

## 同种种苗异地栽培丹参质量比较研究

于凡<sup>1,2</sup>, 彭代银<sup>1,2,3</sup>, 陈卫东<sup>1,2,3</sup>, 俞年军<sup>1,2,3</sup>, 李国转<sup>1,2</sup>, 邱镇<sup>1,2</sup>, 史顺敏<sup>1,3</sup>

(1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012; 2. 安徽道地中药材品质提升协同创新中心, 安徽 合肥 230012; 3. 安徽省中医药科学院中药资源保护与开发研究所, 安徽 合肥 230012)

**摘要:**目的 对同种丹参种苗在不同地区栽培的丹参质量进行分析评价。方法 根据2015年版药典方法, 采用高效液相色谱法(HPLC), 对同种种苗异地栽培丹参的根、须根及地上部分茎、叶、花、花托6个部位的丹酚酸B、丹参酮类(丹参酮II A、隐丹参酮、丹参酮I)进行含量测定。结果 同种种苗的含山栽培丹参中两类成分含量均略高于太和栽培丹参, 丹参酮类在不同部位分布的含量为根>须根>花托>茎>叶>花, 丹酚酸B则为根>须根>花>茎>花托>叶, 丹参不同部位含量有较大差异, 其中根和须根的含量均高于药典标准。结论 异地栽培的丹参脂溶性成分差异有统计学意义, 含山栽培丹参优于太和产; 异地栽培的丹参水溶性成分丹参含量无差异; 该实验为指导优质产区种苗的扩大种植提供参考依据。

**关键词:**丹参; 丹酚酸B; 丹参酮; 高效液相色谱法

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2017.04.010

## Comparative Study on the Quality of *Salvia Miltiorrhiza* Cultivated in Different places

YU Fan<sup>1,2</sup>, PENG Daiyin<sup>1,2,3</sup>, CHEN Weidong<sup>1,2,3</sup>, YU Nianjun<sup>1,2,3</sup>, LI Guozhuan<sup>1,2</sup>, QIU Zhen<sup>1,2</sup>, SHI Shunmin<sup>1,3</sup>

(1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei, Anhui 230012, China;

2. Synergetic Innovation Center of Anhui Authentic Chinese Medicine Quality, Hefei, Anhui 230012, China;

3. Institute of Traditional Chinese Medicine Resources Protection and Development, Anhui Academy of Chinese Medicine, Hefei, Anhui 230012, China)

**Abstract: Objective** To analyze and evaluate the quality of *Salvia miltiorrhiza* cultivated in different areas. **Methods** Based on the method in the Chinese Pharmacopoeia 2015 Edition using high performance liquid chromatography (HPLC) to determine the contents of salvianolic acid B and tanshinone (tanshinone II A, cryptotanshinone, tanshinone I) from six parts of *Salvia miltiorrhiza* planted in two different places, including fibrous roots, stems, leaves, flowers and receptacle. **Results** The contents of the two kinds of components of *salvia miltiorrhiza* cultivated in Hanshan are slightly higher than those cultivated in Taihe. The distribution content order of tanshinones from high to low is root, fibrous roots, receptacle, stem, leaf and flowers and the distribution content order of salvianolic acid B from high to low is root, fibrous roots, flowers, receptacle, stem and leaf. There is an obvious difference in contents from different parts of danshen

基金项目: 安徽道地中药材品质提升协同创新中心项目(2011 协同创新中心); 中医药行业科研专项安徽种植种苗基地建设项目(201207002); “2016—2018”年安徽高校科研平台创新团队: 现代中药质量控制研究项目

通信作者: 陈卫东, 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 中药质量控制与中药药物代谢动力学, E-mail: anzhongdong@126.com

### 参考文献

- [1] 中央军委后勤保障部卫生局. 中国人民解放军医疗机构制剂规范(2015年版)[S]. 北京: 人民军医出版社, 2015: 265-267.
- [2] 国家药典委员会. 中国药典(四部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 151.
- [3] 刘存富. HPLC法测定蛋白琥珀酸铁口服溶液中防腐剂的含量[J]. 安徽医药, 2015, 19(1): 53-55.
- [4] 左磊, 周峰. 食品防腐剂ADI制定及正确使用对人体健康的理论探讨[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(8): 2016-2018.
- [5] 牛振东, 江志杰, 张光华, 等. 用微生物挑战性试验考察化妆品防腐剂效果[J]. 日用化学工业, 2012(353): 36-38.
- [6] 温东妹, 夏春森, 冯柏康. 利巴韦林口服溶液中抑菌剂的筛选[J]. 中国药房, 2010, 21(45): 4251-4253.
- [7] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 210.
- [8] United States Pharmacopoeial Convention. United States Pharmacopoeia · National Formulary (USP30-NF25) [S]. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, Inc, 2006: 79-81.
- [9] 国家药典委员会. 中国药典(四部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 153.
- [10] 刘艳, 王志宏, 曲金瑶, 等. 乙酰半胱氨酸口服溶液抑菌剂抑菌效力研究[J]. 药学研究, 2015, 34(3): 152-155.

(收稿日期: 2016-10-11, 修回日期: 2016-12-28)

and the contents of root and fibrous roots are higher than the standards of pharmacopoeia. **Conclusions** The contents of lipid-soluble components cultivated in different areas have significant differences. *Salvia miltiorrhiza* cultivated in Hanshan is superior to that in Taihe. There is no significant difference in contents of water-soluble components. The experiment can provide the reference in accordance with the expansion of planting of seedlings from areas with good quality.

**Key words:** *Salvia miltiorrhiza*; Salvianolic acid B; Tanshinone; HPLC

丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bug)是唇形科鼠尾草属植物丹参的干燥根及其根茎<sup>[1]</sup>,为常用的活血化瘀中药之一,现代医学研究丹参能够扩张冠状动脉血管<sup>[2]</sup>,改善心肌缺血<sup>[3]</sup>、缺氧,降低血液黏稠度,防止血小板聚集<sup>[4-6]</sup>等,在临床上多应用于治疗心绞痛、冠心病、心肌梗塞等心脑血管方面的疾病<sup>[7]</sup>。

随着丹参药材的临床及市场需求量增加,野生丹参资源早已不能满足市场需求,目前以原料药进入市场的主要为栽培品。安徽省为丹参药材全国重要产区之一,安徽的栽培丹参占有市场重要份额。《增订伪药条辨》记载安徽古城丹参质优,沿江丘陵产区出品丹参质量较佳<sup>[8]</sup>。目前作为安徽市场主要供应地的北部产区丹参产量大但是与安徽道地产区相比品质不佳。为提升安徽产区丹参的品质,扩大安徽道地丹参的种植规模,服务地方经济建设,将安徽道地产区含山丹参种苗移植于安徽北部丹参主要栽培基地太和进行规范化种植,并对同种种苗异地栽培丹参品质比较研究。

## 1 仪器与材料

**1.1 仪器** LC-15C 高效液相色谱仪(日本岛津),SPD 型紫外检测器(日本岛津),AB135-S 型 1/10 万电子天平(德国梅特勒),AS20500BDT 超声波清洗机(天津奥特赛恩斯)。

**1.2 材料** 对照品丹参酮 II A(批号:110766-200619)、隐丹参酮(批号:110852-200806)、丹参酮 I(批号:110867-200406)及丹酚酸 B(批号:11156-201111)均购自中国食品药品检定研究院,甲醇、乙腈均为色谱纯,超纯水(18.2 Ω),其他试剂均为分析纯。

**1.3 样品** 药材样品由所在地含山昭关的安徽中大神农生物科技发展有限公司与太和的安徽春之蔚农业科技有限公司提供,分别为种苗(种苗为安徽中大神农生物科技发展有限公司由种子培育统一提供)栽培的 1 年生丹参。原植物经安徽中医药大学中药资源系彭华胜教授鉴定为鼠尾科丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)正品。

## 2 方法与结果

### 2.1 标准对照品和供试品溶液的制备

**2.1.1 标准品溶液的制备** 丹参酮类:精密称取丹参酮 II A 标准品 2.0 mg,置于 10 mL 量瓶中并用甲醇溶解,制成储备液(200 mg · L<sup>-1</sup>)。精密称取丹参酮 I 标准品 2.0 mg,用甲醇有溶解于 10 mL 的量瓶中,制成储备液(200 mg · L<sup>-1</sup>)。精密称定隐丹参酮标准品 4.0 mg,置于 10 mL 量瓶中并用甲醇溶解制成储备液(400 mg · L<sup>-1</sup>)。分别精密吸取 500 μL 丹参酮 II A、500 μL 丹参酮 I 和 250 μL 隐丹参酮标准品储备液,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇定容,混匀,制成每 1 mL 含 10 μg 的丹参酮 II A、丹参酮 I 和隐丹参酮标准品混合溶液。

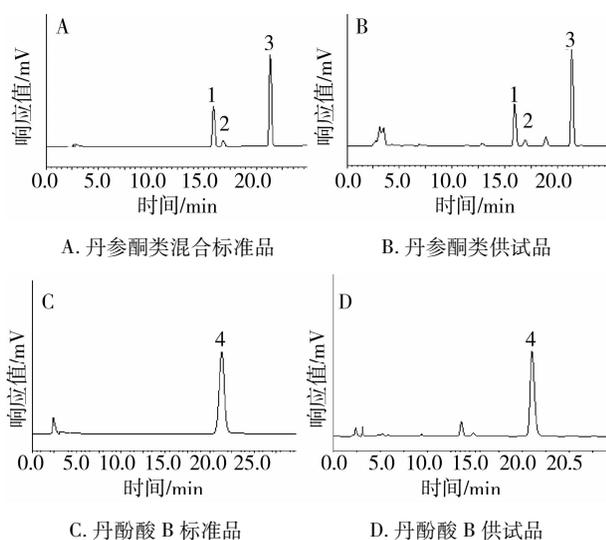
丹酚酸 B:精密称定丹酚酸 B 标准品 10.0 mg,置于 5 mL 量瓶中并用 80% 甲醇溶解,制成储备液(2 g · L<sup>-1</sup>)。精密量取 500 μL 丹酚酸 B 标准品,置于 10 mL 量瓶中加 80% 甲醇制成每 1 mL 含 0.1 mg 的丹酚酸 B 标准品溶液。

**2.1.2 供试品溶液的制备** 参照 2015 版《中国药典》,丹参酮类供试品制备:取丹参粉末 0.3 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,密塞,称定,超声处理(功率 140 W,频率 42 kHz)30 min,用甲醇补足减失的重量,滤过,取续滤液即得;丹酚酸 B 供试品制备:取丹参粉末 0.15 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 80% 甲醇溶液 50 mL,称重,超声处理 30 min,用 80% 甲醇溶液补足减失的重量,取续滤液即得。

**2.2 色谱条件** 色谱柱为 COSMIL C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),测定丹参酮类以乙腈(A)-0.02% 磷酸(B)为流动相,梯度洗脱(0~6 min, A:61%; 6~20 min, A:61%~90%; 20~20.5 min, A:90%~61%; 20.5~25 min, A:61%),检测波长为 270 nm,流速为 1.0 mL · min<sup>-1</sup>;测定丹酚酸 B 以乙腈-0.1% 磷酸(22:78)为流动相为流动相,检测波长为 286 nm,流速为 1.2 mL · min<sup>-1</sup>。系统柱温 20 °C,进样量 20 μL。理论板数按丹参酮 II A 峰、丹酚酸 B 峰计算应不低于 6 000。该色谱条件下 4 种成分之间与供试品中其它成分分离较好,色谱图见图 1。

表 1 加样回收率测定

成分	编号	样品含量/ $\mu\text{g}$	标准加入量/ $\mu\text{g}$	实测量/ $\mu\text{g}$	加样回收率/%	平均值/%	RSD/%
丹参酮 II A	1	0.953	2	2.980	100.90	100.674	0.54
	2	0.963	2	3.006	101.479		
	3	0.984	2	3.005	100.75		
	4	0.973	2	2.997	100.79		
	5	0.98	2	2.979	99.964		
	6	0.971	2	2.976	100.157		
隐丹参酮	1	0.939	2	2.962	100.778	101.126	0.44
	2	0.947	2	2.997	101.688		
	3	0.965	2	2.987	100.759		
	4	0.947	2	2.994	101.568		
	5	0.953	2	2.974	100.692		
	6	0.957	2	2.995	101.273		
丹参酮 I	1	1.007	2	3.003	99.84	100.503	0.59
	2	1.003	2	3.047	101.443		
	3	1.012	2	3.038	100.849		
	4	1.009	2	3.029	100.664		
	5	1.008	2	3.013	100.183		
	6	1.009	2	3.01	100.041		
丹酚酸 B	1	12.441	20	33.316	102.697	101.327	1.2
	2	12.785	20	32.581	99.378		
	3	12.539	20	33.006	101.435		
	4	12.738	20	33.511	102.361		
	5	12.470	20	32.993	101.611		
	6	12.609	20	32.765	100.478		



注: 1. 隐丹参酮; 2. 丹参酮 I; 3. 丹参酮 II A; 4. 丹酚酸 B。

图 1 丹参酮类成分的 HPLC 色谱图

**2.3 线性关系考察** 精密量取不同体积丹参酮类的标准品储备液, 置于 10 mL 容量瓶中, 分别加入甲醇至刻度配制成浓度为 100、50、20、10、5、2、1  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的丹参酮 II A、隐丹参酮、丹参酮 I 对照品溶

液。精密量取不同体积丹酚酸 B 对照品储备液于容量瓶中, 加入甲醇至刻度配制成 1、0.5、0.2、0.1、0.05、0.02  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  的丹酚酸 B 对照品溶液。分别按上述条件进样 20  $\mu\text{L}$ , 以峰面积积分为纵坐标 (Y), 标准对照品进样浓度为横坐标 (X), 绘制标准曲线得: 丹参酮 II A  $Y = 232\ 239.5718X + 128\ 187.0717$  ( $r = 0.9993$ ), 隐丹参酮  $Y = 111\ 052.0808X + 40\ 376$  ( $r = 0.9998$ ), 丹参酮 I  $Y = 17\ 884X + 4\ 974.3$  ( $r = 0.9998$ ), 丹酚酸 B  $Y = 3 \times 10^7 X + 386\ 922.6722$  ( $r = 0.9997$ ), 丹参酮 II A、隐丹参酮、丹参酮 I 在 1~100  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内均线性良好, 丹酚酸 B 在 0.02~1  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内线性良好。

**2.4 精密性试验** 精密吸取同一浓度丹参酮类、丹酚酸 B 标准对照品溶液分别进样, 平行 6 次, 记录峰面积。计算所得结果丹参酮 II A RSD 为 0.82%, 隐丹参酮 RSD 为 1.7%, 丹参酮 I 的 RSD 为 0.92%, 丹酚酸 B 的 RSD 为 1.6%, 表明该方法精密性良好。

**2.5 稳定性试验** 对一浓度供试品溶液分别于 0、2、4、8、24 h 进样分析 ( $n = 3$ ), 记录峰面积, 计算

RSD。所得结果丹参酮ⅡA的RSD为0.51%，隐丹参酮RSD为0.60%，丹参酮Ⅰ的RSD为0.72%，丹酚酸B的RSD为1.2%，结果说明该方法稳定性良好。

**2.6 重复性试验** 按丹参试品制备方法，各制备供试品6份，平行进样分析，记录峰面积，计算含量，所得丹参酮ⅡA含量的RSD为1.6%，隐丹参酮含量的RSD为1.4%，丹参酮Ⅰ含量的RSD为0.44%，丹酚酸B含量的RSD为2.2%，结果显示该方法重复性较好。

**2.7 加样回收率测定** 取已知含量的丹参酮类或丹酚酸B供试品溶液各6份，分别对应加入已知浓度的标准对照品200 μL，制备供试液，按上述条件测定丹参酮类或丹酚酸B含量。表明该方法回收率较好。结果见表1。

**2.8 同种种苗异地栽培丹参不同部位样品含量测定** 将同种种苗异地(含山、太和)栽培丹参样品的根、须根、茎、叶、花、花托按照“2.1.2”供试品制备方法，制备丹参酮类或丹酚酸B供试品，采用“2.2”上述条件进行含量测定，将所得结果用SPSS 21.0软件进行统计学分析。含量测定结果见表2。同种种苗异地栽培丹参中含山栽培丹参中两类成分含量均略高于太和栽培丹参，丹参酮类与丹酚酸B在不同部位分布的含量有较大差异，丹参酮类在不同部位分布的含量为根>须根>花托>茎>叶>花，丹酚酸B则为根>须根>花>茎>花托>叶，两地丹参的根和须根中丹参酮类含量差异有统计学意义。

表2 同种种苗异地栽培丹参不同部位丹参酮类和丹酚酸B含量测定/%

部位	丹参酮类		丹酚酸B	
	含山	太和	含山	太和
根	1.029 <sup>a</sup>	0.680 <sup>a</sup>	7.175	6.743
须根	1.013 <sup>a</sup>	0.538 <sup>a</sup>	5.418	4.918
茎	0.040	0.024	1.042	0.504
叶	0.031	0.021	0.407	0.140
花	0.028	0.017	1.069	0.957
花托	0.134	0.025	0.504	0.327

注：含山和太和两地栽培丹参相同部位比较，<sup>a</sup> $P < 0.05$ ；2015年版药典中规定丹参酮类总和 $\geq 0.25\%$ ，丹酚酸B $\geq 3.0\%$ 。

### 3 讨论

由本试验结果可知同种丹参种苗由含山移栽

至安徽北部太和栽培，丹参品质有变化，两地栽培丹参在丹参酮类含量方面差异有统计学意义，在脂溶性成分中道地产地含山栽培优于太和栽培；丹酚酸B成分含量差异无统计学意义，两地栽培丹参水溶性成分质量无变化。以此为依据，可根据所需丹参原药材成分，指导对丹参规范化种植基地的选择，为丹参优质产区扩大种植范围提供依据。

丹参药用部位以及工业提取部位主要以主根部位为材料，由本实验可知丹参不同部位含量差异较大，其中主根与须根部位含有药典规定的有效成分含量较高，须根与主根的含量相当，在开发利用丹参药材是应当充分考虑丹参须根资源的合理应用。同时可知丹参地上部分茎、叶、花及花托也含有一定量的有效成分，具有一定的药用开发价值。

道地药材野生丹参的药材品质优良但受种植面积与产量较低的约束，将道地药材于道地产区育苗置于异地栽培，为增加优质丹参的产量的一种可选途径。本实验旨在通过开展道地产区同种种苗异地栽培丹参质量研究，为扩大优质丹参种植范围提供参考依据。以求丹参的资源利用更加合理，为丹参的栽培与中药制剂中丹参药材的选择提供参考依据，为安徽丹参产业的健康持续发展予以探索。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 76.
- [2] 马丙祥, 董宠凯. 丹参的药理作用研究新进展[J]. 中国药房, 2014, 25(7): 663-665.
- [3] 杨飞, 肖纯. 丹红水溶性有效组分配伍对大鼠缺血后再灌注损伤心肌保护作用的实验研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2015, 14(12): 967-970.
- [4] 陈芬燕, 郭韧, 张毕奎. 丹参酮ⅡA的心血管药理作用研究进展[J]. 中国中药, 2015, 40(9): 1649-1653.
- [5] 陈海芹. 丹参类制剂的药理活性及临床应用[J]. 中国医学工程, 2014, 22(2): 165.
- [6] 范华英. 丹酚酸A抗血小板及抗血栓作用的研究[D]. 吉林: 吉林大学, 2012.
- [7] 赵仁霞. 丹参的现代药理研究及临床应用[J]. 中国医药指南, 2011, 9(12): 291-292.
- [8] 赵宝林. 丹参药材道地性探讨[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(12): 3101-3102.

(收稿日期: 2016-10-05, 修回日期: 2016-10-21)