

## 丹参地上部分总丹参酮提取工艺和吸附树脂优选

赵惠茹\*, 杨黎彬, 曲伟龙, 靖会, 刘少静  
(西安医学院药学院, 西安 710021)

**[摘要]** 目的:研究丹参地上部分总丹参酮的提取工艺和筛选吸附树脂。方法:以总丹参酮的含量为指标,采用正交试验法研究提取工艺;以总丹参酮吸附率、解析率为指标,采用树脂静态吸附、解析试验法筛选吸附树脂。结果:丹参地上部分总丹参酮的最佳提取工艺为 90% 乙醇 12 倍量回流提取 2 次,每次 1.5 h;D101-1 树脂对丹参地上部分总丹参酮吸附和解析效果最好。结论:该工艺能较好的提取、分离和富集丹参地上部分总丹参酮。

**[关键词]** 丹参地上部分;总丹参酮;正交实验;大孔吸附树脂

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0025-03

## Study Optimal Extraction of Total Tanshinones from Above-Ground Part of Radix Salviae Miltiorrhizae and Screen Optimum Macroporous Resin

ZHAO Hui-ru\*, YANG Li-bin, QU Wei-long, JING Hui, LIU Shao-jing  
(Department of Pharmacy, Xi'an Medical College, Xi'an 710021, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the optimum condition for the extraction of total tanshinones from above-ground part of Radix Salviae Miltiorrhizae and to screen the optimum macroporous resin. **Method:** The extraction process was evaluated by orthogonal design with the content of total tanshinone as index, absorption and desorption rates of total tanshinone on five resins as the screening indexes. **Result:** The optimal condition was as follows: added 12 times 90% alcohol for 2 times and 1.5 hours for each time. The optimum macroporous resin was D101-1. **Conclusion:** The process can extract and concentrate the total tanshinone from above-ground part of Radix Salviae Miltiorrhizae.

**[Key words]** above-ground part of Radix Salviae Miltiorrhiza; total tanshinone; orthogonal design; macroporous resin

丹参为唇形科鼠尾草属植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Beg. 的干燥根及根茎,具有祛瘀止痛、活血通经、清心除烦的功效<sup>[1]</sup>,是治疗心脑血管疾病的传统中药材。现代研究发现丹参的化学成分主要分为脂溶性成分及水溶性成分两大类,脂溶性成分主要为二萜类化合物,如丹参酮 II<sub>A</sub>、丹参酮 I、隐丹参

酮等<sup>[2-3]</sup>;水溶性成分主要为酚酸性化合物,如丹参素、原儿茶酸、丹酚酸 B 等<sup>[4]</sup>。丹参地下部分及其制剂广泛地应用于临床,近年来用量很大。丹参根的质量约占全草的 33%,而地上部分约占全草的 67%,传统用药则弃去地上部分。丹参地上部分是否还有利用价值,是否还可以作为丹参制剂的原料鲜见报道。故本文采用正交试验法研究丹参地上部分总丹参酮的提取工艺,并对最佳提取工艺得到的提取液进行了大孔吸附树脂吸附洗脱研究,为丹参地上部分的开发利用提供依据。

### 1 仪器与试剂

UV-160A 型紫外分光光度计(日本岛津)。丹

**[收稿日期]** 20110110(009)

**[基金项目]** 西安医学院科学研究项目(2009ZD1)

**[通讯作者]** \* 赵惠茹,硕士,副教授,从事中药化学成分分离与分析研究, Tel:13572261291, E-mail: wang\_gq@chd.edu.cn

参酮 II<sub>A</sub> 对照品(中国药品生物制品检验所,批号 11043-200604),大孔吸附树脂型号 AB-8, D101, D101-1, D201, D301 均购自天津南开大学化工厂,丹参地上部分采自陕西商洛地区,由西安医学院药学院杨黎彬博士鉴定。

## 2 方法与结果

**2.1 对照品溶液的制备** 精密称取干燥至恒重的丹参酮 II<sub>A</sub> 标准品 3.30 mg 置 25 mL 量瓶中,用无水乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液 I。精密吸取对照品溶液 I 10 mL,置于 50 mL 量瓶中,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀,配制成 26.400 mg·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液 II。

**2.2 标准曲线的制备** 精密吸取对照品溶液 II 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 mL, 分别置于 7 只 10 mL 量瓶中,加无水乙醇至刻度,摇匀。在 270 nm 处测定吸光度,以吸光度(A)对质量浓度(C)作线性回归,得回归方程为  $A = 0.095 2C + 0.017 3$  ( $r = 0.999 8$ )。表明丹参酮 II<sub>A</sub> 在 1.32 ~ 9.24 mg·L<sup>-1</sup> 与吸光度呈现良好的线性关系。

**2.3 供试品溶液的制备** 精密吸取各试验回流提取液的续滤液 0.5 mL,用相应的提取溶剂定容至 50 mL 量瓶中,摇匀,作为供试品溶液在 270 nm 处测定吸光度,以丹参酮 II<sub>A</sub> 含量为指标,代入标准曲线计算总丹参酮的含量。

**2.4 正交试验设计** 根据预试结果和文献[5],确定以丹参酮 II<sub>A</sub> 为考察指标,以乙醇体积分数(A)、加醇量(B)和提取时间(C)为可变因素,精密称取 9 份丹参地上部分粗粉,每份约 5 g,按 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表进行 3 因素 3 水平试验,见表 1。结果及方差分析见表 2,3。

表 1 丹参酮提取工艺正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积分数 /%	B 加醇量 /倍	C 提取时间 /h
1	90	10(6,4)	1(0.5,0.5)
2	80	12(7,5)	2(1.0,1.0)
3	70	14(8,6)	3(1.5,1.5)

从表中数据直观和方差分析可知,因素影响顺序为  $A > C > B$ , A 有显著性影响,而 B, C 无显著性差异。提取工艺正交结果的试验最佳组合为 A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>。但是有研究表明<sup>[6]</sup>,丹参酮类对热不稳定,不宜长时间加热提取,因此可考虑选择中间水平 C<sub>2</sub>, 比较组合 A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub> 和 A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub> 的提取率和稳定性。

表 2 丹参酮提取工艺正交试验

No.	A	B	C	D	总丹参酮 /μg·g <sup>-1</sup>
1	1	1	1	1	67.82
2	1	2	2	2	73.41
3	1	3	3	3	78.28
4	2	1	2	3	40.06
5	2	2	3	1	58.61
6	2	3	1	2	36.69
7	3	1	3	2	15.89
8	3	2	1	3	18.27
9	3	3	2	1	17.63
K <sub>1</sub>	73.170	41.257	40.927	48.020	
K <sub>2</sub>	45.120	50.097	43.700	41.997	
K <sub>3</sub>	17.263	44.200	50.927	45.537	
R	55.907	8.840	10.000	6.023	

表 3 方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	4 688.352	2	2 344.18	85.275	<0.05
B	121.579	2	60.789	2.211	
C	159.916	2	79.958	2.909	
误差	54.978	2	27.489		

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

## 2.5 大孔吸附树脂静态吸附、解析试验

**2.5.1 大孔吸附树脂的预处理** 分别取 AB-8, D101, D101-1, D201, D301 5 种大孔吸附树脂各 10 g,用 95% 乙醇在室温条件下浸泡 24 h,其间每隔 20 min 搅拌 1 次,每次浸泡 2 h 后滤出乙醇;用去离子水洗至无醇味;依次用 5% 盐酸室温浸泡 4 h,去离子水洗净,用 5% NaOH 室温浸泡 6 h,去离子水洗净;用去离子水室温浸泡 24 h,使树脂充分溶胀备用。

**2.5.2 静态吸附、解析的测定** 称取上述 5 种经过预处理的树脂各 2 g 置于 50 mL 锥形瓶中,加入总丹参酮质量浓度为 0.759 1 g·L<sup>-1</sup> 的提取液 20 mL,室温吸附,每 10 min 振摇 1 次约 30 s,持续振摇 2 h。静置 24 h,滤过。分别取各树脂吸附后的溶液 0.5 mL 于 270 nm 处测定吸光度 A<sub>1</sub>,计算各树脂对总丹参酮的吸附率。将静态吸附的树脂抽滤至干,室温条件下,加入 50 mL 95% 乙醇解析,每 10 min 振摇 1

次 30 s,持续 2 h,静置 24 h 后过滤。分别取各解析液 0.5 mL 于 270 nm 处测定吸光度  $A_2$ ,计算各种树脂对总丹参酮的解析率。以树脂吸附率、解析率作为指标来考察 5 种树脂对总丹参酮的选择性,结果见表 4。各指标的计算公式如下:

$$\text{吸附率} = \frac{C_0 - C_1}{C_0} \times 100\%$$

$$\text{解析率} = \frac{C_2 \times V_2}{(C_0 - C_1) \times V_1} \times 100\%$$

式中:  $C_0$  起始样品液中总丹参酮质量浓度,  $C_1$  吸附 24 h 后上清液中总丹参酮质量浓度,  $C_2$  解析液中总丹参酮质量浓度,  $V_1$  样品液体积,  $V_2$  解析液体积。

表 4 5 种树脂对丹参地上部分总丹参酮的吸附率与解析率

树脂型号	吸附后总	解析液	吸附率	解析率
	丹参酮	总丹参酮		
	/g·L <sup>-1</sup>	/g·L <sup>-1</sup>	/%	/%
AB-8	0.559 1	0.058 1	26.35	72.62
D-301	0.185 6	0.101 9	75.55	44.42
D-201	0.547 8	0.032 8	27.84	38.81
D-101	0.420 5	0.070 2	44.61	51.83
D-101-1	0.237 3	0.154 5	68.74	74.02

由表 4 可以看出,这 5 种树脂对总丹参酮的吸附量以 D101-1 树脂较大,且解析率最高,故优选 D101-1 这种具有疏水性表面结构,适于从极性溶剂中吸附非极性溶质的树脂来富集丹参地上部分总丹参酮最为适宜。

**2.6 验证试验** 分别按正交试验组合  $A_1B_2C_2$  和  $A_1B_2C_3$  做如下验证试验:即取 5.0 g 丹参地上部分粗粉,精密称定,每种试验组合各平行制备 5 份进行提取,测定总丹参酮含量。结果平均值分别为  $70.256 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  (RSD 1.30%),  $78.144 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  (RSD 1.22%)。可见正交试验组合  $A_1B_2C_3$  提取率高,重复性好,在试验温度下丹参酮类比较稳定,说明该提取工艺稳定可行。因此优选出最佳工艺为  $A_1B_2C_3$ 。

即丹参地上部分粗粉,加入 90% 乙醇 12 倍量回流提取 2 次,每次 1.5 h。

#### 4 讨论

丹参酮类可溶于三氯甲烷、甲醇、乙醇,不溶于水,考虑到大生产的适用性,本工艺采用乙醇作溶剂提取有效部位总丹参酮。丹参酮类遇热易分解,因此提取时温度宜控制在 85 ℃ 左右,醇提液中乙醇的回收应在较低温度(60 ℃)和减压条件下操作。

据研究报道<sup>[7]</sup>,丹参叶中水溶性成分丹参素和原儿茶醛的含量比丹参根中要高。从本实验结果来看,丹参地上部分总丹参酮的含量约为根的 3%,因此从增加或寻找新药源途径和保障资源可持续利用的角度来看,丹参地上部分均具有较好的开发应用价值,本实验为丹参的综合利用提供了一定的依据。

通过静态吸附试验,从 5 种树脂中初步筛选出 D101-1 树脂对总丹参酮的吸附率和解析率都较高,在本实验的基础上通过进一步的研究,以期将大孔吸附树脂用于富集、分离纯化丹参地上部分中总丹参酮。

#### [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2005:52.
- [2] 房其年,张佩玲,徐宗沛.丹参抗菌有效成分的研究[J].化学学报,1976,34(3):197.
- [3] 王庆伟,杨频,张立伟.丹参酮的有效分离[J].山西大学学报:自然科学版,1994,17(3):294.
- [4] 杨小宁,唐星,柳玉石.丹参中总酚酸的分离纯化工艺研究[J].中草药,2007,38(6):843.
- [5] 王玥,杜守颖,马勇.丹参药材提取工艺的研究[J].北京中医药大学学报,2010,33(8):562.
- [6] 苏子仁,曾惠芳,曾元儿,等.丹参醇提工艺中丹参酮 II<sub>A</sub> 降解动力学研究[J].中成药,1997,19(12):1.
- [7] 王新胜,吴艳芳,赵瑞娜.丹参地上部分活性成分 TLC 分析[J].海峡药学,2007,19(12):46.

[责任编辑 全燕]