

## 月安煎不同配伍对丹酚酸 B 提取率的影响

李雪梅<sup>1</sup>, 尤献民<sup>2</sup>, 梁茂新<sup>1\*</sup>

1. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110032

2. 辽宁省中医药研究院, 辽宁 沈阳 110034

**摘要:** 目的 采用 HPLC 法测定月安煎不同配伍组方中丹酚酸 B 的量, 比较月安煎不同配伍对丹参中丹酚酸 B 提取率的影响。方法 色谱柱为 Synergi Polar-RP 80A (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-乙腈-甲酸-水 (30:10:59:1), 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 286 nm, 柱温 30 ℃。利用均匀设计法设计月安煎中丹参的不同配伍组合, 利用建立的 HPLC 法测定各组合中丹酚酸 B 的提取率, 利用逐步回归法分析各配伍方药对丹酚酸 B 提取率的影响。结果 丹酚酸 B 在 0.72~5.76 μg 呈良好线性关系 ( $r=0.9998$ ), 平均回收率为 95.66%, RSD 为 1.1%。丹参中丹酚酸 B 的提取率与香附、石菖蒲、丹参药量呈正比, 与白术药量呈反比, 而与菟丝子无关。结论 复方月安煎中丹参与不同方药配伍对丹酚酸 B 的提取率具有一定影响, 最佳配比值得深入研究。

**关键词:** 月安煎; 丹参; 香附; 丹酚酸 B; 配伍

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)05-0926-03

## Effects of Yueanjian by different compatibility on extraction rate of salvianolic acid B

LI Xue-mei<sup>1</sup>, YOU Xian-min<sup>2</sup>, LIANG Mao-xin<sup>1</sup>

1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China

2. Liaoning Institute of Chinese Medicine & Pharmaceutical Science, Shenyang 110034, China

**Key words:** Yueanjian; *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*; *Cyperi Rhizoma*; salvianolic acid B; compatibility

月安煎系利用本课题组前期建立的“《普济方》数据库管理系统”<sup>[1]</sup>并结合临床经验, 筛选出来拟用于治疗经前期综合征肝郁脾虚证的中药复方制剂, 由香附、丹参、白术、菟丝子、石菖蒲 5 味中药组成。方中丹参为主药, 可治疗月经不调、痛经、经闭等疾病。为了研究不同配伍对丹参提取率的影响, 本研究选择丹参中代表性水溶性成分丹酚酸 B 作为定量测定的指标<sup>[2-4]</sup>, 利用均匀设计法设计丹参的不同配伍组, 对影响丹参提取的因素进行考察。

### 1 仪器与材料

Agilent 1100 系列高效液相色谱仪、DAD 检测器 (美国 Agilent 科技有限公司); XS105 电子天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司); 恒温水浴锅 (型号 HHS21926, 上海锦屏仪器有限公司)。

丹酚酸 B 对照品 (批号 111562-200908, 中国药品生物制品检定所); 月安煎制备样品 (K)、月

安煎不同配伍 (A~J) 提取液及缺丹参空白样品 (辽宁省中医药研究院药学实验室自制); 乙腈、甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 水为娃哈哈纯净水。

### 2 方法与结果

#### 2.1 丹参不同配伍供试品的制备

本研究参考均匀设计法, 选取表  $U_{11}(11^5)$  为试验用表<sup>[5]</sup>, 设计 11 个丹参不同配伍组。各组药物剂量见表 1。11 组药材均加 8 倍量水浸泡 30 min, 煎煮 2 次, 每次 1 h, 合并 3 次药液, 浓缩至适当质量浓度, 减压干燥后即得。

#### 2.2 丹酚酸 B 定量测定方法的建立

**2.2.1 色谱条件**<sup>[6]</sup> 色谱柱为 Synergi Polar-RP 80A (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-乙腈-甲酸-水 (30:10:59:1), 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 286 nm, 柱温 30 ℃, 进样量 5 μL, 理论塔板数按丹酚酸 B 峰计大于 3 000。

收稿日期: 2011-12-22

作者简介: 李雪梅 (1974—), 女, 博士研究生, 研究方向为中药小复方优化研究。Tel: (024)31207370 E-mail: lixm@cde.org.cn

\*通讯作者 梁茂新 Tel: (024)31207370 E-mail: lmxin@126.com

表 1 各配伍组药物组成及剂量

Table 1 Components and dosages in each group

组别	药物剂量 / g				
	香附	白术	菟丝子	丹参	石菖蒲
月安煎 A	0.00	8.70	17.39	34.78	39.13
月安煎 B	6.33	15.19	25.32	45.57	7.59
月安煎 C	9.90	19.80	31.68	11.88	26.73
月安煎 D	16.67	31.11	0.00	35.56	16.67
月安煎 E	25.32	45.57	15.19	10.13	3.80
月安煎 F	24.75	0.00	23.76	27.72	23.76
月安煎 G	33.33	8.89	40.00	4.44	13.33
月安煎 H	44.30	20.25	5.06	30.38	0.00
月安煎 I	39.60	23.76	15.84	0.00	20.79
月安煎 J	33.58	23.88	20.90	14.93	6.72
月安煎 K	25.00	20.00	20.00	20.00	15.00

2.2.2 对照品储备液的制备 精密称取丹酚酸 B 对照品适量, 加水制成 0.72 mg/mL 对照品储备液。

2.2.3 供试品溶液的制备 丹参不同配伍供试品研细后取 2 g, 精密称定, 置 50 mL 圆底烧瓶中, 精密加入 75% 甲醇 25 mL, 称定质量, 加热回流 1 h, 放冷, 再称定质量, 用 75% 甲醇补足减失质量, 摇匀, 过 0.45 μm 滤膜, 即得。

2.2.4 空白对照溶液的制备 按处方中药味的比例及工艺, 制成不含丹参的阴性样品, 按供试品溶液制备方法制成空白对照溶液, 测定, 阴性样品在与对照品色谱峰相应的位置上无干扰, 表明供试品溶液中的其他成分对测定结果无影响。色谱图见图 1。

2.2.5 线性关系考察 分别精密吸取丹酚酸 B 对照品储备液 1、2、4、6、8 mL 置 10 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 分别进样 10 μL, 记录色谱图, 以进样

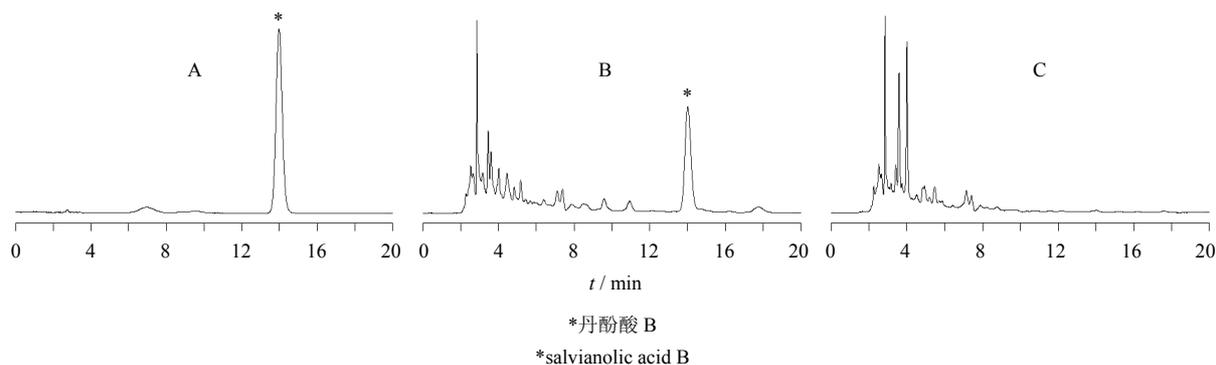


图 1 丹酚酸 B 对照品 (A)、供试品 (B) 和空白对照 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of salviaolic acid B reference substance (A), sample (B), and blank control (C)

量为横坐标, 峰面积为纵坐标进行线性回归, 得回归方程为  $Y=748.31 X-64.623$ ,  $r=0.999 8$ , 可见丹酚酸 B 在 0.72~5.76 μg 线性关系良好。

2.2.6 精密度试验 取月安煎样品 (批号 111101), 按“2.2.3”项下制备供试品溶液, 精密吸取供试品溶液 5 μL, 重复进样 6 次, 丹酚酸 B 峰面积的 RSD 为 1.43%。

2.2.7 稳定性试验 取“2.2.6”项下的供试品溶液, 分别于 0、2、4、8、12 h 进样, 测定峰面积, 测得丹酚酸 B 峰面积的 RSD 为 1.97%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.2.8 重复性试验 取月安煎样品 (批号 111101) 6 份, 按“2.2.3”项下制备供试品溶液, 分别精密吸取对照品溶液及供试品溶液各 5 μL 进样, 测定峰面积, 计算供试品中丹酚酸 B 质量分数的 RSD 为 1.91%。

2.2.9 加样回收率试验 取已测定的月安煎样品 (批号 111101, 丹酚酸 B 为 5.70 mg/g) 1 g, 精密称定, 平行 6 份, 分别精密加入丹酚酸 B 对照品溶液适量, 按“2.2.3”项下制备供试品溶液, 分别精密吸取对照品溶液及供试品溶液各 5 μL 进样, 测定峰面积, 计算回收率, 结果平均回收率为 96.36%, RSD 为 1.13%。

### 2.3 不同样品中丹酚酸 B 的提取率

由于月安煎 J 组内不含有丹参药材, 所以本研究对该配伍组样品没有测定, 其他 10 组样品中丹酚酸 B 的提取率见表 2。

$$\text{提取率} = \text{丹酚酸 B 质量} / \text{丹参药材质量}$$

### 2.4 统计分析

本研究使用 SPSS 13.0 软件, 利用逐步线性回归方法分析不同方药配伍对丹参中丹酚酸 B 提取率的影响, 以各药材质量 (X) 为横坐标, 以提取率

表 2 各配伍组样品中丹酚酸 B 的提取率  
Table 2 Extraction rate of salvianolic acid B  
in different groups

组别	提取率 / %	组别	提取率 / %
月安煎 A	5.97	月安煎 F	6.23
月安煎 B	6.61	月安煎 G	0.55
月安煎 C	1.46	月安煎 H	5.71
月安煎 D	6.64	月安煎 J	2.28
月安煎 E	2.07	月安煎 K	2.68

(Y) 为纵坐标, 得到回归方程:  $Y=0.085 X_1-0.206 X_2+0.01 X_3+0.068 X_4$  ( $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_4$  分别为组方中香附、白术、丹参、石菖蒲质量), 提取率与菟丝子无关。统计结果表明丹参中丹酚酸 B 的提取率与香附、石菖蒲、丹参药量呈正比, 与白术药量呈反比。

### 3 讨论

《中国药典》2010 年版一部丹参药材项下定量测定了丹酚酸 B 和丹参酮 II<sub>A</sub><sup>[7]</sup>, 对于制备工艺中采用了水提取的本复方制剂, 测定水溶性的丹酚酸类化合物比测定脂溶性的丹参酮类化合物更为合理。本实验参考《中国药典》2010 年版丹参中丹酚酸 B 定量测定方法测定月安煎中丹酚酸 B 的量, 取得良好效果, 能有效控制月安煎中丹酚酸 B 的量。

由于丹酚酸 B 是由三分子丹参素和一分子咖啡酸通过酯键缩合而成的二元有机弱酸, 酯键的存在决定了其在水溶液中不稳定, 羧基的存在决定了其

分子状态会随溶液的 pH 值变化而变化, 因而, 丹酚酸 B 在其水溶液中很不稳定, 易降解和被氧化<sup>[8]</sup>。因此丹酚酸 B 对照品溶液应临用前现配, 避光保存。

本研究结果说明不同配伍对月安煎中丹酚酸 B 的提取率有一定影响, 为月安煎复方合理性的深入研究提供了参考。本课题的目的是利用药效学指标筛选中药小复方月安煎药物最佳配伍的组成及剂量, 相关研究正在进行。

### 参考文献

- [1] 宫俊, 董俊龙, 梁茂新, 等. 基于关联规则的广义药对最适合病证的挖掘方法 [J]. 东北大学学报: 自然科学版, 2011, 32(8): 1097-1100.
- [2] 许廷生, 梁秀兰. 丹参的临床应用综述 [J]. 中国社区医师: 医学专业, 2004, 6(9): 8-9.
- [3] 倪春艳, 郑仕中, 陆茵, 等. 以瘦素为靶点中药单体成分防治肝纤维化研究策略及进展 [J]. 中草药, 2011, 42(9): 1837-1841.
- [4] 戈升荣, 俞一心, 谢更新. 丹酚酸的药理作用研究进展 [J]. 中药材, 2002, 25(9): 683-687.
- [5] 梁茂新, 李东安. 均匀设计在中药小复方精选中的改良应用 [J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2006, 8(2): 53-56.
- [6] 贾桂艳, 马莉, 韩锋, 等. HPLC 法测定脑通颗粒中丹酚酸 B [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(2): 142-144.
- [7] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [8] 朱金墙, 闫晨, 康立源. 丹酚酸 B 的稳定性及其降解机理研究进展 [J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17(12): 113-115.