

文章编号: 1001-6880(2007)01-0120-03

# 回流提取过程中丹参酮的热降解行为研究

胡广林<sup>1\*</sup>, 王小如<sup>2</sup>, 黎先春<sup>3</sup><sup>1</sup>海南大学理工学院 热带生物资源教育部重点实验室, 海口 570228; <sup>2</sup>厦门大学化学系, 厦门 361005<sup>3</sup>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:** 用甲醇作提取溶剂, 在回流条件下考察了从丹参药材中提取丹参酮类有效成分的过程中, 隐丹参酮、丹参酮 I 及丹参酮 II 等三种丹参酮的热降解行为。结果表明, 回流提取过程中所考察的三种丹参酮均发生严重的热降解, 降解速率: 丹参酮 II > 丹参酮 I > 隐丹参酮, 其热降解均具有零级反应动力学特征; 同时, 回流提取过程中丹参酮的热降解是在丹参酮共萃物存在下发生的。

**关键词:** 热降解; 丹参酮; 丹参; 回流提取

中图分类号: R284.2; Q949.777.6

文献标识码: A

## Study on the Thermal Degradation Behavior of Tanshinones during the Process of Reflux Extraction

HU Guang-lin<sup>1\*</sup>, WANG Xiao-ru<sup>2</sup>, LI Xian-chun<sup>3</sup><sup>1</sup>Key Laboratory of Tropic Biological Resources of Chinese Education Ministry, College of Science and Engineering, Hainan University, Haikou 570228, China; <sup>2</sup>Department of Chemistry, Xiamen University, Xiamen 361005, China;<sup>3</sup>Qingdao Key Laboratory of Analytical Technology Development and Standardization of Chinese Medicine, the First Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, Qingdao 266061, China

**Abstract** Thermal degradation behavior of cryptotanshinone, tanshinone I and tanshinone II has been studied during the process of reflux extraction of tanshinones from *Salvia miltiorrhiza* Bge with methanol as extracting solvent. The obtained results showed that the thermal degradation of cryptotanshinone, tanshinone I and tanshinone II occurred obviously during reflux extraction in the order of degradation rate: tanshinone II > tanshinone I > cryptotanshinone, and their thermal degradation was featured with zero order reaction meanwhile, it was under the existence of other components co-extracted with tanshinones that the thermal degradation of cryptotanshinone, tanshinone I and tanshinone II occurred.

**Key words** thermal degradation; tanshinones; *Salvia miltiorrhiza* Bge; reflux extraction

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<sup>[1]</sup>。丹参酮是丹参的一类有效成分, 为一组脂溶性菲醌类成分, 包括丹参酮 I、丹参酮 II、丹参酮 III、隐丹参酮、二氢丹参酮等。对于丹参药材及其乙醇提取液后处理工序中丹参酮 II<sup>[2,3]</sup>、总丹参酮<sup>[4]</sup>的降解动力学特征, 已有文献报道。我们研究丹参分析样品中丹参酮类有效成分提取方法时, 观察到丹参酮类化合物在甲醇回流提取过程中也存在热降解问题<sup>[5]</sup>。本文对丹参酮 I、丹参酮 II 及隐丹参酮在甲醇回流提取过程

中的热降解行为作进一步报道。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

超纯水由 Milli-Q 超纯水器制得。甲醇为 HPLC 级试剂。丹参酮 I、丹参酮 II 及隐丹参酮对照品由中国药品生物鉴定所提供。丹参酮混合标准溶液: 准确称取适量丹参酮 I、丹参酮 II、隐丹参酮标准品, 用甲醇配制成浓度均为 300 μg/mL 的混合标准溶液。

### 1.2 人工合成样品的制备

称取丹参样品 (60 目) 10 g 置于索氏 (Soxhlet) 提取器中用 100 mL 甲醇加热回流提取 96 h, 经测定此时丹参酮 I、丹参酮 II、隐丹参酮已完全从丹参样品中除去。取出残渣, 挥去甲醇, 制得基体空白样品。准确称取基体空白样品 3 g 置于具塞锥形瓶

收稿日期: 2005-12-21 接受日期: 2006-01-16

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: ynyslf6777@sina.com

中,加入 10 mL 丹参酮混合标准溶液, 密塞静置 24 h 挥去甲醇, 制得丹参酮 I、丹参酮 II、隐丹参酮含量均为 333.3 μg/g 的人工合成样品。

1.3 样品提取<sup>[6]</sup>

准确称取丹参粉末(60目)0.3 g 置于具塞烧瓶中,加甲醇 50 mL, 密塞, 称定重量, 加热回流 10~60 min 用流水迅速冷却至室温, 密塞, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 待测。

1.4 丹参酮的测定方法

用反相高效液相色谱法测定丹参酮含量。色谱柱: Alltech C<sub>18</sub> (4.6 mm × 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 回流提取过程中丹参酮热降解的动力学特征

为了揭示甲醇回流提取过程中, 丹参酮类化合物(丹参酮 I、丹参酮 II 及隐丹参酮)热降解过程的动力学特征, 我们详细考察了丹参酮的表观提取量随回流时间的变化关系。在表 1 中, 给出了不同回流时间下丹参酮在甲醇相中的含量。由表 1 可见, 随着回流时间的逐渐增加, 提取液中丹参酮 I、丹参酮 II、隐丹参酮及总丹参酮的含量不仅没有增加, 相反地, 提取液中各丹参酮及总丹参酮的含量均逐渐发生不同程度的减小。回流时间  $t = 10 \sim 60$  min 间, 丹参酮 I、丹参酮 II、隐丹参酮、总丹参酮含量的减少率分别为 51.8%、44.7%、49.9%、45.9%, 由此表明, 在甲醇回流提取过程中, 丹参酮 I、丹参酮 II 及隐丹参酮等 3 种丹参酮都发生了严重的热降解。

表 1 丹参酮在甲醇相中的含量随回流时间的变化

Table 1 Change of amount of tanshinones in methanol with reflux time

回流时间 Reflux time (min)	丹参酮含量 Content of tanshinones (mg/L)			总丹参酮含量* Content of total tanshinones (mg/L)
	丹参酮 I Tanshinone I	丹参酮 II Tanshinone II	隐丹参酮 Cryptotanshinone	
10	1227.0	9363.6	1182.0	11772.6
20	1065.6	8545.2	1136.4	10747.2
30	1000.2	8227.2	1045.2	10272.6
40	818.4	7182.0	909.0	8909.4
50	636.6	6227.4	772.8	7636.8
60	591.0	5181.6	591.7	6364.3

注: \* 总丹参酮含量为表中 3 种丹参酮含量之和。

表 2 丹参酮在甲醇相中的含量与回流时间之间的线性关系  
Table 2 Linearity relationship between amount of tanshinones in methanol and reflux time

丹参酮 Tanshinones	线性回归方程 Equation of linear regression	相关系数 Correlation coefficients (r)	相关系数临界值 Threshold values of correlation coefficients (r <sub>0.05</sub> )
丹参酮 I	$c = -13.282t + 1354.7$	-0.9895	0.8114
丹参酮 II	$c = -82.596t + 10345$	-0.9902	0.8114
隐丹参酮	$c = -11.939t + 1357.4$	-0.9824	0.8114
总丹参酮	$c = -107.82t + 13057$	-0.9916	0.8114

对表 1 中丹参酮含量、回流时间之间进行相关性检验, 得到丹参酮在甲醇相中的含量与回流时间之间的线性关系, 结果示于表 2。在样本数  $n = 6$  时, 显著性水平为 0.05 的相关系数临界值  $r = 0.8114$ 。由表 2 可见, 对 3 种丹参酮及总丹参酮的线性回归方程, 其相关系数的绝对值  $|r| > r_{0.05}$ 。因此, 丹参酮 I、丹参酮 II、隐丹参酮等 3 种丹参酮及总丹参酮在甲醇相中的含量 ( $c$ ) 与回流时间 ( $t$ ) 都呈现良好的线性负相关关系; 这就表明, 回流时间在 10~60 min 间, 丹参粉末样品、甲醇溶剂组成的非均相系统中丹参酮类化合物(丹参酮 I、丹参酮 II 及隐丹参酮)所发生的热降解过程具有零级反应动力学特征。这种热降解特征, 与丹参酮 II 在乙醇提取液中的热降解特征一致<sup>[3]</sup>。从表 2 中线性回归方程的斜率, 进一步可知, 丹参酮 II 的降解速率最高, 丹参酮 I 次之, 隐丹参酮最小, 但丹参酮 I 与隐丹参酮的降解速率相差不大。

2.2 回流提取过程中丹参酮热降解的影响因素

温度、水分、光等<sup>[3,5,7]</sup>因素都可引起丹参酮类化合物的降解。为了确定甲醇回流提取过程中引起丹参酮类化合物(丹参酮 I、丹参酮 II 及隐丹参酮)发生降解的因素, 用人工合成样品(参见本文 1.2 节)进行了对照提取试验, 对照提取试验条件与前文相同, 回流 1 h 后测定各丹参酮的提取量。根据提取量, 计算得到人工合成样品中丹参酮 I、丹参酮 II、隐丹参酮的回收率 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ ) 分别是: 100.8% ± 4.2%、100.5% ± 5.0%、98.7% ± 4.2%。这表明在甲醇回流提取过程中人工合成样品中的丹参酮没有发生降解。由于制备人工合成样品时, 已

从实际丹参药材样品中将甲醇回流提取条件下与丹参酮共同萃取的那部分基体组分(即丹参酮的共萃物)除去,因此,人工合成样品在对照提取实验中不产生丹参酮的共萃物。可见,回流提取过程中丹参酮的热降解是在其共萃物存在下发生的。根据文献报道,丹参醇提液中丹参酮 IIA 在室温下贮藏 0~20 d 期间含量变化甚微<sup>[4]</sup>,在 70 °C 下却出现显著降解<sup>[5]</sup>。因此,可以确定回流提取过程中丹参酮的热降解受其共萃物和提取温度两个因素同时制约。

#### 参考文献

- 1 Wang DP(王道平), Zhou X(周欣), Liang GY(梁光义), *et al*. The comparison of effective components in Radix *Salvia miltiorrhiza* from different habitats *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2005, 17: 70-72
- 2 Du ZQ(杜志谦), Feng K(冯坤), Liu YG(刘月桂), *et al*. Regularity of lowering heated contents of tanshinone IIA in root of *Salvia miltiorrhiza* *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33: 892-893
- 3 Su ZR(苏子仁), Zeng HF(曾惠芳), Zeng YE(曾元儿), *et al*. Study on degradation dynamics of tanshinone IIA in a alcohol-extract of radix *salviae miltiorrhizae* during evaporating concentrating and drying processes *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1997, 19(12): 1-3
- 4 Wei Q(卫强), Pan LM(潘利明), Liang XY(梁晓原). Inspection of degradation dynamics of the total ketone of *Salviae miltiorrhiza* in the technique of extracting alcohol from *Dian miltiorrhiza* *Yunnan J Tradit Chin Med Mater Med* (云南中医中药杂志), 2005, 26(2): 44-45
- 5 Hu GL(胡广林), Wang XR(王小如), Li XC(黎先春). Ultrasound-assisted extraction of tanshinones from analytical samples of *Salvia miltiorrhiza* *Bge Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2006, 18: 1010-1012
- 6 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). Beijing: Chemistry Industry Press, 2000
- 7 Zhang QY(张青云). Elementary study on HPLC fingerprint of lipophilic components in Fufang Danshen Pian *J Huaihai Med* (淮海医药), 2004, 22: 71-72
- 8 Zhang WJ(张惟杰). Complex Polysaccharide Research with Biochemical Technology (糖复合物生化研究技术). Hangzhou: Zhejiang University Press, 1994: 10-12
- 9 Wang WG(王卫国), Wu Q(吴强), Hu BK(胡宝坤), *et al*. Comparative study on determination methods of residual protein in *Griboian Edible Fungi China* (中国食用菌), 2002, 22: 27-30
- 10 Feng ZX(丰朝霞), Zhang H(张鸿). Determination of pachyman with UV spectrophotometry. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2000, 11: 109-110
- 11 Guo ML(郭敏亮), Jiang YM(姜永明). Effect of ingredients of coomassie brilliant blue color-developing reagent on protein assay *Prog Biochem Biophys* (生物化学与生物物理进展), 1996, 23: 558-561
- 12 Wang DN(王多宁), Zhao YW(赵雁武), Tian FR(田芙蓉). Protein quantification with coomassie brilliant blue microplate colorimetric *J Fourth Military Med Univ* (四军医大学学报), 2001, 22: 528-529
- 13 Habibi Y, Heyraud A, Mahrour M, *et al*. Structural features of pectic polysaccharides from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits *Carbohydrate Research*, 2004, 39: 1119-1127

(上接第 119 页)