

不同生长季节丹参营养器官中有效成分的动态变化

刘芬, 崔浪军*, 何刚, 杨章民

(药用资源与天然药物化学教育部重点实验室, 陕西师范大学生命科学院, 西安 710062)

摘要: 分析了三年生丹参不同季节营养器官中几种有效成分的变化规律。结果表明: (1)丹参地上部分丹参素、原儿茶醛和咖啡酸的含量在整个生长季节中显著高于根的; 丹酚酸 B 和迷迭香酸的含量除 8 月份达到最高和最低外, 其他月份差异不显著; (2) 6~8 月地上部分的 5 种水溶性酚酸类成分的含量均显著变化, 而根中除咖啡酸在 6 月积累较低外, 其它酚酸在整个生长季节的积累量变化不明显; (3) 在整个生长季节, 根系丹参酮 II A 和隐丹参酮含量变化不显著, 而二氢丹参酮和丹参酮 I 的含量呈现上升趋势。总体来说, 三年生丹参秋季采挖为宜, 其地上部分水溶性成分含量较大, 值得进一步开发。

关键词: 丹参; 水溶性成分; 脂溶性成分; 动态变化; 高效液相色谱

中图分类号: Q946

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2011)01-0093-06

Dynamic Changes in Several Effective Components in Different Vegetative Organs of *Salvia miltiorrhiza* Bge Cultivars in Different Seasons

LIU Fen, CUI Lang-Jun*, HE Gang, YANG Zhang-Min

(Key Laboratory of Medicinal Resource and Natural Pharmaceutical Chemistry of Ministry of Education; College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract Changes in five water soluble and four fat soluble effective components in different vegetative organs of triennial *Salvia miltiorrhiza* Bge cultivars were surveyed for one season. Except for salvanolic acid B and rosmarinic acid content in above-ground parts of *Salvia miltiorrhiza* Bge significantly higher and lower respectively, than in the roots in August, the content of the two effective components in the two vegetative organs were not statistically significant in the other seasons. However, danshensu protocatechuic aldehyde, and caffeic acid content in above-ground parts were significantly higher than those in roots in the whole season. During June to August, the accumulations of the five water soluble effective components were changed significantly in above-ground parts, although were not significant in roots over the entire season. Moreover, in the whole season, variations of both tanshinone II A and cryptotanshinone content in the roots were not predominant, yet both dihydro-tanshinone and tanshinone I content gradually increased. The results showed that triennial *Salvia miltiorrhiza* Bge can be harvested in autumn and its high accumulations of water soluble effective components in the above-ground parts are worth exploitation.

Key words: *Salvia miltiorrhiza* Bge.; Water soluble effective components; Fat soluble effective components; Dynamic change; High performance liquid chromatography

丹参是唇形科鼠尾草属的多年生草本植物丹参 (*Salvia miltiorrhiza* Bge.) 的干燥根及根茎, 用于心血管、冠心病、早期肝硬化等的治疗, 是我国的传统

名贵大宗药材之一。丹参主要药理活性成分为水溶性酚酸类和脂溶性二萜醌类化合物, 其水溶性酚酸类 (丹参素、丹酚酸 B 和咖啡酸等) 以及脂溶性二萜

收稿日期: 2010-05-26 修回日期: 2010-07-08

基金项目: 国家博士后基金 (2008043125); 教育部高等学校博士学科点专项科研基金 (200807181002); 陕西师范大学大学生开放实验基金 (09050)。

作者简介: 刘芬 (1985-), 女, 硕士研究生, 主要从事药用植物资源与开发研究。

* 通讯作者 (Author for correspondence, Email: liuf@snnu.edu.cn)。

醌类(丹参酮 I 和丹参酮 II A 等)具有抗氧化、抗血栓等作用^[1],特别是近年来发现其有效成分隐丹参酮、二氢丹参酮和迷迭香酸等对肝癌、老年痴呆和冠状动脉扩张等疾病^[2-4]具有良好疗效。随着对丹参有效成分的其他药理学作用的发现,丹参受到越来越多的关注。为了更好地利用这一资源,阐明其有效成分的积累规律具有重要的意义。

丹参一般为春秋二季采挖^[5],采挖后根及根茎留作药用,茎叶舍弃。但已有的研究表明,虽然丹参叶和茎中不含有丹参酮 I 和丹参酮 II A,但含有酚酸类物质^[6,7]。此外,不同的生长季节丹参水溶性成分丹参素、咖啡酸、原儿茶醛^[7]和丹酚酸 B^[6,8],以及脂溶性成分丹参酮 II A 与丹参酮 I^[6,7]的积累规律也有陆续的报道,但近年来受到高度关注的隐丹参酮、二氢丹参酮、迷迭香酸等的积累规律尚未见报道。本研究以三年生丹参为材料,研究其整个生长季节 6 种水溶性成分和 4 种脂溶性成分的积累状况,从而为丹参的种植采收与进一步开发利用提供理论指导。

1 仪器与材料

岛津 LC-2010A HT 高效液相色谱仪, Milli-QG 超纯水制备仪(美国 Millipore 公司)。甲醇为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。丹参素、原儿茶醛、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II A 对照品购自中国药品生物制品检定所(批号分别为 110855-200506、110810-200506、852-9908、0867-200205、110766-200417),咖啡酸、丹酚酸 B、迷迭香酸购自 Sigma-ALDRICH(批号分别为 CO 625-2G、A5502-5G、536954-5G),除丹酚酸 B 纯度为 97% 外,其余均为 100%。

三年生丹参采于陕西师范大学实验田内的栽培植株,经陕西师范大学王喆之教授鉴定为唇形科丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge.)。分别于 2009 年 4、6、8、10、12 月以随机抽样的方式采摘丹参植株 3 株,摘取各样品的地上部分和根,阴干后研磨成细粉,装入干燥瓶中储存备用。

2 方法

2.1 色谱条件

大连依利特 Hypersil BDS C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-4%乙酸水溶液,梯

度洗脱程序为 0.01[→] 5[→] 10[→] 15[→] 25[→] 30[→] 40[→] 50[→] 60[→] 65[→] 70[→] 90 min 甲醇体积分数相对应为 2%[→] 10%[→] 15%[→] 20%[→] 25%[→] 40%[→] 50%[→] 55%[→] 65%[→] 85%[→] 100%[→] 100%,检测波长为 280 nm,流速 1.0 mL/min,柱温 30℃,进样体积 15 μL。

2.2 对照品溶液的配制

取丹参素、咖啡酸、原儿茶醛、丹酚酸 B、迷迭香酸、二氢丹参酮、隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II A 对照品适量,分别置于棕色容量瓶中,用甲醇溶解并定容,摇匀,配得这 10 种对照品的储备液浓度依次为 2、1、2、2、2、1、1、0.5 和 1 mg/mL,每种对照品的其它不同浓度的溶液由储备液稀释得到。

2.3 线性关系考察

精密移取“2.2”项下所配的咖啡酸、丹酚酸 B、迷迭香酸和隐丹参酮储备液,稀释,配成不同浓度的溶液,分别测定(均进样 15 μL),以含量(mg)为横坐标(X),峰面积值为纵坐标(Y),绘制标准曲线并进行线性回归。

2.4 精密度试验

精密吸取丹参(6月份的根)供试品溶液 15 μL,连续进样 5 次,测定咖啡酸、丹酚酸 B、迷迭香酸和隐丹参酮 4 种成分的峰面积,计算平均峰面积的 RSD。

2.5 重复性试验

精密称取丹参(6月份的根)样品 3 份,按上述的色谱条件进行测定,计算咖啡酸、丹酚酸 B、迷迭香酸和隐丹参酮含量的 RSD。

2.6 加样回收率试验

精密称取丹参(6月份的根)粉末 0.6836 g,加入 10 mg 丹酚酸 B,按上述方法制备供试品,平均 6 份分别进样测定,计算加样回收率。

2.7 供试品溶液的制备

分别精密称取丹参地上部分和根粉末 200 mg,置 1.5 mL 离心管中,加入 1 mg/mL BHT(70% 甲醇配制) 500 μL 溶解,超声 20 min 后离心 10 min,取上清液,重复 3 次,3 次的上清混合后摇匀,0.45 μm 微孔滤膜过滤,滤液按“2.1”项下方法测定。

3 结果与分析

在线性关系考察中,以含量(mg)为横坐标(X),峰面积值为纵坐标(Y),绘制标准曲线并进行

线性回归为, 咖啡酸: $y = 23779x + 0.5076$, $r^2 = 0.9999$; 线性范围 $0.09375 \sim 7.5 \mu\text{g}$; 丹酚酸 B: $y = 8115.7x - 1.0636$, $r^2 = 0.9962$; 线性范围 $0.9375 \sim 15 \mu\text{g}$; 迷迭香酸: $y = 8948.8x + 15.369$, $r^2 = 0.9946$; 线性范围 $1.875 \sim 30 \mu\text{g}$; 隐丹参酮: $y = 1200.7x + 6.2999$, $r^2 = 0.9993$; 线性范围 $0.469 \sim 15 \mu\text{g}$, 结果显示对照品与峰面积有良好的线性关系。精密度试验中咖啡酸、丹酚酸 B、迷迭香酸和隐丹参酮的 RSD 值分别为 4.3%、4.4%、1.6% 和 6.4%, 说明仪器精密度良好。重复性试验中咖啡酸、丹酚酸 B、迷迭香酸和隐丹参酮含量的 RSD 分别为 4.3%、2.4%、1.1% 和 0.84%。加样回收率试验结果为 98.3% ($n=6$)。

3.1 丹参营养器官中水溶性酚酸含量的季节变化

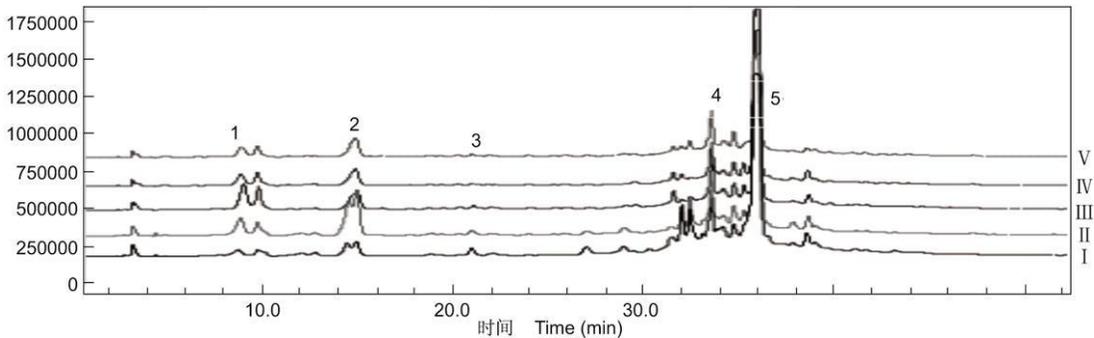
3.1.1 丹参营养器官中丹参素、原儿茶醛、咖啡酸含量的季节变化

在一个生长期中, 丹参素、原儿茶醛、咖啡酸这 3 种酚酸在丹参中的含量差别较大 (见图 1 图 2),

总体为原儿茶醛 > 丹参素 > 咖啡酸, 且地上部分的这 3 种酚酸含量比根的高。地上部分中, 原儿茶醛、丹参素从 4 月展叶后迅速增加, 6 月份达到最高, 以后逐渐减少, 8~12 月趋于平稳, 而咖啡酸的含量在整个生长季节中呈现下降趋势; 根中, 丹参素变化比较平稳, 10 月份达到最高, 但变化不显著 ($p > 0.05$)。原儿茶醛含量在 4 月份积累量最高, 以后逐渐降低, 6 月后变化不显著 ($p > 0.05$), 而咖啡酸的含量在整个生长季节除 6 月最低外, 其他月份差异不显著 ($p > 0.05$) (图 3: A~C)。

3.1.2 丹参营养器官中丹酚酸 B、迷迭香酸含量的季节变化

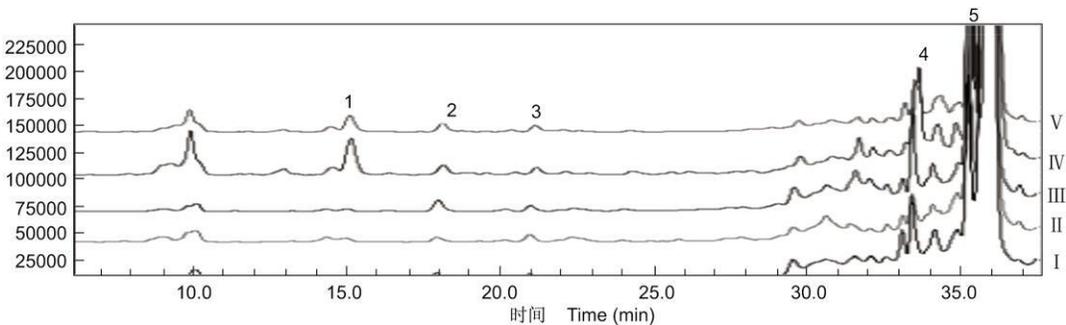
丹酚酸 B 和迷迭香酸的含量在丹参的整个营养器官中较丹参素、原儿茶醛、咖啡酸高 (见图 3: D, E), 并且迷迭香酸的含量远高于丹酚酸 B 的含量。与根相比, 地上部分的丹酚酸 B 和迷迭香酸的含量除了 8 月份分别比前者的高和低外 ($p < 0.05$), 这两种水溶性成分在整个生长季节的地上、下部分



1- 丹参素; 2- 原儿茶醛; 3- 咖啡酸; 4- 丹酚酸 B; 5- 迷迭香酸; I - 4 月; II - 6 月; III - 8 月; IV - 10 月; V - 12 月。
1- Tanshinone I; 2- Procatechuic aldehyde; 3- Caffeic acid; 4- Salvianolic acid B; 5- Rosmarinic acid; I - April; II - June; III - August; IV - October; V - December

图 1 不同季节丹参地上部分酚酸含量的 HPLC 色谱

Fig. 1 HPLC chromatogram of phenolic acids in above-ground parts of *Salvia miltiorrhiza* in different seasons

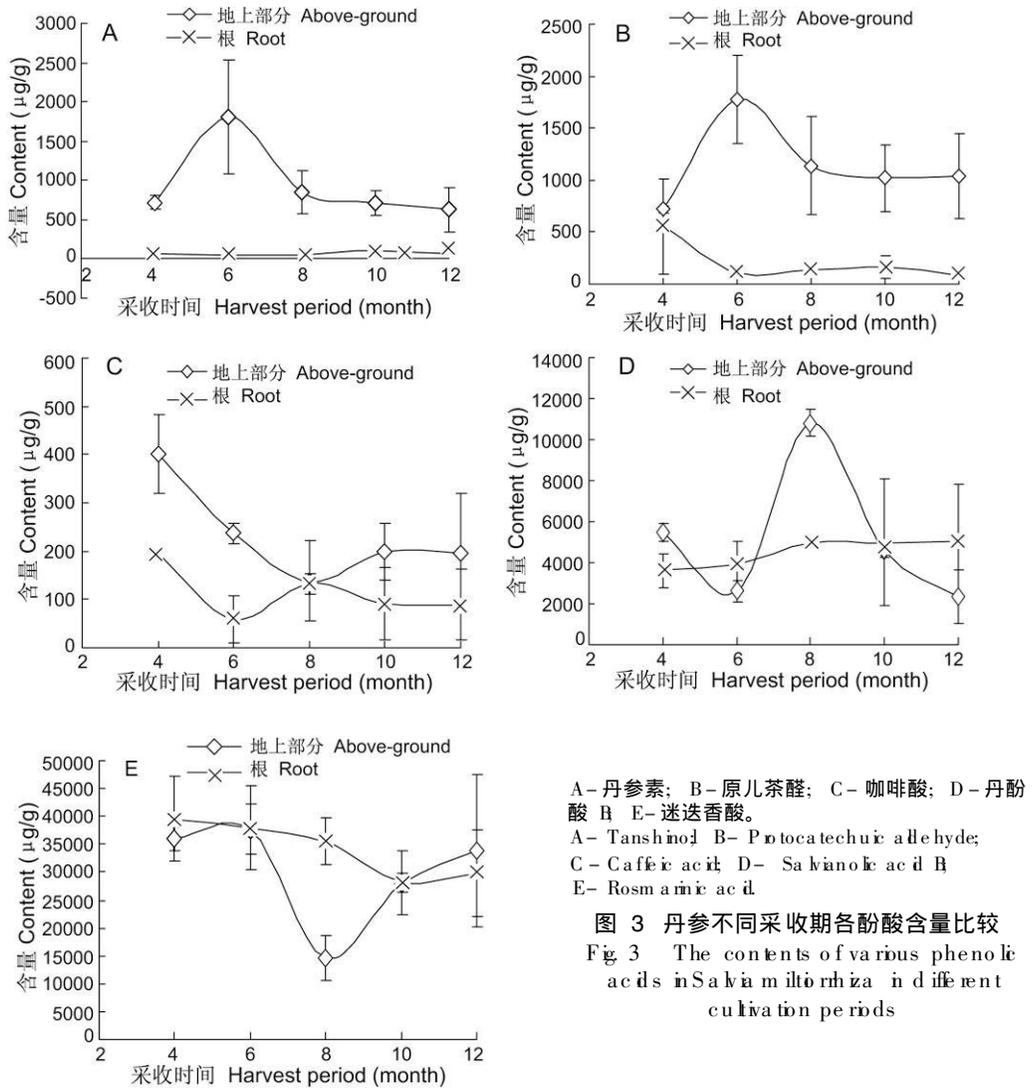


图中 1~5, I - V 与图 1 相同。

In the Fig. 1-5 and I - V are same as those in Fig. 1.

图 2 不同季节丹参根酚酸含量的 HPLC 色谱

Fig. 2 HPLC chromatogram of phenolic acids in the roots of *Salvia miltiorrhiza* in different seasons



A-丹参素; B-原儿茶醛; C-咖啡酸; D-丹酚酸 B; E-迷迭香酸。
A-Tanshinone; B-Protocatechuic aldehyde;
C-Caffeic acid; D-Salvianolic acid B;
E-Rosmarinic acid

图 3 丹参不同采收期各酚酸含量比较
Fig. 3 The contents of various phenolic acids in *Salvia miltiorrhiza* in different cultivation periods

差异不大 ($p > 0.05$)。整个生长季节丹酚酸 B 含量在地上部分中的变化呈“单峰”曲线, 8 月份积累量达到最高, 而在根中变化不大。地上部分迷迭香酸含量在整个生长季节的变化呈“V”形, 8 月份积累量达到最低, 而根的含量呈逐渐减少的趋势, 10 月后含量基本稳定, 总体变化不显著。

3.2 丹参营养器官中脂溶性成分含量的季节变化

经过检测, 丹参地上部分检测不到脂溶性丹参酮类成分, 而在根中检测到 4 种脂溶性成分 (见图 4)。根中二氢丹参酮 8 月份前积累量平稳, 8 月后开始上升, 12 月积累量达到最大; 丹参酮 I 在 4 月展叶后呈现上升趋势, 12 月积累量最高 (见图 5: A); 丹参酮 II A 含量在整个生长季节中变化不大。隐丹参酮含量在 4 月展叶后至 6 月份呈下降趋势, 6 月以后逐渐上升 (见图 5: B)。其中丹参酮 I 在 4~

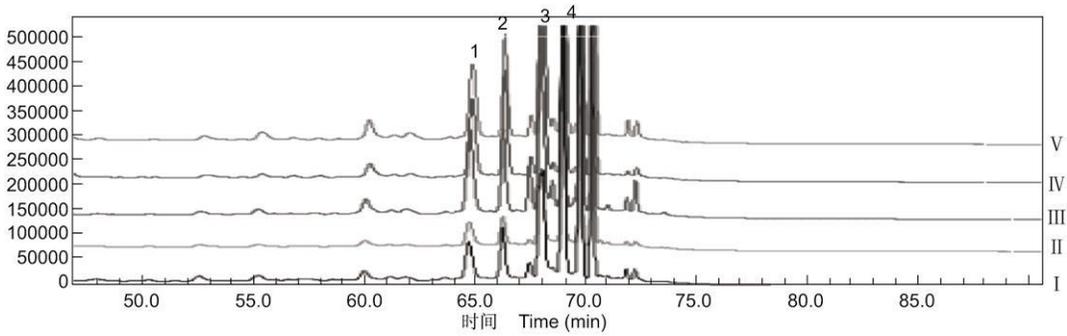
6 月份的积累规律与孙群等^[9]的报道相同, 而丹参酮类化合物 9 月份后的积累规律与李磊等^[10]的报道不同, 造成这种差异可能与采挖丹参年限及具体田间管理措施不同有关^[11]。

3.3 不同营养器官生物量的季节变化

丹参根的单株干重在一个生长期中呈缓慢上升的趋势, 12 月达到最高; 地上部分干重在 8~9 月份增长较快, 且 9 月份时积累量最高, 9~12 月呈下降趋势 (见图 6)。总体而言, 丹参根与地上部分重量在各个时期差异显著。

4 讨论

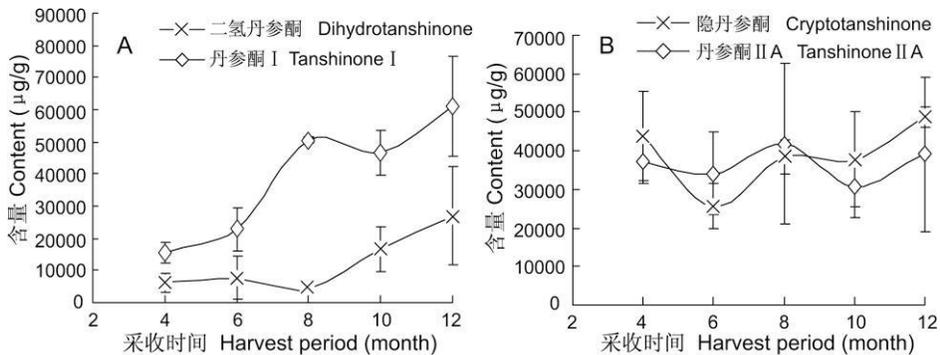
丹参作为一种传统中草药, 其根部含有酚酸类和二萜醌类化合物, 所以药用部位一直是根^[5], 地上部分枝叶一般舍弃。本研究表明, 丹参地上部分检



1-二氢丹参酮; 2-丹参酮 I; 3-隐丹参酮; 4-丹参酮 II A; I - 4月; II - 6月; III - 8月; IV - 10月; V - 12月。
 1- Dihydrotanshinone; 2- Tanshinone I; 3- Cryptotanshinone; 4- Tanshinone II A; I - April; II - June; III - August; IV - October; V - December

图 4 不同季节丹参根几种脂溶性成分的 HPLC 色谱

Fig. 4 HPLC chromatogram of fat-soluble components in roots of *S. miltiorrhiza* in different seasons



A - 二氢丹参酮、丹参酮 I 的含量比较; B - 隐丹参酮、丹参酮 II A 的含量比较。

A - The contents of dihydrotanshinone and tanshinone I in different cultivation periods of *S. miltiorrhiza*; B - The contents of cryptotanshinone and tanshinone II A in different cultivation periods of *S. miltiorrhiza*.

图 5 丹参不同采收期 4 种脂溶性成分含量比较

Fig. 5 The contents of four fat-soluble ingredients in *S. miltiorrhiza* in different cultivation periods

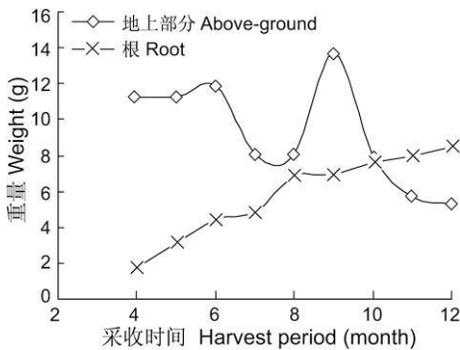


图 6 丹参不同采收期生物量比较

Fig. 6 The weight of *S. miltiorrhiza* in different cultivation periods

醛、咖啡酸 3 种水溶性成分外^[7], 还具有重要药理学活性的丹酚酸 B 与迷迭香酸^[12]。本研究发现, 丹参地上部分中丹酚酸 B 和迷迭香酸的含量除 8 月份达到最高和最低外, 各营养器官在其他生长季节的积累量差异不显著。此外, 其他 3 种水溶性成分丹参素、原儿茶醛和咖啡酸在整个生长季节中地上部分的含量显著高于根的。如果丹参根冠比以 0.6 计算^[9], 传统用药方法中舍弃的丹参地上部分中约含有 1.6 倍于根的水溶性酚酸类有效成分, 如果能对这部分水溶性酚酸类提取利用, 便可变废为宝, 创造巨大的经济效益。

虽然丹参地上部分和根均含有水溶性酚酸类成分, 但在两个部位表现出明显不同的积累规律。对于地上部分来说, 6~8 月的生殖生长期是影响其水溶性酚酸类有效成分积累的关键时期: 原儿茶醛和丹参素积累 6 月达到最高后逐渐减少, 8 月后趋于

测不到脂溶性丹参酮类化合物, 但含有大量的水溶性酚酸类有效成分。

丹参水溶性酚酸类化合物是一类具有广泛应用前景的天然药物, 其越来越多的药理学活性被发现。而丹参地上部分中, 除了前人提及的丹参素、原儿茶

平稳; 丹酚酸 B 的积累变化呈“单峰”, 在 8 月达到最高, 以后呈下降趋势, 12 月含量最低; 而咖啡酸的含量在整个生长季节中呈现下降趋势。根中除咖啡酸在 6 月积累较低外, 5 种酚酸类有效成分在整个生长季节的积累量变化不大。与地上部分水溶性成分积累相类似的是, 6~8 月的生殖生长期同样是影响根丹参酮类有效成分积累的关键时期: 在整个生长季节, 虽然丹参酮 II A 和隐丹参酮的积累的变化不显著, 但在 6~8 月均出现了较快增长; 二氢丹参酮和丹参酮 I 在整个生长季节呈现上升趋势, 其中 6~8 月间二氢丹参酮含量显著上升, 丹参酮 I 的含量略有降低。因此, 6~8 月的丹参生殖生长期应加强田间管理, 以获得优质的丹参药材。药典指出, 丹参为春秋二季采挖^[5], 但我们和前人^[6]的研究表明, 丹参地上和根生物量分别在 9 月和 12 月达到最高, 因此就三年生丹参而言, 以秋季采挖为宜。

参考文献:

- [1] Zhao G R, Zhang H M, Ye T X, Xiang Z J, Yuan Y J, Guo Z X, Zhao L B. Characterization of the radical scavenging and antioxidant activities of danshen and salvianolic acid B [J]. *Food Chem Toxicol* 2008, 46 (1): 73- 81.
- [2] Park E J, Zhao Y Z, Kim Y C, Sohn D H. Preventive effects of a purified extract isolated from *Salvia miltiorrhiza* enriched with tanshinone I, tanshinone II A and cryptotanshinone on hepatocyte injury *in vivo* and *in vitro* [J]. *Food Chem Toxicol* 2009, 47 (11): 2742- 2748.
- [3] Mei Z, Zhang F, Tao L, Zheng W, Cao Y, Wang Z, Tang S, Le K, Chen S, Pi R, Liu P. Cryptotanshinone, a compound from *Salvia miltiorrhiza* modulates amyloid precursor protein metabolism and attenuates beta-amyloid deposition through upregulating alpha-secretase *in vivo* and *in vitro* [J]. *Neurosci Lett*, 2009, 452(2): 90- 95.
- [4] Li G S, Jiang W L, Tan J W, Qu G W, Zhu H B, Fu F H. *In vitro* and *in vivo* antimicrobial effects of osmarrinic acid on experimental liver fibrosis [J]. *Phytotherapy*, 2010, 17(3-4): 282- 288.
- [5] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 52- 53.
- [6] 张红瑞, 李志敏, 高致明. 丹参生长发育特性研究 [J]. *安徽农业科学*, 2007, 35(19): 5783- 5785.
- [7] 秦海燕, 索志荣, 刘文哲. 丹参营养器官中酚酸含量的动态变化 [J]. *中药材*, 2009, 32(8): 1199- 1201.
- [8] 邓乔华, 潘永存, 彭云, 曹金斌, 高致明. 丹参生长期产量与质量的动态变化及最佳采收期研究 [J]. *现代中药研究与实践*, 2009, 23(4): 3- 5.
- [9] 孙群, 梁宗锁, 王涓玲, 韩建萍, 王敬民, 卫新荣, 刘文婷. 丹参移栽后苗系与根系的生长关系 [J]. *中国中药杂志*, 2005, 30(1): 23- 27.
- [10] 李磊, 胡广林, 王小如, Frank S C Lee. 丹参抗氧化成分及其分布特性 [J]. *江西农业大学学报*, 2001, 23(4): 487- 491.
- [11] 韩建萍, 梁宗锁, 孙群, 王涓玲, 魏永胜, 叶正良, 王敬民. 氮、磷对丹参根系生长及总丹参酮累积的影响 [J]. *西北植物学报*, 2008, 23(4): 603- 607.
- [12] 赵淑娟, 张国瑛, 刘涤, 胡之壁. 丹参水溶性酚酸类化合物药理及生物合成途径研究进展 [J]. *中草药*, 2004, 35(3): 341- 344.

(责任编辑: 王豫鄂)