

干燥前水洗对丹参活性成分的影响

尉广飞, 李 翠, 刘 谦, 李 佳, 张永清*

山东中医药大学, 山东 济南 250355

摘 要: 目的 研究干燥前水洗对丹参 *Salvia miltiorrhiza* 活性成分量的影响, 为规范丹参产地加工方法提供依据。方法 将丹参鲜药材采取不洗、冲洗、浸洗、搓洗等方法处理, 采用 HPLC 法测定其活性成分量的变化, Diamonail C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 乙腈-0.026%磷酸溶液梯度洗脱, 体积流量为 1.0 mL/min, 检测波长为 286 和 270 nm。结果 水洗后, 迷迭香酸、丹酚酸 B、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A 5 种活性成分量均有所降低, 水洗力度越大, 质量分数降低幅度越大, 搓洗丹参中的活性成分量最低。结论 水洗使丹参活性成分遭受损失, 应尽量采用冲洗方式, 既要减少与水接触的时间, 又要避免药材间摩擦及人工搓揉。

关键词: 丹参; 产地加工; 水洗; 迷迭香酸; 丹酚酸 B; 隐丹参酮; 丹参酮 I; 丹参酮 II_A

中图分类号: R282.4 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)16-2467-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.16.022

Influence of washing before drying on active components of *Salvia Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*

WEI Guang-fei, LI Cui, LIU Qian, LI Jia, ZHANG Yong-qing

Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China

Abstract: Objective To research the influence of different washing methods before drying on the contents of active components in *Salvia Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*, and provide the basis for standard original processing methods of *Salvia miltiorrhiza*. **Methods** The fresh herbs of *S. miltiorrhiza* were processed with different methods including no washing, water flushing, immersion cleaning, and scrubbing in water. HPLC was applied to determine the contents of active components, with Diamonsil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), acetonitrile-0.026% phosphoric acid for gradient elution, flow rate of 1 mL/min, and detection wave length of 286 and 270 nm. **Results** The contents of rosmarinic acid, salvianolic B, cryptotanshinone, tanshinone I, and tanshinone II_A were all significantly decreased in *S. miltiorrhiza* processed with different washing methods. The contents of active components were reduced with the increasing of washing intensity, of which the lowest contents were found in scrubbing group. **Conclusion** Washing with water can make loss of active components, and flushing may be a more suitable method. In order to decrease the content loss of active components, contact time with water must be controlled as short as possible and violent friction among medicinal materials and artificial rubbing must be avoided.

Key words: *Salvia miltiorrhiza* Bge.; original processing; washing by water; rosmarinic acid; salvianolic B; cryptotanshinone; tanshinone I; tanshinone II_A

丹参为唇形科多年生草本植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根及根茎, 属于常用中药材之一, 具有活血化瘀、凉血消肿、清心除烦等功效^[1]。现代研究结果显示, 丹参的活性成分有脂溶性菲醌类衍生物 (丹参酮 II_A、隐丹参酮、丹参酮 I 等) 和水溶性酚酸类 (丹参素、丹酚酸 B 等), 具有抗氧

化、抗菌、抗肿瘤、改善微循环等药理活性, 临床用于治疗月经不调、经闭经痛、症瘕积聚、胸腹刺痛、热痹疼痛、疮疡肿痛、心烦不眠等病症^[2-3]。由于市场需求大幅度增加, 目前丹参主要依靠人工栽培满足需要。在实际生产过程中, 传统干燥加工方法是采收后、抖去泥土、晒干, 用时再经洗、润,

收稿日期: 2015-01-29

基金项目: 国家科技重大专项课题 (2012ZX09304006); 山东省科技发展计划项目“山东道地药材资源质量控制科技平台建设”课题 (2008GG2NS02022)

作者简介: 尉广飞 (1986—), 女, 山东莒南人, 山东中医药大学 2013 级级中药学专业硕士研究生, 研究方向为中药资源及其质量控制。

E-mail: 874101744@qq.com

*通信作者 张永清 (1962—), 男, 山东平邑人, 理学博士, 教授, 博士生导师, 从事中药资源及其质量控制研究。E-mail: zyzq622003@126.com

切制成饮片。研究证明, 丹参干药材经洗、润、切片后, 其活性成分损失很大, 尤其是水溶性成分丹参素的损失最大^[4]。因此, 有人建议丹参直接鲜切制成饮片, 这不仅可以简化加工工序、节约人力物力, 同时还可以保留更多的活性成分、提高饮片临床疗效。有报道称, 鲜切丹参饮片的丹参酮 II_A 和丹酚酸 B 量均高于《中国药典》规定^[5]。但在丹参鲜切前, 仍然需要水洗, 对于如何水洗既能达到洁净作用、又能减少活性成分损失, 至今未见研究报道。鉴于此, 本实验以采收后的鲜丹参为研究对象, 采用不同的方法水洗, 烘干后粉碎, 然后分析测定其活性成分变化, 以期确定为丹参产地加工时合理的水洗方法提供依据。

1 材料

1.1 药材与试剂

2013 年 8 月 15 日, 样品采自河南省灵宝市阳店镇羊角寨村丹参规范化种植基地, 经山东中医药大学周凤琴教授鉴定为唇形科多年生草本植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的根。对照品丹参酮 II_A (批号 20130111)、迷迭香酸 (批号 20120809)、丹酚酸 B (批号 PA0418RA13) 购自上海源叶生物科技有限公司, 质量分数均 ≥ 98.0%; 对照品隐丹参酮 (批号 110852-200806), 丹参酮 I (批号 110867-200406), 购自中国食品药品检定研究院, 质量分数均 ≥ 98.0%; 甲醇 (色谱纯, 天津市富宇精细化工有限公司); 磷酸 (分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 娃娃哈纯净水; 乙腈 (分析纯)。

1.2 仪器

高效液相色谱仪 (Agilent1260, G1311C 型四元高压梯度泵, G1329B 型自动进样器, G1316A 型柱温箱, G1315D 型二极管阵列检测器, 美国 Agilent 公司); ChemStation 色谱数据工作站 (美国 Agilent 公司); 超声波提取器 (KQ-500DE, 昆山市超声仪器有限公司); 精密电子天平 (CP225D, 上海精密科学仪器有限公司); 数显式电热恒温干燥箱 (上海阳光实验设备有限公司), 高速多功能粉碎机 (转速 25 000 r/min, 上海树立仪器仪表有限公司)。

2 方法

2.1 丹参鲜药材的水洗与干燥

取采收后丹参长 20~30 cm、中部直径 1~1.5 cm 的根段 60 kg, 随机分为 12 份, 每份 5 kg。分别进行不洗、冲洗、浸洗、搓洗 4 种水洗处理, 每种处理重复 3 次。其中: 不洗即直接将鲜品抖净泥土; 冲洗即将鲜品利用水流冲洗, 以去净泥土为度, 然

后沥干; 浸洗即将鲜品放在清水中浸泡 4 h, 然后冲洗去净泥土, 捞出沥干; 搓洗即先在清水中浸泡 4 h, 然后用手揉搓, 去净泥土及表层粗皮, 捞出沥干。上述各种水洗处理后的鲜品, 均置 60 °C 温度下烘干。粉碎机粉碎后, 置干燥器中备用。

2.2 对照品溶液制备

分别精密称取减压干燥至恒定质量的脂溶性对照品丹参酮 I 0.94 mg、丹参酮 II_A 0.93 mg、隐丹参酮 1.07 mg, 置 50 mL 棕色量瓶中, 加甲醇溶解, 定容至刻度, 然后稀释 10 倍, 质量浓度分别为 1.88、1.86、2.74 μg/mL; 水溶性对照品丹酚酸 B 2.12 mg、迷迭香酸 0.2 mg, 分别置 10 mL 棕色量瓶中, 加甲醇溶解, 定容至刻度, 质量浓度分别为 212、20 μg/mL。

2.3 供试品溶液的制备

精密称取丹参粉末约 0.5 g, 置磨口锥形瓶中, 加入 75% 甲醇 100 mL, 精密称定, 50 °C 超声提取 40 min, 取出放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 采用 HPLC 法测定。

2.4 色谱条件

2.4.1 水溶性成分 色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为 A-乙腈, B-0.026% 磷酸。梯度洗脱: 0~15 min, 17%~23% A; 15~30 min, 23%~25% A; 30~40 min, 25%~90% A; 40~50 min, 90% A; 波长 286 nm; 柱温 30 °C; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μL。理论塔板数按丹酚酸 B 计不低于 3 000。

2.4.2 脂溶性成分 色谱柱为 Diamonsil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为 A-乙腈, B-0.026% 磷酸, 梯度洗脱: 0~20 min, 20%~60% A; 20~50 min, 60%~80% A; 波长 270 nm; 柱温: 25 °C; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μL。理论塔板数按丹参酮 II_A 计不低于 3 000。色谱图见图 1 和 2。

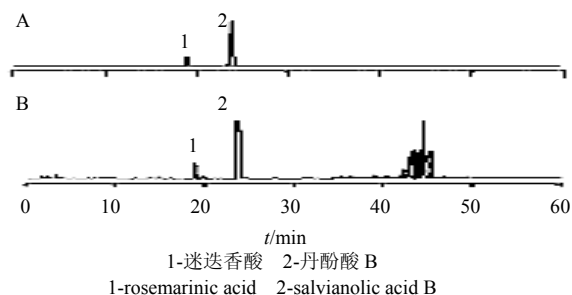


图 1 水溶性混合对照品 (A) 与供试品 (B) HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC of water-soluble mixed reference substances (A) and sample (B)

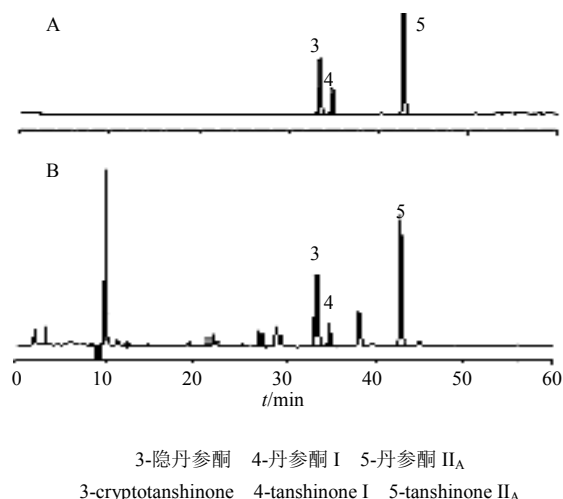


图 2 脂溶性混合对照品 (A) 与供试品 (B) 色谱图
Fig. 2 HPLC of fat-soluble mixed reference substances (A) and sample (B)

2.5 方法学考察

2.5.1 线性关系 配制不同浓度梯度的各对照品溶液, 精密吸取 10 μ L 注入高效液相色谱仪, 以对照品标准溶液质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 进行线性回归。结果迷迭香酸、丹酚酸 B、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A 的回归方程分别为 $Y=272.34 X+187.76$ 、 $Y=176.39 X+989.47$ 、 $Y=3 849.1 X+6.833 3$ 、 $Y=3 845.2 X-2.05$ 、 $Y=6 797.6 X+5.83$, 线性相关系数 r^2 分别为 0.999 5、0.999 3、1.000 0、1.000 0、1.000 0, 线性范围分别为 0.2~1.8、2.12~21.2、0.054 8~0.274、0.018 8~0.075 2、0.074 4~0.186 0 μ g。

2.5.2 精密度试验 取供试品溶液, 连续进样 6 次, 每次 10 μ L, 测定丹酚酸 B、迷迭香酸、丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 II_A 的峰面积, 其 RSD 值均小于 3%, 说明仪器的精密度良好。

2.5.3 稳定性试验 将供试品溶液在室温下放置, 分别于 0、2、6、12、18、24 h 后各进样 1 次, 每次 10 μ L, 结果丹酚酸 B、迷迭香酸、丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 II_A 峰面积的 RSD 值均小于 3.0%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.5.4 重复性试验 取同一批丹参样品 3 份, 按“2.3”项下供试品溶液的制备方法制备, 按选定的色谱条件测定, 计算丹酚酸 B、迷迭香酸、丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 II_A 的量, RSD 值均小于 3.0%, 表明重复性良好。

2.5.5 加样回收率试验 精密称量已测定迷迭香酸、丹酚酸 B、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A 量

的样品, 根据已知样品某活性成分的量加入其相当量的对照品, 按“2.3”项方法制备供试品溶液。测定迷迭香酸、丹酚酸 B、隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A 质量分数, 经计算其加样回收率分别为 100.30%、100.41%、100.46%、97.73%、98.95%, RSD 分别为 2.00%、1.70%、2.55%、1.07%、2.93%。

3 结果与分析

3.1 水洗对丹参水溶性活性成分量的影响

精密吸取供试品溶液 10 μ L, 按水溶性成分项下色谱条件测定峰面积, 用外标法计算质量分数。结果用不同方法水洗后, 丹参迷迭香酸与丹酚酸 B 的质量分数见表 1。

表 1 水洗对丹参水溶性活性成分量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 1 Effects of washing on water-soluble active components ($\bar{x} \pm s, n=3$)

处理	质量分数/%		
	迷迭香酸	丹酚酸 B	总量
不洗	0.245 $\pm$ 0.017 A	4.583 $\pm$ 0.164 A	4.828
冲洗	0.230 $\pm$ 0.002 AB	4.088 $\pm$ 0.137 B	4.318
浸洗	0.211 $\pm$ 0.012 B	4.091 $\pm$ 0.190 B	4.302
搓洗	0.124 $\pm$ 0.006 C	3.315 $\pm$ 0.066 C	3.439

不同字母间表示有显著性差异 ($P<0.05$), 下同

Different letters have significant difference ($P<0.05$), same as below

表 1 结果显示, 水洗对丹参水溶性活性成分有影响, 水洗后迷迭香酸与丹酚酸 B 质量分数及二者总量均有所降低。水洗力度越大, 质量分数降低越明显, 不洗>冲洗>浸洗>搓洗。除冲洗与浸洗之间无显著性差异外, 其他处理之间的差异均显著。迷迭香酸、丹酚酸 B 量及二者总量, 不洗分别是冲洗的 1.065 2、1.121 1、1.118 1 倍, 是浸洗的 1.161 1、1.120 3、1.122 3 倍, 是搓洗的 1.975 8、1.382 5 及 1.403 9 倍。

3.2 水洗对丹参脂溶性活性成分量的影响

不同方法水洗后丹参中隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A 等脂溶性活性成分的量变化见表 2。以不同方法水洗后, 丹参中的隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A 等脂溶性活性成分量及三者总量也都呈现出降低的趋势, 并且水洗力度越大, 质量分数降低幅度越大。隐丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 II_A 量及三者总量, 不洗分别是冲洗的 1.081 8、0.913 0、1.187 5 及 1.062 7 倍, 分别是浸洗的 1.062 5、1.235 3、1.366 0 及 1.202 1 倍, 分别是搓洗的 1.367 8、1.500 0、1.658 7、1.562 2 倍。水洗对丹参酮 II_A 量的影响最大, 不洗、

表2 水洗对丹参脂溶性活性成分量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 2 Effects of washing on fat-soluble active components ($\bar{x} \pm s, n=3$)

处理	质量分数/%			
	隐丹参酮	丹参酮 I	丹参酮 II _A	总量
不洗	0.119±0.000 A	0.021±0.000 A	0.209±0.002 A	0.339
冲洗	0.110±0.000 A	0.023±0.002 A	0.176±0.003 B	0.309
浸洗	0.112±0.007 A	0.017±0.001 B	0.153±0.009 C	0.282
搓洗	0.087±0.006 B	0.014±0.001 C	0.126±0.008 D	0.217

冲洗、浸洗及搓洗之间均有显著性差异,对隐丹参酮量的影响较小,不洗、冲洗及浸洗之间无显著性差异,但三者与搓洗间具有显著性差异。冲洗对丹参酮 I 的量没有显著性影响。

4 讨论

丹参作为常用大宗中药材之一,目前主要通过人工栽培满足需要,山东、河南、山西等地均有大面积栽培,且不同产地丹参药材的指标成分量差别很大^[6]。传统的产地加工方法为抖净泥土、直接晒干,加工饮片时,再经过清洗、润制、切片,不仅费时费力,而且易使活性成分遭受损失,为此有人倡议将鲜丹参直接切片^[7]。但为了保证饮片清洁卫生,在切片前需要进行清洗。有报道称,丹参酮 II_A 等脂溶性活性成分主要分布于丹参根周皮部位^[8-9],本研究结果显示,以水清洗丹参时,无论

是水溶性活性成分,还是脂溶性活性成分,均会有所损失。水洗力度越大,活性成分损失越多。因此,为了能够保留更多的活性成分,需要采取合理的清洗方法。总体原则是,要尽量缩短与水接触的时间,以冲洗净泥土即可,同时要避免药材间摩擦及人工搓揉,减少外部粗皮损伤。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 何根云. 丹参的药理作用与临床应用 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2011, 21(2): 124-125.
- [3] 王冰瑶, 吴晓燕, 樊官伟. 丹参素保护心血管系统的药理作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2014, 45(17): 2571-2575.
- [4] 李筱玲, 邓寒霜, 高宝云. 加工方法对丹参饮片有效成分含量的影响 [J]. 商洛学院学报, 2007, 21(4): 54-57.
- [5] 吴 瑛, 孙 静, 王昌利. 丹参饮片产地加工鲜切法的研究 [J]. 陕西中医, 2008, 29(12): 1668-1669.
- [6] 韦 辉, 刘素香, 刘 毅, 等. 丹参药材的综合质量评价研究 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(5): 343-347.
- [7] 吕文海, 王 姣, 张力中, 等. 山东丹参饮片产地加工方法与质量分析 [J]. 中成药, 2004, 26(8): 637-641.
- [8] 何锦钧, 李子鸿. 丹参有效成分在生药中的分布及其提取工艺思路的探讨 [J]. 中国药品标准, 2000, 1(2): 27-28.
- [9] 曾令杰, 梁 晖, 陈 悦, 等. 丹参酮 II_A 与丹酚酸 B 在丹参药材中的分布研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2006, 20(2): 7-9.