

丹参分析样品中丹参酮的超声波辅助提取

胡广林^{1*}, 王小如², 黎先春³(1. 海南大学理工学院, 海口 570228; 2. 厦门大学化学系, 厦门 361005;
3. 国家海洋局第一海洋研究所现代分析技术及中药标准化重点实验室, 青岛 266061)

摘要: 为了提取丹参分析样品中隐丹参酮、丹参酮 I 及丹参酮 IIA 等有效成分, 建立了以 $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 为提取溶剂的超声波辅助提取法。优化的提取条件是: 液/固比: 133.3 mL/g, 提取溶剂组成: $(\text{CH}_2\text{Cl}_2) = 0.2$, 提取时间: 8 min。与几种常规提取法(如甲醇回流法、 $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 室温浸取法)相比较, 超声波辅助提取法具有提取时间短、丹参酮提取量高等优点, 适用于丹参中隐丹参酮、丹参酮 I 及丹参酮 IIA 同时测定的样品前处理。

关键词: 超声波辅助萃取; 丹参酮; 丹参; 样品前处理

中图分类号: R284.2; Q949.777.6

文献标识码: A

Ultrasound-assisted Extraction of Tanshinones from Analytical Samples of *Salvia miltiorrhiza* Bge.

HU Guang-lin^{1*}, WANG Xiao-ru², LI Xian-chun³

(1. College of Science and Engineering, Hainan University, Haikou 570228, China; 2. Department of Chemistry, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 3. Qingdao Key Laboratory of Analytical Technology Development and Standardization of Chinese Medicine, the First Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, Qingdao 266061, China)

Abstract: An ultrasound-assisted extraction method for cryptotanshinone, tanshinone I and tanshinone IIA from analytical samples of *Salvia miltiorrhiza* Bge. was established. The optimal extraction conditions were obtained as follows: $(\text{CH}_2\text{Cl}_2) = 0.2$, $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ as extracting solvents, 8 min of extraction time and 133.3 mL/g of extracting solvent-to-sample ratio. Compared with conventional methods, such as methanol reflux extraction and $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ macerating at room temperature, the method of ultrasound-assisted extraction has the advantages of short extraction time and high efficiency for extracting tanshinones, which suggests that it is suitable for sample pretreatment in the simultaneous determination of cryptotanshinone, tanshinone I and tanshinone IIA in *Salvia miltiorrhiza* Bge.

Key words: ultrasound-assisted extraction; tanshinones; *Salvia miltiorrhiza* Bge.; sample pretreatment

唇形科植物丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge.)为鼠尾草属植物,传统以其干燥根茎入药,具有祛瘀止痛,活血通经,清心除烦等功效,主要用于治疗月经不调,经闭痛经,症瘕积聚,胸腹刺痛,热痹疼痛,疮疡肿痛,心烦不眠,肝脾肿大,心绞痛等症。丹参酮是丹参的一类有效成分,为一组脂溶性萘醌类成分,包括丹参酮 I、丹参酮 IIA、丹参酮 IB、隐丹参酮、二氢丹参酮等,其中丹参酮 IIA 为丹参质量控制的指标成分之一^[1,2]。目前,常见于文献的丹参分析样品中丹参酮的提取方法有甲醇回流提取^[1,2]及甲醇-二氯甲烷浸取^[3]等方法,但它们都比较费时,使分析速度受到一定限制。超声波辅助萃取具有设备简

单、省时、提取率高等优点,近年来已成功用于天然产物分析样品前处理中^[4-7]。本文旨在建立一种超声波辅助提取法,使其可应用于从丹参分析样品中快速、高效地提取隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 IIA。

1 实验部分

1.1 仪器与材料

B5210EMT 型超声波清洗器(40 kHz, 185 W, Branson, USA)。超纯水由 MilliQ 超纯水装置制备。隐丹参酮、丹参酮 I 及丹参酮 IIA 的对照品由中国药品生物鉴定所提供。甲醇和二氯甲烷为色谱纯试剂。将丹参药材用粉碎机粉碎,过 80 目筛,贮存于干燥器中备用。

1.2 丹参酮的超声波辅助提取

在具塞玻璃管中加入准确量的丹参粉末和提取

收稿日期: 2005-08-21

接受日期: 2005-10-14

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(20235020)

* 通讯作者 Tel: 86-898-66290739; E-mail: ZN.YL.SF16777@sina.com

溶剂,在超声波水浴中超声提取一定时间,过滤,滤液过 0.45 μm 过滤膜,清液用于 HPLC 分析。

1.3 丹参酮的测定方法

用高效液相色谱法同时测定丹参提取液中隐丹参酮、丹参酮及丹参酮 A 含量。色谱柱:Alltech C18 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水 (80:20), 检测波长:254 nm, 流速:1 mL/min, 进样体积:10 μL 。

2 结果与讨论

2.1 超声波辅助提取方法的建立

2.1.1 提取溶剂及液/固比的选择

根据文献^[3],选择甲醇-二氯甲烷混合溶剂为提取溶剂,液/固比为 133.3 mL/g。实验中,试样重量固定为 75 mg,提取溶剂的体积相应为 10 mL。

2.1.2 提取溶剂组成的确定

为了同时、高效提取丹参中隐丹参酮、丹参酮及丹参酮 A,研究了提取溶剂 $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 组成对丹参酮提取量的影响。实验中采用同一样品,提取时间固定为 30 min,液/固比固定为 133.3 mL/g。图 1 给出了 3 种丹参酮的提取量在不同的 (CH_2Cl_2) 下的变化曲线。由图 1 可见,在 $(\text{CH}_2\text{Cl}_2) = 0.1 \sim 0.6$ 间,3 种丹参酮的提取量均达到最大并且无显著改变。考虑到 CH_2Cl_2 的挥发性较强,提取溶剂中 CH_2Cl_2 的含量不宜过高,故确定提取溶剂的组成为 $(\text{CH}_2\text{Cl}_2) = 0.2$ 。

2.1.3 提取时间的确定

液/固比固定为 133.3 mL/g,用 $(\text{CH}_2\text{Cl}_2) = 0.2$ 的 $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 作提取溶剂,在同一样品上考察了提取时间对丹参酮提取量的影响,结果示于图 2。由图 2 可见,在提取时间 5 ~ 90 min 间,3 种丹参酮的提取量均无显著改变,表明在超声波能量的辅助下,3 种丹参酮均能被快速浸出并传质于提取溶剂中。本文确定提取时间为 8 min,以实现样品的快速提取。

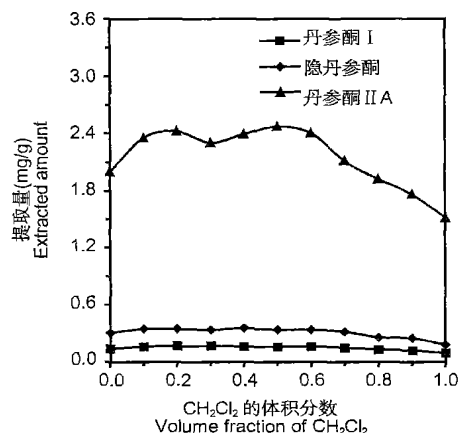


图 1 丹参酮提取量与 $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 组成的关系曲线图

Fig. 1 Effect of $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ratio on the extracted amount of tanshinones

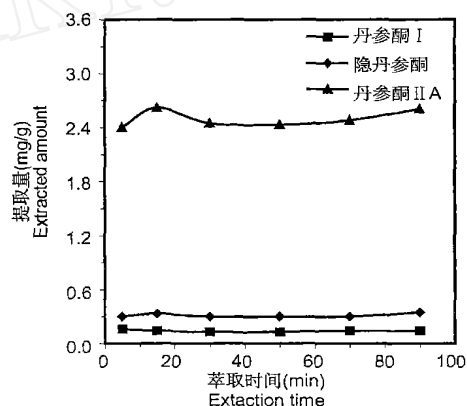


图 2 提取时间对丹参酮提取量的影响

Fig. 2 Effect of extraction time on the extracted amount of tanshinones

2.2 超声波辅助提取与其它提取方法的比较

比较了超声波辅助提取与 4 种其它提取方法对丹参分析样品中 3 种丹参酮的提取效果。用于比较的丹参酮提取方法有甲醇回流提取^[1,2]、甲醇热浸取、甲醇室温浸取及甲醇-二氯甲烷浸取^[3],见表 1。

表 1 用于比较的丹参酮提取方法

Table 1 Other methods for extracting tanshinones for comparison

提取方法 Extraction method	操作步骤 Operating procedure
甲醇回流提取 Methanol reflux	称取丹参粉末 0.3 g, 置于锥形瓶中, 加甲醇 50 mL, 加热回流 1 h
甲醇热浸取 Methanol hot macerating	称取丹参粉末 0.3 g, 置于 100 mL 聚丙烯瓶中, 加入 50 mL 甲醇, 密塞, 于 57 °C 静态浸取 72 h
甲醇室温浸取 Methanol macerating at room temperature	称取丹参粉末 0.3 g, 置于 100 mL 聚丙烯瓶中, 加入 50 mL 甲醇, 密塞, 于室温静态浸取 72 h
甲醇-二氯甲烷浸取 $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ macerating	称取丹参粉末 75 mg, 置于磨口带塞的 10 mL 离心管中, 加入甲醇-二氯甲烷 (1:4) 10 mL, 振荡数次, 浸泡 1 h。

采用不同提取方法得到的丹参酮提取量列于表 2。由表 2 可见,各提取方法对总丹参酮提取量的顺序为:超声波辅助提取 > 甲醇室温浸取 > 甲醇-二氯甲烷浸取 > 甲醇回流提取 > 甲醇热浸取,而且,超声波辅助提取法的总丹参酮提取量是甲醇室温浸取法

的 1.92 倍。此外,甲醇室温提取率优于热浸取。显然,本文建立的超声波辅助提取法与甲醇回流提取法、甲醇热浸取法、甲醇室温浸取法及甲醇-二氯甲烷浸取法相比,提取速度最快、提取量最高,因而提取效果最佳。

表 2 不同提取方法的丹参酮提取量 ($\bar{x}, n=6$)

Table 2 Tanshinones extracted amount for different extraction methods ($\bar{x}, n=6$)

提取方法 Extraction method	提取量 Extracted amount (mg/g)			
	隐丹参酮 Cryptotanshinone	丹参酮 Tanshinone	丹参酮 Tanshinone	总丹参酮** Total tanshinones
超声波辅助提取* Ultrasound-assisted Extraction	0.3605 ±0.0143	0.1700 ±0.0005	2.4446 ±0.0116	2.9750 ±0.0264
甲醇回流提取 Methanol reflux	0.1860 ±0.0028	0.0968 ±0.0004	1.1866 ±0.0063	1.4694 ±0.0094
甲醇热浸取 Methanol hot macerating	0.1586 ±0.0043	0.0694 ±0.0018	1.1169 ±0.0602	1.3450 ±0.0606
甲醇室温浸取 Methanol macerating at room temperature	0.1798 ±0.0069	0.0853 ±0.0025	1.4234 ±0.0632	1.6885 ±0.0703
甲醇-二氯甲烷浸取 CH ₃ OH-CH ₂ Cl ₂ macerating	0.1809 ±0.0056	0.0824 ±0.0003	1.2848 ±0.0016	1.5531 ±0.0146

*本文建立的提取方法,**总丹参酮提取量为 3 种丹参酮提取量之和。

3 结论

本文建立的超声波辅助提取法是一种新的提取丹参中丹参酮的方法。与甲醇回流提取、甲醇-二氯甲烷浸取等常规提取方法相比,本法在提取速度、提取量等方面均具有明显优势,特别适宜用于丹参中隐丹参酮、丹参酮 A 及丹参酮 B 同时测定的样品前处理。

参考文献

- 1 State Committee of Pharmacopoeia (国家药典委员会). Pharmacopoeia of People's Republic of China, part I (中华人民共和国药典,一部), 2000 ed. Beijing: Chemistry Industry Press, 2000.
- 2 State Committee of Pharmacopoeia (国家药典委员会). Pharmacopoeia of People's Republic of China, part I (中华人民共和国药典,一部), 2005 ed. Beijing: Chemistry Industry Press, 2005.
- 3 Wang MZ (王慕邹), Yan FS (燕福生), Gao FY (高凤英), et al. Determination of three tanshinones in *Salvia miltiorrhiza* Bge. by high performance liquid chromatography. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1985, 5: 348-350.
- 4 Fu Y (付玉杰), Zhao WH (赵文灏), Hou CL (侯春莲), et al. Determination of the glycyrrhizic acid content from *Glycyrrhiza uralensis* by HPLC. *Bull Bot Res* (植物研究), 2005, 25: 310-212.
- 5 Zhang Y (张英), Wei Y (韦异), Su H (粟晖). Determination of ecdysterone in *Achyranthes bidentata* Blume by RP-HPLC with ultrasonic extraction. *Chin J Spectrosc Lab* (光谱实验室), 2002, 19: 668-671.
- 6 Guo MQ (郭明全), Song FR (宋凤瑞), Chen ML (陈貌连), et al. Determination of total saponins in leaves of *Acanthopanax senticosus* by ultrasonic extraction-spectrophotometry. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2002, 30: 250.
- 7 Liu JR (刘金荣), Jiang FS (江发寿), Dan JM (但建明), et al. Determination of polysaccharides in *Eremurus indenensis* (M. B.) Rgl. after ultrasonic extraction. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33: 322-323.