

泰山产的3种丹参有效成分含量的分析比较

李 香¹, 齐永秀² (1. 山东省胸科医院药剂科, 山东 济南 250013; 2. 泰山医学院药理学系, 山东 泰安 271000)

摘要 目的: 分析比较泰山产的3种丹参根、茎、叶有效成分的含量。方法: 应用 RP-HPLC 方法测定泰山产的3种丹参根、茎、叶部位中的总丹参酮、丹参酮 II A、丹参素、原儿茶醛含量, 进行分析比较。结果: 丹参根中脂溶性成分含量较多; 丹参叶中丹参素的含量相对较高。结论: 本分析方法稳定可靠, 重现性好。

关键词 丹参; 有效成分; 含量比较

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2008)05-0362-03

Content comparasion of effective components in *Salvia miltiorrhiza* collected from Mountain Tai

LI Xiang¹, QI Yong-xiu² (1. Phatmacy, Shandong Provincil Chest hospital, Jinan 250013, China; 2. Department of pharmacy, Taishan medical college, Taian 271000, China)

ABSTRACT Objective: To analyze and compare the content of effective components of root, stem and leaf which are in three different kinds of *Salvia miltiorrhiza* collected from Taishan. **Methods:** Using RP-HPLC to determine the quality of effective components such as tanshinone, tanshinone II A, danshensu and protocatechualdehyde in different parts of three kinds of *Salvia miltiorrhiza*. **Results:** *Salvia miltiorrhiza* root is rich in fat-soluble component; while *Salvia miltiorrhiza* leaf is rich in danshensu comparatively. **Conclusion:** This method is accurate and reliable with good reproducibility.

KEY WORDS *Salvia miltiorrhiza*; effective components; content comparision

丹参 (*Salvia miltiorrhiza*) 为唇形科植物, 通常以根部入药, 在心脑血管疾病的防治中应用甚广^[1,2]; 同时丹参还具有抗炎、抗肝纤维化的作用, 对消化性溃疡也有一定的治疗作用^[3]。丹参活性是多种成分共同作用的结果, 其活性物质为脂溶性的丹参酮类^[4] (丹参酮 II A、隐丹参酮、二氢丹参酮等) 和水溶性的丹酚酸类^[5] 包括丹参素、原儿茶醛、迷迭香酸、丹酚酸 B)。其中, 脂溶性的丹参酮类为抗心律失常、抗肿瘤、保护心肌的主要成分; 水溶性的丹酚酸类具有抗肝纤维化、抗肝损伤、抗心肌缺血及防治动脉粥样硬化作用^[6,7]。

随着人们对丹参药用价值认识的不断提高, 野生丹参已很难满足日益扩大的市场需求, 许多地方开始人工栽培丹参。由于受产地、气候和生态环境等的影响, 不同产地丹参药材所含主要成分差异较大, 为给栽培丹参与野生丹参的评价提供参考依据, 笔者对泰山产的3种丹参根、茎、叶中的有效成分含量进行了比较。

1 仪器与试剂

作者简介: 李香(1980-), 女, 硕士生。Tel: (0531)88383083, E-mail: lixiang19800204@yahoo.com.cn.
通讯作者: 齐永秀。E-mail: linxiuli@sdu.edu.cn.

1.1 仪器 Waters600 高效液相色谱仪 (Waters 600 Controller, Waters 2996 photodiode Array Detector, WatersTM600 Pump), 循环水式多用真空泵 (郑州长城科工贸有限公司), KQ 3200E 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司), 台式离心机 (上海安亭科学仪器厂制造), 电子分析天平 (上海恒平科学设备有限公司), 恒温水浴锅 (北京市医疗设备厂)。
1.2 试剂 溶剂: 甲醇, 乙腈, 二蒸水, 二甲基甲酰胺, 冰醋酸 (浓度为 99.5%)。对照品: 丹参素, 原儿茶醛, 丹参酮 II A 均购于中国药品生物制品检定所。药材: 以山东泰山地区野生的紫花丹参 (*Salvia miltiorrhiza bge*) 和栽培的白花丹参 (*Salvia miltiorrhiza bge. f. alba*)、紫花丹参为样品, 分根、茎、叶3个部分。丹参 (经泰山医学院药理学系主任高允生鉴定) 于 2005 年 5 月中旬采自泰山, 用水洗去浮土, 自然晾干后于 60~70℃ 条件下烘干, 粉碎备用。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 总丹参酮: 色谱柱 Waters symmetry shieldTM RP18; 流动相 甲醇-水 (90:10), 流速 0.8 mL/min; 检测波长 270 nm; 理论塔板数以总丹参酮峰记不低于 2 025。丹参酮 II A: 色谱柱 Waters sym-

metry shield™ RP₁₈; 流动相乙腈-水(75 : 25), 流速 0.8 mL/min; 检测波长 270 nm; 理论塔板数以丹参酮 II A 峰记不低于 2 055。丹参素与原儿茶醛: 色谱柱 Waters symmetry shield™ RP₁₈; 流动相 A(水 : 二甲基甲酰胺 : 冰醋酸 = 94 : 4.2 : 2.1)-B(甲醇)(90 : 10), 流速 0.8 mL/min; 检测波长 281 nm; 理论塔板数以丹参素峰记不低于 200。

2.2 对照品溶液的配制

2.2.1 丹参酮 II A 标准溶液的配制 精密称取丹参酮 II A 2.5 mg, 用甲醇配制成 50 μg/mL 的对照品储备液。由此稀释得到浓度分别为 5.0、7.5、12.5、25、37.5、50 μg/mL 的一系列丹参酮 II A 溶液。

2.2.2 丹参素与原儿茶醛标准溶液的配制 精密称取丹参素钠 10 mg 和原儿茶醛 5.5 mg 分别用甲醇配成 500 μg/mL 和 55 μg/mL 的对照品储备液。吸取一定体积的丹参素储备液和原儿茶醛储备液置 10 mL 容量瓶中并用甲醇定容至刻度, 得丹参素浓度分别为 1.0、4.0、10、20、40、80 μg/mL, 原儿茶醛浓度分别为 1.1、2.2、5.5、11、22、44、55 μg/mL 的系列二者混合溶液。

2.3 标准曲线的绘制

2.3.1 脂溶性成分标准曲线的建立 在流动相甲醇-水(90 : 10)条件下进“2.2.1”丹参酮 II A 标准溶液 10 μL, 各进样 2 次, 得到总丹参酮线性方程: $Y = 5.88 \times 10^6 X - 1.99 \times 10^5$, $r = 0.999 4$, 线性范围 (5.0 ~ 50) μg/mL。在流动相乙腈-水(75 : 25)条件下进“2.2.1”丹参酮 II A 标准溶液 10 μL, 各进样 3 次, 得到丹参酮 II A 线性方程: $Y = 7.8 \times 10^4 X - 5.41 \times 10^3$, $r = 0.999 4$, 线性范围 (5.0 ~ 50) μg/mL。

2.3.2 水溶性成分标准曲线的建立 在流动相 A(水 : 二甲基甲酰胺 : 冰醋酸 = 94 : 4.2 : 2.1)-B(甲醇)(90 : 10)条件下进“2.2.2”丹参素与原儿茶醛标准溶液 10 μL, 各进样两次, 得到线性方程: 丹参素 $Y = 1.13 \times 10^4 X - 4.27 \times 10^4$, $r = 0.999 9$, 线性范围 (1.0 ~ 80) μg/mL。原儿茶醛 $Y = 9.73 \times 10^4 X - 1.44 \times 10^5$, $r = 0.999 0$, 线性范围 (1.1 ~ 55) μg/mL。

2.4 对照品稳定性试验 取丹参酮 II A 对照品溶液, 于配制后的 0、2、4、8、12、20、24、48 h 测定, 结果表明在 48 h 内稳定。取丹参素、原儿茶醛对照品混合溶液, 同样于配制后的 0、2、4、8、12、20、24、48 h 测定, 结果表明在 48 h 内稳定。

2.5 精密度试验 取上述对照品溶液 20 μL, 连续进样 5 次, 水溶性成分丹参酮、丹参酮 II A 与脂溶性成分丹参素、原儿茶醛 4 个组分峰面积的 RSD 均小于 1.5 %。

2.6 重现性试验 取野生紫花丹参样品, 精密称取 3

份, 每份 1 g, 按供试品的制备方法处理, 进行 RP-HPLC 分析, 结果表明 4 种成分的 RSD 均小于 2.0 %。

2.7 供试液的制备

2.7.1 提取丹参中脂溶性成分^[8,9] 精密称取研磨粉碎的丹参根茎叶各 1 g, 各两份, 放入 10 mL 刻度试管中, 用 10 mL 90 % 的乙醇浸泡 6 h 后超声 30 min, 溶液抽滤, 滤液用 90 % 乙醇定容至 50 mL 量瓶中。移取适量至离心管中离心, 上清液用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 滤液进行 HPLC 分析。

2.7.2 提取丹参中水溶性成分^[10,11] 精密称取研磨粉碎的丹参根茎叶各 1 g, 各 3 份, 放入 10 mL 刻度试管中, 准确加入 2 % 氨水 10 mL, 浸泡, 超声振荡提取 60 min, 溶液抽滤, 然后在沸水浴中加热提取 40 min, 赶走大部分氨, 冷却至室温, 用约 8 mL 冰醋酸调至 pH 3 ~ 3.5, 蒸馏水定容至 25 mL 容量瓶中, 混匀, 静置 2 h, 用快速定性滤纸过滤, 所得提取液为供试液; 并用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 滤液进行 HPLC 分析。

2.8 样品的含量测定

2.8.1 脂溶性成分含量比较 用“2.7.1”方法处理栽培紫花丹参根茎叶, 栽培白花丹参根茎叶, 野生紫花丹参根茎叶的样品, 滤液分别在流动相甲醇-水(90 : 10), 乙腈-水(75 : 25)条件下进样, 提取色谱图波长为 270 nm。

表 1 不同丹参根、茎、叶中脂溶性成分含量比较

样品名	总丹参酮($\bar{x} \pm s$) %	丹参酮 II A($\bar{x} \pm s$) %
栽培紫花丹参根	0.144 0 ± 0.004 5	0.055 0 ± 0.004 5
栽培白花丹参根	0.096 0 ± 0.009 3	0.031 0 ± 0.005 4
野生紫花丹参根	0.249 0 ± 0.006 3	0.091 0 ± 0.001 2
栽培紫花丹参叶	0	0
栽培白花丹参叶	0	0
野生紫花丹参叶	0	0
栽培紫花丹参茎	0.025 5 ± 0.000 9	0.020 5 ± 0.000 9
栽培白花丹参茎	0.015 0 ± 0.000 9	0.015 0 ± 0.000 9
野生紫花丹参茎	0.048 0 ± 0.000 6	0.033 0 ± 0.000 6

表 2 不同丹参根、茎、叶中水溶性成分含量比较

样品名	丹参素($\bar{x} \pm s$) %	原儿茶醛($\bar{x} \pm s$) %
栽培紫花丹参根	0.349 0 ± 0.035 2	0.065 9 ± 0.006 8
栽培白花丹参根	0.510 0 ± 0.008 2	0.081 0 ± 0.001 3
野生紫花丹参根	0.567 0 ± 0.066 5	0.104 0 ± 0.025 2
栽培紫花丹参叶	0.510 0 ± 0.003 2	0.013 9 ± 0.001 2
栽培白花丹参叶	0.370 0 ± 0.002 8	0.008 0 ± 0.000 0
野生紫花丹参叶	0.335 0 ± 0.005 2	0.016 0 ± 0.006 1
栽培紫花丹参茎	0.078 0 ± 0.004 2	0.005 8 ± 0.000 3
栽培白花丹参茎	0.100 0 ± 0.005 7	0.006 6 ± 0.000 3
野生紫花丹参茎	0.160 0 ± 0.000 0	0.011 0 ± 0.000 6

(下转第 371 页)

平均回收率 100.26%，比较满意，而强的松则误差很大。故新 Vierordt 法测定复方制剂，只适合处方量相近或吸收值相近的药物。

表 2 样品测定结果

批号	A _{278nm}	A _{240nm}	A ₂₇₈ ^{氯霉素}	测得量 (μg/mL)	标示量 (μg/mL)
20070403	0.552	0.141	0.554	18.59	92.95
20070417	0.582	0.135	0.587	19.70	98.50
20070508	0.579	0.146	0.582	19.53	97.65
20070710	0.633	0.240	0.610	20.47	102.35

本实验采用此法只测定复方制剂中主药的含

量，排除了其它药物的干扰，方法简便、快速、准确可靠。

参考文献：

- [1] 徐嘉凉,俞善辉,易大年. 联立方程的新解法及其在复方制剂中的应用[J]. 药学学报,1990,9(2):626.
- [2] 彭学莲,崔苏镇,张岩,等. 联立方程新解法测定复方氯霉素醇溶液的含量[J]. 军队医药,1999,9(2):21.
- [3] 李祥,俞炳林. 联立方程新解法测定氯霉素滴眼液中氯霉素含量[J]. 解放军药学学报,2003,19(4):304.
- [4] 刘庭华. 应用联立方程组新解法测定两种复方制剂中两组分的含量[J]. 药学实践杂志,2003,21(5):293.

收稿日期:2008-01-09

(上接第 363 页)

2.8.2 水溶性成分含量比较 用 2.7.2 方法处理栽培紫花丹参根茎叶,栽培白花丹参根茎叶,野生紫花丹参根茎叶的样品,滤液在流动相 A(水:二甲基甲酰胺:冰醋酸=94:4.2:2.1)-B(甲醇)(90:10)条件下进样,提取色谱图波长为 281 nm。

3 讨论

3.1 色谱条件的选择 Okamura^[12] 等曾报道丹参酮类化合物的高效液相含量测定方法,采用梯度洗脱,氯仿-甲醇(2:1)混合液为提取剂,操作复杂。本文以 90%乙醇为溶剂,浸泡 6 h,超声提取 30 min,并采用等度洗脱,操作简便易行,方法的回收率和重现性良好。丹参素和原儿茶醛的结构中含有邻二酚羟基,易被氧化,水溶液不稳定,本实验用甲醇为溶剂配制对照品溶液,两成分含量基本保持不变;提取时未采用传统的水提醇沉法,而用低浓度的氨水浸泡,避免了酸性成分的损失。

3.2 脂溶性成分比较 3 种丹参茎、叶中脂溶性成分含量甚少或几乎不含;而根中脂溶性成分含量较多,并且栽培的紫花丹参根和白花丹参根中脂溶性成分含量远低于野生的紫花丹参根,这说明了根入药的合理性,也突出了野生丹参根价值所在。

3.3 水溶性成分比较 3 种丹参叶中丹参素的含量仅次于丹参根。而丹参素具有明显扩张冠状动脉并使血流量增加的作用,对血液循环障碍,心肌缺血,心肌梗死也有良好的治疗效果;从这方面来说,丹参叶具有潜在的应用价值。

总之,野生紫花丹参、栽培紫花丹参和白花丹参根中含有丰富的有效成分;丹参叶中丹参素含量较高;丹参茎中有效成分含量较低。研究表明泰山产三种丹参中有效成分含量无明显差异,丹参叶含丰富的丹参素,提示丹参叶也具有一定的药用价值。

参考文献：

- [1] 吴泉,何招兵,吴汉斌. 丹参酮的药理作用研究进展[J]. 现代中西医结合杂志,2005,14(10):1382.
- [2] 李以菊,孙泽玲. 丹参的临床应用进展[J]. 实用医技杂志,2006,13(16):2903.
- [3] 闫瑾. 丹参及其有效成分的药理作用研究述略[J]. 中医药学刊,2004,22(9):371.
- [4] 韩凤梅,张玲,陈勇,等. 丹参脂溶性成分的 ESI-MS 行为及其特征图谱研究[J]. 中草药,2006,37(1):122.
- [5] 贾娜,项海芝,杨松松. 丹参水溶性部分丹酚酸的进展述评[J]. 辽宁中医学院学报,2006,8(3):41.
- [6] 常明. 丹参酮 II A 对心血管影响的研究进展[J]. 河南中医,2006,26(1):85.
- [7] 柳丽,张洪泉. 丹参活性成分的现代中药药理研究进展[J]. 中国野生植物资源,2003,22(6):1.
- [8] 闫豫君,杨广德,贺浪冲. RP-HPLC 法同时测定丹参中丹参酮 IIA 和隐丹参酮的含量[J]. 中草药,2002,33(4):363.
- [9] 梁晓原,侯安国,钱子刚. 云南 5 种丹参植物总丹参酮的含量测定[J]. 云南中医中药杂志,1999,20(6):27.
- [10] 凌海燕,赵永丽. 丹参水溶性成分的研究概况[J]. 天然产物研究与开发,1999,11(1):75.
- [11] 杨西晓. 丹参水溶性成分的组织修复作用研究概况[J]. 中医药学报,2004,32(3):73.
- [12] 陈发奎. 常用中草药有效成分含量测定[M]. 北京:人民卫生出版社,1997.

收稿日期:2007-02-01