

# 大生产中丹参提取物制备工艺优选

徐玉玲, 梁悦, 赵群, 张文文, 聂忠莉, 刘涛\*

(成都大学生物工程学院, 成都 610106)

**[摘要]** **目的:**对 2010 年版《中国药典》一部中丹参的 2 种提取物的制备工艺参数进行讨论,以便其更适应大生产的需要。**方法:**采用单因素试验法,以隐丹参酮、丹参酮 II<sub>A</sub> 的含量为指标,探讨丹参酮提取物原料的前处理方法;以固含物总量、丹酚酸 B 含量为指标考察丹参水提的最佳温度;以固含物总量、丹酚酸 B 含量、指纹图谱为指标确定丹参水提的原材料;运用指纹图谱技术确定丹参水提液的最佳浓缩温度。**结果:**丹参酮提取物原料的前处理方式可由粗粉变更为切成 1~2 cm 的小段;丹参总酚酸提取物的原材料可采用丹参酮提取物的药渣,提取温度可由 80 °C 修订为 100 °C,浓缩温度可由 60 °C 修订为 80 °C。**结论:**优选的工艺条件稳定可行,可为丹参提取物的大生产参数修订提供实验依据。

**[关键词]** 丹参;丹参酮提取物;丹酚酸 B;隐丹参酮;指纹图谱

**[中图分类号]** R283.6;R284.1;R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)19-0024-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015190024

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150824.1003.014.html>

**[网络出版时间]** 2015-08-24 10:03

## Optimization Preparation Process of Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma Extract in mass production

XU Yu-ling, LIANG Yue, ZHAO Qun, ZHANG Wen-wen, NIE Zhong-li, LIU Tao\* (School of Bioengineering, Chengdu University, Chengdu 610106, China)

**[Abstract]** **Objective:** To discuss preparation process parameters of Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma extract in mass production. **Method:** Single factor tests were adopted, pretreatment of raw materials of tanshinone extract was investigated by taking contents of cryptotanshinone and tanshinone II<sub>A</sub> as indicators. Water extraction temperature of Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma was optimized by taking solid-containing content and the content of salvianolic acid B as indexes. With solid-containing content, the content of salvianolic acid B and fingerprints as indicators, raw materials of water extraction for Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma were determined. Fingerprints was employed to determine optimum concentration temperature of water extract of Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma. **Result:** Pretreatment of raw materials of tanshinone extract was cutting into small pieces of 1-2 cm. Raw materials of total phenolic acid extract in Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma can use the residues of tanshinone extract, extraction temperature was revised to 100 °C, the concentrated temperature was revised to 80 °C. **Conclusion:** These optimized process conditions are stable and feasible, which can provide experimental basis for large-scale production of Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma extract.

**[Key words]** Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma; tanshinone extract; salvianolic acid B; cryptotanshinone; fingerprint

丹参是我国常用的大宗中药材,具有活血祛瘀、通经止痛、清心除烦、凉血消痈之功效,主要有

效成分包括水溶性的酚酸类(迷迭香酸、丹参素、丹酚酸 B 等)和脂溶性的二萜醌类(隐丹参酮、丹

**[收稿日期]** 20150326(019)

**[基金项目]** 四川省中医药管理局中医药科学技术研究专项(2014F004);四川省科技厅丹参整合式全产业链综合开发研究项目(2014SZ0136)

**[第一作者]** 徐玉玲,硕士,高级工程师,从事中成药新药开发及再评价研究,Tel:028-61302236,E-mail:xuyuling@cd. edu. cn

**[通讯作者]** \*刘涛,博士,研究员级高级工程师,从事中成药新药开发及再评价研究,Tel:028-61302236,E-mail:liutao0578@cd. edu. cn

参酮Ⅱ<sub>A</sub>等),此外还含黄酮类、三萜类和甾醇等成分<sup>[1]</sup>。2010年版《中国药典》中收录的丹参有关提取物包括丹参总酚酸提取物与丹参酮提取物。在研究过程中发现,在2010年版《中国药典》中有关丹参提取物的一些制备工艺参数值得商榷,如有关丹参总酚酸提取物的原料来源、丹参酮提取物原料的前处理方式、丹参水提温度及丹参水提液的浓缩温度等<sup>[2-3]</sup>。本实验采用单因素试验,以隐丹参酮、丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>的总含量为指标,探讨丹参酮提取物原料的前处理方法;以固含物、丹酚酸B含量为指标,考察丹参水提工艺的最佳温度;以固含物、丹酚酸B含量及指纹图谱为指标,确定丹参水提工艺的原材料;运用指纹图谱技术确定丹参水提液的最佳浓缩温度,为丹参提取物的大生产工艺提供实验依据,为提高丹参提取物的质量与产业化提供参考<sup>[4-6]</sup>。

## 1 材料

iChrom P5100型高效液相色谱仪(大连依利特分析仪器有限公司),DZF-0050A型真空干燥箱(北京中兴伟业仪器有限公司),BS-6KH型电子天平(上海友声衡器有限公司),FA2004型电子分析天平(上海良平仪器仪表有限公司生产)。丹酚酸B,迷迭香酸,丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>和隐丹参酮对照品(四川省维克奇生物科技有限公司,批号分别为130929,130323,130316,130412);丹参药材购自成都荷花池中药材批发市场,批号20140810,经成都大学刘涛研究员高级工程师鉴定为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* 的干燥根和根茎;甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 丹参酮提取物原材料的前处理方式考察

2010年版《中国药典》中规定将丹参粉碎成粗粉后再进行醇提,但在生产过程中发现,这种处理方式所得到的丹参粉较细(孔径介于2号筛和4号筛之间),提取后从提取罐中打汁时,药渣容易堵塞筛网,导致工时延长,生产成本增加,不利于大生产。

**2.1.1 样品溶液的制备** 在前期研究基础上,取丹参原药材2份,每份100g,其中1份粉碎成粗粉,1份切成1~2cm长的小段,分别加8倍量95%乙醇提取2次,每次1h,分别合并提取液,即得。

**2.1.2 隐丹参酮和丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>的含量测定** 色谱条件为以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,流动相甲醇-水(75:25),检测波长270nm,流速1.0mL·min<sup>-1</sup>,进样量10μL,柱温室温。精密称取隐丹

参酮和丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>对照品适量,加甲醇制成质量浓度分别为105.6,68.0mg·L<sup>-1</sup>的混合对照品溶液。取样品溶液适量,滤过,取续滤液,经0.45μm微孔滤膜滤过,得供试品溶液,按上述色谱条件测定,结果丹参粗粉醇提液和丹参小段醇提液中隐丹参酮质量分别为48.224,41.187mg,丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>质量依次为69.589,67.143mg。说明丹参粗粉醇提液与直接将丹参切段提取相比,有效成分的总量经统计分析(*F*检验)无显著性差异,从便于大生产的角度出发,不必将丹参粉碎成粗粉后进行提取。

**2.2 丹参总酚酸提取温度的考察** 2010年版《中国药典》中规定丹参总酚酸提取物的提取温度80℃,但实际生产中不好控制温度,同时对提取设备的要求较高。为了使操作更方便,拟对丹参总酚酸提取物的温度进行研究。

**2.2.1 样品溶液的制备** 取丹参原药材共3份,每份100g,切成1~2cm长的小段,分别加8倍量水提取2次,每次1h,提取温度分别为60,80,100℃,合并提取液,混匀,即得。

**2.2.2 固含物总量的测定** 精密吸取样品溶液各100mL,分别置干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,移至烘箱于105℃干燥3h,移置干燥器中冷却30min,迅速取出,精密称定质量,计算60,80,100℃提取液中固含物总量分别为28.32,34.64,45.09g。

**2.2.3 丹酚酸B的含量测定** 色谱条件为以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,流动相甲醇-乙腈-甲酸-水(30:10:1:59),检测波长286nm,流速1.0mL·min<sup>-1</sup>,进样量10μL,柱温室温。精密称取丹酚酸B对照品适量,加75%甲醇制成95mg·L<sup>-1</sup>的对照品溶液。取以上3种样品溶液适量,分别混匀、过滤,取续滤液,精密量取续滤液1mL置于10mL量瓶中,加水稀释至刻度,经0.45μm微孔滤膜滤过,得供试品溶液,按上述条件测定,计算提取物中丹酚酸B的质量分别为2.359,2.864,3.939g,质量分数依次为8.33%,8.27%,8.74%。说明100℃的提取效果最佳,为了便于生产,拟将提取温度修订为100℃。

**2.3 丹参总酚酸提取物的原料探讨** 2010年版《中国药典》丹参总酚酸提取物项下规定,取丹参切成小段用于水提。但预试验发现丹参制备丹参酮提取物后,水溶性成分几乎还保留在药渣中,为了节约资源,以固含物总量、丹酚酸B含量及指纹图谱为评价指标,选择丹参酮提取物的药渣为原料,与以丹

参原药材作为原料制备丹参总酚酸提取物的质量进行比较,探讨丹参酮提取物的药渣作为丹参总酚酸提取物原料的可行性。

**2.3.1 样品溶液的制备** 取丹参药材 30 g 和丹参醇提药渣 38.9 g(丹参醇提药渣 1 g 相当于丹参药材 1.29 g),照 2010 年版《中国药典》一部丹参总酚酸提取物项下相关方法,将提取条件设定为加 8 倍量水提取 2 次,每次 1 h,提取温度 80 ℃,分别合并提取液,即得。

**2.3.2 固含物总量的测定** 精密吸取样品溶液各 100 mL,按 2.2.2 项下方法测定,结果药渣提取液和药材提取液的出膏率分别为 32.18%,36.77%。

**2.3.3 丹酚酸 B 的含量测定** 色谱条件和供试品制备方法同 2.2.3 项。精密称取丹酚酸 B 对照品适量,加 75% 甲醇制成 123.7 mg·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。计算药渣提取液和药材提取液中丹酚酸 B 质量分别为 491.12,531.84 mg。

**2.3.4 指纹图谱测定** 按 2010 年版《中国药典》一部丹参总酚酸提取物项目[指纹图谱]项下方法进行测定,见图 1。采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”2004A 版进行相似度评价,结果药渣水提液与药材水提液指纹图谱的相似度 98.3%,见表 1。

表 1 丹参酮提取物药渣和丹参药材水提液的相似度评价

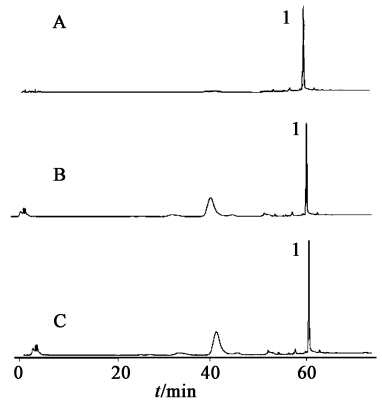
Table 1 Similarity evaluation of water extract of tanshinone extract residue and *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*

指纹谱	S1	S2	对照指纹谱
S1	1.000	0.983	0.997
S2	0.983	1.000	0.995
对照	0.997	0.995	1.000

**2.4 丹参水提液浓缩温度考察** 2010 年版《中国药典》丹参总酚酸提取物项下规定丹参水提液的浓缩条件为 60 ℃ 减压浓缩。对于以水为溶媒的提取液,浓缩温度 60 ℃ 过低,浓缩时间较长,不利于大生产,而大生产减压浓缩的常用温度 80 ℃,故以浓缩液的指纹图谱为指标进行研究。

**2.4.1 样品溶液的制备** 取丹参水提液样品 2 份,每份 2.50 L,减压浓缩,1 份浓缩温度 60 ℃,1 份浓缩温度 80 ℃,其余条件均相同,浓缩到相同程度,得样品溶液。

**2.4.2 指纹图谱测定** 取 2.3.3 项下对照品溶液。精密称取 60 ℃ 样品溶液 7 g,置 250 mL 量瓶中,加水使溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,得供试品溶液。同上操作制备 80 ℃ 样品溶液的供试品

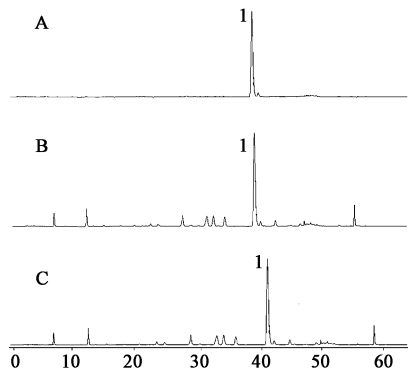


A. 对照品;B. 药渣水提液;C. 药材水提液;1. 丹酚酸 B

图 1 不同丹参原料的水提液 HPLC

Fig.1 HPLC of water extract of different *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* materials

溶液。按 2010 年版《中国药典》一部丹参总酚酸提取物项目[指纹图谱]项下方法进行测定,见图 2。采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”2004A 版进行相似度评价,结果显示两者相似度达 100%。80 ℃ 浓缩与 60 ℃ 浓缩相比,并未将丹参水提液中主要有效成分的种类与含量破坏,且 80 ℃ 条件下浓缩较 60 ℃ 条件下浓缩的效率提高了近 50%,故拟将丹参水提液的浓缩温度修订为 80 ℃。



A. 对照品;B. 60 ℃ 浓缩液;C. 80 ℃ 浓缩液;1. 丹酚酸 B

图 2 不同浓缩温度的丹参水提取液指纹谱

Fig.2 Fingerprints of water extract of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* with different concentration temperature

### 3 讨论

随着丹参需求量的日益加大,丹参提取物也发挥着越来越重要的作用。但 2010 年版《中国药典》规定的丹参不同提取物的制备工艺存在问题,其相关工艺参数不符合大生产实际,在一定程度上影响了丹参提取物的产业化。本文就丹参酮提取物原药材的前处理方式、丹参水提温度、丹参总酚酸提取物原料来源、丹参水提液的浓缩温

度共 4 个问题进行讨论,并对其存在问题进行分析讨论,为提高丹参提取物的质量与产业化提供参考。同时,由于本文结论是在小试数据基础上得到的,有待中试规模及大生产进一步验证;另外,有关丹参总酚酸提取物的原料可采用丹参酮类提取物的药渣作为原料药,目前存在与药品生产质量管理规范(GMP)法规要求不符的问题,可能暂时不具有现实意义,但在人类逐渐开始重视环境、保护资源的当今,应该重视如何最大程度利用原药材,节约中药材资源,以便更好地利用中药材为人类健康服务。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北

京:中国医药科技出版社,2010:373-375.

- [2] 张庆宏,涂瑶生. 中药提取物发展现状和展望[J]. 辽宁中医药大学学报,2009,11(5):10-11.
- [3] 江力,朱盛山,李苑新,等. 2010 年版《中国药典》一部含丹参制剂的提取工艺分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(19):361-364.
- [4] 毕见福,孙桂明. 对《中国药典》中药有效成分含量测定的商榷[J]. 中国药品标准,2013,14(6):411-414.
- [5] 魏志奇,陈幸,李彬,等. 对《中国药典》川木通的薄层色谱鉴别方法的商榷[J]. 中药材,2008,31(9):1459-1460.
- [6] 谢秀琼. 中药新制剂开发与应用[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2006:412-418.

[责任编辑 刘德文]

---

## 《中国实验方剂学杂志》入选 2015—2016 年度 CSCD(E)

经过中国科学院“中国科学引文数据库(Chinese Science Citation Database,简称 CSCD)”定量遴选、专家定性评估,《中国实验方剂学杂志》入选 2015—2016 年度 CSCD(E)。

2015—2016 年度 CSCD 收录来源期刊 1200 种,其中中国出版的英文期刊 194 种,中文期刊 1006 种。CSCD 来源期刊分为核心库和扩展库两部分,其中核心库 872 种(以备注栏中 C 为标记);扩展库 328 种(以备注栏中 E 为标记)。

CSCD 具有建库历史最为悠久、专业性强、数据准确规范、检索方式多样、完整、方便等特点,自提供使用以来,深受用户好评,被誉为“中国的 SCI”。CSCD 是我国第一个引文数据库,曾获中国科学院科技进步二等奖。该数据库已在我国科研院所、高等学校的课题查新、基金资助、项目评估、成果申报、人才选拔以及文献计量与评价研究等多方面作为权威文献检索工具获得广泛应用。