

云南丹参资源植物的成分测定与质量评价

施天慧¹, 王强^{1,①}, 袁理春², 许华³

(1. 中国药科大学中药分析教研室, 江苏南京 210038;

2. 云南省农业科学院高山经济植物研究所, 云南丽江 674100; 3. 云南省大理州药品检验所, 云南大理 671000)

Constituent determination and quality evaluation on resource plant species of *Salvia L.* in Yunnan SHI Tian-hui¹, WANG Qiang^{1,①}, YUAN Li-chun², XU Hua³ (1. Department of Chinese Materia Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China; 2. The Research Institute of Alpine Economic Plant, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Lijiang 674100, China; 3. Yunnan Provincial Dali Institute for Drug Control, Dali 671000, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2006, 15(2): 73–74

Abstract: The contents of six major constituents and total content of salvianolic acid from roots of seven species and one variety in *Salvia L.* collected from Yunnan Province were analyzed. The results showed that the contents of danshensu, protocatechuic acid, protocatechualdehyde, salvianolic acid B, tanshinone I and tanshinone II A reached to 392.55–3 844.30, 21.80–373.57, 16.442–180.360, 4 417.4–41 899.0, 82.20–2 893.70 and 123.58–8 369.80 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, and total content of salvianolic acid also reached to 1.44%–4.53%. So the contents of constituents vary in different species and origin.

关键词: 丹参; HPLC; 紫外分光光度法; 丹参酮; 丹酚酸

Key words: *Salvia L.* spp.; HPLC; ultraviolet spectrophotometry; tanshinone; salvianolic acid

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004–0978(2006)02–0073–02

丹参为唇形科鼠尾草属(*Salvia L.*)植物丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge.)的干燥根及根茎,具有祛瘀止痛、活血通经、清心除烦之功效。丹参的有效成分为脂溶性的二萜醌类和水溶性的酚酸类成分,均具有心血管方面的药理作用。其有效成分含量的测定主要有HPLC法、紫外分光光度法等^[1,2]。云南的鼠尾草属植物(丹参)资源较为丰富,作者采用高效液相色谱法和紫外分光光度法测定了采自云南的鼠尾草属7种1变种的丹参酮类成分和丹酚酸类成分,以期为云南产丹参品质评价及资源利用提供更多的科学依据。

1 材料和方法

1.1 仪器和材料

1.1.1 仪器与试剂 Agilent 1100 Series 高效液相色谱仪; Agilent VWD 可变波长检测器; Agilent 化学工作站; 岛津 UV–2501 紫外可见分光光度计。

乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯净水。丹参素钠、丹酚酸B、丹参酮II A由中国药品生物制品检定所提供,其余对照品由中国药科大学中药分析教研室提供。

1.1.2 样品 供试种类为南丹参(*Salvia bowleyana* Dunn)、戟叶鼠尾草(*S. bulleyana* Diels)、黄花鼠尾草(*S. flava* Forrest)、丹参(*S. miltiorrhiza* Bge.)、甘西鼠尾草(*S. przewalskii* Maxim.)、褐毛甘西鼠尾草(*S. przewalskii* var. *mandarinorum* (Diels) Stib.)、三叶鼠尾草(*S. trijuga* Diels)和云南鼠尾草(*S. yunnanensis* C. H. Wright)。除丹参来源于四川中江外,其余均采自云南文山、丽江、中甸、剑川、大理等

地,由中国药科大学中药分析教研室王强教授鉴定。

1.2 方法

1.2.1 HPLC 法

1.2.1.1 色谱条件 Shimadzu CLC–ODS 色谱柱(150 mm × 4.6 mm)。梯度洗脱,流动相A为0.5%甲酸水溶液、B为乙腈,洗脱程序为:0至15 min,0% B~40% B;15至30 min,40% B~65% B;30至50 min,65% B~80% B。检测波长:0至25 min为281 nm;25至50 min为254 nm。柱温25°C;流速0.8 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

1.2.1.2 对照品溶液制备 精密称取各对照品,用甲醇配制成含62.4 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 丹参素钠、36.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 原儿茶酸、44.4 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 原儿茶醛、325.4 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 丹酚酸B、80.4 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 丹参酮I、162 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 丹参酮II A的混合对照品溶液。

1.2.1.3 样品溶液的制备 取干燥样品0.5 g,加10 mL甲醇于沸水浴上回流1 h,冷却放至室温,补足所失甲醇,过滤,取1 mL用甲醇定容至10 mL,0.45 μm 微孔滤膜过滤,即得样品溶液。

1.2.1.4 标准曲线的制作 精密吸取对照品溶液0.02、0.20、0.40、0.60、0.80和1.00 mL,用甲醇定容至1 mL,取20 μL 按上述HPLC色谱条件测定峰面积。以峰面积为纵

收稿日期: 2005–10–17

作者简介: 施天慧(1980–),女,江苏南通人,硕士研究生,主要从事中药及中药制剂质量分析研究。

① 通讯作者 E-mail: qwang49@sohu.com

坐标、浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)为横坐标绘制标准曲线。丹参素: $Y = 13.335 X + 2.645 7$, $r = 0.999 7$, 线性范围 $62.400 \sim 1.248 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 原儿茶酸: $Y = 23.698 X + 4.636 6$, $r = 0.999 8$, 线性范围 $36.00 \sim 0.72 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 原儿茶醛: $Y = 108.14X + 38.452$, $r = 0.999 9$, 线性范围 $44.400 \sim 0.888 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 丹酚酸 B: $Y = 14.259 X + 5.946 2$, $r = 0.999 7$, 线性范围 $325.400 \sim 6.508 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 丹参酮 I: $Y = 148.88 X + 91.502$, $r = 0.999 9$, 线性范围 $80.400 \sim 1.608 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 丹参酮 II A: $Y = 77.756 X + 98.095$, $r = 0.999 9$, 线性范围 $162.00 \sim 3.24 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

1.2.1.5 样品测定 分别精密吸取样品溶液 $20 \mu\text{L}$, 按上述 HPLC 色谱条件测定峰面积, 根据标准曲线计算含量。

1.2.1.6 精密度、重现性和回收率测定 精密吸取对照品溶液 $20 \mu\text{L}$, 重复进样 5 次, 各化合物的 RSD 均小于 5%, 表明其精密度良好。取同一样品 5 份, 分别按样品溶液的制备方法制备并测定, 各化合物的 RSD 为 $2.34\% \sim 3.75\%$, 表明其重现性良好。精密称取已知含量的样品 5 份(各 0.1 g), 加入一定量的对照品溶液, 按样品制备方法和测试条件测定, 各化合物的回收率分别为 $97.62\% \sim 102.58\%$, RSD 为 $2.13\% \sim 3.52\%$, 说明准确度和精密度良好。

1.2.2 紫外分光光度法

1.2.2.1 对照品溶液制备 精密称取原儿茶醛标准品 1.8 mg , 用无水乙醇溶解并定容至 25 mL , 即得对照品溶液。

1.2.2.2 样品溶液制备 精密称取干燥样品 0.1 g , 加 $25 \text{ mL } 0.2\% \text{ HCl}$ 于水浴中加热回流 2 h , 过滤, 滤液用 $0.2\% \text{ HCl}$ 稀释定容至 25 mL , 精密量取 10 mL 置分液漏斗中, 加 NaCl 约 2 g 溶解, 用乙醚萃取 3 次, 合并乙醚液, 挥干, 残渣

以无水乙醇溶解并定容至 10 mL , 即为样品溶液。

1.2.2.3 标准曲线制作 精密吸取对照品溶液 0.2 、 0.4 、 0.6 、 0.8 和 1.0 mL , 用无水乙醇定容至 10 mL , 以无水乙醇为空白, 于 281 nm 处测定吸收度, 以浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)为横坐标、吸收度为纵坐标绘制标准曲线: $Y = 0.052 64X + 0.011$, $r = 0.999 9$, 线性范围 $1.44 \sim 7.20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

1.2.2.4 样品测定 分别精密吸取样品溶液 0.5 mL 用无水乙醇定容至 10 mL , 于 281 nm 处测定吸收度, 根据标准曲线计算总酚酸含量。

2 结果和分析

鼠尾草属 7 种 1 变种植物中各成分含量见表 1。结果表明, 鼠尾草属不同种间成分含量差异较大。以总酚酸和丹酚酸 B 为指标, 南丹参、黄花鼠尾草和丹参中含量较高, 超过了 3% , 已达到并超过药典规定的含量(3%)^[3], 故具有较高的利用价值; 在甘西鼠尾草、褐毛甘西鼠尾草、三叶鼠尾草、云南鼠尾草中含量较低, 未达到药典标准; 在戟叶鼠尾草中含量最低。以丹参酮 II A 为指标, 甘西鼠尾草、褐毛甘西鼠尾草、三叶鼠尾中含量较高, 均高于药典规定的标准(0.2%), 同时丹参酮 I 含量也较其他种为高; 在南丹参、黄花鼠尾草中含量很低, 所以甘西鼠尾草、褐毛甘西鼠尾草等就其丹参酮 II A 含量来看, 也具有较大的利用价值, 在云南应用比较广泛。上述结果表明, 云南产丹参类植物的丹参酮类及丹酚酸类成分含量差异较大, 作为中药丹参的替代品使用有待商榷, 特别是戟叶鼠尾草不宜在临幊上作为中药丹参的替代品。

表 1 云南产鼠尾草属植物的化学成分含量

Table 1 Contents of constituents in *Salvia L.* species from Yunnan Province

种类 ¹⁾ Species ¹⁾	产地 Location	含量/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ Content						总酚酸 含量/% Total content of salvianolic acid
		丹参素 Danshensu	原儿茶酸 Protocatechuic acid	原儿茶醛 Protocatechualdehyde	丹酚酸 B Salvianolic acid B	丹参酮 I Tanshinone I	丹参酮 II A Tanshinone II A	
南丹参	云南文山 Wenshan, Yunnan	392.55	373.57	24.820	41 326.0	82.20	163.50	4.53
戟叶鼠尾草	云南文山 Wenshan, Yunnan	544.84	57.50	34.470	4 417.4	143.78	123.58	1.65
黄花鼠尾草	云南丽江 Lijiang, Yunnan	3 844.30	110.29	127.250	32 038.0	421.62	433.83	3.66
丹参	四川中江 Zhongjiang, sichuan	490.59	21.80	46.621	41 899.0	835.61	3 049.60	4.15
甘西鼠尾草	云南丽江 Lijiang, Yunnan	677.31	42.23	16.442	19 767.0	1 607.90	8 369.80	2.04
褐毛甘西鼠尾草	云南中甸 Zhongdian, Yunnan	1 289.60	45.29	50.203	10 751.0	2 384.80	6 138.20	1.44
三叶鼠尾草	云南剑川 Jianchuan, Yunnan	661.31	263.28	91.558	12 987.0	2 893.70	7 976.90	1.63
云南鼠尾草	云南大理 Dali, Yunnan	716.35	121.33	180.360	26 106.0	235.84	1 172.80	2.84

¹⁾ 南丹参(*Salvia bowleyana* Dunn); 戟叶鼠尾草(*S. bulleyana* Diels); 黄花鼠尾草(*S. flava* Forrest); 丹参(*S. miltiorrhiza* Bge.); 甘西鼠尾草(*S. przewalskii* Maxim.); 褐毛甘西鼠尾草(*S. przewalskii* var. *mandarinorum* (Diels) Stib.); 三叶鼠尾草(*S. trijuga* Diels); 云南鼠尾草(*S. yunnanensis* C. H. Wright).

参考文献:

- [1] 张文生, 李德坤, 叶正良. 反相高效液相色谱法测定丹参提取物中丹参素、原儿茶醛和丹酚酸 B 的含量[J]. 药物分析杂志, 2003, 23(6): 475-476.

- [2] 侯安国, 梁晓原, 阮志国. 云南大紫丹参有效成分的含量测定 [J]. 云南中医学院学报, 1998, 21(4): 6-8.
[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2005 年版(一部) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.