷 6-丹酚酸 D 7-迷迭香酸 8-丹酚酸 B 9-丹酚酸 A
A-HPLC-UV chromatogram B-selected ion diagram of kaempferol-3-*O*-rutinoside at m/z 593 1-5-hydroxymethyl-2-furfural 2-sodium danshensu 3-protocatechuic aldehyde 4-coumaric acid 5-kaempferol-3-*O*-rutinoside 6-salvianolic acid D 7-rosmarinic acid 8-salvianolic acid B 9-salvianolic acid A

图 4 定量测定专属性试验

Fig. 4 Specificity test for quantitative determination

$r=0.999\ 9$, 线性范围 $3.88\sim 388.00\ \mu\text{g/mL}$; 丹酚酸 A $Y=51.3\ X-155.1$, $r=0.999\ 8$, 线性范围 $3.00\sim 300.00\ \mu\text{g/mL}$; 山柰酚-3-*O*-芸香糖苷 $Y=920\ 849\ X+53\ 255$, $r=0.999\ 0$, 线性范围 $33.6\sim 3\ 360.0\ \text{ng/mL}$ 。

以信噪比 3 时对照品溶液浓度为检出限 (LOD), 测得 5-羟甲基糠醛、丹参素钠、原儿茶醛、香豆酸、丹酚酸 D、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷检出限分别为 6、81、18、11、29、25、69、30、1 ng/mL。以信噪比 10 时对照品溶液浓度为定量限 (LOQ), 测得 5-羟甲基糠醛、丹参素钠、原儿茶醛、香豆酸、丹酚酸 D、迷

迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷定量限分别为 30、403、91、57、145、123、345、152、6 ng/mL。

2.10.3 精密度试验

(1) 仪器精密度试验: 精密吸取混合对照品溶液, 连续进样 6 次, 按“2.4”项下 HPLC-MS 条件进行测定, 记录 HPLC-UV-MS 图, 9 种化合物的峰面积 RSD 均小于 1.46%, 表明仪器精密度良好。

(2) 日内精密度试验: 取丹红注射液 (批号 12101023) 按“2.2”项下方法制备 6 份供试品溶液, 按“2.4”项下 HPLC-MS 条件进行测定, 记录 HPLC-UV-MS 图, 并计算丹红注射液中 9 种成分的质量浓

度, 结果 9 种成分的质量浓度 RSD 均小于 1.45%, 表明日内精密度良好。

2.10.4 加样回收率试验 分别精密量取 9 份已测定的同一批次丹红注射液 (批号 12101023) 0.5 mL 于 2 mL 量瓶中, 分别加入相当于样品质量浓度 80%、100%、120% 的对照品溶液各 3 份, 用含 2% 甲酸的 20% 甲醇水溶液稀释至刻度。按“2.4”项下 HPLC-MS 条件进行测定, 记录 HPLC-UV-MS 图, 计算质量并计算加样回收率, 结果 5-羟甲基糠醛、丹参素钠、原儿茶醛、香豆酸、丹酚酸 D、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A、山柰酚-3-*O*-芸香糖苷的平均加样回收率分别为 (99.0±1.4)%、(102.0±1.7)%、(99.3±1.6)%、(97.6±1.6)%、(100.0±

1.8)%、(97.9±1.6)%、(100.5±4.4)%、(100.6±2.0)%、(106.0±4.7)% ($n=9$)。

2.10.5 稳定性试验 取批号为 12101023 的丹红注射液, 按“2.2”项下供试品溶液制备方法制样一份, 室温下放置 0、5、10、15、20、25 h 进样分析, 记录 HPLC-UV-MS 图, 计算 9 种化合物峰面积 RSD, 结果其 RSD 均小于 2.13%, 表明供试品溶液在室温下 25 h 稳定。

2.11 样品定量测定

取 11 批丹红注射液按照“2.2”项下供试品溶液制备方法制样, 按“2.4”项下 HPLC-MS 条件进行测定, 记录 HPLC-UV-MS 图。计算丹红注射液中 9 种成分的质量浓度, 结果见表 2, 丹红注射液

表 2 丹红注射液中 9 种成分定量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Contents of nine components in DI ($\bar{x} \pm s, n=3$)

批号	质量浓度 / ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)				
	5-羟甲基糠醛	丹参素钠	原儿茶醛	香豆酸	丹酚酸 D
12081078	112.66±0.69	1 331.30±7.98	191.35±1.52	25.28±0.14	129.16±0.94
12091030	85.48±0.24	1 414.98±5.38	205.10±0.66	26.18±0.09	167.25±0.84
12092025	87.37±0.15	1 383.81±2.43	216.28±0.41	28.39±0.05	160.25±0.55
12092032	82.83±0.48	1 301.14±6.46	198.45±1.15	24.69±0.17	143.63±0.96
12092036	88.52±1.06	1 422.83±14.59	244.42±2.73	28.14±0.32	158.84±1.37
12101022	73.58±0.57	1 385.00±6.21	231.91±1.20	25.81±0.16	177.51±0.64
12101023	72.01±0.10	1 230.61±1.16	200.23±0.31	24.39±0.17	171.94±0.25
12101024	74.03±0.92	1 275.56±17.25	212.36±2.58	24.19±0.35	159.25±2.90
12101060	67.55±0.74	1 431.45±16.48	225.49±2.46	27.18±0.41	210.53±2.45
12102023	72.46±0.33	1 410.33±7.85	214.58±1.11	27.55±0.11	182.41±1.05
12111078	69.48±0.82	1 424.69±16.45	225.10±2.42	28.19±0.24	195.85±2.07
平均量	80.54±13.01	1 364.70±69.21	215.02±15.88	26.36±1.60	168.78±22.84

批号	质量浓度 / ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)			
	迷迭香酸	丹酚酸 B	丹酚酸 A	山柰酚-3- <i>O</i> -芸香糖苷
12081078	230.26±1.21	533.59±3.34	306.17±0.99	2.18±0.01
12091030	236.11±3.30	474.76±1.88	328.07±1.17	2.25±0.04
12092025	269.83±0.45	452.70±3.01	290.79±0.83	1.97±0.02
12092032	256.25±1.59	479.49±2.77	269.82±1.53	1.68±0.02
12092036	273.52±5.87	443.13±4.44	252.54±2.76	1.94±0.02
12101022	261.72±0.30	436.68±1.37	344.96±2.84	3.56±0.07
12101023	229.59±0.55	391.25±0.97	286.09±1.62	3.25±0.04
12101024	236.32±2.98	414.31±4.78	300.72±6.32	3.08±0.04
12101060	232.43±2.44	440.39±8.76	418.40±4.28	3.59±0.05
12102023	235.01±1.24	487.43±3.56	390.11±2.58	3.57±0.03
12111078	243.34±2.36	353.42±6.75	383.73±3.15	2.65±0.03
平均量	245.85±16.42	446.10±49.07	324.67±53.61	2.70±0.73

中 5-羟甲基糠醛、丹参素钠、原儿茶醛、香豆酸、丹酚酸 D、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A、山柰酚-3-O-芸香糖苷的质量浓度分别在 67.55~112.66、1 230.61~1 431.45、191.35~244.42、24.19~28.39、129.16~210.53、230.26~273.52、353.42~533.59、252.54~418.40、1.68~3.59 $\mu\text{g/mL}$ 。

3 讨论

本研究建立了丹红注射液 HPLC-UV-MS 多元指纹图谱,首次利用质谱的高灵敏度、高选择性特点,使得制剂中与丹参紫外响应相差悬殊的红花信息在 HPLC-MS 指纹图谱中得到充分体现,同时结合 9 种药效成分定量分析,为丹红注射液质量控制提供了很好的技术支持。

参考文献

- [1] 国家药品监督管理局. 国家药品标准 (试行) 颁布件 [S]. 2002.
- [2] 丰成相. 丹参的化学成分及药理作用概况 [J]. 中国民族民间医药, 2012, 2(1): 25-26.
- [3] 张英锋, 王燕革, 马子川, 等. 丹参活性化学成分的研究 [J]. 化学世界, 2009, 50(10): 638-640.
- [4] 黄幼霞, 黄荣桂, 郑兴中. 迷迭香酸药理作用的研究进展 [J]. 海峡药学, 2010, 124(5): 17-20.
- [5] 高元峰, 陈 虎, 王银辉, 等. 丹酚酸 B 对大鼠心肌缺血保护作用及其机制研究 [J]. 时珍国医国药, 2012, 23(11): 2771-2772.
- [6] 施 峰, 刘焱文. 红花的化学成分及药理研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(9): 1666-1667.
- [7] 罗娟敏, 肖 雪, 梁琼麟, 等. 丹红注射液指纹图谱研

究 [J]. 中成药, 2011, 33(8): 1277-1280.

- [8] 付 婵, 罗敏娟, 王义明, 等. 多波长高效液相色谱法同时测定丹红注射液中 7 种成分含量 [J]. 中国新药杂志, 2012, 21(23): 2817-2820.
- [9] Liu X S, Wu Z Z, Kai Y, *et al.* Quantitative analysis combined with chromatographic fingerprint for comprehensive evaluation of Danhong injection using HPLC-DAD [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2013, 76: 70-74.
- [10] 王书梅. 高效液相色谱法测定丹红注射液中丹参水溶性成分的含量 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(6): 989-990.
- [11] Li R P, Guo M L, Zhang G, *et al.* Nicotiflorin reduces cerebral ischemic damage and upregulates endothelial nitric oxide synthase in primarily cultured rat cerebral blood vessel endothelial cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 107(1): 143-150.
- [12] Li R P, Guo M L, Zhang G, *et al.* Neuroprotection of nicotiflorin in permanent focal cerebral ischemia and in neuronal cultures [J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29(9): 1868-1872.
- [13] 丁 霞, 王明艳, 余宗亮, 等. 山茱萸中 5-羟甲基糠醛的分离鉴定及生物活性研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(4): 392-396.
- [14] 刘地发, 温慧玲, 李志勇, 等. 丹酚酸 A 在水溶液中的稳定性研究 [J]. 江西中医药, 2011, 42(2): 58-59.
- [15] 范晓辉, 叶正良, 程翼宇. 基于信息融合的中药多元色谱指纹图谱相似性计算方法 [J]. 高等学校化学学报, 2006, 27(1): 26-29.
- [16] 马剑文, 叶正良, 杨悦武. 复方丹参滴丸通过美国 FDA 的 IND 审评之路 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2000, 2(2): 44-47.