基于 UPLC 指纹图谱及多成分含量测定的丹参注射液质量评价

汪 言[1,2]，任智勇[3]，石兆勇[3]，吴 彤[1,2]，欧阳丹薇[1,2]*

（1. 中国医药工业研究总院，上海 201203；2. 上海医药工业研究院有限公司，先导物成药性研究全国重点实验室，上海 201203；3. 国药集团宜宾制药有限责任公司，四川宜宾 644100）

摘要：文章建立了丹参注射液（DSI）的超高效液相指纹图谱及多成分含量测定方法，并结合化学模式识别对不同批次 DSI 进行质量评价。采用 Waters ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱（2.1 mm×100 mm，1.8 μm），以 0.5%磷酸水溶液和乙腈梯度洗脱，流速 0.4 mL/min，柱温 40 ℃，检测波长 286 nm。建立了 13 批 DSI 的指纹图谱，批间相似度均大于 0.98，标定出 25 个共有峰，并通过对照品指认出 14 个共有峰，分别为 5-羟甲基糠醛（**1**）、丹参素钠（**2**）、原儿茶酸（**3**）、原儿茶醛（**4**）、咖啡酸（**5**）、异阿魏酸（**6**）、丹酚酸 F（**7**）、丹酚酸 D（**8**）、迷迭香酸（**9**）、丹酚酸 E（**10**）、紫草酸（**11**）、丹酚酸 B（**12**）、丹酚酸 A（**13**）和丹酚酸 Y（**14**）。对上述 14 个成分进行多成分定量分析，并利用主成分分析、正交偏最小二乘法判别、分析、筛选出主要差异性成分为 **1**、**3**、**6**、**7**、**9**、**12** 和 **13**。结果表明，DSI 不同批次间质量稳定性良好，所建立的指纹图谱及多成分含量测定方法稳定、可靠，能为质量评价和标准建立提供科学依据。

关键词：丹参注射液；超高效液相色谱法；指纹图谱；含量测定；丹酚酸

中图分类号：R917；R284.1 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-8255（2026）01-0097-08

引用：汪 言, 任智勇, 石兆勇, 等. 基于UPLC指纹图谱及多成分含量测定的丹参注射液质量评价[J]. 中国医药工业杂志, 2026, **57**(1): 97-104. DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2026.01.010

Quality Evaluation of *Danshen* Injection Based on UPLC Fingerprint and Multi-component Determination

WANG Yan[1,2], REN Zhiyong[3], SHI Zhaoyong[3], WU Tong[1,2], OUYANG Danwei[1,2]*

(*1. China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203; 2. National Key Lab. of Lead Druggability Research, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd., Shanghai 201203; 2. Sinopharm Yibin Pharmaceutical Co., Ltd., Yibin 644100*)

ABSTRACT: An ultra-high performance liquid chromatography fingerprint and multi-component determination method were established for *Danshen* injection (DSI), and chemical pattern recognition was combined to evaluate the quality of different batches of DSI. The separation was performed on a Waters ACQUITY UPLC HSS T3 column (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm) with gradient elution using 0.5% phosphoric acid aqueous solution and acetonitrile as the mobile phases at a flow rate of 0.4 mL/min. The column temperature was 40 ℃ and the detection wavelength was 286 nm. The fingerprints of 13 batches of DSI were established, with inter-batch similarity values all greater than 0.98. A total of 25 common peaks were calibrated, and 14 of them were identified by reference substances, namely 5-hydroxymethylfurfural (**1**), salvianic acid A sodium (**2**), protocatechuic acid (**3**), protocatechualdehyde (**4**), caffeic acid (**5**), isoferulic acid (**6**), salvianolic acid F (**7**), salvianolic acid D (**8**), rosmarinic acid (**9**), salvianolic acid E (**10**), lithospermic acid (**11**), salvianolic acid B (**12**), salvianolic acid A (**13**) and salvianolic acid Y (**14**). The above 14 components were subjected to multi-component quantitative analysis, and principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) were applied to screen out the main differential components, which were **1**, **3**, **6**, **7**, **9**, **12** and **13**. The results showed that DSI from different batches exhibited good quality stability, and the established fingerprint and multi-component determination method were stable and reliable, which could provide a scientific basis for quality evaluation and standard establishment.

Key Words: *Danshen* injection; UPLC; fingerprint; content determination; salvianolic acid

丹参注射液（*Danshen* injection，DSI）是由丹参经提取、纯化制成的灭菌水溶液，临床上广泛用于治疗冠心病、心绞痛等[1]。DSI 活血化瘀、通脉养心的功效是多种化学成分共同作用的结果，其中丹酚酸类化合物是主要药效成分[2]。丹参素钠（salvianic acid A sodium，**2**）具有抗炎[3]和促进心肌微血管内皮细胞增殖的作用[4]；原儿茶醛（protocatechualdehyde，**4**）可减轻周细胞损伤、改善动脉粥样硬化[5]；迷迭香酸（rosmarinic acid，**9**）具有调节血管内皮细胞稳态的作用[6]；丹酚酸 B（salvianolic acid B，**12**）可减轻心肌缺血再灌注损伤[7]；丹酚酸 A（salvianolic acid A，**13**）可减轻心脏纤维化[8]；原儿茶酸（protocatechuic acid，**3**）和丹酚酸 D（salvianolic acid D，**8**）可预防心力衰竭等[9-10]。然而，现行的 DSI 质量标准（标准号为 WS3-B-3766-98-2011）仅对 **2**、**4**、**9**、**12** 的含量作出规定。现有文献[11-13]大多仅检测其中含量较高的几种常见丹酚酸类成分，质量控制能力有限。

上述标准和质量研究的指标都较为局限，难以全面反映 DSI 的整体质量。而中药指纹图谱结合多成分含量测定是一种能较全面反映中药制剂整体质量的有效手段，联合化学模式识别方法，可通过多变量分析处理中药制剂复杂的化学成分信息，从而反映其质量特征[14]。基于此，本研究建立了 DSI 指纹图谱和多成分含量测定方法，同时测定 DSI 中 5-羟甲基糠醛（5-hydroxymethylfurfural，**1**）、**2**、**3**、**4**、咖啡酸（caffeic acid，**5**）、异阿魏酸（isoferulic acid，**6**）、丹酚酸 F（salvianolic acid F，**7**）、**8**、**9**、丹酚酸 E（salvianolic acid E，**10**）、紫草酸（lithospermic acid，**11**）、**12**、**13** 和丹酚酸 Y（salvianolic acid Y，**14**）共 14 个化学成分的含量，并对含量测定结果进行化学模式识别分析以筛选差异性成分，以期为 DSI 的质量控制提供参考。

1　仪器与试药

Thermo Vanquish 型超高效液相色谱仪（美国 Thermo Fisher 公司）；MS105DU 型分析天平（瑞士 Mettler Toledo 公司）；H2500R 型低温高速离心机（湖南湘仪实验室仪器开发有限公司）。

1（纯度≥ 98.0%，批号 ST00720120）、**2**（纯度≥ 98.0%，批号 ST01440120）、**3**（纯度≥ 98.0%，批号 ST04100120）、**9**（纯度≥ 98.0%，批号 ST00500120）、**12**（纯度≥ 98.0%，批号 ST00050120）、**13**（纯度≥ 98.0%，批号 ST05570120）、**14**（纯度≥ 95.0%，批号 ST55350205）的对照品均购于上海诗丹德标准技术服务有限公司；**5**（纯度≥ 98.0%，批号 DSTDK001301）、**8**（纯度≥ 95%，批号 DST230928-230）的对照品均购于成都乐美天医药科技有限公司；**6**（纯度 99.58%，批号 21111103）、**11**（纯度 99.75%，批号 22031806）的对照品均购于成都格利普生物科技有限公司；**7**（纯度≥ 98.0%，批号 PS010137）、**10**（纯度 >95.0%，批号 PS013716）的对照品均购于成都普思生物科技股份有限公司；**4** 对照品（纯度 99.60%，批号 110810-201909）购于中国食品药品检定研究院；乙腈为色谱纯，水为超纯水，其他试剂均为分析纯。

DSI 共 13 批（批号分别为 250201、250202、250203、250204、250205、241109214、240401、240402、240403、24030111、24020121、24020221、230413111，依次编号为 S1 ～ S13）均由国药集团宜宾制药有限责任公司提供。

2　方法与结果

2.1　溶液的制备

空白溶液：于 10% 甲醇水溶液中加入适量乙酸，制成含 0.1% 乙酸的 10% 甲醇溶液，充分混匀即得。

对照品溶液：取 **1** ～ **14** 对照品适量，精密称定，加入空白溶液溶解并制成质量浓度分别为 0.719、9.129、0.519、7.993、0.629、0.220、0.261、1.207、9.888、2.047、7.486、9.516、5.253、1.359 mg/mL 的单一对照品贮备液。精密移取上述溶液适量，用空白溶液稀释得混合对照品贮备液，**1** ～ **14** 质量浓度依次为 14.39、1 278.02、10.39、319.72、12.58、8.80、10.43、120.65、197.76、122.84、149.72、380.63、315.17、27.17 μg/mL。精密移取上述混合对照品贮备液 1.0 mL 置 5 mL 量瓶中，用空白溶液定容，混匀，即得混合对照品溶液。其他不同质量浓度的混合对照品溶液均由混合对照品贮备液用空白溶液稀释得到。

供试品溶液：分别取不同批次样品 1.0 mL 置

收稿日期：2025-04-24

作者简介：汪　言，硕士，从事中药质量控制研究。

通信作者：欧阳丹薇，研究员，从事中药药效物质基础研究与中药质量控制研究。

于 5 mL 量瓶中，用空白溶液定容，混匀，离心（9 558×*g*）10 min，取上清液作为供试品溶液。

2.2 色谱条件

色谱柱 Waters ACQUITY UPLC HSS T3 柱（2.1 mm×100 mm，1.8 μm）；流动相 A 为 0.5%磷酸水溶液，B 为乙腈，梯度洗脱（0—10 min，B 5%—14%；10—29 min，B 14%—18%；29—37 min，B 18%—25%；37—42 min，B 25%—40%；42—45 min，B 40%—95%；45—50 min，B 95%；50.1—55 min，B 5%）；流速 0.4 mL/min；检测波长 286 nm；柱温 40 ℃；进样量 5 μL。

2.3 DSI 指纹图谱

2.3.1 指纹图谱方法学考察

2.3.1.1 精密度试验

取 DSI（批号 240401），按“**2.1**”项下方法制备供试品溶液，按“**2.2**”项下色谱条件连续进样 6 针，记录色谱图。其中峰 15（即 **9** 的特征峰）分离度较好，保留时间、峰面积适中，对照品易获取，因此以峰 15 为参照峰（S），计算得各共有峰相对保留时间 RSD 和相对峰面积 RSD 分别为 0.01%～0.16%和 0.06%～2.09%，RSD 均 <3%，表明仪器精密度良好。

2.3.1.2 稳定性试验

取 DSI（批号 240401），按“**2.1**”项下方法制备供试品溶液，分别在 0、2、4、8、12、24、48、72 h 时取样，按“**2.2**”项下色谱条件检测，记录色谱图。以峰 15 为参照峰（S），计算得各共有峰相对保留时间 RSD 和相对峰面积 RSD 分别为 0.02%～0.16%和 0.07%～2.23%，RSD 均 <3%，表明供试品溶液在 72 h 内稳定性良好。

2.3.1.3 重复性试验

取同一批 DSI（批号 240401），按“**2.1**”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，按“**2.2**”项下色谱条件进样检测，记录色谱图。以峰 15 为参照峰（S），计算得各共有峰相对保留时间 RSD 和相对峰面积 RSD 分别为 0.01%～0.14%和 0.07%～2.33%，RSD 均 <3%，表明该方法重复性良好。

2.3.2 指纹图谱的建立及相似度评价

取 13 批 DSI 样品，按“**2.1**”项下方法制备供试品溶液，按“**2.2**”项下色谱条件进样检测，记录色谱图。将数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012.130723 版）”，以 S1 号样品色谱图为参照，采用中位数法，时间窗为 0.1 min，经多点校正后生成叠加图谱及对照图谱 R（图 1），共指认 25 个共有峰。结果显示，S1 ～ S13 与对照图谱 R 的相似度结果分别为 0.993、0.995、0.999、0.992、0.995、0.998、0.996、0.999、0.993、0.998、0.989、0.997、0.982，均高于 0.98，表明 13 批 DSI 的质量一致性良好，整体稳定可控。以对照品为参照，确认了 14 个共有峰成分（图 2），占总峰面积的 85.12%～89.12%，结果如表 1 所示。

表 1 通过对照品指认的 14 个共有峰结果

Tab.1 The Results of 14 Common Peaks Identified by Reference Substances

峰号	化合物编号	保留时间 /min	相对保留时间
1	**1**	2.05	0.08
2	**2**	2.44	0.09
4	**3**	2.95	0.11
5	**4**	4.72	0.18
7	**5**	7.79	0.29
9	**6**	14.63	0.55
13	**7**	22.84	0.85
14	**8**	23.28	0.87
15	**9**	26.73	1.00
16	**10**	28.92	1.08
17	**11**	31.57	1.18
20	**12**	36.10	1.35
23	**13**	38.63	1.45
24	**14**	38.99	1.46

2.4 多成分含量测定及化学模式识别分析

2.4.1 含量测定方法学考察

2.4.1.1 系统适用性试验

按“**2.2**”项下色谱条件，取“**2.1**”项下混合对照品溶液连续进样 6 针，供试品溶液（批号 240401）连续进样 3 针。14 个目标化合物峰面积的 RSD 均小于 2%，峰形较好，各峰分离度高且无互相干扰，理论塔板数均在 9 000 以上。

2.4.1.2 线性试验及检测限、定量限考察

精密吸取“**2.1**”项下混合对照品贮备液，分别稀释 1、2.5、5、25、50 倍，按“**2.2**”项下色谱条

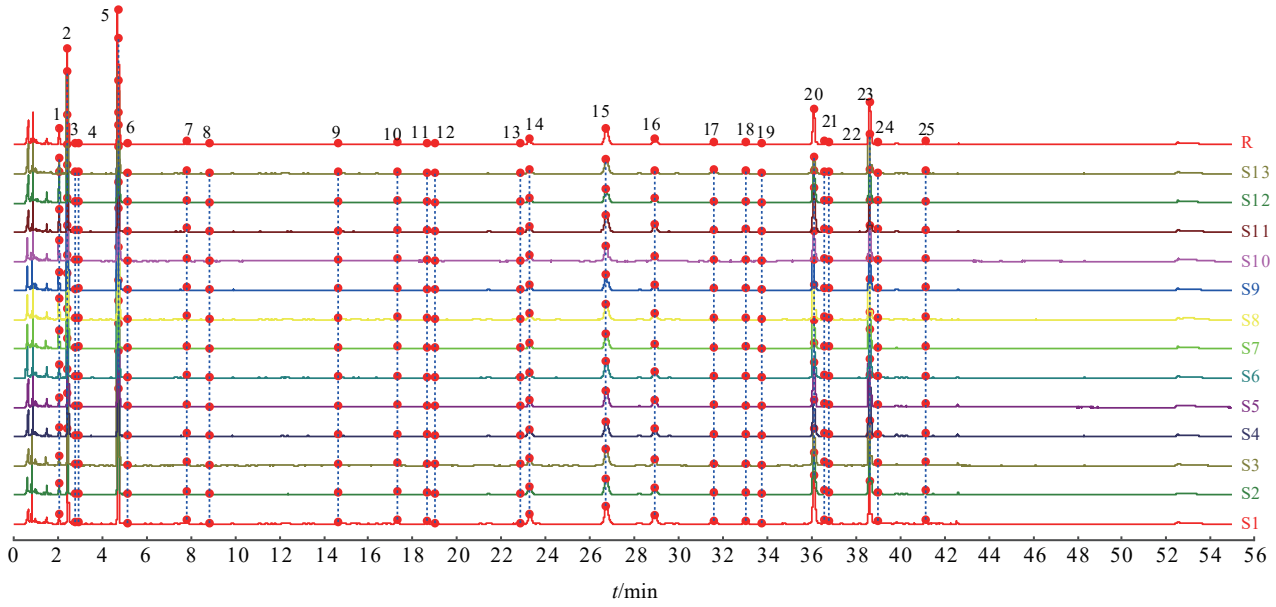
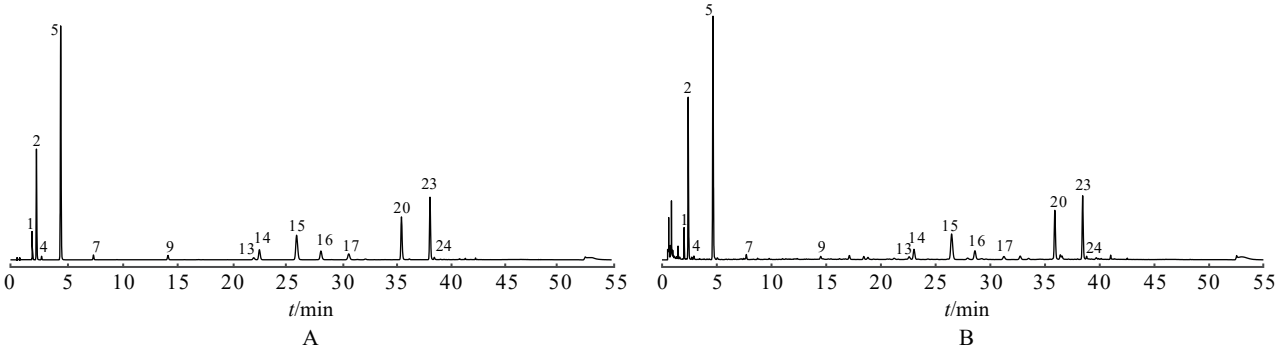


图 1　13 批 DSI（S1 ～ S13）指纹图谱及对照图谱（R）

Fig.1　UPLC Fingerprints of 13 Batches of DSI (S1 – S13) and the Reference Fingerprint (R)



1—**1**；2—**2**；4—**3**；5—**4**；7—**5**；9—**6**；13—**7**；14—**8**；15—**9**；16—**10**；17—**11**；20—**12**；23—**13**；24—**14**。

图 2　混合对照品溶液（A）与供试品溶液（B）的 UPLC 图谱

Fig.2　UPLC Chromatograms of the Standards Solution (A) and the Sample Solution (B)

件进样检测，以对照品质量浓度（*c*）为横坐标、峰面积（*A*）为纵坐标，绘制标准曲线。分别以信噪比 *S*/*N*=3 计算 LOD，*S*/*N*=10 计算 LOQ，结果如表 2 所示。

2.4.1.3　精密度试验

取“**2.1**”项下混合对照品溶液，按“**2.2**”项下色谱条件连续测定 6 次，记录色谱图，计算得 **1** ～ **14** 峰面积 RSD 分别为 0.07%、0.05%、0.55%、0.03%、0.17%、0.11%、0.44%、0.05%、0.02%、0.04%、0.13%、0.05%、0.19%、0.12%（*n*=6），RSD 均 <2%，表明仪器精密度良好。

2.4.1.4　稳定性试验

取“**2.1**”项下混合对照品溶液和供试品溶液（批号 240401），按“**2.2**”项下色谱条件分别于 0、2、4、8、12、24、48、72 h 时进样检测，记录色谱图，并计算 **1** ～ **14** 峰面积 RSD。混合对照品溶液中各化合物的峰面积 RSD 分别为 0.05%、0.06%、0.73%、0.07%、0.21 %、0.23 %、3.94 %、0.12 %、0.19 %、0.07 %、0.07%、0.08%、3.06%、0.22%（*n*=8），所得 RSD 均

表 2 14 种成分的线性试验、检测限、定量限结果

Tab.2 The Results of Linearity Tests, LODs and LOQs of 14 Constituents

成分	回归方程	*r*	线性范围 /(μg·mL^{-1})	检测限 /ng	定量限 /ng
1	*A*=1.631 9*c*+0.001 6	1.000 0	0.29 ～ 14.39	0.011	0.107
2	*A*=0.115 6*c*+0.544 7	0.999 9	25.56 ～ 1 278.20	0.212	0.511
3	*A*=0.365 7*c* − 0.007 7	1.000 0	0.21 ～ 10.39	0.061	0.649
4	*A*=0.797 1*c*+3.339 7	0.999 1	6.39 ～ 319.72	0.070	0.130
5	*A*=0.505 9*c* − 0.014 5	1.000 0	0.25 ～ 12.58	0.075	1.041
6	*A*=0.523 9*c* − 0.010 8	1.000 0	0.18 ～ 8.80	0.096	0.822
7	*A*=1.266 5*c*+0.003 1	1.000 0	0.21 ～ 10.43	0.048	0.480
8	*A*=0.243 9*c* − 0.021 8	1.000 0	2.41 ～ 120.65	0.456	0.862
9	*A*=0.438 7*c* − 0.153 3	1.000 0	3.96 ～ 197.76	0.145	0.695
10	*A*=0.346 3*c* − 0.063 5	1.000 0	2.46 ～ 123.00	0.464	0.911
11	*A*=0.274 2*c* − 0.058 8	1.000 0	2.99 ～ 149.72	0.668	0.954
12	*A*=0.275 8*c* − 0.204 4	1.000 0	7.61 ～ 380.63	0.237	1.993
13	*A*=0.595 4*c* − 0.546 2	1.000 0	6.30 ～ 315.00	0.078	0.229
14	*A*=0.236 1*c* − 0.033 5	0.999 8	0.54 ～ 27.17	0.137	1.895

小于 4%；供试品溶液中各化合物的峰面积 RSD 分别为 0.21%、0.07%、1.02%、0.09%、0.13%、0.77%、1.25%、0.27%、0.06%、0.22%、0.67%、0.02%、2.25%、1.11%（*n*=8），所得 RSD 均小于 3%。上述结果表明混合对照品溶液及供试品溶液在 72 h 内稳定性良好。

2.4.1.5 重复性试验

取同一批 DSI（批号 240401），按“**2.1**”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，按“**2.2**”项下色谱条件进样检测，记录色谱图，计算得 **1** ～ **14** 含量的 RSD 分别为 0.34%、0.43%、0.74%、0.38%、0.38%、0.47%、0.72%、0.44%、0.41%、0.42%、0.86%、0.38%、0.55%、0.64%（*n*=6），RSD 均 <2%，表明该法重复性良好。

2.4.1.6 加样回收率试验

取重复性试验同批次样品（批号 240401）6 份，每份精密移取 0.5 mL 于 5 mL 量瓶中，根据重复性结果分别加入适量混合对照品贮备液，用空白溶液定容，配制成相当于供试品中待测成分量 100%的溶液，按“**2.2**”项下色谱条件进样检测，计算得 **1** ～ **14** 的平均加样回收率分别为 96.45%、97.10%、96.54%、97.28%、95.30%、115.34%、89.34%、97.42%、97.10%、97.17%、98.19%、96.52%、94.00%、96.90%，RSD 分别为 0.52%、0.42%、1.15%、0.41%、0.44%、0.48%、2.38%、0.66%、0.71%、0.53%、0.82%、0.54%、1.99%、0.27%（*n*=6），RSD 均 <3%，表明该方法准确度良好。

2.4.2 样品含量测定

取 13 批 DSI（S1 ～ S13），按“**2.1**”项下方法制备供试品溶液，按“**2.2**”项下色谱条件进样测定，记录色谱图，并计算样品中 14 个成分的含量，结果如表 3 所示。含量测定结果表明，**2**、**4**、**9**、**12**、**13** 是 DSI 中含量较高的 5 种成分。

2.4.3 化学模式识别分析

2.4.3.1 主成分分析（principal component analysis，PCA）

PCA 为常用的多元统计分析方法，可通过降维提取数据的主要特征。为分析不同批次 DSI 间的质量稳定性，以 13 批 DSI 样品中 14 个指标成分的含量测定结果为变量，经标准化处理后导入 SIMCA 13.0 软件进行 PCA。共提取 4 个主成分，累计方差贡献率 R^2_X 为 0.925，预测能力参数 Q^2 为 0.532，均大于 0.5，表明模型拟合度、预测度能力良好。得分图如图 3 所示。13 批样品被分为 2 类：第一类 S1 ～ S6、第二类 S7 ～ S13，表明不同批次的样品之间存在一定差异。在载荷图（图 4）中，各成分距离原点较远，表明这些成分对样品的分类均具有较大贡献。

2.4.3.2 正交偏最小二乘法判别分析（orthogonal partial least squares-discriminant analysis，OPLS-DA）

为进一步分析导致不同批次 DSI 样品质量波动的原因，在利用 SIMCA 13.0 软件，在 PCA 的基础

表 3　DSI 中各成分含量测定结果 /(μg·mL^{-1})

Tab.3　Assay Results of Components in *Danshen* Injection/(μg·mL^{-1})

批次	化合物编号														合计
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	
S1	7.0	1 234.1	7.9	296.8	9.8	5.0	5.0	141.8	219.0	133.2	63.9	599.2	226.6	26.9	2 976.3
S2	7.6	1 303.3	7.3	313.2	7.3	6.2	6.4	124.2	202.1	102.7	53.3	532.9	309.7	23.2	2 999.4
S3	6.7	1 228.1	7.1	309.9	8.4	5.7	6.9	106.1	200.0	93.0	47.2	461.9	236.5	21.2	2 738.9
S4	6.4	1 310.7	6.0	302.0	6.7	5.9	5.9	103.8	187.2	105.4	43.5	453.4	331.1	19.7	2 887.5
S5	6.9	1 327.0	7.4	281.3	6.9	5.0	7.1	105.4	193.9	99.4	53.2	557.0	259.1	24.8	2 934.3
S6	9.5	1 410.0	7.7	291.2	7.3	5.0	4.8	74.8	203.0	87.1	48.0	428.3	259.8	17.8	2 854.3
S7	12.9	1 161.4	11.2	304.7	6.5	8.1	5.3	88.6	173.1	70.5	34.2	323.4	173.3	14.8	2 387.8
S8	14.9	1 180.5	11.9	300.2	8.4	8.6	4.1	92.0	187.8	95.9	41.4	413.0	192.2	18.5	2 569.4
S9	12.6	1 159.1	11.3	315.2	8.0	8.2	5.0	87.4	183.9	82.8	36.5	345.5	149.5	15.8	2 420.8
S10	14.7	1 214.7	9.5	297.3	7.4	8.1	3.2	90.9	181.7	76.1	34.8	353.9	172.1	16.3	2 480.7
S11	16.1	1 089.6	12.1	258.3	9.3	7.3	3.0	83.8	195.6	106.1	52.0	526.8	153.0	25.5	2 538.5
S12	22.2	1 102.1	10.9	267.3	6.2	8.5	3.4	70.9	173.3	76.2	35.7	380.1	156.8	17.8	2 331.1
S13	11.1	1 364.3	8.8	299.6	6.7	6.6	4.6	62.4	185.5	47.4	76.3	197.5	209.7	7.3	2 487.7
均值	11.4	1 237.3	9.2	295.2	7.6	6.8	5.0	94.8	191.2	90.4	47.7	428.7	217.7	19.2	2 662.1

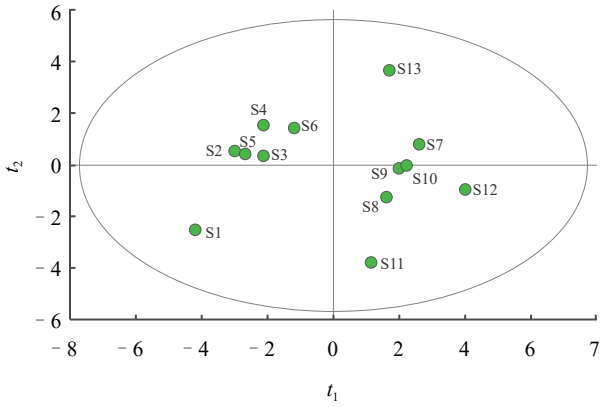


图 3　13 批 DSI 样品的 PCA 得分图

Fig.3　Score Plot for PCA of 13 Batches of DSI

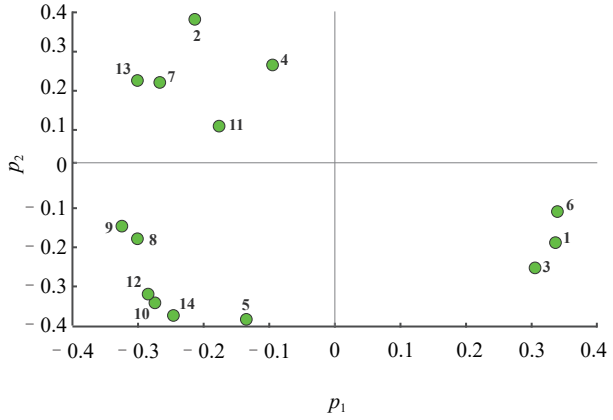


图 4　13 批 DSI 样品的 PCA 载荷图

Fig.4　Loading Plot for PCA of 13 Batches of DSI

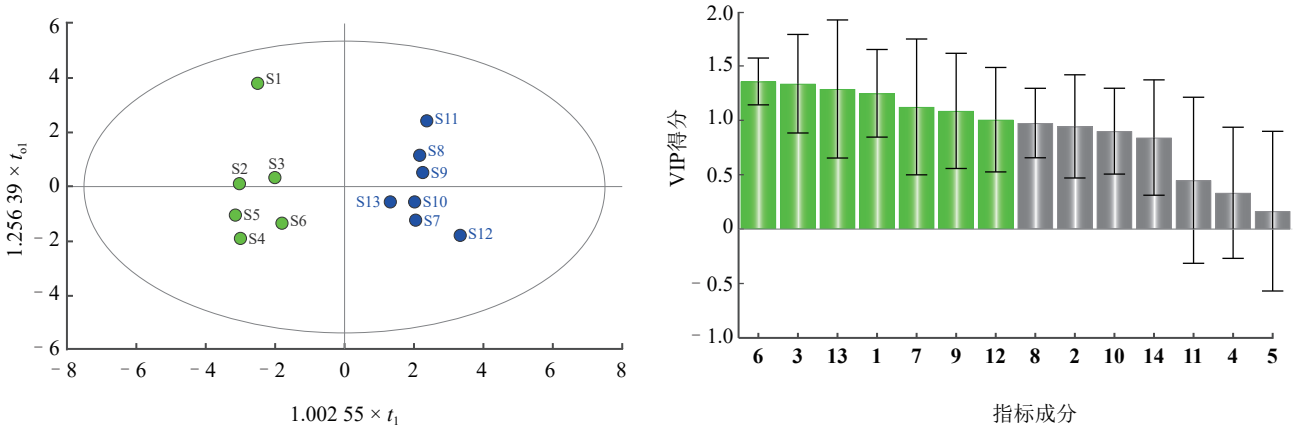
上进一步开展了 OPLS-DA。建立的模型累积解释率 R_X^2 和 R_Y^2 分别为 0.665、0.952，累积预测能力 Q^2 为 0.876，均大于 0.5，表明模型预测能力良好。OPLS-DA 得分图如图 5A 所示，结果与 PCA 一致。其中，S1 ～ S6 为 2024 年底至 2025 年初生产、S7 ～ S13 为 2023 年底至 2024 年初生产。由此推测，不同批次样品中成分的含量波动可能与药材批次差异或各成分之间的相互转化有关。变量重要性投影（variable importance in projection，VIP）能评估各成分在区分样品时的贡献度，得分图如图 5B 所示，可见成分 **1**、**3**、**6**、**7**、**9**、**12** 和 **13** 的 VIP 值均大于 1，表明这 7 个成分可能是主要差异性成分。因此，在质量监控过程中，可重点关注这 7 个成分的含量变化，以确保制剂质量的稳定性和一致性。

3　讨论

3.1　色谱条件优化及供试品溶液制备

本研究考察了不同检测波长（286、254、326、210 nm）、流速（0.35、0.40、0.45 mL/min）、磷酸水溶液体积分数（0.1%、0.2%、0.5%）及柱温（35、40、45 ℃）对色谱峰的影响。结果表明，当检测波长为 286 nm、流动相 A 为 0.5%磷酸水溶液、流速为 0.4 mL/min、柱温为 40 ℃时，相邻色谱峰分离度较高，所得色谱图较为理想。

研究表明，部分丹酚酸类成分在水溶液中稳定



A B

图 5 13 批 DSI 的 OPLS-DA 得分图（A）和 14 个指标成分的 VIP 得分图（B）

Fig.5 Score Plot for OPLS-DA (A) and VIP Scores of 14 Indicator Components (B) of 13 Batches of DSI

性较差，易发生降解及相互转化，例如成分 **10** ～ **13** 等[15]。为提高样品的稳定性，通常会在溶液中加入一定量弱酸。本研究考察了含不同体积分数酸的 10% 甲醇溶液作稀释溶剂时各目标峰的稳定性，最终确定使用含 0.1% 乙酸的 10% 甲醇溶液作为稀释剂，此时样品中的各色谱峰在 72 h 内均表现出良好的稳定性。

在试验过程中，还发现过滤时滤膜可能会吸附部分丹酚酸类成分（如 **7** ～ **14**），导致这些成分的质量浓度与峰面积不成比例。改用离心（9 558×*g*）10 min 后取上清液直接进样的方法，重复性及线性关系良好。基于以上结果，本研究中的供试品溶液制备采用离心处理更为适宜。

DSI 中不少丹酚酸类化合物的化学结构及性质相似，分离难度较大。如：化合物 **2** 与 **3**、**7** 与 **8**、**13** 与 **14**，它们出峰位置相近，尚未见有文献对 DSI 中上述 3 对化合物同时定量检测。化合物 **10** 在 DSI 中含量较大，本研究中观察到其出峰位置（峰 16）前后各有 1 个小峰，经质谱分析，判断这 2 个物质为化合物 **10** 的同分异构体，易对 **10** 的分离造成干扰。本研究建立的分析方法与现有 DSI 的检测技术相比，可在较短分析周期内同时完成 14 种化学成分的定量测定，稳定性好、准确率高，为 DSI 的全面质量控制提供了有效手段，也为中药制剂复杂体系中的多组分分析提供了技术支撑。

3.2 指纹图谱与含量测定结果分析

本研究针对 DSI 建立了 UPLC 指纹图谱，标定出 25 个共有峰，并指认出其中 14 个共有峰。13 批 DSI 样品的指纹图谱与对照图谱的相似度均高于 0.98，表明 DSI 在不同批次间具有良好的均一性。所建立的指纹图谱评价方法能从整体化学成分组成的角度，全面且系统地评价 DSI 的质量。

指认出的 14 个共有峰峰面积之和在样品总峰面积中占比超过 85%，表明这些成分是 DSI 的主要化学组成。其中，成分 **1** 为含糖注射剂中的安全性相关物质[16]。成分 **2** ～ **14** 均为丹酚酸类成分，是 DSI 的主要药效成分，具有多种药理作用。因此，本研究选择成分 **1** ～ **14** 作为 DSI 质量评价的指标成分，并针对这些成分建立了专属性强、稳定、可靠的多成分定量分析方法。结合化学模式识别分析含量测定结果，可见 DSI 不同批次间的整体差异较小，但各成分的具体含量存在一定波动。这可能与药材批次差异以及成分间的相互转化有关。PCA 载荷图显示，在不同批次样品区分中，成分 **1** ～ **14** 均有较大贡献。OPLS-DA 的 VIP 得分图显示，成分 **1**、**3**、**6**、**7**、**9**、**12** 和 **13** 的 VIP 值大于 1，表明这些成分可能是关键差异性成分，需在质量控制过程中予以重点关注。

本研究建立的UPLC指纹图谱结合多成分定量分析方法，具有良好的精密度、重复性和稳定性，准确度高，获得的化学成分信息丰富，能全面、系统地反映DSI的质量。该方法可用于DSI的质量评价，为工业生产中的制剂质量控制提供科学依据。

参考文献：

[1] 乔思蓉, 陈雨萌, 李康杰, 等. 丹参注射液的药理作用和临床应用研究进展[J]. 现代药物与临床, 2024, **39**(11): 2977-2982.

[2] 张慧杰, 任晓亮, 孙立丽, 等. 丹参注射液研究进展[J]. 中南药学, 2016, **14**(11): 1168-1173.

[3] ZHANG X, ZHANG Y, ZENG M, *et al*. Sodium *Danshensu* inhibits macrophage inflammation in atherosclerosis via the miR-200a-3p/MEKK3/NF-κB signaling pathway [J]. *Mol Neurobiol*, 2025, **62**(5): 5432-5441.

[4] LIU J C, WU F, LI Z H, *et al*. Salvianic acid A sodium facilitates cardiac microvascular endothelial cell proliferation by enhancing the hypoxia-inducible factor-1 alpha/vascular endothelial growth factor signalling pathway post-myocardial infarction [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2024, **51**(6): e13855.

[5] ZHANG L, LI Y, YANG W Q, *et al*. Protocatechuic aldehyde increases pericyte coverage and mitigates pericyte damage to enhance the atherosclerotic plaque stability [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, **168**: 115742.

[6] 蔡　珂, 黄圣如, 高芳芳, 等. 迷迭香酸在心血管疾病防治中的作用机制研究进展[J]. 药学学报, 2025, **60**(1): 12-21.

[7] WEI X H, CHEN J, WU X F, *et al*. Salvianolic acid B alleviated myocardial ischemia-reperfusion injury via modulating SIRT3-mediated crosstalk between mitochondrial ROS and NLRP3 [J]. *Phytomedicine*, 2025, **136**: 156260.

[8] YE H Q, WANG K Y, MA J X, *et al*. Salvianolic acid a attenuates angiotensin Ⅱ-induced cardiac fibrosis through regulating the Txnip signaling pathway [J]. *Shock*, 2024, **61**(5): 748-757.

[9] BAI L Y, HAN X Y, KEE H J, *et al*. Protocatechuic acid prevents isoproterenol-induced heart failure in mice by downregulating kynurenine-3-monooxygenase [J]. *J Cell Mol Med*, 2023, **27**(16): 2290-2307.

[10] CHEN K, GUAN Y Q, WU S Y, *et al*. Salvianolic acid D: a potent molecule that protects against heart failure induced by hypertension via Ras signalling pathway and PI3K/Akt signalling pathway [J]. *Heliyon*, 2023, **9**(2): e12337.

[11] 陈　影, 吴　婷, 姜　超, 等. 一测多评法同时测定4种中药注射液中9种丹参酚酸[J]. 中成药, 2021, **43**(3): 590-595.

[12] 张　蓓, 李默影, 吴　彤, 等. 市售丹参注射液的质量比较研究[J]. 中国医药工业杂志, 2021, **52**(11): 1495-1500.

[13] 张　寒, 李振皓, 范骁辉. 一标多测UPLC定量指纹图谱在丹参注射液质量评价中的应用研究[J]. 中国中药杂志, 2019, **44**(17): 3724-3731.

[14] 沈丹萍, 姜　鹏, 詹常森. 基于UPLC指纹图谱和多成分测定的天王补心丸质量控制研究[J]. 中国中药杂志, 2024, **49**(5): 1240-1248.

[15] 李思谦, 章顺楠, 周立红, 等. 丹参中酚酸类成分及在水溶液中降解转化研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, **22**(4): 109-117.

[16] 陈丽冰, 何　容, 李　辉, 等. 恤形注射液中间体丹参提取液的指纹图谱分析及多指标含量测定[J]. 中国现代应用药学, 2020, **37**(9): 1085-1089.