表 1 不同制法对有效成分影响的比较 (n=5)

Table 1 Comparison on effective components in different processed products (n=5)

制 法	游离蒽醌 /(mg·g^{-1})	结合蒽醌 /(mg·g^{-1})	二苯乙烯苷/%
清蒸	2.056	2.512	2.928
5%黑豆汁蒸	2.184	2.597	3.219
10%黑豆汁蒸	2.204	2.515	3.146
20%黑豆汁蒸	2.132	2.624	3.062

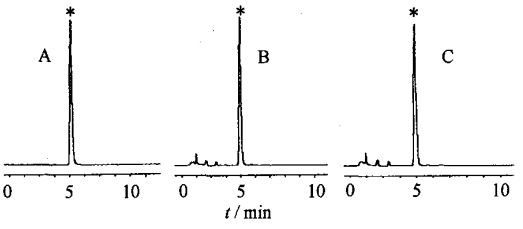
2.5.2 对照品溶液的制备：准确称取二苯乙烯苷 10.80 mg，以 50%乙醇配成 1.08 mg/mL 的储备液。取 2.00 mL 储备液以 50%乙醇定容至 10 mL，即为 0.216 mg/mL 对照品溶液。

2.5.3 供试品溶液的制备：取样品约 0.20 g，精密称定，精确加入 50%乙醇 25 mL，称定质量，浸泡 1 h，回流 0.5 h，放冷，用 50%乙醇补足减失的质量，摇匀，上清液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过，即得供试品溶液。

2.5.4 系统适用性试验：分别取对照品溶液、供试品溶液注入色谱仪，结果二苯乙烯苷保留时间为 4.690 min，理论塔板数2 000以上，且无相邻吸收峰。

2.5.5 线性关系考察：分别吸取对照品溶液 2、4、6、8、12、20 μL 进样，记录色谱图。以峰面积对进样量回归处理，结果二苯乙烯苷在 0.432～4.32 μg 呈现良好线性关系，回归方程为 $Y=326.117\ X+23.492$，$r=0.999\ 2$。

2.5.6 测定：按上述方法制备何首乌供试品溶液，测定，结果见表 1，HPLC 色谱图见图 1。



*-二苯乙烯苷

*-stilbene glucoside

图 1 二苯乙烯苷对照品(A)和清蒸(B)、5%黑豆汁蒸(C)何首乌炮制品的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of stilbene glucoside (A), sample steamed without any adjuvants (B), steamed with 5% soya bean milk (C)

3 讨论

结果分析可见，清蒸、5%黑豆汁蒸、10%黑豆汁和 20%黑豆汁蒸的制何首乌有效成分游离蒽醌、结合蒽醌、二苯乙烯苷变化不大，细微差别可能是由样品的不均一性引起的。

传统的黑豆汁制法费时费力(仅煮黑豆要用 7 h)，所以有必要对传统工艺进行改革，简化炮制工艺，以节约能源，本实验为简化何首乌炮制工艺提供了参考和依据，有一定实用价值。

References:

[1] Su W, Guo Q. General situation on study of modern pharmacology of *Polygonum multiflorum* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28 (2): 119-120.

[2] Chen W S, Xue J P. Studies on nootropic activity and mechanism of emodin-8-*O*-β-*D*-glucopyranoside [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32 (1): 39-41.

[3] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol Ⅰ. 2000.

香丹注射液的指纹图谱研究

匡荣仁，王 复，冯学伟，李桂贞

(华东理工大学 分析测试中心，上海 200237)

摘 要：目的 建立香丹注射液指纹图谱。**方法** 利用气相色谱、高效液相色谱、气质联用仪和液质联用仪对香丹注射液分析。**结果** 建立了香丹注射液指纹图谱的分析方法和确定了气相色谱和液相色谱指纹图谱中部分主峰的结构。**结论** 该分析方法能有效地控制香丹注射液的质量。

关键词：香丹注射液；指纹图谱；气相色谱；高效液相色谱

中图分类号：R286.02 **文献标识码：**B **文章编号：**0253-2670(2005)07-1006-03

Research on fingerprint of Xiangdan Injection

KUANG Rong-ren, WANG Fu, FENG Xue-wei, LI Gui-zhen

(Analysis and Research Center, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

Key words: Xiangdan Injection; fingerprint; GC; HPLC

收稿日期：2004-10-04

香丹注射液是由水蒸气蒸馏的降香饱和水溶液与丹参水提液配制而成的，临床上用于治疗心绞痛、心肌梗死等疾病。药理研究表明香丹注射液能减轻急性心肌缺血的损伤程度，并加速心肌缺血或损伤的恢复[1]。现行的中药质量控制模式是沿用测定中药某一有效成分为目标的分析方法。这种质量控制模式忽视了中药中各组分相互影响的本质，因而具有局限性。作为一种全新的中药质量控制模式，中药指纹图谱能够更全面地、更精确地控制中药注射液的质量。本实验针对香丹注射液的特点，建立了香丹注射液的气相色谱和高效液相色谱指纹图谱分析方法，并对所建立的方法进行了方法学考察。此外根据各色谱峰质谱图以及标准对照品法对其组分进行定性，进一步认识了香丹注射液指纹图谱的本质。

1 仪器与试药

Micromass GCT 气相色谱/飞行时间质谱仪（英国质谱公司），Agilent 1100 液相色谱，Micromass LCT 液相色谱/飞行时间质谱仪（英国质谱公司），PHSJ—4 pH 计（上海雷磁仪器厂）。

香丹注射液（市售）；氦气（高纯）；甲纯、乙腈为色谱纯，其他试剂均为分析纯；丹参素（批号 110855-200203）、原儿茶醛（批号 110810-200205）、原儿茶酸（批号 809-200102）、阿魏酸（批号 0773-9910）、咖啡酸（批号 885-200102）、丹参酮ⅡA（批号 0766-200213）、隐丹参酮（批号 852-9903）对照品由中国药品生物制品检定所提供。

2 方法与结果

2.1 气相色谱分析供试品溶液的制备：准确量取香丹注射液 10 mL，加 10 mL 二氯甲烷萃取 3 次，合并萃取液，自然挥干至一定质量浓度，加 1 mL 六甲基苯内标溶液于浓缩液中，自然挥干到约 0.5 mL，作为供试品溶液。

2.2 液相色谱分析供试品溶液的制备：香丹注射液经微孔滤膜滤过，直接进样。

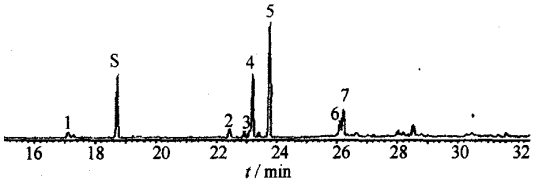
2.3 气相色谱指纹谱内标物溶液的制备：准确称取六甲基苯约 4 mg，用二氯甲烷溶于 10 mL 量瓶中，并加至刻度，移取 0.5 mL 到 10 mL 量瓶中，用二氯甲烷稀释至刻度，备用。

2.4 高效液相色谱指纹谱内标物溶液的制备：精密称取 3.9 mg 阿魏酸对照品于 10 mL 量瓶中，用水溶解，并加至刻度，即得。

2.5 气相色谱-质谱联用分析条件：气相色谱条件：色谱柱：DB-5MS 毛细管柱（30 m×0.32 mm×0.25 μm）；柱温：80 ℃（2 min）～240 ℃，3 ℃/min；气化室温度：280 ℃；氦气流量：0.7 mL/min；分流比：1∶1。质谱条件：电离方式为电子轰击（EI）；电离能量：70 eV；离子源温度：180 ℃。

2.6 液相色谱-质谱联用分析条件：液相色谱条件：色谱柱：Inersil C_{18} 柱（150 mm×4.6 mm，5 μm）；柱温：30 ℃；流动相：A 液（pH 2.5 三氟醋酸水溶液），B 液（乙腈）；梯度：0～35 min，0% B～25% B；35～60 min，25% B～30% B；波长：280 nm；体积流量：1 mL/min；进样量：10 μL。质谱条件：汽化室温度为 400 ℃；离子源温度：150 ℃；雾化气流速：300 mL/min；锥孔电压：66 V；毛细管电压：3 500 V。

2.7 香丹注射液气相色谱指纹图谱及方法学考察：香丹注射液气相色谱指纹图谱，见图 1。选用了 7 个组分，以 S 为内标，对此方法进行方法学考察。



1-香草醛 4～7-氧化苦橙油醇

1-vanillin 4—7-nerolid oxides

图 1 香丹注射液气相色谱指纹图谱

Fig. 1 GC fingerprint of Xiangdan Injection

2.7.1 稳定性试验：取同一供试品溶液，分别于 0、2、8、16 h 进样测定。以六甲基苯相对峰面积为 1，主要组分相对峰面积的 RSD 小于 5.0%。

2.7.2 精密性试验：取同一供试品溶液，连续进样 4 次，以六甲基苯相对峰面积为 1，主要组分相对峰面积的 RSD 小于 5%。

2.7.3 重现性试验：取同一批号香丹注射液 4 份，分别处理测定。以六甲基苯相对峰面积为 1，主要组分相对峰面积的 RSD 小于 5.5%。

2.8 香丹注射液变效液相色谱指纹图谱及方法学考察：根据高效液相色谱条件，得香丹注射液高效液相色谱指纹图谱，见图 2。以参照物阿魏酸对应的色谱峰（S）的相对保留时间及峰面积为 1，选用了 13 个组分对此方法进行方法学考察。

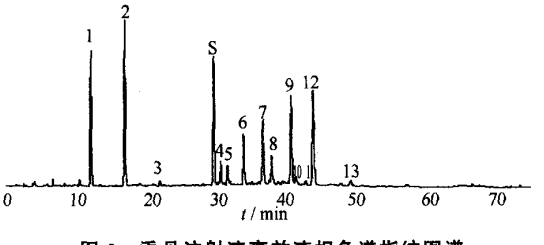


图 2 香丹注射液高效液相色谱指纹图谱

Fig. 2 HPLC fingerprint of Xiangdan Injection

2.8.1 精密性试验：取供试品溶液连续进样 5 次，按以上方法香丹注射液高效液相色谱指纹谱各色谱峰的相对峰面积和相对保留时间 RSD 均在 2%内。

2.8.2 稳定性试验：取供试品溶液分别在 0、2、8、16 h 进样测定，结果高效液相色谱指纹谱各色谱峰的相对峰面积和相对保留时间 RSD 均在 3%内。

3 讨论

3.1 气相色谱指纹图谱部分

3.1.1 预处理方法的选择：根据实验结果，香丹注射液不适合于顶空处理。因为香丹注射液中降香挥发油组分极其微量，致使顶空处理无法收到较好的效果。因此香丹注射液气相色谱样品预处理采用有机溶剂萃取。

3.1.2 萃取溶剂的确定：实验过程中选用了 3 种溶剂(乙醚、二氯甲烷和正己烷)处理香丹注射液。从萃取的效果看，乙醚与二氯甲烷相近，但都优于正己烷，挥发性组分在正己烷中的溶解性较差，二氯甲烷能够萃取得到香草醛，乙醚萃取液中未能找到香草醛。根据萃取过程的简易程度，二氯甲烷做萃取剂时不易乳化、层次分明和省时。乙醚萃取时则较易乳化，使得操作过程烦琐，重现性差。因此二氯甲烷适合萃取香丹注射液中挥发油的组分。

3.1.3 香丹注射液中挥发油成分组成：经 GC-MS 分析，香丹注射液中存在少量的香草醛、苦橙油醇和 4 种氧化苦橙油醇。

3.1.4 本实验针对香丹注射液中挥发油组分建立了香丹注射液的气相色谱指纹图谱的分析方法，并对此分析方法进行方法学考察，各峰相对峰面积和相对保留时间的相对标准偏差除个别峰外均小于 5%，表明该法适合于香丹注射液气相色谱指纹图谱的分析。

3.2 液相色谱指纹图谱部分

3.2.1 pH 值对分离的影响：采用 pH 2.25、2.5、3.0 流动相对香丹注射液液相色谱分离进行考察，发现流动相 pH 值越低，分离效果越好。但考虑到色谱柱的 pH 极限，本方法选用 pH 2.5 的流动相。

3.2.2 三氟醋酸与磷酸对分离的影响：考察了三氟醋酸与磷酸对香丹注射液分离的影响，结果表明流动相中添加三氟醋酸比磷酸分离效果好。

3.3 香丹注射液中组分的定性：实验采用对照品、紫外光谱法和液相色谱-质谱法对香丹注射液各组分进行定性，香丹注射液中存在丹参素、原儿茶酸、原儿茶醛、咖啡酸、丹酚酸 A、2 种丹酚酸 B 异构体、丹酚酸 C。综合上述结果，将香丹注射液指纹图谱划分为 4 部分：多羟基酚类化合物及鞣质类化合物、小分子酚酸化合物、丹酚酸类化合物和脂溶性化合物。

References:

[1] Gu J X. Thirty-two cases about application of Xiangdan Injection to curing myocardial ischemia [J]. *J Anhui Coll Tradit Chin Med* (安徽中医学院学报), 2001, 20 (3): 9-11.

[2] Kuang R R, Wang F, Li G Z. Stuctural research of nerolid oxides in trunk of *Dalbergia odorifera* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35 (7): 736-737.

分析用银杏内酯对照品的制备研究

王 帆[1]，胡小钟[1]，王 婷[2]，杨尔宁[2]

(1. 湖北出入境检验检疫局，湖北 武汉 430022；2. 华中农业大学，湖北 武汉 430070)

摘 要：目的 研究银杏内酯制备提纯的工艺。**方法** 银杏叶提取物(EGb)经柱色谱制备出半成品，以 HPLC 法制备分离。**结果** 同时得到银杏内酯 A、B、C 和白果内酯纯品。**结论** 达到分析用对照品的要求。

关键词：银杏内酯；对照品；制备

中图分类号：R286.02 **文献标识码：**B **文章编号：**0253-2670(2005)07-1008-03

Preparation of ginkgolide reference substance for analysis

WANG Fan[1], HU Xiao-zhong[1], WANG Ting[2], YANG Er-ning[2]

(1. Hubei Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Wuhan 430022, China;
2. Huazhong Agriculture University, Wuhan 430070, China)

Key words: ginkgolide; reference substance; preparation

收稿日期：2004-10-10

基金项目：国家质量监督检验检疫总局资助课题(B034；035；036；037—2000)

作者简介：王 帆(1963—)，男，浙江嘉兴人，工程师，主要从事进出口商品化学分析的研究。E-mail: wangfan@hbciq.gov.cn