

峰为溶剂峰;保留时间 21~22 min(Ⅰ区)为特征区,出现 2 个明显的色谱峰(1、2号峰);保留时间 34~39 min(Ⅱ区)为指纹密集区,出现 4 个明显的色谱峰(3~6号峰)和 1 个参照物正十七烷的色谱峰(S峰);保留时间 41~54 min(Ⅲ区)为 9 个色谱峰(7~15号峰)组成的指纹密集区;保留时间约 61 min(Ⅳ区)为 1 个色谱峰(16号峰)组成的特征区。这些区域的划分细化了藿香正气水的气相色谱指纹图谱,为藿香正气水质量控制提供依据。

同一厂家生产的不同批次的藿香正气水,其指纹图谱比较相似。不同批次各共有峰在保留时间上非常一致(见表

1),各共有峰相对保留时间变化的 RSD 均在 0.5% 以内。各共有峰的相对峰面积存在一些差别(见表 2),反映出各批次样品化学成分的含量有差异。因此,将相对峰面积数据作为评价藿香正气水质量的特征指标。采用特征指标含量均值偏移度法评价其质量^[11]。特征指标含量均值偏移度是指样品*i*各项特征指标与指标均值的偏移度,以 F_i 表示: $F_i = \frac{1}{m} \sum_{j=1}^m \frac{|X_{ij} - \bar{X}_j|}{\bar{X}_j}$, X_{ij} :第*i*个样品第*j*项指标值, $\bar{X}_j$:所有样品第*j*项指标值的均值。由此可见: F_i 越小,样品之间的差异性越小,说明*i*样品的质量越好。 F_i 的计算结果见表 3。

表 3 藿香正气水的质量评价

	批次									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
F_i	0.331 9	0.375 3	0.006 3	0.272 8	0.259 2	0.068 4	0.163 9	0.302 3	0.054 5	0.142 4

根据 F_i 值的大小,10 批次藿香正气水样品的质量排序结果为:3(批号 070711) > 9(批号 080301) > 6(批号 070721) > 10(批号 080101) > 7(批号 080401) > 5(批号 070620) > 4(批号 070725) > 8(批号 070619) > 1(批号 070723) > 2(批号 070621)。质量的差异可能与各单味药材的来源、采集时间和制药工艺有关。若条件允许,可以将藿香正气水中各单味药材的指纹图谱作为质控,就可以保证原料药材的质量。

参考文献:

[1] 刘德仪. 中药成药学 [M]. 天津: 科学技术出版社, 1982: 48-49.

[2] 常 鸿. 藿香正气水的质量标准研究 [J]. 云南中医中药杂志, 1997, 18(5): 37-39.

[3] 张 敏, 王义明. 六神丸和日本救心丹中挥发性成分的 GC/MS 分析 [J]. 中成药, 2007, 29(1): 69-72.

[4] 典灵辉, 梁 勇. 苍术挥发油成分 GC-MS 分析 [J]. 广州化工, 2004, 32(2): 32-34.

[5] 李玲玲. 厚朴挥发油化学成分研究 [J]. 中草药, 2001, 32(8): 686-687.

[6] 王建华, 迟芳振. 藿香正气水的薄层鉴别 [J]. 山东医药工业, 2000, (6): 67-68.

[7] 卢建秋, 刘永刚. LC-MS 分析藿香正气水中化学成分 [J]. 北京中医药大学学报, 2006, 29(4): 270-272.

[8] 谭丽贤, 曾 志. 石胡荽的挥发性成分和指纹图谱研究 [J]. 分析测试学报, 2006, 25(6): 91-94.

[9] 中国药典 [S]. 一部. 2005: 附录 57-58.

[10] 国家药品监督管理局. 关于印发《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)》的通知 [J]. 中成药, 2000, 10(22): 671-675.

[11] 冯毅凡, 苏薇薇, 吴 忠. 华佗再造丸气相色谱指纹特征鉴别及质量评价 [J]. 中药材, 1999, 22(7): 373-376.

注射用丹红(粉针) HPLC 指纹图谱研究

刘 静¹, 刘向国¹, 李国强^{2*}, 郑 毅¹, 郑燕青¹
(1 德州市药品检验所, 山东 德州 253000; 2 中国海洋大学, 山东 青岛 266003)

关键词: 丹红注射剂; 丹参; 红花; 指纹图谱; HPLC

摘要: 目的: 探讨丹红(丹参、红花)中药注射剂指纹图谱质量控制方法。方法: 运用 Agilent 1100 DAD-HPLC 高效液相色谱仪, 采用大连依利特 SinoChrom ODS-BP(250 mm ×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 甲醇-0.1% 磷酸水梯度洗脱, 柱温 30℃, 流速 1.0 mL/min, 检测波长 280 nm, 进样量 20 μL。结果: 在 10 批丹红注射剂基础上建立了有 20 个共有峰的注射用丹红粉针的 HPLC 色谱图, 各峰分离度较好, 指纹信息完整, 符合指纹图谱技术规范。结论: 可作为注射用丹红(粉针) 质量

收稿日期: 2009-02-18
作者简介: 刘 静(1980 -), 女, 硕士研究生, 主要从事中药检验工作。Tel: 13395447369
* 通讯作者: 李国强(1963 -), 男, 教授, 博士生导师。

控制的重要依据之一。

中图分类号: R944 2⁺ 7

文献标识码: A

文章编号: 1001-1528(2010)01-0010-03

RP-HPLC fingerprint of Danhong Injection

L U Jing¹, L U Xiang-guo¹, L I Guo-qiang^{2*}, ZHENG Yi¹, ZHENG Yan-qing¹

(1. Dezhou Institute for Drug Control, Dezhou 253000, China; 2. Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

KEY WORDS: Danhong Injection; *Radix et Rhizoma salviae miltiorrhizae*; *Hos carthami*; fingerprint; HPLC

ABSTRACT: **A M:** To explore the fingerprint method for quality control of Danhong sterile powder for injection (*Radix et Rhizoma salviae miltiorrhizae*, *Flos carthami*). **METHODS:** The samples were determined by Agilent 1100 DAD-HPLC with SinoChrom ODS-BP column (250 mm ×4.6 mm, 5 μm), by gradient elution using methanol-0.1% phosphoric acid, as mobile phase 30 column temperature, flow rate of 1.0 mL/min, detection wavelength was set at 280 nm, and inject volume 20 μL. **RESULTS:** Its fingerprint exhibited better separation for each peak, revealing amount of finger information, Based on the ten batches of Danhong sterile powder for injection, according to the technical requirements of fingerprint on injection of Chinese traditional medicine. **CONCLUSION:** Proposed HPLC fingerprint can be used as the important evidences for the quality control of Danhong Injection

中药注射剂起效快,是临床常用中药剂型之一。由于给药途径的不同,中药注射剂的安全性尤为重要。近年来,随着中药注射剂日益广泛的应用,临床上有关中药注射剂特别是中药注射液的质量问题报道逐渐增多。

丹红注射剂是由丹参、红花等中药配伍,经提取加工而制成的复方制剂,临床上用于冠心病、心绞痛、脑血管硬化等多种心脑血管疾病的治疗^[1,2,3]。现代药理研究证明,丹红注射液水溶性酚酸类成分具有抗血小板凝聚、抗血栓形成、改变血液黏滞性等作用,是治疗冠心病的主要活性成分。在化学结构上,酚酸类成分在水溶液中不稳定,易发生氧化、聚合和分解反应,由此造成丹红注射液在临床使用中有疗效不稳定、易产生不良反应等问题。为改善丹红注射剂临床用药疗效的稳定性,将液体制剂丹红注射液改变为固体制剂粉针,将能够显著提高丹红注射剂的稳定性,从而保证临床用药的稳定安全。

本实验采用高效液相色谱(HPLC)法,对10批丹红注射粉针进行分析,确认了20个共有峰,建立了丹红注射粉针的典型指纹图谱,可作为其质量控制的重要依据之一。

1 仪器试剂与材料

1.1 仪器

Agilent 1100 DAD 高效液相色谱仪(配备 G1379A 脱气机, G1311A 四元泵, G1313A 自动进样仪, G1316A 柱温箱, G1315B DAD); BS124S 电子天平(梅特勒 托利多仪器公司); 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); SinoChrom ODS-BP 250 mm ×4.6 mm, 5 μm 分析柱(大连依利特公司); Zorbax XDB C₁₈ (4.6 mm ×45 mm, 5 μm) 保护柱(Agilent Technologies)。

1.2 试剂

乙腈,色谱纯(Fisher公司); 甲醇,色谱纯(Honeywell In-

temational inc Burdick & Jackson); 磷酸,色谱纯(天津科密欧化学试剂开发中心); 双重蒸馏水:娃哈哈饮用纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司出品)。

1.3 对照品

对照品 羟基红花黄色素 A(HSYA, 批号: 111637-200502)、丹参素钠(批号: 110855-200405)、原儿茶醛(批号: 110810-200205)、丹酚酸 B(批号: 111562-200403)均购自中国药品生物制品检定所。

1.4 药品

10批丹红注射剂(粉针)均由安徽合肥紫金医药科技有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件的建立

2.1.1 流动相系统的选择 通过比较甲醇-水、乙腈-水、甲醇-磷酸水和乙腈-磷酸水梯度洗脱系统,确定甲醇-0.1%磷酸水溶液系统对注射用丹红粉针能达到较好的分离。

2.1.2 检测波长的选择 用二极管阵列检测器考察了不同吸收波长图谱,重点观察了 200、230、254、280、326 nm 的图谱。结果表明,在 280 nm 下检测到的注射用丹红粉针指纹图谱信息量均较大,特征性强,且不同成分的响应值较为均匀,因此选择 280 nm 为检测波长。

2.1.3 色谱柱的选择 考察了三根不同厂家生产的色谱柱 Agilent Eclipse ×DB-C₁₈、Kromasil KR100-5C₁₈、大连依利特 SinoChrom ODS-BP (250 mm ×4.6 mm, 5 μm) 三根不同的 C₁₈ 色谱柱,结果表明, SinoChrom ODS-BP 柱对样品中各成分能实现更好的分离,因此,本实验采用 SinoChrom ODS-BP 柱。

2.1.4 色谱条件的优化与建立 通过色谱条件的优化,建立最佳色谱条件为:流速 1 mL/min; 柱温 30 ; 检测波长

280 nm;进样量 20 μ L,流动相:A:甲醇,B:0.1%磷酸水梯度洗脱,梯度变化如下:

表 1 甲醇(A)-0.1%磷酸水(B)梯度洗脱程序
Tab 1 The gradient mode of methanol-0.1% H_3PO_4 water

时间 /min	A /%	B /%
0	5	95
65	51	49
85	51	49

2.2 供试品溶液的制备

精密称取注射用丹红 0.35 g,置 25 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,0.45 μ m 微孔滤膜滤过,即得。

2.3 对照品溶液的制备

精密称定经五氧化二磷真空干燥 12 h 的丹参素钠、原儿茶醛、丹酚酸 B、羟基红花黄色素 A(HSYA)各 10 mg,分别置于 100 mL 量瓶中,溶解加水稀释至刻度,摇匀,0.45 μ m 微孔滤膜滤过,即得。

2.4 注射用丹红(粉针)指纹图谱的建立及参数

按 2.1.4 项色谱条件,测定了 10 批注射用丹红(粉针)供试品,采用国家药品与食品药品监督管理局 SFDA 推荐使用的“计算机辅助中药指纹图谱相似度计算软件”进行相似度计算,相似度评价分析结果均在 0.95 以上^[4]。其代表 HPLC 指纹图谱见图 1。

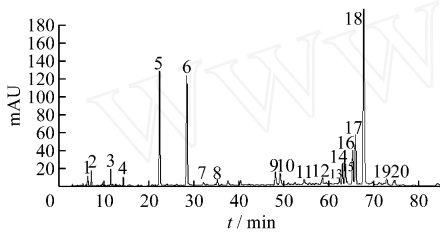


图 1 注射用丹红(粉针)指纹图谱(5-丹参素钠,6-原儿茶醛,10-羟基红花黄色素 A,18-丹酚酸 B)

Fig 1 The HPLC fingerprint of Danhong injection(5-Sodium Danshensu, 6-Protocatechuic aldehyde, 10-hydroxysafflower yellow A, 18-salvianolic acid-B)

10 批注射用丹红(粉针)指纹图谱共有峰的相对保留时间参数为:1(0.296~0.298)、2(0.310~0.312)、3(0.488~0.491)、4(0.704~0.706)、5(0.910~0.911)、6(1.000)、7(1.269~1.273)、8(1.392~1.398)、9(1.627~1.637)、10(2.201~2.224)、11(2.243~2.269)、12(2.452~2.483)、13(2.773~2.812)、14(2.886~2.928)、15(2.917~2.952)、16(2.992~2.998)、17(2.987~3.018)、18(3.010~3.042)、19(3.079~3.112)、20(3.210~3.242)。相对峰面积参数为:1(0.026~0.030)、2(0.018~0.026)、3(0.285~0.320)、4(0.284~0.312)、5(0.560~0.590)、6(1.000)、7(0.091~0.135)、8(0.684~0.691)、9(0.187~0.211)、10(0.036~

0.053)、11(0.063~0.091)、12(0.072~0.095)、13(0.201~0.243)、14(0.051~0.063)、15(0.125~0.174)、16(0.203~0.260)、17(0.552~0.632)、18(0.165~0.189)、19(0.151~0.198)、20(0.050~0.077)。

2.5 系统适应性试验

对供试品丹参、红花、丹红中间体和丹红注射剂(粉针),按“中药注射剂指纹图谱研究技术要求(草案)”要求,分别进行了系统适应性(精密度、重复性和稳定性)试验,以共有峰相对保留时间和相对峰面积为计算依据,RSD 均小于 5%,符合指纹图谱绘制要求。

3 讨论

中药注射粉针是在其注射液的基础上优化工艺出方,并经冷冻干燥机真空干燥而成,经冻干处理后,性质比注射液更稳定,贮存期更长,因此,开发中药注射粉针对增强其安全性及疗效,减少不良反应,对中药注射剂的进一步发展和扩大临床应用具有深远意义。

目前,对中药注射粉针质量控制的研究报道较少^[5-8],《中国药典》2005 版对中药注射剂收载只有 4 个品种,对中药注射粉针剂收载则只有 1 个品种。本实验以丹红注射粉针为例,采用高效液相色谱法,考察了流动相、检测波长、色谱柱等因素,确立了色谱条件,建立了指纹图谱。并认了丹参素钠、原儿茶醛、羟基红花黄色素 A、丹酚酸 B 等 4 个主要活性成分,且色谱图中各峰分离度较好,指纹信息完整,所建立的方法系统适应性实验均符合指纹图谱研究的技术要求,为控制丹红注射剂(粉针)的内在质量和保证制剂疗效稳定性提供了科学依据,也为中药注射剂质量控制研究提供了一定的参考。

参考文献:

[1] 李正国,赵淑杰.法测定丹红注射液中丹参素的含量[J].中国新药与临床药理,1999,10(2):110-111.
[2] 黄衍民,张祚民,郭爱民.高效液相色谱法测定丹红注射液中原儿茶醛的含量[J].解放军药学报,2005,25(6):467-469.
[3] 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.
[4] 唐旭利,刘静,李国强,等.注射用丹红(粉针)中间体药材 HPLC 指纹图谱相关研究[J].中国海洋大学学报(自然科学版),2009,(1):15.
[5] 王旭,王国荣.中药注射剂指纹图谱研究的现状和分析[J].中国药品标准,2005,6(4):48-50.
[6] 饶春恺,罗顺德,雷嘉川.当归注射液指纹图谱初步研究[J].中成药,2003,26(10):775-779.
[7] 游松,王亮,蒋雅红.银杏叶注射剂指纹图谱的研究[J].中草药,2002,33(3):216-218.
[8] 兰燕宇,刘丽娜,王永林.注射用复方荜茇(冻干粉针)指纹图谱研究[J].中国中药杂志,2005,30(6):440-442.