

丹参配方颗粒实行国家标准前后样品多成分 UPLC 含量测定及比较分析

刘现磊¹, 孟伟亭², 李 琨², 张 辉^{1,3}, 王晓艳^{1,3,4}, 纪秋如², 陈毓龙⁵, 冯科冉¹, 陈小菲^{1,3}, 李伟霞^{1,3,4*}, 唐进法^{1,3,4*}

1. 河南中医药大学第一附属医院, 河南 郑州 450000

2. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046

3. 河南省中药临床应用、评价与转化工程研究中心/河南省中药临床药学中医药重点实验室/河南省中药安全评价与风险防控工程研究中心, 河南 郑州 450000

4. 河南中医药大学 呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 河南 郑州 450046

5. 天津中医药大学中药制药工程学院, 天津 301617

摘要: **目的** 对中药配方颗粒施行国家标准前后多厂家、多批次丹参配方颗粒 (Danshen Formula Granules, DFG) 进行多成分含量测定和比较分析。**方法** 收集 DFG 实行国家标准前 4 个厂家 31 批样品和实行国家标准后 3 个厂家 19 批样品, 采用 UPLC 法对 DFG 实行国家标准前、后不同厂家、不同批次样品中丹参素、原儿茶醛、咖啡酸、丹酚酸 D、丹酚酸 E、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A 和丹参酮 II_A 共 10 个成分进行含量测定和比较分析。**结果** DFG 中 10 种成分线性关系良好 ($r \geq 0.9992$), 平均加样回收率为 92.64%~103.28%, RSD 为 0.66%~2.60%。DFG 施行国家标准前 4 个厂家样品中 10 种成分含量均存在显著性差异, 而实行国家标准后样品中仅丹参素、丹酚酸 A 和丹参酮 II_A 在个别厂家间存在显著性差异。同一厂家 DFG 中 10 种成分在实行国家标准后样品中含量普遍高于实行国家标准前样品中成分含量, 且有的厂家中成分含量差异倍数在 2 倍甚至 3 倍及以上。**结论** 该方法稳定可行, 可用于 DFG 的质量控制; 实行国标后的 DFG 质量优于实行国标前样品; 且不同厂家 DFG 中丹酚酸 B 的含量均符合最新国家药品标准。

关键词: 丹参; 配方颗粒; UPLC; 国家标准; 丹参素; 原儿茶醛; 咖啡酸; 丹酚酸 D; 丹酚酸 E; 迷迭香酸; 紫草酸; 丹酚酸 B; 丹酚酸 A; 丹参酮 II_A; 质量控制

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)23-7788-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.23.021

Determination and comparative analysis of multi-component content in Danshen Formula Granules before and after implementation of national standard by UPLC method

LIU Xian-lei¹, MENG Wei-ting², LI Kun², ZHANG Hui^{1,3}, WANG Xiao-yan^{1,3,4}, JI Qiu-ru², CHEN Yu-long⁵, FENG Ke-ran¹, CHEN Xiao-fei^{1,3}, LI Wei-xia^{1,3,4}, TANG Jin-fa^{1,3,4}

1. The First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

2. College of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

3. Henan Province Engineering Research Center for Clinical Application, Evaluation and Transformation of Traditional Chinese Medicine/Henan Provincial Key Laboratory for Clinical Pharmacy of Traditional Chinese Medicine/Henan Province Engineering Research Center of Safety Evaluation and Risk Management of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

4. Provincial and Ministerial Co-construction Collaborative Innovation Center for Prevention and Treatment of Respiratory Diseases with Traditional Chinese Medicine of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

收稿日期: 2023-05-22

基金项目: 河南省中医药科学研究专项 (20-21ZY2102); 河南省中医药科学研究专项 (2023ZY1003); 河南省中医药科学研究专项 (20-21ZY1001); 河南省中医药科学研究专项 (2022ZY2010); 中医药高质量发展协同创新转化工程自立项目 (CXZH03); 河南省中医药拔尖人才培养项目 (豫中医科教[2018]35 号); 河南省高校科技创新团队 (23IRTSTHN026)

作者简介: 刘现磊 (1985—), 男, 本科, 副主任药师。Tel: (0371)66613929 E-mail: liuxianlei0330@163.com

***通信作者:** 李伟霞 (1985—), 女, 博士, 副主任药师。Tel: (0371)66233612 E-mail: liweixia01@126.com

唐进法 (1974—), 男, 博士, 主任药师。Tel: (0371)66245104 E-mail: a0519@163.com

5. College of Pharmaceutical Engineering of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Abstract: Objective To determine and compare the multi-component content in Danshen Formula Granules (DFG) from various manufacturers and batches before and after the implementation of national standards for traditional Chinese medicine formula granules.

Methods A total of 31 batches of DFG were collected from four manufacturers before implementing the national standards, and 19 batches were collected from three manufacturers after implementing the national standards. The content of 10 components, including danshensu, protocatechualdehyde, caffeic acid, salvianolic acid D, salvianolic acid E, rosmarinic acid, lithospermic acid, salvianolic acid B, salvianolic acid A, and tanshinone II_A, were determined and compared in DFG from different manufacturers and different batches before and after the implementation of national standards using ultra-high performance liquid chromatography method (UPLC).

Results The 10 components in DFG had a good linear relationship ($r \geq 0.999\ 2$), with the average sample recovery rate ranging from 92.64% to 103.28% and the RSD range of 0.66%—2.60%. There were significant differences in the content of the 10 components content among DFG samples from four manufacturers before implementing national standards, while only danshensu, danshenolic acid A, and tanshinone II_A in the samples after implementing national standards showed significant differences among individual manufacturers. Within the same manufacturer, the content of 10 components in DFG after the implementation of national standards was generally higher than that in the samples before the implementation of national standards, and some manufacturers showed differences in component content, ranging from two to even three times or more. **Conclusion** The UPLC method used in this study is stable and feasible, and can be used for the quality control of DFG. The quality of DFG after implementing national standards is better than that of samples before implementing national standards. And the content of salvianolic acid B in DFG from different manufacturers conforms to the latest national drug standard.

Key words: Danshen; Formula Granules; UPLC; national standard; danshensu; protocatechualdehyde; caffeic acid; salvianolic acid D; salvianolic acid E; rosmarinic acid; lithospermic acid; salvianolic acid B; salvianolic acid A; tanshinone II_A; quality control

中药配方颗粒因其使用方便、疗效确切,已成为中药临床应用的重要形式,在医院诊疗中占据越来越重要的地位^[1]。国家药品监督管理局、国家中医药局、国家卫生健康委、国家医保局四部委于 2021 年 2 月联合发布《关于结束中药配方颗粒试点工作的公告》(2021 年第 22 号),要求 11 月 1 日起中药配方颗粒开始实施国家标准。截止目前,四部委已联合发布了 248 个中药配方颗粒国家药品标准。在执行国家药品标准的临床实践过程中,发现有患者反应药物调剂量增加,溶解性变差,甚至有患者出现上火、腹泻、呕吐等不良反应情况。故对中药配方颗粒执行国家标准前后样品的质量和疗效差异研究具有重要意义。

丹参配方颗粒(Danshen Formula Granules, DFG)是临床用量较大的中药配方颗粒品种之一,其主要成分包括脂溶性成分和水溶性成分^[2]等,在临床治疗心脑血管疾病、抗肿瘤等方面具有广泛应用^[3-7]。在执行中药配方颗粒国家标准前,课题组收集了广东一方制药有限公司、仲景宛西制药股份有限公司、江阴天江药业有限公司、北京康仁堂药业有限公司 4 个厂家 31 批 DFG 样品,并对其指纹图谱进行了化学模式识别研究^[8]。

在执行中药配方颗粒国家标准后,课题组持续收集了执行中药配方颗粒国家标准的广东一方制药有限公司、江阴天江药业有限公司、北京康仁堂药业有限公司 3 个厂家 19 批 DFG 样品。DFG 国家标准^[9]选择了 8 个成分(丹参素、原儿茶醛、咖啡酸、丹酚酸 E、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、丹酚酸 L)的特征峰作为 DFG 样品相似度评价的指标性成分,并将丹酚酸 B 作为含量测定的指标。

为更全面、快速评价执行国家标准前、后不同厂家的 DFG 质量差异,本研究采用新建立的 UPLC 法对 DFG 执行国家标准前、后的不同厂家、不同批次样品中丹参素、原儿茶醛、咖啡酸、丹酚酸 D、丹酚酸 E、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A 和丹参酮 II_A 共 10 个成分进行含量测定和比较分析,为进一步深入开展执行国家标准前、后 DFG 质量和效应的一致性评价奠定基础,为国家标准中药配方颗粒的临床合理用药提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

XS105 型十万分之一电子分析天平,瑞士梅特勒-托利多公司; Waters Acquity UPLC H-Class 超高效液相色谱仪(PDA 检测器, Empower 2 色谱工作

站), 美国 Waters 公司; KQ-100DE 型数显超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; Neofuge 1600R 型台式高速离心机, 上海力申科学仪器有限公司。

1.2 试剂与药物

对照品原儿茶醛(批号 CHB180928, 质量分数 98.0%)、咖啡酸(批号 CHB180308, 质量分数 98.0%)、丹酚酸 D(批号 CHB201103, 质量分数 95.0%)、丹酚酸 E(批号 CHB201214, 质量分数 95.0%)、迷迭香酸(批号 CHB180121, 质量分数 98.0%)、丹酚酸 A(批号 CHB201225, 质量分数 98.0%)、丹参素(钠)(批号 CHB180731, 质量分数 98.0%)、紫草酸(批号 CHB181102, 质量分数 98.0%)、丹酚酸 B(批号 CHB180108, 质量分数 98.0%)、丹参酮 II_A(批号 CHB190306, 质量分数 98.0%) 均购于成都克洛玛生物科技有限公司。纯净水, 杭州娃哈哈集团有限公司; 磷酸, Dikma Pure[®], 批号 4821551, 北京迪科马科技有限公司; 色谱纯甲醇(批号 I1099407026)和乙腈(批号 SHBN2542) 购于默克公司。

执行国家标准前广东一方制药有限公司(A 厂)、仲景宛西制药股份有限公司(B 厂)、江阴天江药业有限公司(C 厂)、北京康仁堂药业有限公司(D 厂) 4 个厂家 31 批次 DFG 编号 QB-01~QB-31(表 1); 执行国家标准后广东一方制药有限公司(A

厂)、江阴天江药业有限公司(C 厂)、北京康仁堂药业有限公司(D 厂) 3 个厂家 19 批国家标准 DFG 样品编号 GB01~GB19(表 2)。

2 结果与方法

2.1 色谱条件

Acquity UPLC[®] BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相为乙腈-0.05%磷酸水溶液(pH 2.23), 梯度洗脱: 0~2 min, 5%~15%乙腈; 2~6 min, 15%~20%乙腈; 6~9 min, 20%~26%乙腈; 9~11 min, 26%~35%乙腈; 11~13 min, 35%~80%乙腈; 13~15 min, 80%~100%乙腈; 体积流量 0.30 mL/min; 进样量 2 μL; 柱温 30 ℃; 检测波长 280 nm。

2.2 对照品溶液的制备

分别精密称定原儿茶醛、咖啡酸、丹酚酸 D、丹酚酸 E、迷迭香酸、丹酚酸 A、丹参素(钠)、紫草酸、丹酚酸 B、丹参酮 II_A 对照品适量, 加甲醇制成质量浓度分别为 1 275.0、120.0、536.0、1 000.0、802.0、1 675.0、1 675.0、1 040.0、1 710.0、121.0 μg/mL 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

分别取约相当于 1.0 g 丹参饮片量的 DFG 样品粉末, 研细, 精密称定, 置于 50 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 80%甲醇溶液 20 mL, 密塞, 精密称定质

表 1 执行国家标准前 DFG 样品信息

Table 1 Sample information of DFG before implementing national standards

编号	批号	规格	厂家	编号	批号	规格	厂家
QB-01	9112341	每 1.8 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	A	QB-17	19100641	每 2.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	C
QB-02	9112361	每 1.8 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	A	QB-18	19091111	每 2.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	C
QB-03	7111041	每 1.8 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	A	QB-19	19100661	每 2.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	C
QB-04	8050451	每 1.8 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	A	QB-20	19100681	每 2.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	C
QB-05	0072672	每 1.8 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	A	QB-21	19100611	每 2.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	C
QB-06	8090721	每 1.8 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	A	QB-22	19100601	每 2.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	C
QB-07	8071481	每 1.8 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	A	QB-23	19100651	每 2.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	C
QB-08	0070732	每 1.8 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	A	QB-24	19100671	每 2.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	C
QB-09	0070722	每 1.8 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	A	QB-25	19100631	每 2.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	C
QB-10	0110383	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 5.6 g	A	QB-26	19028602	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 2.5 g	D
QB-11	1910058	每 0.9 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	B	QB-27	19045721	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 2.5 g	D
QB-12	20090035	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 11.0 g	B	QB-28	20011971	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 2.5 g	D
QB-13	20100113	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 11.0 g	B	QB-29	19040401	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 2.5 g	D
QB-14	20040119	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 11.0 g	B	QB-30	19016371	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 2.5 g	D
QB-15	19100691	每 2.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	C	QB-31	20031651	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 2.0 g	D
QB-16	19100621	每 2.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	C				

表 2 执行国家标准后 DFG 样品信息

Table 2 Sample information of DFG after implementing national standards

编号	批号	规格	厂家	编号	批号	规格	厂家
GB-01	22018101	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	A	GB-11	2203076301	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	C
GB-02	22018111	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	A	GB-12	2203077301	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	C
GB-03	0321000552	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	A	GB-13	2203078301	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	C
GB-04	0321000721	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	A	GB-14	2203079301	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	C
GB-05	0321000731	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	C	GB-15	2202127301	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	D
GB-06	2202128301	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	C	GB-16	A1080663	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	D
GB-07	2202129301	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	C	GB-17	A1120063	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	D
GB-08	2202130301	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	C	GB-18	A2021413	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	D
GB-09	2202131301	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	C	GB-19	A1111123	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	D
GB-10	2202132301	每 1.0 克 DFG 相当于饮片 10.0 g	C				

量, 超声 (功率 300 W、频率 45 kHz) 提取 10 min, 放冷, 80% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 得供试品溶液。取供试品溶液 1.0 mL, 置于 1.5 mL 离心管中, 14 000 r/min 离心 (离心半径 9.4 cm) 10 min, 取上清, 即得。

2.4 线性关系考察

按“2.2”项下方法制备含有丹参素、原儿茶醛、咖啡酸、丹酚酸 D、丹酚酸 E、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A、丹参酮 II_A 的系列质量浓度的混合对照品溶液, 按“2.1”项色谱条件下进样分析。以 DFG 中 10 个成分的质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 分析得到其线性回归方程、线性系数 (r) 和线性范围分别为丹参素 $Y=1510X+20\ 500$, $r=0.999\ 4$, 线性范围 1.952~1 998.750 $\mu\text{g/mL}$; 原儿茶醛 $Y=4250X+16\ 300$, $r=0.999\ 4$, 线性范围 0.587~600.880 $\mu\text{g/mL}$; 咖啡酸 $Y=9390X+4880$, $r=0.999\ 3$, 线性范围 0.230~60.032 $\mu\text{g/mL}$; 丹酚酸 D $Y=3770X+10\ 200$, $r=0.999\ 5$, 线性范围 0.375~384.000 $\mu\text{g/mL}$; 丹酚酸 E $Y=4370X+12\ 400$, $r=0.999\ 3$, 线性范围 0.351~359.640 $\mu\text{g/mL}$; 迷迭香酸 $Y=5730X+15\ 100$, $r=0.999\ 4$, 线性范围 0.351~359.700 $\mu\text{g/mL}$; 紫草酸 $Y=11\ 200X+111\ 000$, $r=0.999\ 2$, 线性范围 0.879~899.760 $\mu\text{g/mL}$; 丹酚酸 B $Y=3320X+14\ 000$, $r=0.999\ 4$, 线性范围 4.833~5 000.440 $\mu\text{g/mL}$; 丹酚酸 A $Y=2000X+26\ 200$, $r=0.999\ 3$, 线性范围 1.464~1 499.540 $\mu\text{g/mL}$; 丹参酮 II_A $Y=3980X+3100$, $r=0.999\ 5$, 线性范围 0.350~89.972 $\mu\text{g/mL}$ 。结果显示, 10 个指标成分的线性系数在 0.999 2~0.999 6, 符

合线性关系考察要求。

2.5 精密度试验

取同一批 (QB-31) DFG 样品, 按照“2.3”项下制备供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下进样测定 6 次, 以丹参素为参照峰 (S), 计算各成分的相对峰面积及相对保留时间。峰面积 RSD 分别为 0.62%、0.68%、0.76%、0.48%、0.73%、0.87%、0.74%、0.72%、0.79% 和 0.56%, 相对保留时间 RSD 均小于 0.63%, 表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取同一批 (QB-31) DFG 样品, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 于室温下于 0、2、3、6、12、24 h 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 以丹参素为参照峰 (S), 计算各成分的相对峰面积及相对保留时间。峰面积 RSD 分别为 0.48%、0.50%、0.78%、0.89%、0.48%、0.87%、0.81%、0.45%、1.07% 和 0.84%, 相对保留时间 RSD 均小于 1.23%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取同一批 (QB-31) DFG 样品, 按照“2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下进行测定, 以丹参素为参照峰 (S), 计算各成分的相对峰面积及相对保留时间。峰面积 RSD 分别为 0.87%、0.52%、1.29%、0.87%、0.98%、0.92%、1.06%、0.96%、1.06%、0.46%, 相对保留时间 RSD 均小于 1.10%, 表明该方法重复性较好。

2.8 专属性试验

按“2.2”项下方法制备含有丹参素、原儿茶醛、咖啡酸、丹酚酸 D、丹酚酸 E、迷迭香酸、紫草酸、

丹酚酸 B、丹酚酸 A、丹参酮 II_A 的混合对照品溶液以及 (QB-31) DFG 样品, 按“2.1”项色谱条件下进样分析并记录色谱图。结果发现各化合物均能达到良好的分离, 分离度均大于 1.5, 通过与对照品比对, 共指认出 10 个成分 (图 1)。

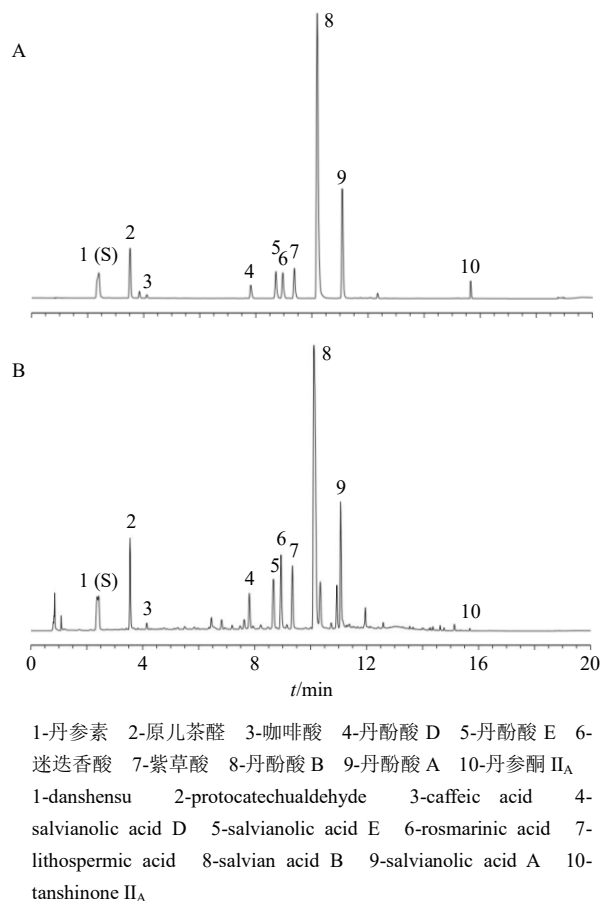


图 1 DFG 中 10 个指标成分的混合对照品溶液 (A) 和样品 (B) 的 UPLC 图

Fig. 1 UPLC chromatograms of 10 components mixed reference solution (A) and sample (B) of DFG

2.9 加样回收率试验

精密称取适量已测定 10 个指标成分的 DFG 样品 (QB-02) 9 份, 每份约 45 mg, 分别精密加入样品中指标成分质量与对照品质量约为 1:1、4:5、6:5 的比例分别加入混合对照品溶液 10 mL。每个质量浓度平行 3 份, 按照“2.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 计算加样回收率。DFG 中丹参素、原儿茶醛、咖啡酸、丹酚酸 D、丹酚酸 E、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A 和丹参酮 II_A 的平均加样回收率分别为 92.64%、99.63%、94.41%、96.95%、96.25%、99.19%、103.28%、95.74%、99.59%、97.29%, RSD 分别为

1.73%、1.86%、1.13%、2.36%、0.66%、1.01%、0.90%、1.51%、2.60%、2.60%。

2.10 样品含量测定

分别取收集的执行国家标准前 31 批 DFG 样品和 19 批执行国家标准后 DFG 样品, 按照“2.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 外标法计算 10 个指标成分含量, 结果分别见表 3、4。31 批执行国家标准前 DFG 样品中丹参素、原儿茶醛、咖啡酸、丹酚酸 D、丹酚酸 E、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A 和丹参酮 II_A 的质量分数分别为 1 002.01~6 313.44、305.56~2 229.68、7.99~51.08、110.25~747.56、130.92~1 501.93、196.52~1 417.78、18.58~602.70、2 209.49~23 128.93、495.77~12 303.40、1.93~647.04 μg/g。

19 批执行国家标准后 DFG 样品中丹参素、原儿茶醛、咖啡酸、丹酚酸 D、丹酚酸 E、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A 和丹参酮 II_A 的质量分数分别为 6 078.51~7 618.23、2 033.69~4 090.63、81.12~288.41、348.89~1 528.33、942.18~1 694.05、722.95~1 642.16、335.33~636.65、19 182.84~29 273.72、5 865.87~14 609.64、27.84~101.50 μg/g。

2.11 不同厂家及执行国家标准前后的 DFG 中主要成分含量比较分析

利用 GraphPad Prism 8.0 统计软件的非参数独立样本 Kruskal-Wallis 检验对不同厂家间含量测定结果进行比较分析。

执行国家标准前 4 个厂家的 DFG 主要成分含量比较结果 (表 5) 显示, D 厂 DFG 中 8 种成分 (丹参素、原儿茶醛、丹酚酸 D、丹酚酸 E、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B 和丹酚酸 A) 含量整体高于 A 厂、B 厂和 C 厂, 其中, 丹参素、迷迭香酸和丹酚酸 A 含量均显著高于 A 厂、B 厂和 C 厂; 原儿茶醛含量显著高于 A 厂和 C 厂; 丹酚酸 D 含量显著高于 A 厂; 丹酚酸 E、紫草酸和丹酚酸 B 含量均显著高于 A 厂和 B 厂。C 厂的咖啡酸、丹酚酸 E 和丹酚酸 B 含量均显著高于 B 厂。A 厂的丹参酮 II_A 含量高于 B 厂、C 厂和 D 厂, 并与 B 厂、C 厂含量有显著性差异; D 厂丹参酮 II_A 含量高于 B 厂和 C 厂, 并与 B 厂有显著性差异。执行国家标准后 3 个厂家的 DFG 主要成分含量比较结果 (表 6) 显示, C 厂 DFG 中丹参素和丹酚酸 A 含量显著高于 D 厂, A 厂的丹参酮 II_A 含量显著高于 C 厂, 其他成分间无显著性差异。

表 3 31 批执行国家标准前 DFG 样品中 10 个指标成分含量

Table 3 Contents of 10 index components in 31 batches of DFG samples before implementation of national standards

编号	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)									
	丹参素	原儿茶醛	咖啡酸	丹酚酸 D	丹酚酸 E	迷迭香酸	紫草酸	丹酚酸 B	丹酚酸 A	丹参酮 II _A
QB-01	1 887.64	780.56	33.58	275.40	266.38	257.43	94.39	5 076.58	3 350.25	530.59
QB-02	2 970.47	1 026.10	38.90	437.55	498.19	576.00	96.49	8 791.07	6 148.64	645.51
QB-03	2 159.14	976.58	32.91	363.63	285.00	303.76	49.39	4 947.81	3 980.41	555.17
QB-04	1 708.11	715.20	33.00	271.65	301.88	308.27	58.82	5 292.59	3 141.52	366.58
QB-05	2 244.36	905.54	24.81	440.53	383.25	584.47	93.70	6 622.36	4 068.28	395.96
QB-06	1 653.84	749.91	30.79	279.90	286.08	314.98	42.58	4 632.44	2 870.51	293.74
QB-07	1 809.45	737.74	32.10	279.16	315.48	324.62	64.71	5 103.64	3 454.76	329.21
QB-08	1 002.01	305.56	23.67	110.25	426.63	444.55	127.93	10 228.36	495.77	577.63
QB-09	1 219.87	415.63	30.46	166.64	491.01	454.39	146.31	10 320.64	522.88	536.59
QB-10	1 846.48	722.74	23.41	325.58	389.93	494.36	108.85	7 048.54	2 621.45	354.82
QB-11	1 714.88	774.67	15.78	346.65	227.23	329.61	18.58	3 254.64	2 254.23	3.63
QB-12	1 683.52	664.28	7.47	210.97	130.92	196.52	56.27	2 209.49	2 622.26	3.79
QB-13	2 262.40	960.32	7.44	376.49	154.57	259.82	74.29	2 283.69	3 814.46	4.17
QB-14	1 887.54	823.64	6.03	339.66	163.36	291.81	70.84	2 365.07	2 896.47	5.84
QB-15	1 741.60	709.15	41.74	294.28	440.38	411.05	125.08	8 342.88	2 743.94	7.53
QB-16	3 280.32	1 428.84	28.14	659.69	538.85	501.78	90.70	7 716.03	6 349.96	6.84
QB-17	1 701.05	594.44	37.89	240.83	400.80	398.83	127.38	8 326.85	2 922.55	5.89
QB-18	3 356.30	1 459.31	36.53	707.63	557.45	505.29	133.95	7 387.83	6 315.28	8.05
QB-19	1 881.36	743.58	48.99	304.69	461.62	426.82	152.37	8 779.78	2 814.90	5.78
QB-20	1 941.03	835.75	40.91	366.72	465.28	437.23	123.10	7 976.20	2 944.03	8.99
QB-21	3 204.61	1 406.61	31.44	619.43	478.15	463.19	88.07	6 669.31	5 892.07	6.42
QB-22	3 233.58	1 423.87	31.28	625.56	481.55	467.14	91.97	6 733.88	5 963.95	6.54
QB-23	1 752.12	687.56	46.33	282.09	430.59	405.08	135.43	8 488.06	2 613.54	5.68
QB-24	1 897.35	750.47	46.06	335.76	420.90	441.46	105.01	7 565.09	2 093.96	7.87
QB-25	1 979.85	719.97	38.23	311.07	411.89	412.73	124.99	8 194.83	3 364.90	6.65
QB-26	5 033.05	1 912.36	48.49	733.33	952.44	761.07	357.02	13 892.64	8 084.62	208.35
QB-27	5 656.97	1 970.88	28.77	597.86	779.28	767.18	243.30	12 044.37	10 398.33	181.22
QB-28	5 366.03	929.06	46.45	726.28	1 501.93	1 417.78	602.70	23 128.93	7 373.92	210.56
QB-29	6 313.44	2 229.68	29.25	747.56	734.59	727.19	233.60	10 938.71	12 303.40	175.69
QB-30	5 075.03	1 503.05	36.68	491.85	854.18	800.97	330.66	14 330.92	10 064.82	205.64
QB-31	5 843.43	1 910.69	21.35	650.55	977.58	1 027.47	256.48	14 483.22	7 918.94	70.24

同一厂家执行国家标准前后 DFG 样品中主要成分含量比较分析结果(表 7)显示,除 A 厂的丹参酮 II_A、D 厂的丹参酮 II_A 和丹酚酸 A 外, A 厂、C 厂和 D 厂执行国家标准后 DFG 中 10 个指标成分的含量均显著高于执行国家标准前样品中成分含量。其中, A 厂除丹参酮 II_A 外,其余 9 个成分含量差异倍数(差异倍数=执行国家标准后 DFG 样品中各指标成分含量/执行国家标准前样品中各指标

成分含量)均在 3 倍以上; C 厂的丹参素、原儿茶醛、丹酚酸 B、丹酚酸 A、咖啡酸、丹酚酸 D 和丹酚酸 E 7 个成分含量差异倍数在 2~3 倍,紫草酸、丹参酮 II_A 和迷迭香酸 3 个成分含量的差异倍数均在 3 倍以上; D 厂的丹参素、原儿茶醛、丹酚酸 B、紫草酸、丹酚酸 D、丹酚酸 E 和迷迭香酸 7 个成分含量差异倍数在 1~2 倍,咖啡酸含量差异倍数在 3 倍以上。

表 4 19 批执行国家标准后 DFG 样品中 10 个指标成分含量

Table 4 Contents of 10 index components in 19 batches of DFG samples after implementation of national standards

编号	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)									
	丹参素	原儿茶醛	咖啡酸	丹酚酸 D	丹酚酸 E	迷迭香酸	紫草酸	丹酚酸 B	丹酚酸 A	丹参酮 II _A
GB-01	6 078.51	2 614.38	108.43	1 192.80	1 533.40	1 384.14	478.51	21 290.69	9 901.20	45.48
GB-02	6 423.17	2 446.97	142.54	348.89	942.18	722.95	445.03	20 999.85	6 465.14	101.50
GB-03	6 416.65	2 349.25	81.12	1 144.47	1 355.04	1 605.49	636.65	22 505.76	7 189.59	93.52
GB-04	7 051.46	4 090.63	288.41	1 456.77	1 649.71	1 511.51	491.69	28 884.53	14 498.87	63.14
GB-05	6 619.68	2 267.93	140.09	808.43	1 182.72	1 297.34	445.58	21 405.29	12 191.25	43.46
GB-06	6 781.38	2 401.14	132.27	900.73	1 228.85	1 333.60	463.93	23 220.39	13 525.85	40.78
GB-07	7 618.23	2 839.29	112.99	1 125.05	1 268.35	1 324.93	390.37	21 126.09	13 134.45	27.84
GB-08	6 377.28	2 338.51	113.58	903.30	1 129.60	1 309.86	392.92	21 397.34	14 421.62	34.64
GB-09	7 151.68	2 750.18	120.73	1 180.50	1 430.99	1 524.38	460.57	22 101.94	11 886.50	39.18
GB-10	6 459.83	2 368.18	116.34	920.41	1 307.71	1 483.38	447.12	23 358.50	14 609.64	38.17
GB-11	7 051.01	2 435.68	102.45	1 004.79	1 294.30	1 449.71	406.03	22 539.31	11 159.36	40.09
GB-12	6 888.53	2 534.24	110.46	989.11	1 225.89	1 409.84	417.17	21 897.14	13 868.05	43.38
GB-13	6 531.33	2 453.07	120.95	961.07	1 302.51	1 401.53	442.14	22 804.10	14 585.05	44.70
GB-14	7 107.51	2 699.26	154.80	799.72	1 532.90	1 642.16	534.33	29 273.72	11 469.58	81.99
GB-15	6 405.59	2 087.63	87.61	802.60	1 185.62	1 240.33	336.69	19 612.34	8 628.09	54.35
GB-16	6 258.17	2 033.69	99.60	719.31	1 210.13	1 222.56	335.33	19 182.84	7 671.12	51.79
GB-17	6 276.80	3 242.55	128.32	1 521.10	1 694.05	1 560.79	513.07	19 450.61	5 865.87	61.86
GB-18	6 230.93	3 168.93	117.92	1 528.33	1 663.68	1 568.13	499.22	20 104.45	6 000.68	60.08
GB-19	6 879.64	3 483.06	234.50	1 296.85	1 442.01	1 407.27	531.12	28 822.49	12 713.56	86.24

表 5 执行国家标准前 4 个厂家 DFG 中 10 个指标成分含量的比较分析

Table 5 Content comparison of 10 components in DFG from four manufacturers before implementing national standards

厂家	n	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)				
		丹参素	原儿茶醛	咖啡酸	丹酚酸 D	丹酚酸 E
A	10	1 850.14 $\pm$ 546.13**	733.56 $\pm$ 226.43**	30.36 $\pm$ 4.99	295.03 $\pm$ 104.97**	364.38 $\pm$ 86.38**
B	4	1 887.08 $\pm$ 265.81*	805.73 $\pm$ 122.74 Δ	9.18 $\pm$ 4.45	318.44 $\pm$ 73.41	169.02 $\pm$ 41.15 Δ **
C	11	2 360.83 $\pm$ 725.63*	978.14 $\pm$ 362.59*	38.87 $\pm$ 6.76	431.61 $\pm$ 179.65	462.50 $\pm$ 50.07
D	6	5 547.99 $\pm$ 491.33	1 742.62 $\pm$ 461.66	35.17 $\pm$ 10.72	657.91 $\pm$ 99.63	966.67 $\pm$ 278.73

厂家	n	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)				
		迷迭香酸	紫草酸	丹酚酸 B	丹酚酸 A	丹参酮 II _A
A	10	406.28 $\pm$ 119.89**	88.32 $\pm$ 34.19**	6 806.40 $\pm$ 2 222.48**	3 065.44 $\pm$ 1 663.01**	458.58 $\pm$ 123.28 Δ **
B	4	269.44 $\pm$ 56.36**	54.99 $\pm$ 25.50**	2 528.22 $\pm$ 488.43 Δ **	2 896.85 $\pm$ 665.93**	4.36 $\pm$ 1.01*
C	11	442.78 $\pm$ 37.35*	118.01 $\pm$ 21.07	7 834.61 $\pm$ 694.74	4 001.73 $\pm$ 1 718.62*	6.93 $\pm$ 1.06
D	6	916.94 $\pm$ 268.04	337.30 $\pm$ 139.28	14 803.13 $\pm$ 4 313.18	9 357.33 $\pm$ 1 891.36	175.28 $\pm$ 53.53

与 B 厂比较: * $P<0.05$; 与 C 厂比较: $\Delta P<0.05$ $\Delta\Delta P<0.01$; 与 D 厂比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ * $P<0.05$ vs factory B; $\Delta P<0.05$ $\Delta\Delta P<0.01$ vs factory C; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs factory D

3 讨论

3.1 含量测定方法的确定

本研究采用 80% 甲醇水 20 ℃ 超声 10 min 的方法提取样品, PDA 检测器对供试品溶液在 210~400

nm 下进行扫描, 各成分在吸收波长 280 nm 处, 色谱峰信息丰富且各成分峰面积、对称性较好, 基线稳定; 分别考察了乙腈-0.1% 甲酸水溶液、乙腈-0.05% 磷酸水溶液、乙腈-0.1% 磷酸水溶液等不同比

表 6 执行国家标准后 3 个厂家 DFG 中 10 个指标成分含量的比较分析

Table 6 Content comparison of 10 components in DFG from three manufacturers after implementing national standards

厂家	n	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)				
		丹参素	原儿茶醛	咖啡酸	丹酚酸 D	丹酚酸 E
A	4	6 492.45 $\pm$ 405.95	2 875.31 $\pm$ 817.58	155.13 $\pm$ 92.34	1 035.73 $\pm$ 478.03	1 370.08 $\pm$ 309.94
C	10	6 858.65 $\pm$ 383.50	2 508.75 $\pm$ 191.85	122.47 $\pm$ 15.67	959.31 $\pm$ 122.78	1 290.38 $\pm$ 117.81
D	5	6 410.23 $\pm$ 270.85 [#]	2 803.17 $\pm$ 687.96	133.59 $\pm$ 58.58	1 173.64 $\pm$ 389.17	1 439.10 $\pm$ 240.90

厂家	n	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)				
		迷迭香酸	紫草酸	丹酚酸 B	丹酚酸 A	丹参酮 II _A
A	4	1 306.02 $\pm$ 399.16	512.97 $\pm$ 84.76	23 420.21 $\pm$ 3 700.81	9 513.70 $\pm$ 3637.64	75.91 $\pm$ 26.16
C	10	1 417.67 $\pm$ 110.16	440.02 $\pm$ 42.60	22 912.38 $\pm$ 2 365.41	13 085.14 $\pm$ 1 321.79	43.42 $\pm$ 14.43 [*]
D	5	1 399.81 $\pm$ 166.70	443.09 $\pm$ 98.40	21 434.55 $\pm$ 4 143.60	8 175.86 $\pm$ 2 789.15 [#]	62.87 $\pm$ 13.70

与 A 厂比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与 C 厂比较: [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs factory A; [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ vs factory C

表 7 A、C 和 D 厂 DFG 执行国家标准前、后样品中 10 个指标成分的含量比较

Table 7 Content comparison of 10 components in DFG from A, C and D enterprises before and after implementing national standards for traditional Chinese medicine formula granules

厂	丹参素/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)			原儿茶醛			咖啡酸			丹酚酸 D		
	国标	企标	差异倍数	国标	企标	差异倍数	国标	企标	差异倍数	国标	企标	差异倍数
A	6 492.45	1 850.14	3.51	2 875.31	733.56	3.92	155.13	32.40	4.79	1 035.73	295.03	3.51
C	6 858.65	2 360.83	2.91	2 508.75	978.14	2.56	122.47	40.93	2.99	959.31	431.61	2.22
D	6 410.23	5 547.99	1.16	2 803.17	1 742.62	1.68	133.59	37.21	3.59	1 173.64	657.91	1.78

厂	丹酚酸 E			迷迭香酸			紫草酸		
	国标	企标	差异倍数	国标	企标	差异倍数	国标	企标	差异倍数
A	1 370.08	364.38	3.76	1 306.02	406.28	3.21	512.97	88.32	5.81
C	1 290.38	462.50	2.79	1 417.67	442.78	3.20	440.02	118.01	3.73
D	1 439.10	966.67	1.49	1 399.81	916.94	1.53	443.09	337.30	1.31

厂	丹酚酸 B			丹酚酸 A			丹参酮 II _A		
	国标	企标	差异倍数	国标	企标	差异倍数	国标	企标	差异倍数
A	23 420.21	6 806.40	3.44	9 513.70	3 065.44	3.10	75.91	460.11	0.16
C	22 912.38	7 834.61	2.92	13 085.14	4 001.73	3.27	43.42	7.70	5.64
D	21 434.55	14 803.13	1.45	8 175.86	9 357.33	0.87	62.87	176.82	0.36

例和种类的流动相进行梯度洗脱, 乙腈-0.05%磷酸水溶液作为流动相时其总峰面积/称样量值最大且分离度好, 最终确定以乙腈-0.05%磷酸水溶液作为流动相进行梯度洗脱。

中药疗效是多种成分共同作用的结果, 多成分同时含量测定更能有效反应中药的整体质量。丹参中主要活性成分包括丹参酮类和丹酚酸类化合物, 丹参酮类具有抗肿瘤、神经保护、抗炎、抗纤维化、抗动脉粥样硬化、减少胚胎丢失率等作用^[10-12]; 丹参中水溶性的酚酸类成分具有保护心脑血管、抗氧化、抗炎等作用^[13-15]。因此, 本研究主要对 DFG 中

的丹参素、原儿茶醛、咖啡酸、丹酚酸 D、丹酚酸 E、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A 和丹参酮 II_A 10 个成分进行含量测定。

3.2 含量测定结果分析

执行国家标准前 31 批 DFG 及执行国家标准后 19 批 DFG 中丹参素、丹参酮 II_A、丹酚酸 A、丹酚酸 B、丹酚酸 D、丹酚酸 E、咖啡酸、迷迭香酸、原儿茶醛和紫草酸 10 个指标成分的线性关系、精密度、重复性、稳定性、加样回收率等方法学考察均符合含量测定相关要求。整体可知, 丹参颗粒中水溶性成分含量高于脂溶性成分。

根据 DFG 最新国家药品标准要求, 约 1 g 饮片的配方颗粒中丹酚酸 B 质量应为 14.0~29.5 mg。本研究测得的执行国家标准前 4 厂家 31 批 DFG 中丹酚酸 B 的质量为 2.21~23.13 mg, 仅有 D 厂的 S28 号样品符合国家标准要求; 而国家标准执行后, 所测 3 厂家 19 批 DFG 中丹酚酸 B 的质量为 19.18~29.27 mg, 均符合国家标准要求。

通过对执行国家标准前、后不同厂家 DFG 主要成分含量的比较分析发现, 执行国家标准前, 各厂家 DFG 成分含量差异较大, 可能是由于各生产企业提取工艺、质量标准等不统一造成的。通过对同一厂家执行国家标准前、后配方颗粒样品主要成分含量的比较分析发现, 执行国家标准后 DFG 样品中主要成分含量普遍升高, 且部分成分含量差异倍数达 2 倍甚至 3 倍以上。由于 D 厂 DFG 中大多成分含量在国家标准执行前均高于 A、B 和 C 厂, 故国家标准的发布, 对 D 厂影响较小, 对 A 和 C 厂影响较大, 其中对 A 厂影响最大。执行国家标准后, 各厂家 DFG 成分含量相对一致和稳定, 说明国家标准的发布对各企业质量标准提升及统一有较好的促进作用, 与中药配方颗粒国家标准中引入“标准汤剂”概念^[16], 重视与标准汤剂一致性对比, 从源头(道地产区和主产区)控制中药材质量等全过程质量控制理念有密切关系, 更好诠释了中药配方颗粒国家标准施行的必要性和重要性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 赵晓萍. 中药配方颗粒发展趋势的 SWOT 分析 [J]. 中医药管理杂志, 2022, 30(1): 249-250.
- [2] 张敏敏, 赵志国, 刘伟, 等. HPLC-DAD 法同时测定三种来源丹参饮片中水溶性和脂溶性成分 [J]. 山东科学, 2019, 32(6): 20-25.
- [3] 赵新新, 黄雪君, 甘海宁, 等. 丹参配方颗粒对热毒血瘀证大鼠调节作用的代谢组学研究 [J]. 中医学报, 2023, 38(7): 1366-1378.
- [4] 原景, 杜韩, 万梅绪, 等. 丹参有效成分及丹参类制剂抗炎药理作用的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2021, 44(11): 2322-2332.
- [5] 李亚辉, 杨欣, 冯俐, 等. 基于网络药理学及分子对接分析丹参黄芪配伍治疗冠心病和心绞痛的活性成分及作用机制 [J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39(22): 2259-2265.
- [6] 陆娟, 曹军华, 吕志刚, 等. 运用 UPLC-BCD 方法快速筛选中草药中凝血酶抑制剂 [J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(22): 2311-2314.
- [7] Wang L L, Li Y M, Deng W, et al. Cardio-protection of ultrafine granular powder for *Salvia miltiorrhiza* Bunge against myocardial infarction [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 222: 99-106.
- [8] 刘现磊, 李琨, 张辉, 等. 市售丹参配方颗粒的 UPLC 指纹图谱及化学模式识别研究 [J]. 药物分析杂志, 2022, 42(11): 2000-2009.
- [9] 丹参配方颗粒国家药品标准 [S]. 2021.
- [10] 丁凡, 王拥军, 张岩. 丹参活性成分的药理作用和临床应用研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(2): 659-662.
- [11] Liu J J, Wang F X, Sheng P, et al. A network-based method for mechanistic investigation and neuroprotective effect on treatment of tanshinone I against ischemic stroke in mouse [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 272: 113923.
- [12] 余涛. STAT4 基因在乳腺癌中的表达意义及丹参酮 II_A 的干预 [J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(8): 786-791.
- [13] 梁文仪, 陈文静, 杨光辉, 等. 丹参酚酸类成分研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(5): 806-812.
- [14] 沈云方, 费莹, 王建琴, 等. 丹参多酚酸盐协同间充质干细胞自体移植治疗大鼠急性心肌梗死 [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(8): 944-952.
- [15] Chuang C Y, Ho Y C, Lin C W, et al. Salvianolic acid A suppresses MMP-2 expression and restrains cancer cell invasion through ERK signaling in human nasopharyngeal carcinoma [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 252: 112601.
- [16] 刘安. 中药饮片标准汤剂制备与质量标准研究方法概述 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 1.

[责任编辑 郑礼胜]