

# 丹参提取物中的丹酚酸 B 在不同 pH 条件下的 稳定性研究

张春光, 崔翰明, 张秋燕, 王 阶\*  
(中国中医科学院广安门医院, 北京 100053)

[摘要] 目的: 研究丹酚酸 B 在不同 pH 条件下的稳定性。方法: 丹参提取物溶于不同 pH 缓冲液中, 37 °C 恒温, 高效液相检测丹酚酸 B 浓度, 计算降解速率常数, 比较不同 pH 条件下的稳定性。结果: 在 pH1~ 7 范围内, 随着 pH 的降低, 丹酚酸 B 的稳定性提高。结论: 丹酚酸 B 在酸性条件下稳定。

[关键词] 丹酚酸 B; 固相萃取柱; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)01-0003-03

丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge.) 为唇形科鼠尾草属植物丹参的干燥根及根茎。丹参的活性成分主要分为两大类, 即脂溶性成分和水溶性成分。丹参水溶性成分主要是酚酸类, 包括丹酚酸 A、丹酚酸 B、迷迭香酸、丹参素、原儿茶醛等。药理研究表明丹参

酚酸类具有抗脂质过氧化和清除自由基作用, 其中丹酚酸 B 是含量最高的活性成分<sup>[1]</sup>, 丹酚酸 B 在水溶液中的稳定性与 pH 值、温度关系较大, 有研究证明丹酚酸 B 在酸性情况下较稳定<sup>[2,3]</sup>。本实验运用恒温加速法研究了丹酚酸 B 在 pH1~ 7 缓冲液中的稳定性。

## 1 材料

**1.1 药品、试剂** 丹酚酸 B 对照品(中国药品生物制品检定所); 丹参提取物, 本实验室自制(丹酚酸 B 含量 70%); 色谱纯乙腈(美国 Fisher 公司); 色谱纯甲醇(北京化学试剂公司); 其余试剂为分析纯(北京化学试剂公司); 高纯水为本实验室自制。

[收稿日期] 2008-04-14

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973)项目(2003CB517103); 国家自然科学基金重大项目(90209011)

[通讯作者] \* 王 阶, Tel: (010) 88001238; E-mail: wangjie0103@yahoo.com.cn

**1.2 仪器** 高效液相色谱仪, CLASS-LC10, SPD-10A 检测器(日本岛津公司); FA2104 型万分之一级电子天平(上海良平仪器仪表有限公司); SY7200DH 超声波仪(上海声源超声波仪器设备有限公司); 水浴锅(天津泰斯特仪器公司); Sep-Pak C<sub>18</sub> 固相萃取小柱(美国 waters)。

## 2 方法

**2.1 色谱条件**<sup>[4]</sup> 色谱柱: Agilent TC C<sub>18</sub> 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-乙腈-甲酸-水(30: 10: 1: 59), 检测波长为 286 nm, 流速为 1 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温为室温, 进样量为 10 μL。

**2.2 标准曲线** 丹酚酸 B 对照品在五氧化二磷中干燥 6 h, 精密称定 10 mg, 用 75% 甲醇溶解, 配制一系列浓度, 进行 HPLC 测定, 根据峰面积和浓度绘制丹酚酸 B 的标准曲线。丹酚酸 B 的标准曲线为:  $Y = 5.06 \times 10^3 X - 1.27 \times 10^3$ ,  $R^2 = 0.9999$ , 丹酚酸 B 在(4.04~ 404) μg·mL<sup>-1</sup> 范围内有良好的线性关系, 检测限为 10 ng·mL<sup>-1</sup>。丹酚酸 B 对照品和丹参提取物图谱见图 1 和图 2。

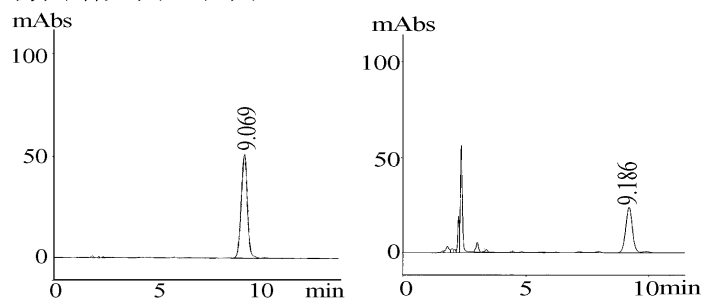


图 1 丹酚酸 B 对照品  
高效液相色谱图

图 2 丹参提取物  
高效液相色谱图

**2.3 精密度试验** 精密吸取同一对照品溶液 10 μL, 注入液相色谱仪, 连续测定 5 次, 测得 RSD = 1.7%, 符合定量分析要求。

**2.4 回收率试验** 精密称定丹酚酸 B 对照品适量, 共 6 份, 制备高、中、低 3 个浓度, 每个样品均 2 mL 的供试品溶液, 过 SPE 柱。先用 4 mL 水洗, 再用 2 mL 75% 的甲醇洗脱。洗脱液过滤后定容至 2 mL 进行 HPLC 测定, 计算回收率。结果见表 1。

**2.5 丹酚酸 B 在不同 pH 条件下的稳定性实验**

**2.5.1 缓冲液的配制** 用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> NaHCO<sub>3</sub> 和 0.1 mol·L<sup>-1</sup> HCL 做为缓冲体系, 分别配制成 pH1.03、pH2.12、pH3.03、pH4.07、pH5.18、pH6.21、pH7.13 的缓冲溶液。

**2.5.2 紫外扫描丹酚酸 B 缓冲液** 取丹酚酸 B 对照品适量, 分别置于 7 个容量瓶中, 用上述缓冲液配

成适当浓度。以各缓冲液为空白对照, 在 200~ 600 nm 范围内进行紫外扫描。

表 1 回收率试验结果

梯度	供试液中丹酚酸 B 浓度(μg·mL <sup>-1</sup> )	所测浓度(μg·mL <sup>-1</sup> )	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
高浓度	404	402.788	0.997	98.6	1.4
	404	402.384	0.996		
	404	400.364	0.991		
	403	392.522	0.974		
	403	400.582	0.994		
中浓度	40.4	38.663	0.957	98.2	1.7
	40.4	39.834	0.986		
	40.4	40.319	0.998		
	40.9	39.509	0.966		
	40.9	40.532	0.991		
低浓度	4.04	3.85	0.953	97.5	2.6
	4.04	4.003	0.991		
	4.04	4.121	1.02		
	4.01	3.874	0.966		
	4.01	3.882	0.968		
	4.01	3.817	0.952		
	4.01	3.817	0.952		

**2.5.3 恒温加速法考察各缓冲液中丹酚酸 B 的降解速率常数** 精密称定丹参提取物 20 mg, 水溶解并定容至 10 mL, 取出 1 mL, 共 7 份, 分别用上述 7 种缓冲液稀释至 25 mL, 然后各取 2 mL 放于 10 个具塞试管中, 分别在 37 °C 加热 0, 0.5, 1, 2, 4 h, 每个时间点下平行做两个。取出, 迅速冷却至室温后补足 2 mL, 过 SPE 柱。先用 4 mL 水洗, 再用 2 mL 75% 的甲醇洗脱。洗脱液过滤后定容至 2 mL 进行 HPLC 测定, 带入标准曲线求得各时间点的丹酚酸 B 浓度。将测得的浓度和时间进行线性拟合, 求得速率常数。

## 3 结果

**3.1 紫外扫描** 不同缓冲液下的对照品溶液, 在 pH1~ 6 时丹酚酸 B 峰位均在 285 nm 左右, 谱图形状基本一样, 见图 3。在 pH7 时, 丹酚酸 B 峰移到 280 nm, 谱图形状变化较大, 见图 4。

**3.2 速率常数测定** 根据时间和浓度进行拟合<sup>[5]</sup>, 判断此反应符合一级反应。绘制时间和 LogC 的曲线。求得速率常数 K, K 等于斜率乘以 - 2.303。结果见图 5 和图 6。

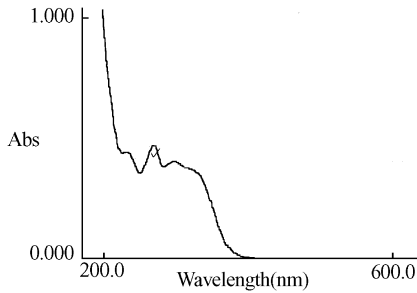


图 3 pH1~ 6 时丹酚酸 B 紫外图谱

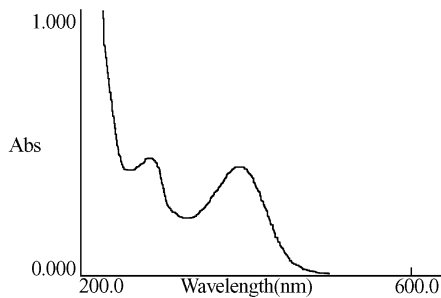


图 4 pH7 时丹酚酸 B 紫外图谱

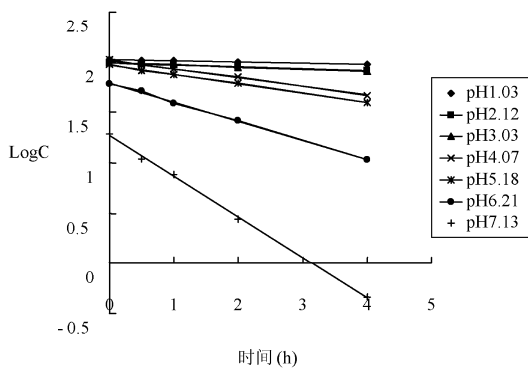


图 5 不同 pH 下恒温加速法所得的各速率曲线

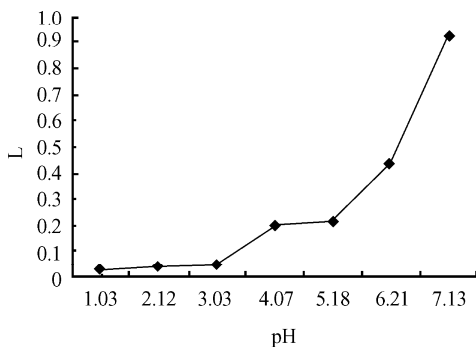


图 6 不同 pH 下的速率常数

由以上图和表可以看出: 在 pH1~ 7 范围内, 随着 pH 的降低, 丹酚酸 B 的稳定性提高。

#### 4 讨论

恒温加速法是考察稳定性的方法之一, 本文应用此法系统的考察了丹酚酸 B 在不同 pH 缓冲液下的稳定性, 结果在 pH1~ 7 范围内, 酸性越强, 稳定性越好。得出此降解反应为一级反应过程, 即反应速度与反应物浓度成正比, 这与文献<sup>[3]</sup>报道的高浓度利于稳定是不一致的, 因为反应物浓度加大反应速度也会加大, 不利于稳定。

有文献认为丹酚酸 B 的 pH 稳定性主要是由丹酚酸 B 的 pKa 决定的, 因丹酚酸 B 为弱酸性成分, 故在酸性下稳定<sup>[6]</sup>。本文高效液相得出的 pH-降解速率常数曲线(见图 6), 在 pH1~ 7 范围内, 降解速率在高 pH 明显比低 pH 高, 证明了丹酚酸 B 在 pH 高的条件下不稳定, 所以在提取, 加工及储藏过程中都要加以注意。

实验中原来采用了将丹参提取物溶解于各缓冲液, 然后直接用高效液相色谱进行测定, 可是丹酚酸 B 在 pH6 以上时, 峰位和峰面积有很大变化。经过实验考察, 最后采取了将溶液先过 SPE 柱吸附, 然后再用甲醇将之冲下的方法, 可以除去缓冲盐的影响, 也保证了丹酚酸 B 都在同一状态进行高效液相测定。

#### [参考文献]

- [1] 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): 683-686.
- [2] 张军, 王风云, 詹丽玲, 等. 丹参药材提取液中丹酚酸 B 稳定性影响因素的考察[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(10): 789-790.
- [3] 岳喜典, 曲桂武, 李桂生, 等. 丹酚酸 B 在水溶液中的稳定性研究[J]. 中草药, 2005, 36(2): 205-207.
- [4] 中国药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005: 52.
- [5] 奚念朱, 李纯球, 陆彬, 等. 药剂学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994: 120.
- [6] 柴士伟, 潘桂湘, 张艳斌. 丹酚酸 B 在模拟消化道体液中的稳定性研究[J]. 天津中医药, 2006, 23(4): 332-333.