

# 注射用丹参多酚酸稳定性研究及其稳定性指示性分析方法的建立

曹雪晓<sup>1</sup>, 王蕾<sup>1</sup>, 任晓亮<sup>1</sup>, 王萌<sup>2\*</sup>, 邓雁如<sup>1</sup>

(1. 天津中医药大学 中药学院, 天津 301617; 2. 天津中医药大学 中医药研究院, 天津 301617)

**[摘要]** **目的:** 研究注射用丹参多酚酸降解产物并建立其稳定性指示性分析方法。**方法:** 采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 对注射用丹参多酚酸的主要成分进行定性研究, 建立可同时测定注射用丹参多酚酸原成分及其降解产物的稳定性指示性分析方法; 系统考察注射用丹参多酚酸主要成分在高温、氧化、金属离子、光照等物理化学条件下的稳定性。**结果:** 共鉴定了注射用丹参多酚酸中 13 个主要活性成分并进行峰面积半定量分析; 注射用丹参多酚酸在高温、氧化、三价金属离子条件下均不稳定; 在高温、氧化、光照、三价离子和二价离子条件下分别新增降解产物 6, 4, 3, 4, 1 个。所建立的稳定性指示性分析方法能同时测定注射用丹参多酚酸中主要成分及其活性成分的降解产物, 分离效果良好。**结论:** 推测注射用丹参多酚酸中主要成分降解机制为大分子多元酚酸类化合物通过苯并呋喃开环、酯键的水解、脱去丹参素等一系列反应降解成如丹参素、原儿茶醛等小分子成分。所建立的稳定性指示性分析方法可用于中药注射剂注射用丹参多酚酸稳定性质量控制。

**[关键词]** 注射用丹参多酚酸; 降解机制; 稳定性指示性方法

**[中图分类号]** R284.2; R289; R22; R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)02-0129-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20192214

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190812.0908.001.html>

**[网络出版时间]** 2019-08-12 09:30

## Study on Stability of Salvianolate Lyophilized Injection and Establishment of Stability-Indicating Analysis Method

CAO Xue-xiao<sup>1</sup>, WANG Lei<sup>1</sup>, REN Xiao-liang<sup>1</sup>, WANG Meng<sup>2\*</sup>, DENG Yan-ru<sup>1</sup>

(1. School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Tianjin 301617, China;

2. The Institute of TCM, Tianjin University of TCM, Tianjin 301617, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the degradation of salvianolate lyophilized injection (SLI) and establish a stability-indicating analysis method. **Method:** UPLC-Q-TOF-MS/MS was used to conduct a qualitative study on the main components of SLI, and a stability-indicating analysis method was established for simultaneous determination of the original components of SLI and its degradation products. The stability of SLI were systematically assessed under physicochemical conditions of high temperature, oxidation, metal ions. **Result:** Totally 13 main active ingredients in SLI were identified, and a semi-quantitative analysis was performed. Under the conditions of high temperature, oxidation, light, trivalent ion and divalent ion, 6, 4, 3, 4 and 1 new degradation products were added respectively. The established stability-indicating analysis method can simultaneously determine the degradation products of the main components and their active components in SLI, with

**[收稿日期]** 20190117(021)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81873191)

**[第一作者]** 曹雪晓, 在读博士, 从事制剂分析研究, Tel:022-59596221, E-mail: xuehen.3@163.com

**[通信作者]** \*王萌, 博士, 副研究员, 从事制剂分析研究, Tel:022-59596221, E-mail: wangmeng@tjutcm.edu.cn

a good separation effect. **Conclusion:** According to the degradation mechanism of the main ingredients in SLI, macromolecular polyphenol acid compounds are degraded into small molecular compounds, such as tanshinol and protocatechu aldehyde by a series of reactions, like benzofuran open-loop, hydrolysis of ester bond and removal of DSS. The stability-indicating analysis method can be used for the stability quality control of traditional Chinese medicine Salvianolate Lyophilized Injection (SLI).

[**Key words**] salvianolate lyophilized injection; degradation mechanism; stability-indicating method

中药注射剂是在中医理论指导下,采用现代科学技术,将中药饮片提取、纯化后制成的供注入体内的溶液、乳状液及供临用前配制成溶液的粉末或浓溶液的无菌制剂<sup>[1]</sup>。与丸、散、膏、丹等传统中药剂型相比,具有药效迅速、生物利用度高等优势,尤其在治疗心脑血管疾病、急性感染性疾病、恶性肿瘤等疾病中发挥着不可替代的重要作用<sup>[2]</sup>。注射用丹参多酚酸由丹参水溶性提取物中分离出的多种酚酸类成分制成的冻干粉针,具有纯度高、毒性小、安全性好、疗效显著等优点<sup>[3-4]</sup>,主要用于中风病中经络(轻中度脑梗死)恢复期瘀血阻络证,症见半身不遂,偏身麻木等<sup>[5]</sup>。注射用丹参多酚酸是直接入血的注射剂,其主要成分酚酸类含有易被破坏的官能团结构,而现阶段还缺少系统性稳定性的研究。人用药品注册技术要求国际协调会议(ICH)中 Q<sub>2</sub>A 和 Q<sub>3</sub>B 要求,对于药物的含量测定和降解产物的测定,需要建立并验证一个稳定性指示性的分析方法<sup>[6]</sup>。系统稳定性和稳定性指示性分析方法(stability-indicating method, S-I)可反映出在稳定性试验条件下药物质量的变化,被广泛应用于药物的质量控制和稳定性研究等领域<sup>[7]</sup>。

本研究采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对中药注射剂注射用丹参多酚酸进行定性、定量研究,考察注射用丹参多酚酸中酚酸类成分的降解规律及其降解途径,指导科学合理的设计和保障中药制剂,特别是中药注射剂的质量。此外,在稳定性研究的基础上建立 S-I 方法,使之能较准确测定其主要成分及其降解产物,为提高中药注射剂质量控制水平和用药安全性提供技术支持。

## 1 材料

注射用丹参多酚酸(天津天士力之骄药业有限公司,国药准字 Z20110011,批号 12121102,12123607,12122807)。丹酚酸 B,紫草酸,迷迭香酸,丹参素,原儿茶醛,咖啡酸对照品(天津中新药业集团股份有限公司,批号分别为 W15-5-7, W14-8-0, W10-5-3, W10-2-6, W06-2-5, W05-5-6, 纯度均 ≥ 98%)。色谱甲酸、乙腈(美国 Sigma 公司),所用水

为屈臣氏蒸馏水。

Acquity UPLC H-Class 超高效液相色谱,Quattro Premier XE MS 型质谱仪(美国 Waters 公司);Mill-Q II 型超纯水仪(美国 Millipore 公司);H1650-W 型离心机(中国湘仪离心机仪器有限公司);SSW-600-7S 型水浴锅(中国博讯实业有限公司);AX205 型 1/10 万电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司)。

## 2 方法

**2.1 供试品溶液配制** 精密称取注射用丹参多酚酸粉末 5.00 mg,置于 10 mL 棕色量瓶,超纯水定容,配制成质量浓度为 0.5 g·L<sup>-1</sup> 的供试品储备液。

**2.2 对照品溶液配制** 精密称取丹酚酸 B,迷迭香酸,紫草酸,丹参素,原儿茶醛,咖啡酸,分别置于 10 mL 量瓶中,甲醇定容,4 ℃ 保存,配制成质量浓度均为 0.5 g·L<sup>-1</sup> 的对照品储备液。

**2.3 色谱及质谱条件** UPLC 色谱条件为 Waters ACQUITY T3 色谱柱(2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm),流动相乙腈(A)-0.1% 甲酸水(B)梯度洗脱(0 ~ 3 min, 5% ~ 10% A; 3 ~ 8 min, 10% ~ 15% A; 8 ~ 15 min, 15% ~ 40% A),检测波长 280 nm,流速 0.3 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 5 μL,温度 25 ℃。

质谱条件为电喷雾离子源,负离子检测模式,扫描范围 *m/z* 100 ~ 1 700,毛细管电压 3.02 kV,去溶剂化温度 400 ℃,离子源温度 100 ℃,气帘气流量 50 L·h<sup>-1</sup>,脱溶剂气流量 600 L·h<sup>-1</sup>。

**2.4 注射用丹参多酚酸多成分定性** 取 2.1 项下注射用丹参多酚酸储备液,超纯水稀释至 100 mg·L<sup>-1</sup>,按照 2.3 项下色谱及质谱条件进行 UPLC-Q-TOF-MS 及 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析。通过与对照品对照及查阅文献参考,对注射剂中各成分进行定性鉴别。

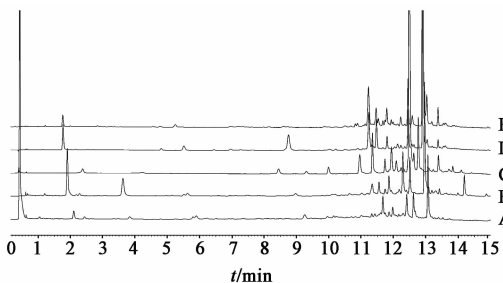
**2.5 中药注射剂注射用丹参多酚酸制剂降解机制** 采用 UPLC-Q-TOF 进行分析,紫外响应下以面积归一化法统计超过总峰面积 5% 的各色谱峰为制剂主要成分,以丹酚酸 B 降解至初始浓度 10% 时,终止反应。

精密称取注射用丹参多酚酸 5.00 mg,置于

10 mL 棕色量瓶中,分别按以下方法进行处理,超纯水定容,密封,80 ℃ 水浴保存;3% 双氧水定容,密封保存;分别以 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 的 KCl, CaCl<sub>2</sub> 和 AlCl<sub>3</sub> 定容,密封保存;超纯水定容后,分别置于 1 023 × 10 Lux 200 白炽灯和 18 Lux 200 紫外灯下照射,密封。分别于 0, 1, 2, 5, 10, 30, 60, 80, 100, 120, 150, 200 h 时取样,离心后进样分析。

**2.6 稳定性分析** 精密性、重复性试验,注射用丹参多酚酸中各成分保留时间 RSD 均 < 2%, 峰面积 RSD 均 < 3%, 符合要求,表明精密性、重复性良好。在注射用丹参多酚酸稳定性压力条件降解产物研究的基础上,针对在高温、氧化、光照、金属离子条件下的稳定性样品进行降解产物初步富集。将初步富集的稳定性样品冻干后,加入甲醇水溶液溶解,涡旋混匀,作为储备液。取储备液适量,加入 50% 甲醇逐级稀释进样,监测检测限,信噪比 S/N > 3, 在此条件下可同时测定注射用丹参多酚酸原成分及其降解产物。

注射用丹参多酚酸在各降解条件下色谱图见图 1, 由图可知,注射用丹参多酚酸原成分及其降解产物在此方法下可同时测定。



A. 氧化条件; B. 高温条件; C. AlCl<sub>3</sub> 条件; D. CaCl<sub>2</sub> 条件; E. 光照条件

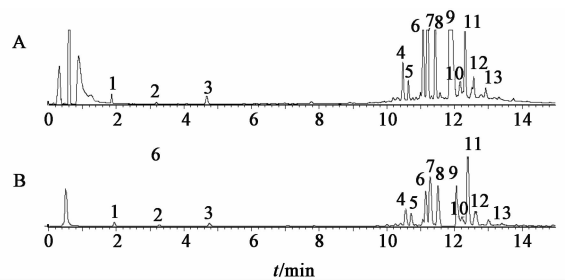
图 1 注射用丹参多酚酸在不同降解条件下 UPLC 色谱

Fig. 1 UPLC chromatogram of salvianolate lyophilized injection under degradation conditions

### 3 结果与分析

**3.1 注射用丹参多酚酸多成分定性、定量分析** 注射用丹参多酚酸 UPLC-Q-TOF-MS 一级质谱全扫描图见图 2, 共鉴定出 13 个成分, 其中成分 1, 2, 3, 7, 8, 9 与对照品保留时间、一级质谱以及二级碎片离子一致, 被分别鉴定为丹参素、原儿茶醛、咖啡酸、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B。成分 12 准分子离子峰  $m/z$  701 [M - H]<sup>-</sup> 和  $m/z$  731 [M - H]<sup>-</sup>, 其结构比丹酚酸 B 及其同分异构体少 1 个 O, 在二级碎片中, 与丹酚酸 B 及其同分异构体均含有  $m/z$  519, 321, 推断可能为丹酚酸 B, 丹酚酸 E, 丹酚酸 L, 其中羧基

被醛基取代, 还需要红外光谱、核磁共振等技术进一步确认。负离子采集下注射用丹参多酚酸中主要成分的质谱信息见表 1。



A. 紫外; B. 质谱

图 2 注射用丹参多酚酸多成分定性分析色谱

Fig. 2 Chromatogram of salvianolate lyophilized injection

### 3.2 中药注射剂注射用丹参多酚酸制剂降解产物分析

**3.2.1 温度的影响** 注射用丹参多酚酸在高温条件下, 反应终止时刻点色谱见图 3, 采用峰面积半定量的方式比较降解前后化学成分含量的变化, 反应终止时丹酚酸 B, 丹酚酸 E, 丹酚酸 D, 丹酚酸 L,  $m/z$  701 和 9''-紫草酸 B 单甲酯 isomer 的含量呈现持续下降趋势; 原儿茶醛, 丹参素, 咖啡酸, 丹酚酸 H, 丹酚酸 B/E 异构体, 迷迭香酸, 紫草酸含量先增大后降低; 反应终止时, 丹酚酸 B/E isomer, 咖啡酸已降解完全。而新增的 6 个成分中, 成分 II, VI, VIII, X, XII, VIII 含量呈现上升趋势。

其中, 成分 II 准分子离子  $m/z$  539 [M - H]<sup>-</sup>, 二级碎片离子  $m/z$  341 推测其为  $m/z$  539 脱去 1 分子丹参素形成,  $m/z$  297 为  $m/z$  341 继续脱去 1 分子 CO<sub>2</sub> 形成。根据文献 [11] 推测为丹酚酸 S。

成分 VI 准分子离子  $m/z$  537 [M - H]<sup>-</sup>, 二级碎片离子  $m/z$  493 推测其为  $m/z$  537 脱去 1 分子 CO<sub>2</sub> 形成,  $m/z$  295 为  $m/z$  493 继续脱去 1 分子丹参素形成。根据参考文献 [12] 推测为紫草酸异构体。

成分 VIII 和 X 准分子离子  $m/z$  715 [M - H]<sup>-</sup>, 二级碎片离子均含有  $m/z$  393, 321, 其相对分子质量比丹酚酸 B, 丹酚酸 E, 丹酚酸 L 少 2, 推测其结构中比丹酚酸 B 及其同分异构体少 2 个 H。要准确确定其分子结构, 还需要红外光谱、核磁共振等技术做进一步确认。

成分 XII 和 VIII 准分子离子  $m/z$  491 [M - H]<sup>-</sup>, 二级碎片离子  $m/z$  293 推测其为  $m/z$  491 脱去 1 分子丹参素形成,  $m/z$  197 为  $m/z$  491 继续脱去 1 分子 C<sub>17</sub>H<sub>11</sub>O<sub>5</sub> 形成。依据保留时间 [11, 13] 推测成分 XII 和 VIII 分别为丹酚酸 C 和异丹酚酸 C。

表 1 注射用丹参多酚酸中鉴定成分的质谱信息

Table 1 Compounds identified in salvianolate lyophilized injection

| No. | $t_R$<br>/min | $m/z$     | 分子式   | $\delta$ | MS/MS   | 成分                               |
|-----|---------------|-----------|---|----------|---|----------------------------------|
| 1   | 1.87          | 197.045 4 | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>   | 0.5      | 179.033 7/135.044 1                               | 丹酚酸 A                            |
| 2   | 3.19          | 137.023 8 | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>    | 0        | 119.027 5/108.020 9                               | 原儿茶醛                             |
| 3   | 4.68          | 179.034 5 | C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>    | 0        | 179.026 4/135.045 2                               | 咖啡酸                              |
| 4   | 10.47         | 537.103 0 | C <sub>27</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub> | -0.6     | 537.101 5/493.112 0/339.051 0/295.060 8           | 丹酚酸 H <sup>[8]</sup>             |
| 5   | 10.66         | 417.082 0 | C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub> | -0.7     | 417.0823/373.0905/197.0453/175.0392               | 丹酚酸 D <sup>[8]</sup>             |
| 6   | 11.07         | 717.147 2 | C <sub>36</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub> | 0.6      | 717.143 5/519.093 1/493.114 5/321.034 5           | 丹酚酸 E <sup>[9]</sup>             |
| 7   | 11.20         | 359.076 3 | C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>  | -1.1     | 359.080 9/197.044 3/161.023 4                     | 迷迭香酸                             |
| 8   | 11.44         | 537.103 0 | C <sub>27</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub> | -0.6     | 493.114 4/295.060 2/197.046 1                     | 紫草酸                              |
| 9   | 11.87         | 717.146 5 | C <sub>36</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub> | -0.1     | 717.132 1/519.095 6/321.045 3                     | 丹酚酸 B                            |
| 10  | 12.17         | 717.143 9 | C <sub>36</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub> | -2.2     | 717.132 1/519.092 2/321.041 5                     | 丹酚酸 B/E 异构体 <sup>[9]</sup>       |
| 11  | 12.31         | 717.145 3 | C <sub>36</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub> | -0.4     | 717.145 6/519.093 0/321.040 0                     | 丹酚酸 L <sup>[10]</sup>            |
| 12  | 12.57         | 701.150 5 | C <sub>36</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub> | -0.3     | 701.148 3/519.092 2/503.097 4/321.039 9/295.039 9 | -                                |
| 13  | 12.57         | 731.161 0 | C <sub>37</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub> | -0.3     | 731.163 7/551.115 9/533.109 3                     | 9''-紫草酸 B 单甲酯异构体 <sup>[10]</sup> |

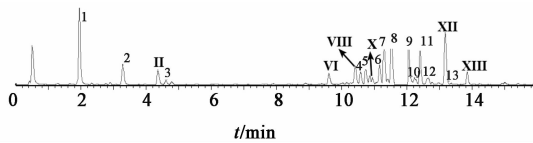


图 3 注射用丹参多酚酸高温条件下质谱  
Fig. 3 Base peak chromatogram of salvianolate lyophilized injection under high temperature conditions

**3.2.2 氧化的影响** 注射用丹参多酚酸在氧化条件下,降解反应终止时刻点色谱见图 4,至反应终止时丹酚酸 B,丹酚酸 E,丹酚酸 L,迷迭香酸, $m/z$  701 和 9''-紫草酸 B 单甲酯异构体,丹酚酸 B/E 异构体,紫草酸含量呈现持续下降趋势;原儿茶醛,丹参素,咖啡酸,丹酚酸 H,丹酚酸 D 含量先上升后下降;其中原儿茶醛、丹酚酸 B/E 异构体已降解完全。而新增的 4 个成分含量呈现上升趋势。其中,成分 IV 准分子离子  $m/z$  313 $[M-H]^-$ ,二级碎片离子  $m/z$  269 推测其为  $m/z$  313 脱去 1 分子 CO<sub>2</sub> 形成。根据文献<sup>[11]</sup>推测为丹酚酸 F。

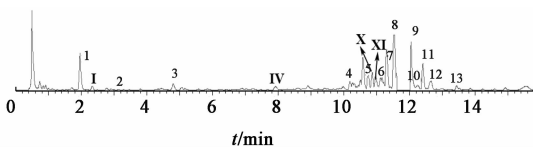


图 4 注射用丹参多酚酸氧化条件下质谱  
Fig. 4 Base peak chromatogram of salvianolate lyophilized injection under oxidative conditions

**3.2.3 一价、二价、三价金属离子的影响** 注射用

丹参多酚酸在 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 的 KCl 中无明显变化;在二价金属离子条件下,新增成分 VIII。0 时刻点的 13 个峰,至反应终止时丹酚酸 B,丹酚酸 E,丹酚酸 L,丹酚酸 B/E 异构体,丹酚酸 D, $m/z$  701 和 9''-紫草酸 B 单甲酯异构体,迷迭香酸含量呈现持续下降趋势;原儿茶醛、丹参素、咖啡酸、丹酚酸 H 含量先增大后下降;紫草酸含量呈现持续上升趋势;其中原儿茶醛、迷迭香酸、丹酚酸 B/E 异构体已降解完全。

注射用丹参多酚酸在三价金属离子条件下,共生成 4 个降解产物。降解反应终止时刻点色谱见图 5,至反应终止时丹酚酸 B,丹酚酸 L,丹酚酸 B/E 异构体,丹酚酸 D,丹酚酸 H,草酸, $m/z$  701 和 9''-紫草酸 B 单甲酯异构体含量呈现持续下降趋势;丹酚酸 E 含量呈现持续上升趋势;原儿茶醛、咖啡酸、丹参素、迷迭香酸含量先增大后下降;其中咖啡酸、原儿茶醛,丹酚酸 D,丹酚酸 B/E 异构体,紫草酸, $m/z$  701 和 9''-紫草酸 B 单甲酯异构体已降解完全。

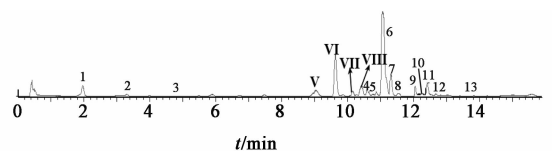


图 5 注射用丹参多酚酸三价离子条件下质谱  
Fig. 5 Base peak chromatogram of salvianolate lyophilized injection under trivalent ion conditions

其中,成分 VII 和成分 VIII 准分子离子  $m/z$  715 $[M-H]^-$ ,且具有相同的二级裂解碎片,推测可能

为同分异构体。但要确定其分子结构,还需结合红外光谱,核磁共振等技术做进一步确证。

**3.2.4 光照的影响** 紫外照射条件下,注射用丹参多酚酸无明显降解。模拟日光的白炽灯光照条件下,光照降解条件下反应终止时质谱见图 6。至反应终止时丹酚酸 B,迷迭香酸,丹酚酸 E,丹酚酸 L,  $m/z$  701 和 9<sup>'''</sup>-紫草酸 B 单甲酯异构体,丹酚酸 D,丹酚酸 B/E 异构体含量呈现持续下降趋势;原儿茶醛,咖啡酸,丹参素,丹酚酸 H,紫草酸含量先上升后下降;其中迷迭香酸、原儿茶醛、丹酚酸 B/E 异构体已降解完全。而新增的 3 个成分含量呈现上升趋势。

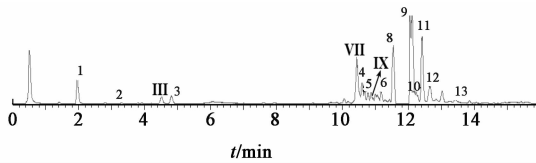


图 6 注射用丹参多酚酸光照条件下质谱  
Fig. 6 Base peak chromatogram of salvianolate lyophilized injection under illumination conditions

其中,成分 III 准分子离子  $m/z$  177  $[M - H]^-$ , 二级碎片离子  $m/z$  133 为分子离子峰  $m/z$  177 脱去 1 分子  $CO_2$  形成,其相对分子质量比咖啡酸少 2。要确定其分子结构,还需结合红外光谱,核磁共振等

技术做进一步确证。

成分 IX 准分子离子  $m/z$  735  $[M - H]^-$ , 其相对分子质量比丹酚酸 B 及其同分异构体多了 1 分子  $H_2O$ ; 二级主要碎片离子  $m/z$  717 为分子离子峰  $m/z$  735 脱去 1 分子  $H_2O$ ,  $m/z$  537 为  $m/z$  735 继续脱去 1 分子  $C_9H_9O_4$ ,  $m/z$  357 为  $m/z$  717 脱去 2 分子  $C_9H_9O_4$  形成。可能的结构式见图 7。

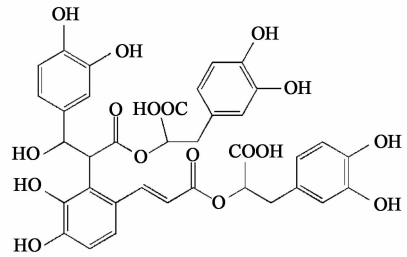


图 7 成分 IX 结构式  
Fig. 7 Structure of compound IX

注射用丹参多酚酸在高温、氧化、光、二价和三价金属离子中共有 13 个降解产物,其质谱信息见表 2。各种条件下总降解产物见表 3,结果显示高温和三价离子条件下具有相同的降解产物紫草酸异构体;高温、光照、二价和三价金属离子条件下具有相同的降解产物  $m/z$  715;高温和氧化条件下具有相同的降解产物  $m/z$  715。

表 2 注射用丹参多酚酸在各种条件下的降解产物质谱信息

Table 2 Compounds identified of degradation products in salvianolate lyophilized injection under various conditions

| No.  | $t_R$ /min | $m/z$     | 分子式                  | $\delta$ | MS/MS   | 降解产物      |
|------|------------|-----------|----------------------|----------|---|-----------|
| I    | 2.28       | 153.018 9 | $C_7H_5O_4$          | -2.0     | -   | 原儿茶酸      |
| II   | 4.38       | 539.083 0 | $C_{27}H_{24}O_2$    | 0.6      | 539.082 1/341.027 7/297.043 2                     | 丹酚酸 S 或 T |
| III  | 4.44       | 177.018 7 | $C_9H_6O_4$          | -1.7     | 177.017 9/133.092 9                               | -         |
| IV   | 7.83       | 313.071 2 | $C_{17}H_{14}O_6$    | -1.9     | -   | 丹酚酸 F     |
| V    | 8.94       | 715.129 9 | $C_{36}H_{28}O_{16}$ | -2.4     | 715.129 9/671.141 4/393.082 2/269.078 6           | -         |
| VI   | 9.63       | 537.103 1 | $C_{27}H_{22}O_{12}$ | 0.2      | 537.101 1/493.111 5/295.060 4                     | 紫草酸异构体    |
| VII  | 10.09      | 715.129 9 | $C_{36}H_{28}O_{16}$ | -1.5     | 715.129 9/671.142 6/393.081 9/295.059 3           | -         |
| VIII | 10.45      | 715.128 5 | $C_{36}H_{28}O_{16}$ | -2.1     | 715.129 5/517.075 0/393.082 2/321.039 4/195.024 9 | -         |
| IX   | 10.55      | 735.155 4 | $C_{36}H_{32}O_{17}$ | 0.3      | 735.158 5/717.150 1/537.104 0/519.088 4/357.061 8 | -         |
| X    | 10.80      | 715.129 0 | $C_{36}H_{28}O_{16}$ | -1.0     | 715.128 7/671.144 5/393.078 4/321.049 7           | -         |
| XI   | 10.90      | 723.118 8 | $C_{34}H_{28}O_{18}$ | -0.8     | 723.119 3/537.098 0/493.118 3/295.064 8           | -         |
| XII  | 13.17      | 491.098 0 | $C_{26}H_{20}O_{10}$ | -1.4     | 491.097 5/311.054 4/293.044 3/197.044 4           | 丹酚酸 C     |
| XIII | 13.84      | 491.097 2 | $C_{26}H_{20}O_{10}$ | 0.2      | 491.098 2/293.045 3/197.048 5                     | 丹酚酸 C 异构体 |

#### 4 结论与讨论

注射用丹参多酚酸在高温、氧化、二价金属离子、三价金属离子、光照不同条件下分别新增成分

6,4,1,4,3 个;结果显示制剂对氧化、高温更为敏感,提示应注意环境温度和与空气接触的控制,金属离子在医疗器械容器及常见模拟体液中使用时频率较

表 3 注射用丹参多酚酸在各种条件下总的降解产物  
Table 3 Total degradation products in salvianolate lyophilized injection under various conditions

| No.  | 降解产物      | 高温 | 氧化 | CaCl <sub>2</sub> | AlCl <sub>3</sub> | 光照 |
|------|-----------|----|----|-------------------|-------------------|----|
| I    | 原儿茶酸      |    | √  |                   |                   |    |
| II   | 丹酚酸 S 或 T | √  |    |                   |                   |    |
| III  | 178       |    |    |                   |                   | √  |
| IV   | 丹酚酸 F     |    | √  |                   |                   |    |
| V    | 716       |    |    |                   | √                 |    |
| VI   | 紫草酸异构体    | √  |    |                   | √                 |    |
| VII  | 716       |    |    |                   | √                 |    |
| VIII | 716       | √  |    | √                 | √                 | √  |
| IX   | 736       |    |    |                   |                   | √  |
| X    | 716       | √  | √  |                   |                   |    |
| XI   | 724       |    | √  |                   |                   |    |
| XII  | 丹酚酸 C     | √  |    |                   |                   |    |
| XIII | 丹酚酸 C 异构体 | √  |    |                   |                   |    |

高,建议严格控制。

在降解机制研究中,丹酚酸 B,丹酚酸 L, *m/z* 701, 9"-紫草酸 B 单甲酯异构体含量呈现持续下降趋势;丹参素、原儿茶醛、咖啡酸含量先增大后降低,可见不适合用于质量控制。从降解产物中推测注射用丹参多酚酸注射剂中大分子丹参多元酚酸通过苯并呋喃的开环、酯键的断裂、脱羧、脱水反应降解为小分子酚酸类成分。

本研究建立了注射用丹参多酚酸及其降解产物的 UPLC 稳定性指示性分析方法,在现有的色谱条件下,该方法具有足够的灵敏度,且可重复性较强,可用于对注射用丹参多酚酸注射剂进行稳定性角度的质量控制。由于其对各条件降解产物的覆盖能力,可用于制剂在生产、储存等条件下样品的随性检验。为中药注射剂的稳定性及安全性评价提供技术支持。

[参考文献]

[1] 徐芳芳,毕宇安,王振中,等. 过程分析技术在中药注射剂生产过程中的应用研究进展[J]. 中草药,2016, 47(14):2563-2567.  
[2] 谷旭放,黄宇虹. 中药注射剂类过敏反应研究进展[J]. 天津中医药大学学报,2018,37(2): 96-99.  
[3] 徐静瑶,刘小琳,佟玲,等. 注射用丹参多酚酸 UPLC

的指纹图谱与组分分析[J]. 沈阳药科大学学报, 2016,33(2):131-139.

[4] 张磊,岳洪水,鞠爱春,等. 基于近红外光谱技术的注射用丹参多酚酸生产过程分析系统构建及相关探讨[J]. 中国中药杂志,2016,41(19):3569-3573.  
[5] 刘施,吴嘉瑞,蔺梦娟,等. 基于 Meta 分析的注射用丹参多酚酸治疗急性脑梗死临床评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(8):202-207.  
[6] 郝福,胡向青. 建立稳定性指示性的分析方法在药物分析领域的研究进展[J]. 中国医药指南,2011,9(29): 222-224.  
[7] LIU X K, FANG J B, Cauchon N, et al. Direct stability-indicating method development and validation for analysis of etidronate disodium using a mixed-mode column and charged aerosol detector [J]. J Pharm Biomed Anal,2008,46(4):639-644.  
[8] ZHANG J L, CUI M, HE Y, et al. Chemical fingerprint and metabolic fingerprint analysis of Danshen injection by HPLC-UV and HPLC-MS methods [J]. J Pharm Biomed Anal,2005,36(5):1029-1035.  
[9] HU P, LIANG Q L, LUO G A, et al. Multi-component HPLC fingerprinting of Radix Salviae Miltiorrhizae and its LC-MS-MS identification [J]. Chem Pharm Bull, 2005,53(6): 677-683.  
[10] LIU A H, LIN Y H, YANG M, et al. Development of the fingerprints for the quality of the roots of *Salvia miltiorrhiza* and its related preparations by HPLC-DAD and LC-MS<sup>n</sup> [J]. J Chromatogr B,2007,846(1/2): 32-41.  
[11] ZENG G F, XIAO H B, LIU J X, et al. Identification of phenolic constituents in Radix Salviae Miltiorrhizae by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Sp, 2010, 20(3): 499-506.  
[12] XU M, GUO H, HAN J, et al. Structural characterization of metabolites of salvianolic acid B from *Salvia miltiorrhiza* in normal and antibiotic-treated rats by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. J Chromatogr B,2007,858(1-2): 184-198.  
[13] CHEN X F, LOU Z Y, ZHANG H, et al. Identification of multiple components in Guanxinling injection using hydrophilic interaction liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry and reversed-phase liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Sp,2011,25(11): 1661-1674.

[责任编辑 顾雪竹]