

种植与根植栽培丹参含量比较研究*

于凡^{1,2,4}, 李国转^{1,2,3}, 陈卫东^{1,2,3△}, 王国凯^{1,2,3}, 彭代银^{1,2,3}, 俞年军^{1,2,3}, 李勇⁴

(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;
4. 安徽春之蔚农业科技有限公司, 安徽 太和 236626)

摘要: 目的 比较种植、根植不同方法栽培而成的丹参不同部位化学成分的含量, 用以选出合理的栽培方式。
方法 根据 2015 版《中国药典》中记载的方法采用高效液相色谱法(HPLC), 对种植、根植两种不同栽培方式培育出来的丹参中的根、茎、叶、花托、须根 5 个部位进行丹酚酸 B、丹参酮类(丹参酮 IIA、隐丹参酮、丹参酮 I)的含量测定。**结果** 丹参的不同部位含量有显著差异, 两类丹参中丹参酮类与丹酚酸 B 在不同部位分布的含量均依次为主根>须根>花托>茎>叶; 根植丹参的主根及茎中所含丹参酮类高于种植丹参, 就丹酚酸 B 而言, 种植丹参 5 个部位中丹酚酸 B 的含量均高于根植丹参。**结论** 种植丹参中丹酚酸 B 含量高于根植丹参, 根植丹参的主根中丹参酮类比种植丹参含量高; 可根据药材所需成分对丹参栽培方法进行合理的选择, 指导丹参规范合理种植。

关键词: 丹参; 不同部位; 含量测定; 丹酚酸 B; 丹参酮类

中图分类号: R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2017)02-0081-04

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2017.02.019

丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)为唇形科鼠尾草属植物^[1], 是中国传统、常用的活血化瘀中药材^[2]。丹参具有养血安神、清心除烦、活血通经、祛瘀止痛的功效^[3-6]; 可用于月经不调、闭经、痛经、心烦不眠、胸腹刺痛、肝脾肿大及心绞痛等症^[7-9]。现代临床在治疗冠心病、心绞痛、心肌缺血、抗动脉粥样硬化、改善微循环等心脑血管疾病方面应用比较广泛^[10-14]。

安徽省为丹参药材全国重要产区之一^[15-18], 目前安徽范围内皖北区栽培丹参产量较大, 产区主要采用种苗种植与根植两类栽培模式。为探讨不同栽培方式对丹参品质的影响, 提升安徽产区丹参的品质, 扩大安徽丹参的规范化种植规模, 本文采用 2015 版《中国药典》方法, 开展种植、根植丹参不同部位的丹参酮类(丹参酮 IIA、隐丹参酮、丹参酮 I)与水溶性成分丹酚酸 B 含量的比较分析, 对不同栽培方式的丹参中主要成分的含量进行比较研究。

1 试药与仪器

1.1 仪器

日本岛津公司 LC-15C 高效液相色谱仪, 德国梅特勒-托利多 AB135-S 型 1/10 万电子天平, 天津奥特赛恩斯 AS20500BDT 超声波清洗机, 黄城 HC-1000Y 多功能粉碎机。

1.2 材料

标准品丹酚酸 B(批号 11156-201111), 丹参酮 I-IA(批号 110766-200619)、隐丹参酮(110852-200806)、丹参酮 I(110867-200406)均购买自中国食品药品检定研究院, 甲醇(国药集团化学试剂有限公司)、乙腈(德国默克公司)均为色谱纯, 超纯水(18.2Ω), 其他试剂均为分析纯。

1.3 样品

药材样品由安徽春之蔚农业科技有限公司提供,

* 基金项目: 1. 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); 2. 中医药行业科研专项安徽种植种苗基地建设项目(201207002); 3. “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; 4. 安徽省重点研究与开发计划项目(1704a0802145)

收稿日期: 2017-02-15

作者简介: 于凡(1989-), 女, 安徽亳州人, 在读硕士研究生, 主要从事中药质量控制与中药药物代谢动力学研究。

△通信作者: 陈卫东, E-mail: anzhongdong@126.com

分别为太和栽培基地的种苗栽培 1 年生种植丹参与太和栽培基地的 1 年生的根植丹参,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 标准对照品溶液的制备

丹参酮类:取适量丹参酮 IIA、丹参酮 I、隐丹参酮标准对照品,精密称量后各放置于 10mL 棕色容量瓶中,加甲醇定容为储备液;分别精密吸取定量储备液置于 10mL 棕色容量瓶加甲醇定容,制成每 1mL 各含 10 μ g 的丹参酮 IIA、丹参酮 I 和隐丹参酮标准品混合溶液。

丹酚酸 B:取适量对照品,精密称定后加溶剂制成储备液,加 80%甲醇制成每 1mL 含 100 μ g 的丹酚酸 B 标准对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备

根据 2015 版《中国药典》,取丹参粉末约 0.3g,精密称定,加入甲醇 50mL,超声 30min,用甲醇补减失重量,滤过,取续滤液得丹参酮类供试品溶液;取丹参粉末约 0.15g,精密称定,加入 80%甲醇溶液 50mL,超声处理 30min,用 80%甲醇溶液补减失重量,滤过,取续滤液得丹酚酸 B 供试品溶液。

2.2 色谱条件

色谱柱 COSMIL C18 柱(4.6mm $\times$ 250mm, 5 μ m),检测条件参照 2015 版《中国药典》^[1],测丹参酮类以乙腈(A)-0.02%磷酸(B)为流动相,梯度洗脱(v/v, 0~6min, A:61%; 6~20min, A:61~90%; 20~20.5min, A:90~61%; 20.5~25min, A:61%),检测波长为 270nm,流速为 1.0mL $\cdot$ min⁻¹;测定丹酚酸 B 以乙腈-0.1%磷酸(v/v, 22:78)为流动相,检测波长为 286nm,流速为 1.2mL $\cdot$ min⁻¹。系统柱温 20 $^{\circ}$ C,进样量为 20 μ L。

2.3 线性关系考察

精密量取不同体积丹参酮类对照品储备液,分别配制浓度为 100 μ g $\cdot$ mL⁻¹, 50 μ g $\cdot$ mL⁻¹, 20 μ g $\cdot$ mL⁻¹, 10 μ g $\cdot$ mL⁻¹, 5 μ g $\cdot$ mL⁻¹, 2 μ g $\cdot$ mL⁻¹, 1 μ g $\cdot$ mL⁻¹ 的混合对照品溶液。精密量取不同体积丹酚酸 B 对照品储备液,分别配制成浓度为 1mg $\cdot$ mL⁻¹, 0.5mg $\cdot$ mL⁻¹, 0.2mg $\cdot$ mL⁻¹, 0.1mg $\cdot$ mL⁻¹, 0.05mg $\cdot$ mL⁻¹, 0.02mg $\cdot$ mL⁻¹ 的丹酚酸 B 对照品溶液。按上述条件进样,以峰

面积积分值为纵坐标(Y),标准对照品进样浓度为横坐标(X),绘制标准曲线得表 1。

表 1 丹参酮类和丹酚酸 B 标准曲线

标准品	标准曲线
丹参酮 II A	$Y = 232239.5718X + 128187.0717$ ($r = 0.9993$)
隐丹参酮	$Y = 111052.0808X + 40376$ ($r = 0.9998$)
丹参酮 I	$Y = 17884X + 4974.3$ ($r = 0.9998$)
丹酚酸 B	$Y = 3 \times 107X + 386922.6722$ ($r = 0.9997$)

丹参酮 IIA、隐丹参酮、丹参酮 I 在 1~100 μ g $\cdot$ mL⁻¹ 范围内均线性良好,丹酚酸 B 在 0.02~1mg $\cdot$ mL⁻¹ 范围内线性良好。

2.4 精密度试验

取同一浓度丹参酮类、丹酚酸 B 标准对照品溶液分别进样(n=6),记录峰面积。计算所得结果丹参酮 IIA RSD 为 0.820%,隐丹参酮 RSD 为 1.675%,丹参酮 I 的 RSD 为 0.919%,丹酚酸 B 的 RSD 为 1.602%,该方法精密度良好。

2.5 稳定性试验

取同一浓度供试品溶液分别于 0h, 2h, 4h, 8h, 24h 进样分析(n=3),记录峰面积,计算 RSD。所得结果丹参酮 IIA RSD 为 0.508%,隐丹参酮 RSD 为 0.603%,丹参酮 I RSD 为 0.716%,丹酚酸 B RSD 为 1.239%,结果说明该方法稳定性良好。

2.6 重复性试验

采用丹参供试品制备方法,制备供试品 6 份,平行进样分析,记录峰面积。所得丹参酮 IIA 含量的 RSD 为 1.605%,隐丹参酮含量的 RSD 为 1.379%,丹参酮 I 含量的 RSD 为 0.443%,丹酚酸 B 含量的 RSD 为 2.169%。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及丹酚酸 B 供试品溶液 6 份,分别对应加入已知浓度的标准对照品 200 μ L,制备供试液,按上述条件测定丹参酮类或丹酚酸 B 含量。所得丹参酮 IIA、隐丹参酮、丹参酮 I、丹酚酸 B 的回收率各为 100.674%、101.126%、100.503%、101.327%,其 RSD 均在 1.50%以下,表明该方法回收率较好。

2.8 种植与根植丹参不同部位样品含量测定

将种植与根植丹参样品的根、茎、叶、花托、须根按照“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。所得结果见表 2,图 1、2。

表 2 种植与根植丹参不同部位丹参酮类和丹酚酸 B 含量测定 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

		根	茎	叶	花托	须根
丹参酮类(%)	根植	0.938*	0.045	0.028	0.046	0.598*
	种植	0.646*	0.039	0.032	0.057	0.649*
丹酚酸 B(%)	根植	5.563*	0.461	0.295	0.5318*	5.187
	种植	7.215*	0.572	0.347	0.718*	5.716

注:种植与根植丹参相同部位比较,* $P<0.05$;2015 年版药典中规定丹参酮类总和 $\geq 0.25\%$,丹酚酸 B $\geq 3.0\%$ 。

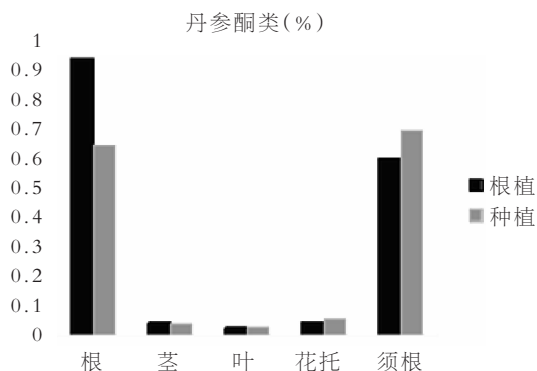


图 1 种植与根植丹参不同部位丹参酮类含量分析柱状图

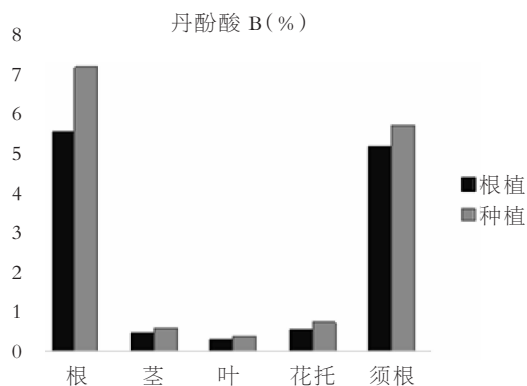


图 2 种植与根植丹参不同部位丹酚酸 B 含量分析柱状图

3 结果与讨论

由图 1、2 可知,在种植与根植丹参中,丹参酮类与丹酚酸 B 在不同部位分布的含量均为主根>须根>花托>茎>叶;根植丹参的主根、茎所含丹参酮类高于种植丹参,须根、花托、叶所含丹参酮类低于种植丹参,其中两类丹参的主根、须根丹参酮类含量均远远高于 2015 年版药典要求标准的 0.25%;种植丹参的 5 个部位中丹酚酸 B 含量均高于根植丹参,种植及根

植丹参的主根、须根中丹酚酸 B 含量大于 3.0%,符合药典要求标准。

采用药典规定的含量测定方法比较种植丹参与根植丹参中代表成分的含量高低情况,其中种植丹参的水溶性代表成分丹酚酸 B 含量高于根植丹参,根植丹参中丹参酮含量主根中高于种植丹参。通过对种植与根植不同栽培方式的丹参中药典要求成分含量比较研究以期对丹参的栽培与中药制剂中丹参药材的选择提供参考依据。现药用部位以及工业提取部位主要为须根部位,丹参不同部位含量有显著差异,其中主根与须根部位含有药典规定的有效成分含量较高,并且须根与主根的含量相当,在开发利用丹参药材时应当充分考虑丹参须根资源的合理应用。

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] 郭宝林,冯毓秀,赵杨景. 丹参种质资源研究进展[J]. 中国中药杂志,2002,27(1):492-495.
- [3] 王艳梅,曹俊岭. 丹参中酚酸类化合物的化学和药理研究进展[J]. 世界中医药,2016,11(6):1126-1130.
- [4] 刘慧颖,姜长涛,冯娟,等. 丹参酮类化合物研究进展[J]. 中国药理学通报,2016,32(12):1643-1647.
- [5] 柳雨娟,马云淑,黄金娥,等. 正交试验法优选滇丹参中水溶性成分提取工艺[J]. 云南中医学院学报,2013,36(1):12-14.
- [6] 李翠. 采收加工过程中丹参药材产量与质量的变化[D]. 济南:山东中医药大学,2015.
- [7] 刘薇薇,陈军峰,肖莹,等. 丹参中主要活性成分生物合成的研究进展[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2016,18(11):1891-1898.
- [8] 俞年军,彭代银,陈卫东,等. 丹参药材含量测定方法的优化[J]. 中国中药杂志,2015,40(11):2128-2131.
- [9] 伍振峰,陈伟良,王雅琪,等. 丹参减压提取工艺优化及技术适宜性研究[J]. 中草药,2014,45(6):795-800.
- [10] ZHAO Sj, ZHANG Jj, YANG L, et al. Determination and biosynthesis of multiple salvianolic acids in hairy roots of *Salvia miltiorrhiza* [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2011, 46(11):1352-1356.
- [11] 苏保林,陈刚毅,李敬. 丹参酮胶囊对糖尿病肾病患者成纤维细胞生长因子 23-Klotho 轴及血管钙化的影响[J]. 云南中医学院学报,2016,39(2):11-14.
- [12] 马育轩,郭蕊珠,周海纯,等. 丹参抗心肌缺血再灌注损伤的研究进展[J]. 中医药学报,2013,41(5):91-

- 93.
- [13] 员晋锋,邵毓薇,李茂清,等. 注射用丹参(冻干)对急性脑梗死患者脑血流动力学的影响[J]. 长春中医药大学学报,2014,30(2):285-287.
- [14] 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.
- [15] 詹志来,邓爱平,彭华胜,等. 基于历代本草产地变迁的药材道地性探讨——以黄芪、丹参为例[J]. 中国中药杂志,2016,41(17):3202-3208.
- [16] 赵宝林. 丹参药材道地性探讨[J]. 时珍国医国药,2009,20(12):3101-3102.
- [17] 俞年军,李伟. 安徽皖东地区丹参栽培品的质量评价[J]. 安徽中医学院学报,2005,24(2):41-42.
- [18] 史顺敏,俞年军,于凡,等. 丹参种质资源的研究进展[J]. 现代中医药,2016(6):113-117.
- (编辑:徐建平)

Comparative Study on the Content of *Salvia miltiorrhiza* Bunge Planted with Seedling Cultivation and Root

YU Fan^{1,2,4}, LI Guozhuan^{1,2,3}, CHEN Weidong^{1,2,3}, WANG Guokai^{1,2,3},
PENG Daiyin^{1,2,3}, YU Nianjun^{1,2,3}, LI Yong⁴

(1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China;
2. Synergetic Innovation Center of Anhui Authentic Chinese Medicine Quality, Hefei 230012, China;
3. Institute of Traditional Chinese Medicine Resources Protection and Development,
Anhui Academy of Chinese Medicine, Hefei 230012, China;
4. Spring Wei Anhui Agricultural Science and Technology Co, Ltd. Taihe 236626, China)

ABSTRACT: Objective To compare the contents of different parts of *Salvia miltiorrhiza* in different cultivation methods and to select the reasonable cultivation mode. **Methods** According to the method described in the Chinese Pharmacopoeia 2015 Edition, using high performance liquid chromatography (HPLC) to determinate the content of salvianolic acid B and tanshinone (*Salvia miltiorrhiza* of tanshinone IIA, cryptotanshinone, tanshinone I) which come from growing on different latitude in different breeding cultivation, rooted in two different planting Danshen root, stems, leaves, receptacle, fibrous roots. **Results** There were significant differences in different parts of *Salvia miltiorrhiza* content, plant *Salvia miltiorrhiza* and rooted *salvia miltiorrhiza*, tanshinones and salvianolic acid B in different parts of the distribution of content are root > fibrous roots > receptacle > stem > leaf; tanshinone content in root and stem rooted in *Salvia miltiorrhiza* was higher than that of plant *Salvia miltiorrhiza*. The content of salvianolic acid B in plant *Salvia miltiorrhiza* of five parts were higher than the content in rooted *salvia miltiorrhiza*. **Conclusion** Salvianolic acid B in plant *Salvia miltiorrhiza* was higher than that in rooted *salvia miltiorrhiza*, but tanshinone was lower in rooted. *Salvia miltiorrhiza* cultivation methods can be a reasonable choice depending on the desired composition, guide rational planting.

KEY WORDS: *salvia miltiorrhiza*; different parts; determination; salvianolic acid B; tanshinone