丹参、红花分提和合提提取液的指纹图谱比较

王小平[1,2]，刘 峰[2]，韩 翠[2]，马存德[2]

（1. 陕西中医学院，陕西咸阳 712046；2. 陕西步长制药有限公司，陕西咸阳 712000）

[摘 要] 目的：以指纹图谱方式，研究丹参和红花合提和分提提取液中化学成分的差异。方法：采用常规制备方法得丹参和红花合提和分提的提取液，采用HPLC考察检测波长、色谱柱、流动相的组成等色谱条件，并采用最佳色谱条件对丹参、红花分提与合提所得提取液进行测定，比较不同提取液指纹图谱的差异。结果：不同提取液中主要化学成分组成和主要化学成分的提取率不存在差异。结论：丹参、红花分提与合提所得提取液中主要化学成分组成和主要化学成分的提取率不存在差异。

[关键词] 丹参；红花；配伍；指纹图谱

中图分类号：R285.5 文献标志码：A 文章编号：1000—2723(2011)04—0011—03

中药复方制剂在提取过程中，由于各药味的化学成分相互影响，产生助溶、化学反应等现象，使中药复方制剂中提取的有效成分发生变化，直接影响中药复方制剂的临床疗效。因此，研究中药复方制剂有效成分的变化是中药复方研究的一个重要内容[1]。丹红注射液（国药准字Z20026866）具有活血化瘀、通脉舒络功能，用于瘀血闭阻所致的胸痹及中风、冠心病、心绞痛，心肌梗塞等症。复方配伍由于药物间的相互作用使得化学成分更加复杂多变，用某一种或几种化学成分的含量难以全面评价复方的制备工艺，而指纹图谱在中药或中成药的研究和应用越来越广泛[2-4]。因此，笔者采用指纹图谱技术，分析、比较丹参和红花分提和合提两种提取液，探讨两药不同提取方法所得提取液化学组成成分的差异。旨在为丹红注射液的工艺改进提供理论依据。

1 仪器、试药与材料

1.1 仪器与材料

戴安UitiMate 3000全自动高效液相色谱仪，泵：UitiMate 3000；自动进样器：UitiMate 3000；检测器：UitiMate 3000UV检测器。工作站：Chromeleon。UV756紫外可见分光光度计（上海精密科学仪器有限公司）。Discovery DV215CD型双量程电子分析天平（瑞士；0.01mg；0.1mg）

1.2 试药

羟基红花黄色素A（111637－200503）、丹参素钠对照品（110855－200405）、丹酚酸B对照品（111562－200807）均由中国药品生物制品检定所提供。原儿茶醛均由北京大学医学部中药现代化研究中心提供。流动相所用甲醇、乙腈为色谱醇，其他试剂如：磷酸等均为分析纯；丹参、红花来自山东菏泽步长制药有限公司。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱：迪马公司Diamonsil（钻石）C18色谱柱（4.6mm×250mm，5μm）；流动相：甲醇－乙腈－0.4%的磷酸水，梯度洗脱；流速：1.0mL/min，检测波长：377 nm，柱温：25℃；进样量：15μL。

2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取羟基红花黄色素A、丹参素钠、丹酚酸B、原儿茶醛对照品适量，用甲醇溶解并稀释，制成每1mL溶液含羟基红花黄色素A、丹参素钠、丹酚酸B、原儿茶醛分别为0.2mg.

收稿日期：2011—03—11 修回日期：2011—05—06

作者简介：王小平（1967～），女，陕西宝鸡人，主管中药师、副教授，博士。研究方向：中药化学成分分析及新药研究。

万方数据

表 1 梯度变化表

T	MeOH	CH_3CN	0.4% H_3PO_4
0	0	5	95
30	0	18	82
50	30	13	57
55	40	5	55
65	0	5	95

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 丹参和红花合提

取丹参药材饮片 3 份：红花药材 1 份（为丹红注射液处方组成的比例），两药合并，加水 10 倍量，提取 3 次，每次 0.5h，过滤，合并滤液，备用。

2.3.2 丹参、红花分别提取

取与“2.3.1”项下相同量的药材，分别加水 10 倍量，提取 3 次，每次 0.5h，过滤，滤液合并，备用。

2.4 精密度试验

取同一份供试品溶液，连续进样 5 次，用 MATLAB 软件计算相似度，在同一仪器测得的色谱指纹图谱与其所得共有模式图谱的相似度分别为 0.9925，0.9956，0.9943，0.9928，0.9964，满足相似度不小于 0.950，并考察色谱峰保留时间和峰面积的一致性，羟基红花黄色素 A、丹参素钠、丹酚酸 B、原儿茶醛保留时间 RSD 和峰面积的 RSD 均小于 1.9%.

2.5 稳定性试验

取供试品溶液，分别于 0，1.5，3，6，8，12 h 进样检测，直观观察指纹图谱的全貌无明显变化，用 MATLAB 软件计算相似度，在同一仪器测得的色谱指纹图谱与其所得共有模式图谱的相似度分别为 0.9971，0.9948，0.9906，0.9925，0.9916，满足相似度不小于 0.950，并考察保留时间和峰面积的一致性，羟基红花黄色素 A、丹参素钠、丹酚酸 B、原儿茶醛保留时间 RSD 和峰面积的 RSD 均小于 1.8%，表明在此时间内供试品溶液中的上述成分是稳定的。

2.6 重复性试验

分别取同一丹参药材饮片、红花药材样品 6 份，制备供试品溶液，分别注入液相色谱仪测定，所得色谱指纹图谱直观观察，表明指纹图谱的全貌无明显变化，用 MATLAB 软件计算相似度，在同一仪器测得的色谱指纹图谱与其所得共有模式图谱的相似度分别为 0.9927，0.9935，0.9956，0.9918，0.9938，0.9959，均大于 0.95，并考察保留时间和峰面积的一致性，羟基红花黄色素 A、丹参素钠、丹酚酸 B、原儿茶醛保留时间 RSD 和峰面积的 RSD 均小于 1.9%.

2.7 样品测定

分别精密吸取上述供试品溶液适量，置 10mL 量瓶中，用水稀释到刻度，摇匀，经 0.45μm 微孔滤膜滤过，精密吸取 10μL 注入液相色谱仪，测定，记录色谱图。对不同批次 HPLC 色谱图进行解析，确定共有峰，构建样品的 HPLC 色谱图的指纹特征。采用 MATLAB 软件对各样品色谱图的原始数据进行分析，以 6 批样品生成的对照谱图作为对照模版，计算各色谱图的整体相似度，6 批样品相似度分别为 0.9905，0.9934，0.9897，0.9934，0.9964，0.9985。精密吸取羟基红花黄色素 A、丹参素钠、丹酚酸 B、原儿茶醛对照品溶液与供试品溶液各 10uL，分别进样测定，确定指纹色谱图中的 6 号峰为羟基红花黄色素 A，9 号峰为丹参素，10 号峰为原儿茶醛，14 号峰为丹酚酸 B。

2.8 结果

丹参和红花不同提取方法所得提取液共有模式指纹图谱见图 1。从整体角度判断，以两药合提所得提取液指纹图谱中的主要色谱峰为基准，与两药分别提取再合并所得提取液的图谱做比较，发现两药分提与合提的指纹图谱中主要色谱峰数目一致，保留时间基本相同，峰面积基本相等。初步断定丹参、红花分提与合提，其主要化学成分没有发生变化。

3 讨论

采用 UV 检测器对指纹图谱的检测波长进行选择，结果表明，检测波长 377nm 处，所得各色谱峰具有代表性，信息量较大，各色谱分离度好。故选用 377nm 为检测波长。采用不同的洗脱系统对流动相的组成进行优化，最终选用 2.1 项下的流动相组成进行梯度洗脱，各色谱分离度好，基线平稳。本文比较了 Kromasil C18 100 - 5（250mm × 4.6mm，5μm）色谱柱和迪马公司 Diamonsil（钻石）C18（4.6mm × 250mm，5μm）色谱柱，从指纹图谱整体信息比较来看，Kromasil 柱所得图谱和 Diamonsil 柱所得图谱的差异不大，色谱的整体性相似。从戴安 UitiMate 3000 高效液相色谱仪和美国Agilent - 1100型高效液相色谱仪所得指纹图谱

万方数据

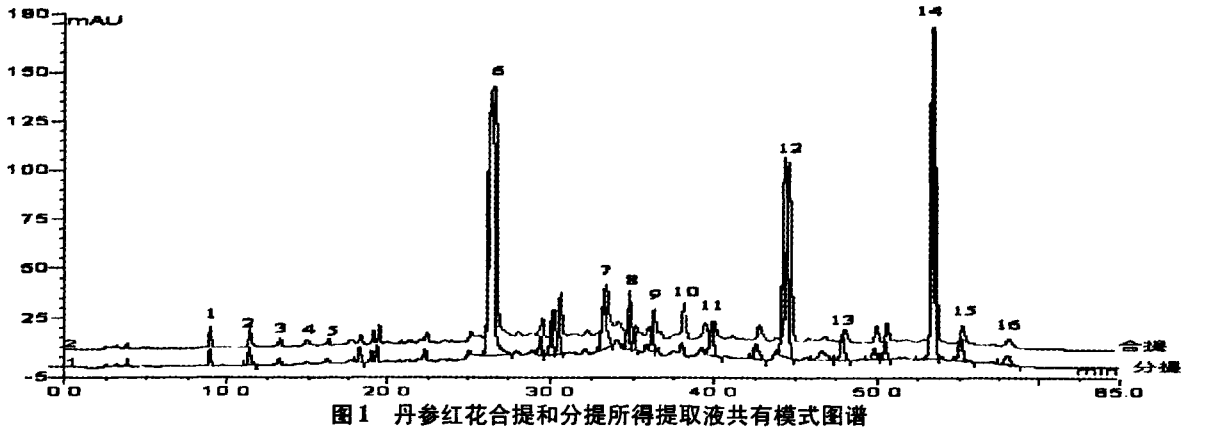

图1　丹参红花合提和分提所得提取液共有模式图谱

的整体性和模糊性上来看，整体信息基本相似，说明指纹图谱在不同仪器上的“相似性”。故本文的HPLC指纹图谱在不同型号仪器和不同色谱柱上具有良好的重现性。

从本实验结果可以看出，丹参、红花（按3:1的比例）两药分别提取后，再将提取液合并与两药合提的主要化学成分的种类和峰面积基本一致。这说明丹参、红花两药分别提取后，将提取液合并与两药合提对主要化学成分的种类和含量几乎没有影响。

[参考文献]

[1] 曹佩雪，梁光义，李霞，等. 葛根芩连汤不同配伍情况下葛根素、黄芩苷、小檗碱的含量比较 [J]. 中国医药学报，2003，18（8）：459-462.

[2] 李欣，尹莲，段金廒. 二妙丸类方抗湿热证痛风有效部位群指纹图谱比较研究 [J]. 中国中药杂志，2008，33（16）：1971-1975.

[3] 武荣兰，徐世美，封顺. 液相色谱指纹图谱在当归、黄芪及其复方有效成分分析中的应用 [J]. 分析试验室，2007，26（10）：93-96.

[4] 罗毅，杨俊，张倩睿. 配伍黄芪对淫羊藿主要化学成分的影响 [J]. 中国中医药信息杂志，2006，13（12）：46-48.

（编辑：岳胜难）

Fingerprint Comparison of the Extraction of Salvia Miltiorrhiae Radix et Rhizoma and Carthami Flos Extracted by Waterl Together and Single

WANG Xiao-ping[1,2], LIU Feng[2], HAN Gui[2], MA Cun-de[2]

(1. Shanxi University of TCM, Xianyang Shanxi 712046, China;
2. Shanxi Buchang Pharmaceuyical Co. Ltd, Xianyang Shanxi 712000, China)

[**ABSTRACT**] Objective: To study on the differences of chemical composition between extraction of Salvia Miltiorrhiae Radix et Rhizoma and Carthami Flos extracted by water together and single, with fingerprint technology. Methods: The extracting solution of Salvia Miltiorrhiae Radix et Rhizoma and Carthami Flos were extracted by water together and respectively under the same process. The comparison was done under the different wavelengths and different brand columns and different mobile phase, HPLC method determined the extracting solution's fingerprint within the range of optimized conditions. Results: The ratio of compositions and its main chemical substances are same between the two extracting solution. Conclusion: some chemical substances and composition's ratio are same in the extracting solution of Salvia Miltiorrhiae Radix et Rhizoma and Carthami Flos extracted by water together and respectively.

[**KEY WORDS**] salvia miltiorrhiae radix et rhizoma; carthami flos; combination; fingerprint

万方数据

丹参、红花分提和合提提取液的指纹图谱比较

万方数据 WANFANG DATA 文献链接

作者： 王小平， 刘峰， 韩翠， 马存德， WANG Xiao-ping， LIU Feng， HAN Gui， MA Cun-de

作者单位： 王小平,WANG Xiao-ping(陕西中医学院,陕西咸阳712046;陕西步长制药有限公司,陕西咸阳712000)， 刘峰,韩翠,马存德,LIU Feng,HAN Gui,MA Cun-de(陕西步长制药有限公司,陕西咸阳,712000)

刊名： 云南中医学院学报 ISTIC

英文刊名： Journal of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine

年，卷(期)： 2011,34(4)

参考文献(4条)

1. 曹佩雪;梁光义;李霞 葛根芩连汤不同配伍情况下葛根素、黄芩苷、小檗碱的含量比较[期刊论文]-中国医药学报 2003(08)

2. 李欣;尹莲;段金廒 二妙丸类方抗湿热证痛风有效部位群指纹图谱比较研究[期刊论文]-中国中药杂志 2008(16)

3. 武荣兰;徐世美;封顺 液相色谱指纹图谱在当归、黄芪及其复方有效成分分析中的应用[期刊论文]-分析试验室 2007(10)

4. 罗毅;杨俊;张倩睿 配伍黄芪对淫羊藿主要化学成分的影响[期刊论文]-中国中医药信息杂志 2006(12)

本文链接：http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_ynzyxyxb201104004.aspx