

◇ 药物分析 ◇

超高效液相色谱法对丹参不同部位化学成分的研究

陈旭青,陈醒,吴苏亚,骆雨璇,王楠

(南京军区南京总医院药品科,江苏 南京 210002)

摘要:目的 对丹参(叶、茎、花、根)不同部位中的可利用化学成分进行含量测定与分析。方法 采用超高效液相色谱——二极管阵列检测器(UPLC-PDA)法对丹参(叶、茎、花、根)中酚酸类、黄酮类成分的含量进行分析评价。结果 丹参中不同部位中丹酚酸类、黄酮类含量差异较大,丹参地上部分(叶、茎、花)中除了含有大量丹酚酸类成分外,相对根而言,还富含以芦丁为主的黄酮类成分,叶、茎、花中分别含有芦丁的质量分数为3.53、0.56、0.66 mg·g⁻¹。结论 丹参叶、茎、花中含有大量的丹酚酸类、黄酮类等资源性化学成分,对丹参资源利用效率提升以及扩大丹参新药源具有重要科学意义和开发前景。

关键词:丹参;分析评价;丹酚酸类;黄酮类

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2018.11.009

Analysis of chemical constituents of different parts in *Salvia Miltiorrhiza* by UPLC

CHEN Xuqing, CHEN Xing, WU Suya, LUO Yuxuan, WANG Nan

(Department of Pharmacy, Nanjing General Hospital, Nanjing Military Area Command, Nanjing, Jiangsu 210002, China)

Abstract: **Objective** To determine and analyze the available chemical contents in different parts (leaves, stems, flowers, roots) of *Salvia Miltiorrhiza*. **Methods** The phenolic acids and flavonoids in different parts of *Salvia Miltiorrhiza* were analyzed and evaluated by ultra-high performance liquid chromatography-photo-diode array (UPLC-PDA). **Results** The results showed that the contents of salvianolic acids and flavonoids in different parts of *Salvia Miltiorrhiza* were significantly different. Compared with the roots, the aerial part (leaves, stems, flowers) of *Salvia Miltiorrhiza* were rich of flavonoids which were mainly composed of rutin besides phenolic acids, and the leaves, stems, and flowers of *Salvia Miltiorrhiza* contained rutin at 3.53, 0.56, 0.66 mg·g⁻¹, respectively. **Conclusion** The analysis shows that aerial part of *Salvia Miltiorrhiza* (leaves, stems and flowers) contain a large amount of phenolic acids and flavonoids, which has important scientific significance and development prospects for improving the utilization efficiency and expanding the new drug source of *Salvia Miltiorrhiza*.

Key words: *Salvia Miltiorrhiza*; Analysis and evaluation; Salvianolic acid; Flavonoid

中药丹参是唇形科鼠尾草属植物丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)的干燥根及根茎,丹参味微苦,性微寒,中医临床上常用于活血调经,除烦安神^[1]。前期研究中表明丹参中主要的有效成分为水溶性丹酚酸类和脂溶性丹参酮类成分^[2],丹酚酸类化学成分具有抗氧化、抗凝血及保肝护肝等作用,丹参酮类具有抗血栓、抗过敏等作用。目前,中医药临床上关于丹参植物资源的利用仍以其干燥根及根茎为主,每年产量5 000~7 000吨。在丹参药材采收加工及制药过程中,约占全株重量67%的非药用部位(叶、茎、花)尚未被有效利用而被作为废弃物丢弃,造成资源浪费和环境污染^[3]。清代《医方守

约》中对丹参叶就有记载:“丹参叶捣烂,合酒糟敷乳,肿初起立消”。近年来多项研究报道丹参茎和叶具有抗菌、抗病毒等多种生物活性,可用于血栓、冠心病等心脑血管疾病^[4-5]。丹参花可配制成丹参花露饮品,具有扩张血管、预防心血管疾病的保健功效^[6]。化学成分分析结果表明,丹参地上部分富含丹参酚酸类、黄酮类等化学成分^[7-8]。本研究通过对丹参(叶、茎、花、根)中丹酚酸类、黄酮类化学成分进行分析评价,拟为丹参地上部分资源价值的开发利用,丹参药用资源利用效率的提升以及寻找和扩大丹参新药源提供科学的依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Waters ACQUITY UPLC 系统(二元高压泵,自动进样器,柱温箱,二极管阵列检测器, Waters 公司); Waters 超高效液相(UPLC)色谱系统、

通信作者:王楠,女,主任药师,研究方向为药品质量标准研究,

E-mail:njpicew@163.com

Waters PAD 检测器。FW80 型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司),ML204/02、MS205 电子天平(上海梅特勒托利多仪器有限公司),DHG-9023A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);KH-500 型超声波清洗仪器(昆山禾创声波仪器有限公司);EPED 超纯水系统(南京易普达易科技发展有限公司);Anke GL-16GII 型离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.2 试药与试剂 丹参样品采自南京中医药大学药用植物园,经南京军区南京总医院药品科主任鉴定为唇形科鼠尾草属植物丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)。样品分别于热风烘干(50℃)条件下进行干燥,至恒重后粉碎,将其常温密封干燥保存备用。对照品丹参素(批号 MUST-13030108)、咖啡酸(批号 110885-200102)、芦丁(批号 100080-201409)、迷迭香酸(批号 1871-20103)均购自中国食品药品检定研究院;丹酚酸 B(批号 MUST-13030203)、异槲皮苷(批号 MUST-15070211)、丹酚酸 A(批号 MUST-13030701)均购自北京普天同创生物科技有限公司,纯度均大于 98%。乙腈(色谱纯,美国 Tedia 公司),甲酸(色谱纯,德国 Merck),甲醇、无水乙醇购自南京化学试剂有限公司。

2 方法与结果

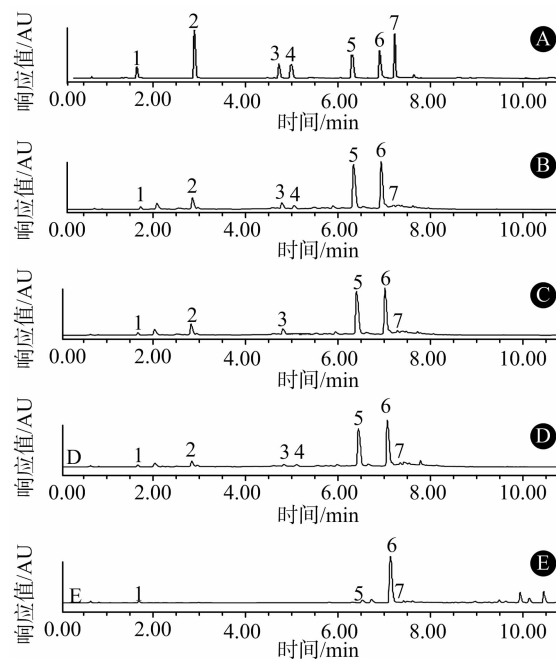
2.1 对照品溶液的制备 取干燥至恒重的对照品适量,精密称定,以甲醇溶解,置于 10 mL 量瓶中,定容至刻度,摇匀,配成丹参素、咖啡酸、芦丁、异槲皮苷、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A 浓度分别为 0.108、0.106、0.354、0.305、0.137、0.211、0.106 g·L⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备 称取丹参地上样品(叶、茎和花)和丹参根干燥粉末各 0.5 g,精密称定,置于 100 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 20 mL 后进行称重,静置 4 h 后于 80℃ 回流 1.5 h 后补足减失的重量,滤过,滤液在 3 000 r·min⁻¹ 下离心 10 min,取上清液过 0.45 μm 的滤膜后进样。

2.3 色谱条件 Waters ACQUITYUPLC BEH C₁₈ (2.1 mm×100 mm,1.7 μm) 色谱柱;柱温:35℃;流动相:乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B),梯度洗脱(0~2 min,5%~15% A;2~3 min,15%~15% A;3~6 min,15%~25% A;6~7 min,25%~40% A;7~9 min,40%~80% A;9~10 min,80%~80% A;10~11 min,80%~100% A);流速:0.4 mL·min⁻¹;进样量:10 μL;检测波长:酚酸类成分为 280 nm,黄酮类为 254 nm。对照品和丹参各部位 UPLC 色谱图见图 1。

2.4 线性范围考察 精密量取“2.1”项下丹参素、

咖啡酸、芦丁、异槲皮苷、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A 对照品储备液,稀释,配成不同浓度的混合对照品溶液,按照“2.3”项下方法分别进行测定,记录各峰面积,以峰面积积分值为纵坐标(Y),进样浓度为横坐标(X),绘制标准曲线并进行线性回归,结果见表 1。



注:1 为丹参素;2 为咖啡酸;3 为芦丁;4 为异槲皮苷;5 为迷迭香酸;6 为丹酚酸 B;7 为丹酚酸 A

图 1 混合对照品(A)、叶(B)、茎(C)、花(D)、根(E) UPLC 色谱图

表 1 七种酚酸类、黄酮类成分的线性回归方程及线性范围

化合物成分	回归方程	R ²	线性范围/mg·L ⁻¹
丹参素	$Y = 3\,317.6X - 99.333$	0.999 5	0.54 ~ 108
咖啡酸	$Y = 1\,5365X - 1\,181.1$	0.999 7	0.53 ~ 106
芦丁	$Y = 9\,608.1X + 8\,857.7$	0.999 9	3.54 ~ 354
异槲皮苷	$Y = 13\,389X - 5\,665.4$	0.999 7	3.05 ~ 305
迷迭香酸	$Y = 8\,292.8X + 85.729$	0.999 8	0.69 ~ 137
丹酚酸 B	$Y = 5\,042.3X - 734.9$	0.999 8	1.06 ~ 211
丹酚酸 A	$Y = 11\,106X - 5\,220.4$	0.999 6	0.53 ~ 106

2.5 精密度试验 精密吸取“2.1”项下对照品储备液 10 μL,按照“2.3”项下方法连续进样 6 次,测定丹参素、咖啡酸、芦丁、异槲皮苷、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A 色谱峰峰面积,计算各峰面积的相对标准偏差(RSD),考察仪器的精密度,分别为 0.93%、1.44%、0.53%、1.97%、1.91%、1.11%、1.96%,结果表明本实验方法精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一批对照品溶液,按照“2.3”项下条件,分别在 0、4、8、12、18、24 h 进行测定,记录峰面积值,计算各物质的 RSD,最终丹参素、咖啡酸、芦丁、异槲皮苷、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹

酚酸 A 的 RSD 分别为 1.54%、1.32%、1.09%、2.76%、1.52%、1.42%、2.24%，结果表明样品溶液在 24 h 内的稳定性良好。

2.7 重复性试验 按照“2.2”项下方法制备 6 份干燥根样品溶液，按“2.3”项下条件测定丹参素、咖啡酸、芦丁、异槲皮苷、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A 的峰面积，计算各物质量的 RSD 分别为 2.46%、0.36%、1.93%、1.79%、2.36%、3.30%、0.76%，表明样品重复性良好。

2.8 加样回收率试验 精密称定已知浓度的干燥根样品 3 份，分别按已知浓度的 80%、100%、120% 加入丹参素、咖啡酸、芦丁、异槲皮苷、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A 的对照品，混匀，按照“2.2”项方法进行处理，在“2.3”项色谱条件下测定，记录峰面积，计算加样回收率及 RSD，最终结果回收率分别为 96.24%、102.47%、101.06%、97.17%、97.23%、98.28%、98.33%，RSD 分别为 2.68%、1.60%、2.09%、2.92%、1.68%、1.14%、3.23%。

2.9 样品分析评价 精密吸取样品溶液 10 μL，注入超高效液相色谱仪，记录其峰面积，计算样品中丹参素、咖啡酸、芦丁、异槲皮苷、迷迭香酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A 的质量分数，结果见表 2。

表 2 丹参不同部位中酚酸类及黄酮类成分质量分数比较分析

化合物成分	质量分数/mg·g ⁻¹			
	叶	茎	花	根
丹参素	1.30	0.52	0.99	2.08
咖啡酸	1.64	0.10	0.17	0.08
芦丁	3.53	0.56	0.66	—
异槲皮苷	1.27	—	1.16	—
迷迭香酸	14.84	5.71	4.66	1.79
丹酚酸 B	20.74	15.34	10.16	63.09
丹酚酸 A	0.34	0.26	0.10	0.59

注：“—”表示未检测到此成分

3 讨论

本研究发现，丹参地上部分（叶、茎和花）与丹参根相比较，均含有丰富的水溶性丹酚酸类成分，主要为丹参素、咖啡酸、迷迭香酸和丹酚酸 B。丹参根中丹参素和丹酚酸 B 含量高于丹参地上部分，而丹参地上部分中咖啡酸和迷迭香酸含量高于丹参根。此外与丹参根相比，丹参地上部分富含黄酮类成分，主要为芦丁和异槲皮苷，提示可将丹参地上部分作为获取丹酚酸类及黄酮类化学成分的新资源。

丹参中富含以丹参酮 A 为代表的脂溶性成分和以丹酚酸 B 为代表的水溶性成分，是临床常用活血化瘀中药之一。两类成分研究均已较为深入且已研发复方丹参滴丸、丹参片等中药制剂，现已广泛应用于冠心病、心绞痛的预防和治疗。随着复方丹参滴丸等药品进入国际市场，临床需求量大幅上升，对丹参植物资源的需求也日益增加，而丹参入药以其干燥根及根茎为主，因此大量的丹参非药用部位（叶、茎、花）常作为废弃物被丢弃，造成资源浪费和环境污染^[9-10]。随着中药非药用部位的资源价值越来越被重视，人们对中药非药用部位化学成分的研究也越来越深入^[11-13]。丹参茎叶富含酚酸类成分，因此丹参茎叶可作为提取丹参酚酸类成分的优良辅料，曾有专利报道以丹参茎叶为原料，经水提、冷藏及离心过滤、调 pH 值、大孔吸附树脂分离、干燥等工艺制备得到资源性成分丹参素及丹酚酸 B，充分利用了丹参茎叶资源^[14]。丹酚酸类资源性物质具有较为广泛的生理活性，如抗氧化、抗血小板聚集、抗血栓、防止动脉硬化等作用^[11]。

本研究分析比较了丹参不同部位中酚酸类、黄酮类资源性化学成分，为开发利用新药源，提高中药资源利用效率，实现资源节约和生态保护提供依据，对推动丹参资源植物的综合循环利用具有重要的经济—社会—生态效益。

参考文献

- [1] 段金廛,宿树兰,钱大玮,等.中药资源化学研究思路方法与进展[J].中国天然药物,2009,7(5):333-340.
- [2] HO JH,HONG CY. Salvianolic acids;small compounds with multiple mechanisms for cardiovascular protection[J]. J Biomed Sci, 2011,18(1):30.
- [3] 段金廛.中药废弃物的资源化利用[M].北京:化学工业出版社,2013:97.
- [4] ZHANG Y,LI X,WANG Z. Antioxidant activities of leaf extract of Salvia miltiorrhiza Bunge and related phenolic constituents[J]. Food Chem Toxicol,2010,48(10):2656-2662.
- [5] 焦鹏,常起,王欣家,等.白花丹参叶制剂对乳腺癌 BCaP-37 细胞株增殖抑制的体外研究[J].时珍国医国药,2010,21(2):350-352.
- [6] 姚广发,刘莉,王海洋,等.具有保健功效的丹参花露饮品的制备方法:中国,CN102987401A[P].2013-03-27.
- [7] 史国玉,郭庆梅,周凤琴.丹参叶的化学成分研究[J].山西大学学报(自然科学版),2015,38(4):692-695.
- [8] 沙秀秀,宿树兰,沈飞,等.不同生长期丹参茎叶及花序中丹酚酸类化学成分的分布与积累动态分析评价[J].中草药,2015,46(22):3414-3419.
- [9] 赵宝林.丹参药材道地性探讨[J].时珍国医国药,2009,20(12):3101-3102.