

丹参提取工艺优选

李绍林^{1,2*}, 张建军²

(1. 广州中医药大学, 广州 510405; 2. 广东省中医研究所, 广州 510095)

[摘要] 目的: 优化丹参的提取工艺。方法: 采用单因素和正交试验法, 以丹参酮 II_A 及丹酚酸 B 为考察指标对丹参提取工艺进行优化。结果: 优选的最佳提取工艺为加 6 倍量体积分数为 65% 的乙醇, 提取 3 次, 每次 30 min。结论: 所优选的提取工艺合理、稳定、可行。

[关键词] 丹参; 丹参酮 II_A; 丹酚酸 B; 正交设计; 提取工艺

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)12-0045-03

Optimization of Extracting Technology of *Salviae miltiorrhizae*

LI Shao-lin^{1,2*}, ZHANG Jian-jun²

(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;

2. Guangdong Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the extracting technology of *Salviae miltiorrhizae*. **Method:** Taking extraction yields of tanshinone II_A, salvianolic acid B and solid as investigation index, the best extraction process was screened by single factor and orthogonal experimental design. **Result:** The optimum condition of extraction process was that the decoction pieces were decocted with 6-fold alcohol of 65% concentration for three times, thirty minutes each time. **Conclusion:** The optimum extraction process is straightforward, stable and feasible.

[Key words] *Salvia miltiorrhiza*; tanshinone II_A; salvianolic acid B; orthogonal design; extraction process; extration technology

丹参为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge. 的干燥根及根茎, 具有活血祛瘀, 通经止痛, 清心除烦, 凉血消痈之功效, 主要用于胸痹胁痛, 癥瘕积聚, 热痹疼痛, 月经不调, 痛经经闭, 疮疡肿痛等症^[1]。丹参的主要活性成分为以丹酚酸 B 为代表的水溶性成分和以丹参酮 II_A 为代表的脂溶性成分^[2]。通常采用高体积分数乙醇和水分别单独提取的全成分提取法^[3]。为了简化提取工艺, 同时提取出丹参脂溶性及水溶性两类有效成分, 本工艺拟用一定体积分数的乙醇提取, 采用单因素和正交试验法, 以丹参酮 II_A、丹酚酸 B 的提取率和总固物得率为考察指标对丹参提取工艺进行优选, 以使丹参的

提取工艺更为经济、便捷。

1 材料

Agilent-1100HPLC (美国), Agilent HC-C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), METTLER AE240 1/10 万天平 (瑞士)。

丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge. 药材购自广州致信中药饮片有限公司, 经广东省中医研究所孙冬梅主任中药师鉴定为正品; 丹参酮 II_A 对照品 (批号 110766-200518)、丹酚酸 B 对照品 (批号 111562-200706) 均购于中国药品生物制品检定所; HPLC 用甲醇、乙腈为色谱纯, 水为重蒸水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 丹酚酸 B 含量测定 精密吸取样品浓缩液适量, 至棕色量瓶中, 用 75% 甲醇定容。按高效液相色谱法 (《中国药典》2010 年版一部附录 VI D) 测

[收稿日期] 20100820(001)

[通讯作者] * 李绍林, 在读博士, 研究方向: 中药制剂研究,
Tel: 020-83501292, E-mail: xycolin@163.com

定。色谱条件:流动相甲醇-乙腈-甲酸-水(30:10:1:59),检测波长 286 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 25 ℃。标准曲线为 $Y = 904.069X + 23.065$ ($r = 0.9995$),表明丹酚酸 B 在 0.25 ~ 2.25 μg 呈良好的线性关系。

2.2 丹参酮 II_A 含量测定 精密吸取样品浓缩液适量,至棕色量瓶中,用甲醇定容。按高效液相色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI D)测定。色谱条件:流动相甲醇-水(75:25),检测波长 270 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 25 ℃。标准曲线为 $Y = 5.040X - 7.865$ ($r = 1.0000$)。表明丹参酮 II_A 在 34.368 ~ 309.312 ng 呈良好的线性关系。测定各样品中丹参酮 II_A 的含量,并计算转移率。

2.3 总固物得率测定 精密吸取各样品浓缩液适量,至已恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,照干燥失重法(《中国药典》2010 年版一部附录 IX G)测定,计算固形物得率。

2.4 乙醇体积分数对提取结果的影响 准确称取丹参药材 11 份,每份 40 g,分别加 8 倍量水和不同体积分数的乙醇提取 1 次,每次 1 h,滤过,滤液减压浓缩滤液定容置 200 mL 量瓶中,分别精密吸取 1 mL 至 10 mL 棕色量瓶中,用甲醇定容,制得各样品备用。按《中国药典》2010 年版一部正文 70 页丹参药材项下测定丹参药材及各提取方法样品中丹参酮 II_A 及丹酚酸 B 的含量,并计算转移率,结果见表 1。

表 1 不同乙醇浓度下丹参酮 II_A、丹酚酸 B 的提取率 %

乙醇体积分数	丹参酮 II _A	丹酚酸 B
0	0	22.14
10	4.76	27.79
20	8.52	30.15
30	18.39	33.05
40	26.06	33.42
50	51.37	33.94
60	56.93	36.46
70	58.77	33.64
80	70.32	33.50
90	76.42	17.60
95	78.33	4.70

由结果可知,丹酚酸 B 提取率随着醇浓度的增加呈先增大而后减小趋势,以 60% 乙醇提取率最高;丹参酮 II_A 随着醇体积分数增加提取率增加,醇

体积分数从 0 ~ 80%,提取率呈快速增加的趋势,而 80% ~ 95% 体积分数段,增长趋势缓慢。丹参的有效成分主要分为以丹酚酸 B 为代表的水溶性成分和以丹参酮 II_A 为代表的脂溶性成分两部分,为简化生产工艺,同时使两类有效成分都能提取充分,我们可以选取一定体积分数的乙醇进行进一步优化提取。

2.5 正交试验设计 在单因素试验考察的基础上,进一步采用正交试验优化提取工艺,选取提取次数(A),提取时间(B),醇浓度(C),溶媒量(D)作为考察因素,各取 3 水平,进行 L₉(3⁴) 正交试验,筛选最佳工艺条件,因素水平见表 2。丹酚酸 B、丹参酮 II_A 为其水溶性和脂溶性代表性有效成分,选择其作为评价指标之一,权重系数定各为 0.4,而作为有效成分煎出间接控制的一个指标,药效物质提取的多少可以从总固物得率的大小来判断,权重系数定为 0.2,进行综合评价,筛选最佳工艺。准确称取丹参药材 9 份,每份为 40 g,按 L₉(3⁴) 正交试验表(表 2)所示条件提取,滤过,合并提取液,将其减压浓缩至 200 mL,分别,作为各提取液样品备用。试验安排及结果见表 3。方差分析见表 4。

表 2 丹参提取工艺因素水平

水平	A 提取次数	B 提取时间 /min	C 醇体积 分数/%	D 溶媒量 /倍
1	1	30	65	6
2	2	60	75	8
3	3	90	85	10

对正交试验所得结果作直观分析和方差分析,由直观分析可知,影响提取效果的因素顺序为:提取次数(A) > 溶媒量(D) > 提取时间(B) > 醇浓度(C),由此得出的最佳工艺组合为 A₃B₃C₂D₃。以 R 值最小的 C 因素为误差项进行方差分析估算,只有提取次数对提取结果具有显著性影响,考虑到实际生产,缩短生产周期,降低生产成本等综合因素,确立提取工艺为 A₃B₁C₁D₁,即加 6 倍量体积分数为 65% 的乙醇,提取 3 次,每次 30 min。

2.6 验证试验 为确定该工艺的优劣和稳定性,据所筛选的工艺条件,进行了 3 批验证试验,丹参药材 3 份,每份 40 g,结果见表 5。由表可知,优选出的组合 A₃B₁C₁D₁ 验证试验结果稳定,平均综合评分达到 94.34 分,与正交试验最高得分组合(A₃B₂C₁D₃)相比,得分减少约 3.34%,但提取时间缩短 1.5 h,溶媒

表3 丹参提取工艺正交试验

No.	A	B	C	D	丹酚酸 B/%	丹参酮 II _A /%	总固物/%	综合评分
1	1	1	1	1	46.67	45.13	24.46	53.65
2	1	2	2	2	54.47	54.04	26.58	62.60
3	1	3	3	3	58.81	67.74	27.33	72.08
4	2	1	2	3	76.65	69.02	41.55	85.95
5	2	2	3	1	61.56	67.98	30.90	74.77
6	2	3	1	2	81.67	62.73	45.90	86.40
7	3	1	3	2	74.12	71.41	37.21	84.45
8	3	2	1	3	92.87	70.46	51.90	97.68
9	3	3	2	1	85.73	74.81	47.35	95.17
K ₁	188.33	224.05	237.73	223.59				
K ₂	247.12	235.05	243.72	233.45				
K ₃	277.30	253.65	231.30	255.71				
R	29.66	9.87	4.14	10.71				

注:综合评分 = (40/丹酚酸 B 最大值) × 丹酚酸 B 含量 + (40/丹参酮 II_A 最大值) × 丹参酮 II_A 含量 + (20/得膏率最大值) × 得膏率。

表4 丹参提取工艺方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	1 364.75	2	682.38	53.06	<0.05
B	149.24	2	74.62	5.80	
D	180.49	2	90.25	7.02	
C(误差)	25.72	2	12.86	1.00	

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ 。

表5 优选工艺验证试验

No.	丹酚酸 B 提取率/%	丹参酮 II _A 提取率/%	总固物得率 /%	综合评分
1	87.51	72.69	46.70	94.55
2	87.40	72.48	46.56	94.34
3	87.58	74.50	46.60	95.51

量筒少 6 倍量,从省时节能,降低成本角度看,此应为最佳方案。

3 讨论

科学合理得选择中药的提取工艺是保持原方疗效的关键和核心,也是中药剂型改进和创新的前提和基础。为了使丹参脂溶性和水溶性成分同时提取,需要选择一种溶媒,可使丹参的两类有效成分能

同时溶出,本研究通过单因素考察不同浓度乙醇对两类有效成分的提取效果,筛选出中间浓度的乙醇能同时兼顾两类有效成分的提取,进而选取 3 个不同水平进行正交试验进一步优化提取工艺。优化出的最佳提取工艺简化了生产工序,缩短了生产周期,使丹参的提取工艺更为便捷、经济、科学合理。

丹酚酸 B 和丹参酮 II_A 都为热不稳定性成分^[4],为保证有效成分的保留率,在对丹参提取液的浓缩过程,需要采用减压浓缩;丹参提取液的干燥工艺对有效成分保留率的影响有待进一步考察研究。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S]. 2010:70.
- [2] Liu Ai-hua, Lin Yan-hua, Yang Min, 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⁽ⁿ⁾ [J]. J Chromatogr B, 2007, 846(1/2):32.
- [3] 谢凯,赵磊磊,姜红宇,等.近年来丹参提取工艺的研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 10(13):67.
- [4] 赵小亮,雷浩东,张继.丹参有效成分提取的研究概述[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(6):1795.

[责任编辑 全燕]