

0.28%。

2.9 加样回收率试验:精密称取批号 J00263 的利腹丸约 3.0 g,平行操作 6 份,精密加入 0.2 mg/mL 丹参酮Ⅱ_A对照品 4 mL,制备供试品溶液,进样测定,计算得回收率为 100.1%,RSD 为 0.35%。

2.10 样品测定:取本品共 5 批,每批平行 2 份,制备供试品溶液,进样测定,记录峰面积,按外标法计算,结果见表 1。

3 讨论

供试品溶液的制备时,考察了加热回流,超声 30、45 min 处理,结果表明,超声处理和加热回流提取所得的丹参酮Ⅱ_A的量相近,但超声处理所得供

表 1 利腹丸中丹参酮Ⅱ_A的测定结果

Table 1 Determination of tanshinoneⅡ_A in Lifu Pills

批 号	丹参酮Ⅱ _A /(mg·g ⁻¹)
J00263	0.258
J00501	0.251
JF0320	0.249
JF0325	0.254
JF0451	0.253

试品溶液不稳定,故实验选用加热回流提取制备供试品溶液。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol I. 2005.
- [2] Zhang H, Zhu J G. Quality standard of Huoxuejiangu Capsules [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2004, 26(10): 815.

丹参中丹酚酸 B 的提取工艺研究

张 昀,刘 路,李 钦

(河南大学药学院,河南 开封 475001)

丹参水溶性有效成分多具有酚酸性结构,主要由丹参素,丹酚酸 A、B、C、D、E 等含酚羟基的化合物构成,其中丹酚酸 B 的量最高,为 3 个分子丹参素与 1 个分子咖啡酸缩合而成,是丹参发挥疗效作用的主要物质之一。目前研究较多的有总丹酚酸(total salvianolic acid)、丹酚酸 A(salvianolic acid A)和丹酚酸 B(salvianolic acid B)^[1]。本实验针对丹酚酸 B 对热的不稳定性,本实验比较了水提法、超声提取法和闪式破碎提取法处理丹参样品,为进一步优化丹酚酸 B 的提取条件提供参考。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC—2010A 高效液相色谱仪,KQ—300VDE 超声提取器(昆山市超声仪器有限公司),JHBE—50A 闪式提取器(北京金鼎科技发展有限公司),RE—52 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)。

甲醇、乙腈为色谱纯,乙醇、甲酸为分析纯,实验用水为超纯水,丹酚酸 B 对照品(中国药品生物制品检定所,批号 111562-200504);丹参药材购于开封市医药药材采购供应站天济药店,经河南大学中药教研室鉴定为唇形科植物丹参 *Saliva miltiorrhiza* Bunge 的干燥根及根茎。

2 方法与结果

2.1 丹酚酸 B 的 HPLC 法测定^[2]

2.1.1 色谱条件:色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 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:286 nm;体积流量:1 mL/min;进样量:10 μL。

2.1.2 样品的测定:取提取液干粉,精密称取 0.2 g,置 50 mL 量瓶中,加水溶解并加至刻度,进样测定,计算。

2.2 水提法的考察^[3]

2.2.1 影响水提法的因素水平的选择:选择加水量(A)、浸泡时间(B)、提取时间(C)和提取次数(D) 4 个因素,见表 1。

表 1 水提法的因素水平

Table 1 Factors and levels of water extracting method

水平	因 素			
	A/倍	B/h	C/h	D/次
1	6	0	0.5	1
2	8	3	1	2
3	10	6	1.5	3

2.2.2 水提法的结果及分析:取丹参粗粉 25 g,精密称定,按 L₉(3⁴) 正交试验表条件操作,煎煮后加 75%乙醇,滤过,合并滤液,减压浓缩至干,测定,以丹酚酸 B 的量为指标,筛选丹参水提工艺条件,结果见表 2。可知因素 A 对丹酚酸 B 的提取影响较大,其次为因素 C、D,结合生产实际,故拟定最佳提取条件为

收稿日期:2006-10-16

作者简介:张 昀(1978—),女,河南开封人,讲师,河南大学药学院中药学研究生,主要从事中药新药开发与质量标准研究。

E-mail:zhangyun@henu.edu.cn

A₂B₂C₂D₂, 即加 8 倍量的水, 浸泡 3 h, 煎煮 2 次, 每次 1 h, 验证试验所得丹酚酸 B 的量为 4.90%。

表 2 水提法 L₉(3⁴) 正交试验结果
Table 2 Results of L₉(3⁴) orthogonal test of water extracting method

试验号	A	B	C	D	丹酚酸 B/%
1	1	1	1	1	1.56
2	1	2	2	2	3.11
3	1	3	3	3	3.34
4	2	1	2	3	4.63
5	2	2	3	1	3.93
6	2	3	1	2	4.89
7	3	1	3	2	4.66
8	3	2	1	3	4.75
9	3	3	2	1	4.13

2.3 超声提取法的考察^[4]

2.3.1 影响超声提取法的因素水平的选择: 选择加水量(A)、浸泡时间(B)、超声时间(C)和超声次数(D)4 个因素, 见表 3。

表 3 超声提取法的因素水平
Table 3 Factors and levels of ultrasonic extracting method

水平	因 素			
	A/倍	B/h	C/min	D/次
1	6	0	15	1
2	8	3	30	2
3	10	6	45	3

2.3.2 超声提取的正交试验结果分析: 精称丹参粗粉 25 g, 精密称定, 按 L₉(3⁴) 正交试验表条件操作, 超声提取后加 75% 乙醇, 滤过, 合并滤液, 减压浓缩至干, 测定, 以丹酚酸 B 的量为指标, 筛选丹参超声提取工艺条件, 结果见表 4。可见因素 C 对丹酚酸 B 的提取影响较大, 其次为因素 D, 从节约能源的角度考虑, 故拟定最佳提取条件为 A₂B₂C₂D₂, 即用 8 倍量水浸泡 3 h, 超声 30 min, 提取 2 次, 验证试验所得丹酚酸 B 的量为 4.25%。

2.4 闪式破碎提取方法与结果: 取丹参饮片 25 g, 精密称定, 加水 500 mL 浸泡, 闪式破碎提取累计 10 min, 使其充分破碎后, 加 75% 乙醇, 滤过, 合并滤液, 减压浓缩至干, 测定, 以丹酚酸 B 的量为指标, 结果见表 5。

3 讨论

将 3 种常用的提取方法进行对比, 发现破碎提取法效率最高, 这是因为丹参中所含丹酚酸类成分为其主要水溶性有效成分, 但随着加热时间的延长, 丹酚酸 B 等大分子物质水解为丹参素, 提取时间越长, 丹酚酸 B 的量越少。因此, 破碎提取法可以减少丹酚酸 B 的损失, 只需浸泡 4 h 即可达到加热回流提取 2 h 所得丹酚酸 B 产量的将近 90%。破碎提取法是一种新兴的提取方法, 具有的快速、高效、节省能源和试剂、操作简便等优点^[5], 是回流提取法、超声提取法所无法比拟的。

表 4 超声提取的 L₉(3⁴) 正交试验结果
Table 4 Results of L₉(3⁴) orthogonal test of ultrasonic extracting method

试验号	A	B	C	D	丹酚酸 B/%
1	1	1	1	1	1.86
2	1	2	2	2	4.22
3	1	3	3	3	3.95
4	2	1	2	3	4.05
5	2	2	3	1	3.90
6	2	3	1	2	3.80
7	3	1	3	2	3.64
8	3	2	1	3	3.58
9	3	3	2	1	4.12

表 5 闪式破碎结果
Table 5 Results of smashing extraction method

浸泡时间/h	丹酚酸 B/%	浸泡时间/h	丹酚酸 B/%
0	2.67	8	4.97
2	4.10	10	4.98
4	4.45	12	4.99
6	4.50		

References:

[1] Ni L J, Shi X J, Gao X J, et al. Study of effect of extracting time and solvent on the quality of extract of *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2003, 25(10): 780-782.
[2] Ch P (中国药典) [S]. Vol I. 2005.
[3] Li X J, Liu Y M, Zhao X R, et al. Study on extraction method of water-soluble active principles of *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med* (中国中医药信息杂志), 2005, 12(12): 49-50.
[4] Wang M G, Li L, Liu X P, et al. Extraction of salvianolic acid B from Danshen (*Salvia miltiorrhiza* Bge.) and determination by HPLC method [J]. *Res Prac Chin Med* (现代中药研究与实践), 2004, 18(Suppl): 62-63.
[5] Wu D M. Application of Blitzkrieg extractor in Chinese materia medica research [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2006, 12(7): 34.