不同产地丹参药材质量研究

潘雪梅[1,3]，韦 辉[1]，刘 毅[2]，刘素香[2]，张铁军[2*]，马旭伟[4]，韩丰年[4]

1. 天津中医药大学，天津 300193
2. 天津药物研究院，天津 300193
3. 天津医院 药剂科，天津 300211
4. 石家庄东方药业有限公司，河北 石家庄 050031

摘 要：目的 建立丹参药材多指标成分测定方法，综合评价不同产地来源丹参药材的质量。**方法** 采用 HPLC 法测定，Diamonsil C_{18} 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm），以乙腈（A）-0.05%磷酸水（B）为流动相，梯度洗脱（0～8 min、10%～25%A；8～20 min、25%A；20～25 min、25%～40%A；25～35 min、40%～100%A；35～40 min、100%～10%A；40～45 min、10%A），体积流量 1.0 mL/min，检测波长 280 nm，柱温 30 ℃。**结果** 丹参素、迷迭香酸、丹酚酸 B 及丹参酮 II_A 分别在 0.037 12～0.556 8 mg/mL（r＝0.997 1）、0.022 04～1.102 mg/mL（r＝0.999 2）、0.277～8.31 mg/mL（r＝0.999 9）、0.016 08～0.804 mg/mL（r＝0.999 7）线性关系良好，平均回收率分别为 101.3%（RSD＝1.72%）、102.4%（RSD＝1.05%）、102.9%（RSD＝1.67%）、97.9%（RSD＝1.42%）。**结论** 不同产地丹参药材各指标成分量差别较大；所建立的多指标成分测定方法准确、可靠、重复性好，可有效评价不同产地丹参药材的质量。

关键词：丹参；不同产地；质量评价；多指标测定；丹参素；迷迭香酸；丹酚酸 B；丹参酮 II_A

中图分类号：R284.1 **文献标志码**：A **文章编号**：0253 - 2670(2011)09 - 1833 - 04

Study on quality of *Salvia miltiorrhiza* from different habitats

PAN Xue-mei[1,3], WEI Hui[1], LIU Yi[2], LIU Su-xiang[2], ZHANG Tie-jun[2], MA Xu-wei[4], HAN Feng-nian[4]

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China
2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China
3. Department of Pharmacy, Tianjin Hospital, Tianjin 300211, China
4. Shijiazhuang Dongfang Pharmaceuticals Co., Ltd., Shijiazhuang 050031, China

Key words: *Salvia miltiorrhiza* Bunge; different habitats; quality evaluation; multi-index determination; danshensu; rosemarinic acid; salvianolic acid B; tanshinone II_A

丹参为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 的干燥根和根茎，具有活血祛瘀、通经止痛、清心除烦、凉血消痈之功效。用于胸痹心痛、脘腹胁痛、癥瘕积聚、热痹疼痛、心烦不眠、月经不调、痛经经闭、疮疡肿痛等症[1]。现代药理研究表明，丹参具有保护血管内皮细胞、抗心律失常、抗动脉粥样硬化、改善微循环、保护心肌、抑制和解除血小板聚集、增加冠脉流量、提高机体耐缺氧能力、抑制胶原纤维的产生和促进纤维蛋白的降解、抗炎、抗脂质过氧化和清除自由基，以及保护肝细胞、抗肺纤维化等作用[2-6]。其主要活性成分为脂溶性的丹参酮类和水溶性的丹酚酸类，主要包括原儿茶醛、原儿茶酸、咖啡酸、丹参素、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸、丹酚酸 B 等水溶性成分和丹参酮 I、丹参酮 II_A、丹参酮 II_B、隐丹参酮、丹参二醇 C、二氢丹参酮 I、异丹参酮 I、异丹参酮 II 等脂溶性成分[7-8]。丹参药材分布较广，不同产地药材质量差别较大。本实验在《中国药典》2010 版的基础上，增加了丹参素和迷迭香酸的测定方法，采用高效液相色谱技术建立丹参药材的多指标测定方法，同时测定丹参素、迷迭香酸、丹酚酸 B 及丹参酮 II_A 等指标成分，以综合评价不同产地丹参药材质量，为临床应用提供依据。

收稿日期：2011-03-12

基金项目：国家“十一五”科技支撑计划资助项目（2006BAIO6A01202）

作者简介：潘雪梅（1981—），女，天津中医药大学 2007 级在职硕士研究生，天津医院药剂科中药师。E-mail: panxuemei811227@yahoo.com.cn

*通讯作者 张铁军 E-mail: zhangtj@tjipr.com

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1　仪器与试药

Dionex—高效液相色谱仪（包括 P680 四元泵、ASI—100 自动进样器、UVD170U 紫外检测器），Waters2695 高效液相色谱仪（Waters996 型 DAD 检测器），AB204—N 电子天平（万分之一，瑞士，Mettler-Toledo Co.），AS3120 型超声波清洗器。丹参素、迷迭香酸、丹酚酸 B 对照品（质量分数均大于 98%），均购自天津一方科技有限公司、丹参酮 II_A 对照品（质量分数大于 98%，购自中国药品生物制品检定所）。乙腈为色谱纯，水为天磁牌纯净水，其他试剂均为分析纯。

丹参药材为 2008—2010 年分别采(购)自河南、陕西、山东、四川、河北等地，见表 1。经天津药物研究院中药现代部张铁军研究员鉴定为唇形科植物丹参 *Salvia mitiorrhiza* Bunge 的干燥根和根茎。

表 1　丹参药材产地及来源

Table 1　Origin source of *S. miltiorrhiza*

编号	产地	批号	来源
S1	山东	20100716	石家庄东方药业有限公司
S2	山东	100906	石家庄东方药业有限公司
S3	河南	20100816	河南
S4	山东	1008180	石家庄东方药业有限公司
S5	河北	1008181	石家庄东方药业有限公司
S6	陕西	100809	陕西商洛
S7	山东	10040241	安国市神禾饮片公司
S8	河北	20100509	河北安国药材市场
S9	河北	1004183	天津中药饮片厂
S10	山东	0809001	石家庄东方药业有限公司
S11	陕西	20100504	西安
S12	四川	20100429	四川

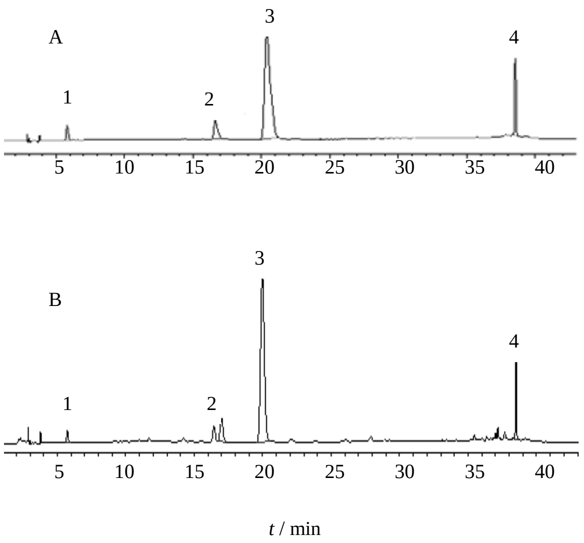
2　方法与结果

2.1　色谱条件

Diamonsil C_{18} 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈（A）-0.05%磷酸水溶液（B），梯度洗脱：0～8 min、10%～25%A；8～20 min、25%A；20～25 min、25%～40%A；25～35 min、40%～100%A；35～40 min、100%～10%A；40～45 min、10%A。检测波长 280 nm，体积流量 1.0 mL/min，柱温 30 ℃。供试品中各相邻色谱峰的分离度符合要求。对照品及供试品色谱图见图 1。

2.2　对照品溶液的制备

取丹参素、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹参酮 II_A 对照品适量，精密称定，加甲醇使溶解，分别制得各对照品溶液。精密吸取各对照品溶液适量，加甲醇稀释，配制成丹参素 18.56 μg/mL、迷迭香酸 22.04 μg/mL、丹酚酸 B 277.00 μg/mL、丹参酮 II_A 16.08 μg/mL 的混合对照品溶液。



1-丹参素　2-迷迭香酸　3-丹酚酸 B　4-丹参酮 II_A

1-danshensu　2-rosemarinic acid　3-salvianolic acid B　4-tanshinone II_A

图 1　混合对照品（A）与供试品（B）色谱图

Fig. 1　HPLC chromatograms of reference substances（A）and sample（B）

2.3　供试品溶液的制备

取丹参药材粉末 0.2 g，精密称定，置 50 mL 具塞锥形瓶中，精密加入 70%甲醇 25 mL，称定质量，超声提取 45 min，放冷，再称定质量，用 70%甲醇补足减失的质量，摇匀，0.45 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，作为供试品溶液。

2.4　线性关系考察

取混合对照品溶液，分别进样 1、2、5、10、20、30、40、50 μL，测定峰面积，以对照品质量浓度为横坐标，峰面积为纵坐标进行线性回归，结果见表 2。

2.5　精密度试验

取丹参药材（S12）粉末 0.2 g，精密称定，按“2.3”项下方法操作，取 10 μL 连续进样 6 次，测得丹参素、迷迭香酸、丹酚酸 B 和丹参酮 II_A 峰面积的 RSD 分别为 1.98%、1.39%、0.12%和 1.32%。

2.6　稳定性试验

取同一供试品溶液（S12），分别于配制后 0、2、4、6、8、12、24 h 精密吸取 10 μL 进样测定，丹参

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表 2 丹参中 4 个对照品的标准曲线

Table 2 Standard curve of four components in *S. miltiorrhiza*

对照品	回归方程	r	线性范围/(mg·mL^{-1})
丹参素	Y＝443.28 X＋13.555	0.997 1	0.037 12～0.556 8
迷迭香酸	Y＝1 216.4 X＋2.596 7	0.999 2	0.022 04～1.102 0
丹酚酸 B	Y＝877.44 X－27.671	0.999 9	0.277 00～8.310 0
丹参酮 II_A	Y＝3 086.7 X－23.312	0.999 7	0.016 08～0.804 0

素、迷迭香酸、丹酚酸 B 和丹参酮 II_A 峰面积的 RSD 分别为 1.78%、1.01%、0.80%、1.83%，表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.7 重现性试验

取丹参药材（S12）粉末 0.2 g，精密称定 6 份，按“2.3”项下方法操作，各吸取 10 μL 进样测定。结果丹参素、迷迭香酸、丹酚酸 B 和丹参酮 II_A 量的 RSD 分别为 1.66%、1.35%、1.63%和 1.84%，表明样品测定重现性良好。

2.8 加样回收率试验

取已知量的丹参药材（S12）粉末 0.1 g，精密称定，分别加入混合对照品溶液适量，按“2.3”项下方法操作，吸取 10 μL 进样测定。结果丹参素、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹参酮 II_A 的平均回收率分别为 101.3%、102.4%、102.9%、97.9%，RSD 分别为 1.72%、1.05%、1.67%、1.42%。

2.9 样品测定

取不同产地丹参药材样品 0.2 g，精密称定，按“2.3”项下方法操作，得各供试品溶液，精密吸取 10 μL 进样测定，外标法计算，结果见表 3。

表 3 不同产地丹参药材各指标成分的测定结果 (n＝3)

Table 3 Determination of index components in *S. mitiorrhiza* from different habitats (n＝3)

编号	丹参素/%	迷迭香酸/%	丹酚酸 B/%	丹参酮 II_A/%
S1	0.05	0.24	5.51	0.27
S2	0.06	0.20	5.11	0.29
S3	0.04	0.40	8.71	0.16
S4	0.05	0.24	5.55	0.25
S5	0.06	0.32	4.65	0.04
S6	0.10	0.60	6.97	0.08
S7	0.04	0.24	3.81	0.11
S8	0.03	0.27	5.62	0.07
S9	0.09	0.24	5.51	0.03
S10	0.06	0.21	4.38	0.24
S11	0.12	0.95	9.24	0.09
S12	0.20	0.22	5.17	0.20

3 讨论

3.1 提取方法考察

在样品提取过程中，本实验分别对丹参药材的提取方法、提取溶媒和提取时间进行了考察。比较了加热回流与超声提取两种提取方法，结果两种方法的提取效率差异无显著性，但考虑到超声提取方法便于操作、重复性好，故选择了超声提取法。比较了 50%、70%、100%甲醇 3 种溶媒的提取效率，结果发现，50%甲醇提取对丹参素的提取效率较高，但对丹参酮 II_A 的提取效率非常低；甲醇对丹参酮 II_A 的提取效率较高，但对丹参素、迷迭香酸和丹酚酸 B 的提取效率均较低；而用 70%甲醇提取，丹参素、迷迭香酸、丹酚酸 B 和丹参酮 II_A 等成分均可提取完全。故综合考虑，选择 70%甲醇为提取溶媒。比较了超声提取 20、30、45、60 min 的提取效率，结果 45、60 min 的提取效率无明显差别，故提取时间选择 45 min。最终确定供试品溶液制备方法为 70%甲醇超声提取 45 min，该方法与《中国药典》中所规定的丹酚酸 B 和丹参酮 II_A 的供试品制备方法相比较，结果显示两种方法对丹酚酸 B 和丹参酮 II_A 的提取效率无显著性差异。

3.2 检测波长的选择

本实验分别对丹参素、迷迭香酸、丹酚酸 B 和丹参酮 II_A 进行紫外扫描，确定其最大吸收波长；并采用 DAD 检测器对混合对照品溶液和样品分别进行 200～400 nm 的全波长扫描，对各波长下的色谱图进行分析比较。综合考虑，280 nm 下，各成分均有较大吸收，特征峰明显且峰型较好，适宜多指标测定。故确定 280 nm 为检测波长。

3.3 流动相梯度的选择

丹参素、迷迭香酸、丹酚酸 B 为水溶性成分，丹参酮 II_A 为脂溶性成分，这两类成分的极性差别较大，为在同一色谱体系下同时测定这两类成分就必须进行梯度洗脱。本实验考察了不同洗脱梯度，最后确定丹参药材的梯度洗脱条件为乙腈（A）-0.05%

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

磷酸水溶液（B），0～8 min、10%～25%A；8～20 min、25%A；20～25 min、25%～40%A；25～35 min、40%～100%A；35～40 min、100%～10%A；40～45 min、10%A。

3.4　产地对中药材质量的影响

产地是影响中药材质量的重要因素，具有明显的本草学特点。大多数药材经过千百年来的筛选，已将产地和中药质量紧密结合在一起。优质药材的产地为“道地”。产地所有的生态因子（立地因素）均与药材质量有关，包括土壤、气温、降雨、光照、生态群落构成等。因此，产地作为中药质量的本草学属性在中药质量评价中有着不可或缺的重要地位[9]。丹参药材作为祖国医学史上的传统中药，其历史悠久，但对其道地产区的叙述，历代本草的记载各有不同。在历史上湖北、河南、山东和山西等几个省都曾被视为丹参的主要产地或道地产区。近代以来，四川产丹参被视为佳品，《中国道地药材》将丹参列为川产道地药材[10]。不少学者开展了不同产地环境下丹参地理变异的研究，结果发现不同产地药材质量差别较大，但又各有相同[8,11]。本实验选取丹参主产区药材为研究对象，测定了 12 批不同产地丹参药材，结果发现，丹参素的量以四川产的最高，陕西商洛产的次之；迷迭香酸的量以陕西商洛产的最高；丹酚酸 B 的量均符合《中国药典》2010 年版规定，其中以陕西商洛产的最高，河南产的次之；而对于丹参酮 $Ⅱ_A$ 的量，所测的 12 批样品中只有 5 批符合《中国药典》2010 年版规定，为山东和四川所产，其中以山东产的量相对较高，这与其他一些学者的研究结果[12-13]相一致。不同活性成分对不同疾病的贡献率不尽相同，因此，对于丹参药材产地、活性成分及药效三者之间的相关性问题，在临床用药方面具有重要的现实意义，有待进一步深入研究。

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.

[2] 赵　娜, 郭治昕, 赵　雪, 等. 丹参的化学成分与药理作用 [J]. 国外医药：植物药分册，2007，22(4): 155-160.

[3] 丘宏强，陈崇宏. 丹参提取物对小鼠吗啡身体依赖性形成的影响及其机制 [J]. 中草药，2011，42(3): 535-537.

[4] 钱文慧, 陆　茵, 陈　磊, 等. 血小板活化介导的肿瘤转移及丹参治疗的前景展望 [J]. 中草药, 2010, 41(2): 311-314.

[5] 高 洁, 白 茹, 李长志, 等. 丹参酮 II_A 对阿霉素抑制肿瘤细胞生长作用的影响 [J]. 药物评价研究，2010, 33(2): 91-94.

[6] 赵广荣，田莉莉，王长松. 丹参素的抗癌活性研究 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(3): 180-182.

[7] Han J Y, Fan J Y, Horie Y, *et al*. Ameliorating effects of compounds derived from *Salvia miltiorrhiza* root extract on microcirculatory disturbance and target organ injury by ischemia and reperfusion [J]. *Pharmacol Ther*, 2008, 117(2): 280-295.

[8] Tian Y P, Wang Q, Yang W, *et al*. Determination of shionone in rat plasma by HPLC and its pharmacokinetic study [J]. *Chin Herb Med*, 2010, 2(2): 132-135.

[9] 张铁军. 中药质量认识与质量评价 [J]. 中草药，2011, 42(1): 1-9.

[10] 胡世林. 中国道地药材 [M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1989.

[11] 郭兰萍，黄璐琦，华国栋，等. 丹参地理变异及其道地性探讨 [J]. 现代中药研究与实践，2006，20(5): 3-6.

[12] 曾令杰，林文雄，梁　晖，等. 丹参中活性成分的同时定量分析及其相关性研究 [J]. 中成药，2008，30(6): 892-896.

[13] 翟学佳，徐锦凤. 高效液相色谱法同时测定丹参药材水溶性和脂溶性成分的含量 [J]. 医药导报，2009，28(10): 1345-1348.

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net