

长,不适合大量样品的检测。本研究采用高效毛细管电泳法(HPCE)测定透皮吸收接收液中两种生物碱的含量,具有分离效果好,可不经富集直接检测,操作简便快速的优点。

#### References:

- [1] Wang C X, Liu Y L. New development of transdermal drug delivery system [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2002, 37 (12):999.
- [2] Gao P, An N F, Zhao M H, et al. Application of uniform-design method used to select best proportion of ingredients in Danxintong [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34 (2): 123.
- [3] Xu Y A, Ge Y R, Wang Y J, et al. Determination of *in vitro* percutaneous rate and *in vitro* of release of compound patch of hyperosteoegeny [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2001, 23(4): 237-240.
- [4] Zhou J P, Zhong M, Huang J H. Study on transdermal therapeutic system for Nimodipine [J]. *J China J Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2000, 31(5): 348-351.
- [5] Li S X, Wang S Q. Determination of alkaloids in *Radix Sophorae Flavescentis* by high performance capillary electrophoresis [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1999, 24(2): 100-102.

## 丹参酚酸 B 在水溶液中的稳定性研究

岳喜典<sup>1,2</sup>, 曲桂武<sup>2</sup>, 李桂生<sup>2,3</sup>, 臧玉红<sup>4</sup>, 池振明<sup>1</sup>

(1. 中国海洋大学, 山东 青岛 266003; 2. 山东省天然药物工程技术研究中心, 山东 烟台 264005;  
3. 烟台大学药学院, 山东 烟台 264003; 4. 河北承德石油高等专科学校 化工系, 河北 承德 067000)

**摘要:**目的 考察不同因素对水溶液中丹参酚酸 B 稳定性的影响,为丹参酚酸 B 的生产应用提供实验依据。方法 通过正交试验设计,采用 HPLC 法检测溶液中丹参酚酸 B 的含量变化考察丹参酚酸 B 溶液的质量浓度、pH 值、温度和保温时间对丹参酚酸 B 稳定性的影响。结果 丹参酚酸 B 在溶液质量浓度为 1 mg/mL、pH=2、温度为 20 ℃ 和保存时间为 1 d 时最稳定。结论 为保持溶液中丹参酚酸 B 稳定性,应尽可能做到低溶液 pH 值、高丹参酚酸 B 质量浓度、低温,并且要尽量缩短溶液状态的存放时间。

**关键词:**丹参酚酸 B; 稳定性; 正交试验; 高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2005)02-0205-03

### Stability of salvianolic acid B in water solution

YUE Xi-dian<sup>1,2</sup>, QU Gui-wu<sup>2</sup>, LI Gui-sheng<sup>2,3</sup>, ZANG Yu-hong<sup>4</sup>, CHI Zhen-ming<sup>1</sup>

(1. Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Shandong Engineering Research Center for Natural Drugs, Yantai 264005, China; 3. School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264003, China; 4. Department of Chemical Engineering, Chengde Petroleum Professional College, Chengde 067000, China)

**Abstract: Objective** To study the effects of different factors on the salvianolic acid B stability in water solution and to provide the experimental data for production and application of salvianolic acid B.

**Methods** Effects of salvianolic acid B concentration, pH value, temperature, and holding period on salvianolic acid B stability in water solution were studied by the salvianolic acid B changes determined by HPLC in orthogonal design test. **Results** The most stable condition of salvianolic acid B is that the concentration is 1 mg/mL, pH value is 2, the temperature is 20 ℃, and the holding period is one day.

**Conclusion** Salvianolic acid B should be kept in the conditions of higher concentration, lower pH value, lower temperature, and shorter period in solution to ensure its stability.

**Key words:** salvianolic acid B; stability; orthogonal design; HPLC

丹参酚酸 B 是传统中药丹参中的主要酚酸类成分,具有显著的抗脂质过氧化、清除自由基和抗血栓作用<sup>[1]</sup>。在心脑血管疾病的治疗中有良好的前景,目前国内有多个以丹参酚酸 B 为主要成分的藥物

正处于临床前研究阶段,配合这些药物的工业化生产,对其稳定性的考察研究也进一步展开。

本实验通过对传统的丹参提取工艺进行改进,获得了纯度在 90% 以上的丹参酚酸 B 制品,并对水

收稿日期:2004-04-14

作者简介:岳喜典(1977—),男,山东临沂人,2001 年获烟台大学理学学士学位,现为中国海洋大学海洋生物专业在读硕士研究生。

Tel: (0535) 6717618-8665 E-mail: xidian@luye-pharm.com

溶液中丹参酚酸 B 的影响因素进行了考察,为丹参酚酸 B 大规模生产过程中的中间体质量控制提供技术参考。

1 仪器与材料

高效液相色谱仪(Agilent 1100 泵及检测器, Rheodye 进样器,数据处理软件为 ChemStation);恒温水浴锅(上海跃进医药设备厂);pH 计(上海伟业仪器厂);纯度为 99.2% 的丹参酚酸 B 对照品购自昆明同持医药研究有限公司;纯度在 90% 以上的丹参酚酸 B 样品由山东省天然药物工程技术研究中心制备;实验中所用水均为去离子水,甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 因素水平的确立:在制备过程中可能对丹参酚酸 B 的稳定性造成影响的因素主要有丹参酚酸 B 在溶液中的质量浓度(A)、提取液 pH 值(B)、提取温度(C)和溶液存放时间(D)。因此在本实验以丹参酚酸 B 的绝对含量为检测指标,进行  $L_9(3^4)$  正交试验,考察因素及具体水平见表 1。

表 1 因素及水平

Table 1 Factors and levels

| 水平 | 因 素                      |    |     |     |
|----|--------------------------|----|-----|-----|
|    | A/(mg·mL <sup>-1</sup> ) | B  | C/℃ | D/d |
| 1  | 0.1                      | 2  | 20  | 1   |
| 2  | 0.5                      | 6  | 50  | 2   |
| 3  | 1.0                      | 10 | 80  | 3   |

2.2 色谱条件:色谱柱为 Discovery C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水-冰醋酸(40:60:2),体积流量为 1 mL/min,检测波长为 281 nm,柱温为 25℃,进样量为 20 μL<sup>[2]</sup>。丹参酚酸 B 对照品和样品的色谱图见图 1。

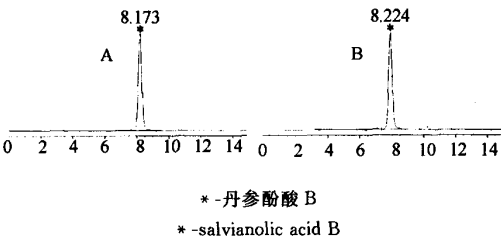


图 1 丹参酚酸 B 的对照品(A)和样品(B)的 HPLC 图  
Fig. 1 HPLC chromatograms of salvianolic acid B reference substance (A) and sample (B)

2.3 线性关系考察:精密称取丹参酚酸 B 对照品 30 mg,加流动相制成含丹参酚酸 B 3.0 mg/mL 的对照品溶液。精密量取对照品溶液,加流动相制成质量浓度分别为 0.1、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mg/mL 的系列对照品溶液。取 20 μL 注入高效液相色谱

仪。以峰面积对质量浓度进行直线回归,求得回归方程。结果丹参酚酸 B 线性范围为 0.1~3.0 mg/mL,回归方程: $Y=23\,812\,X+789.06$ , $r=0.999\,8$ 。

2.4 正交设计及结果:取丹参酚酸 B 样品,按表 1 中所设置内容配制成不同质量浓度、不同 pH 值的水溶液,在不同温度下保存不同时间。保温结束后采用 HPLC 法检测溶液中丹参酚酸 B 的含量变化,结果见表 2。方差分析见表 3。

表 2  $L_9(3^4)$  正交设计结果

Table 2 Results of  $L_9(3^4)$  orthogonal design

| 试验号   | A       | B       | C       | D       | 丹参酚酸 B 变化/% |
|-------|---------|---------|---------|---------|-------------|
| 1     | 1       | 1       | 1       | 1       | -0.49       |
| 2     | 1       | 2       | 2       | 2       | -62.22      |
| 3     | 1       | 3       | 3       | 3       | -95.00      |
| 4     | 2       | 1       | 2       | 3       | -0.12       |
| 5     | 2       | 2       | 3       | 1       | -39.53      |
| 6     | 2       | 3       | 1       | 2       | -70.64      |
| 7     | 3       | 1       | 3       | 2       | -13.49      |
| 8     | 3       | 2       | 1       | 3       | -9.45       |
| 9     | 3       | 3       | 2       | 1       | -66.76      |
| $k_1$ | -52.570 | -4.700  | -26.860 | -35.593 |             |
| $k_2$ | -36.763 | -37.067 | -43.033 | -48.783 |             |
| $k_3$ | -29.900 | -77.467 | -49.340 | -34.857 |             |
| R     | 22.670  | 72.767  | 22.480  | 13.927  |             |

表 3 方差分析结果

Table 3 Results of variance analysis

| 方差来源  | 方差平方和     | 自由度 | 均方        | F 值    | P 值      |
|-------|-----------|-----|-----------|--------|----------|
| A     | 810.885   | 2   | 405.442   | 2.201  |          |
| B     | 7 974.749 | 2   | 3 987.374 | 21.643 | $P<0.05$ |
| C     | 806.701   | 2   | 403.350   | 2.189  |          |
| D(误差) | 368.471   | 2   | 184.235   |        |          |

$F_{0.05}(2,2)=19.00$   $F_{0.01}(2,2)=99.00$

在本正交试验考察范围内优选出的保持水溶液中丹参酚酸 B 稳定性的最佳条件是  $A_3B_1C_1D_1$ ,即水溶液中丹参酚酸 B 质量浓度 1 mg/mL、pH=2、温度为 20℃、时间为 1 d。各因素按对溶液中丹参酚酸 B 稳定性的影响大小排列为  $B>C>D>A$ 。直观分析认为结果存在以下趋势:溶液 pH 值越低、丹参酚酸 B 的质量浓度越高以及保存温度尽可能低时丹参酚酸 B 越稳定。参考本次试验结果,并结合丹参酚酸 B 提取工艺的具体情况,在处理过程中控制丹参酚酸 B 溶液状态条件为:pH 1~3、质量浓度高于 1 mg/mL,室温,并且丹参酚酸 B 处于溶液状态的时间不超过 3 d。结果表明在该条件下,溶液中的丹参酚酸 B 基本保持稳定,提取过程中其总回收率在 90% 以上。

3 讨论

丹参酚酸 B 是 2 分子丹参素与 1 分子原紫草酸缩合而成的四聚咖啡酸类化合物,在质量浓度的水

溶液状态下很不稳定,所以在保存时需要选取一个合适的条件,比如在高质量浓度、低pH值、低温条件下基本稳定。

随着丹参酚酸B作为一种具有心脑血管疾病治疗效果的药物的开发和应用,如何保持其在生产处理过程中的稳定性是一个越来越急迫的问题。本实验对影响溶液中丹参酚酸B稳定性的因素进行了初步探讨,所得结果虽然可满足丹参酚酸B提取

分离过程中的技术要求,但对于其水溶液制剂如何保持丹参酚酸B的稳定性还需进一步探索。

#### References:

- [1] Song Z Y. *Modern Research of Chinese Herbal Medicine* (中草药现代研究) [M]. Beijing: Beijing Medical University and Perking Unted Medical College Unted Press, 1996.
- [2] Zhang Q W, Zhang Y, Li J P, et al. Determination of salvianolic acid B in the radix of *Salvia miltiorrhiza* Bge. by HPLC [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2001, 26(12): 849-850.

## 大孔吸附树脂法分离纯化虎杖中白藜芦醇的研究

向海艳,周春山\*,杜邵龙

(中南大学化学化工学院,湖南 长沙 410083)

**摘要:**目的 研究大孔吸附树脂分离纯化虎杖中白藜芦醇的工艺条件及参数。方法 以白藜芦醇的吸附量和解吸率为考察指标,从中筛选树脂,并研究大孔吸附树脂分离纯化白藜芦醇的吸附性能和洗脱参数。结果 NKA-II树脂对白藜芦醇有较好的吸附分离效果,适合于虎杖中白藜芦醇的提纯,经该树脂吸附解吸,饱和吸附量可达31.6 mg/g,解吸率达91.7%。结论 通过大孔树脂分离纯化后,终产品中白藜芦醇的纯度可达31.28%,而上柱前粗提物中白藜芦醇纯度为4.35%。说明采用本法分离纯化虎杖中白藜芦醇是可行的。

**关键词:**虎杖;白藜芦醇;大孔吸附树脂;分离纯化

**中图分类号:**R286.02

**文献标识码:**B

**文章编号:**0253-2670(2005)02-0207-04

### Separation and purification of resveratrol from *Polygonum cuspidatum* by macroporous adsorption resin

XIANG Hai-yan, ZHOU Chun-shan\*, DU Shao-long

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Changsha 410083, China)

**Key words:** *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.; resveratrol; macroporous adsorption resin; isolation and purification

虎杖系蓼科属多年生草本植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. 的干燥根茎和根,收载于《中华人民共和国药典》2000年版一部,具有祛风利湿、散瘀定痛、止咳化痰的作用。主要含有蒽醌类和芪类化合物,其中芪类成分白藜芦醇具有抗菌、抗癌、抗炎、抗过敏、降血脂和抗氧化等多方面的药理活性,是目前最有希望的抗癌剂之一<sup>[1~3]</sup>。

大孔吸附树脂具有吸附快、解吸快、吸附容量大、易于再生、使用寿命长等优点,现已广泛应用于天然产物的分离和富集。但虎杖中白藜芦醇的大孔吸附树脂提取分离方面尚未见报道。有文献报道采用有机溶剂萃取法纯化虎杖中白藜芦醇<sup>[4]</sup>,但该法

存在有机试剂和能量消耗大,对环境污染严重等问题。本实验采用大孔树脂法取代传统的液-液萃取分离提取工艺,取得了令人满意的效果。

#### 1 材料与方法

1.1 仪器与试剂: Biotronik BT8100 高效液相色谱仪(德国);DSY—1—2 恒温水浴锅(北京东震科学仪器厂);冷冻干燥机(上海);ZD—2 型调速多用振荡器(江苏);玻璃色谱柱(280 mm×20 mm);树脂均购自南开大学化工厂;色谱分析用甲醇为色谱纯,其余试剂为分析纯。白藜芦醇(纯度>98%)对照品购自美国 Sigma 公司。虎杖药材购自湖南省九芝堂药材公司,经鉴定符合《中华人民共和国药典》2000

收稿日期:2004-06-04

基金项目:湖南省重点科技攻关项目(00NKY1010)

作者简介:向海艳(1974—),女,土家族,中南大学博士研究生,主要从事天然产物活性成分的提取与分离研究。

\* 通讯作者 Tel: (0731) 8879672 Fax: (0731) 8879672 E-mail: xhaiyan329@21cn.com