

丹参素研究进展

周茂金^{1,2}, 苏美英³, 刘昌孝¹

(1. 天津药物研究院 药代动力学研究室, 天津 300193; 2. 沈阳药科大学 药物代谢与药代动力学实验室, 辽宁 沈阳 110016 3. 山东省泰安市中心医院, 山东 泰安 271000)

丹参为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 的干燥根, 是化学成分研究进行的比较深入的一种中草药。从 20 世纪 30 年代起人们对丹参的化学成分即开始进行研究, 已阐明结构的成分近 50 种。研究表明, 丹参中脂溶性成分主要为丹参酮型的二萜类化合物; 水溶性成分主要为酚性芳香酸类化合物, 多含有苯丙烷结构, 以及该类酸缩合形成的多酚芳酸。从丹参中分离得到的脂溶性成分主要有异丹参酮 I、异丹参酮 II、隐丹参酮、异隐丹参酮、羟基丹参酮 II、左旋二氢丹参酮 I 等, 其中隐丹参酮的抑菌活性最强, 且含量较高, 因此是总丹参酮中抑菌活性的主要成分。从丹参中分离得到的水溶性成分主要有丹参素(丹参酸甲)、丹参酸乙、丹参酸丙、原二茶醛、丹酚酸 A、丹酚酸 C 和迷迭香酸等。其中丹参素和原儿茶醛是丹参水溶性成分中的主要药效成分。本文就丹参素的研究进展作一概述, 为丹参的进一步开发提供依据。

1 丹参素的性质

丹参素(danshensu)是 1980 年从丹参中分离出的一种酚性芳香酸类化合物, 又名 $D(+)-\beta-(3,4\text{-二羟基苯基})$ 乳酸。白色长针状结晶, 分子式为 $C_9H_{10}O_5$, 熔点 $84^\circ\text{C} \sim 86^\circ\text{C}$, 在乙醇中测不出旋光度, FeCl_3 反应呈黄绿色。红外光谱 (KCl , cm^{-1}) 显示 COOH ($1732, 2750 \sim 2550$) 和 OH ($3450 \sim 3150$) 的存在。核磁共振谱 ($(\text{CD}_3)_2\text{Co}\delta$ 2.86(2H, 八重峰), 4.30(1H, 四重峰); 6.60(1H, 双峰, $J=7\text{ Hz}$), 6.80(1H, 单峰), 分别显示典型的 ABX 型 ($\text{Ar-CH}_2\text{-CH-CO}$) 和 3 个芳香质子的存在。 ^{13}C 核磁共振 $\delta 143.3$ 表示两个羟基互为邻位, 其质谱裂解为典型的 α 开裂。

2 提取与分离

丹参的水溶性成分有多种提取方法, 如传统水煎法、乙醇回流法、动态湿浸法、超声波法和渗漉法等。以丹参素为指标成分, 用 HPLC 测定总提取量, 结果表明传统水煎法丹参素总提取量最高, 最佳提取条件为 12 倍量水, 煎煮两次, 每次 1.5 h^[1]。

目前丹参的水溶性成分传统的提取分离方法是水提醇沉法, 这也是目前制作丹参注射液及口服液的主要提取方法。凌海燕等^[2]用乙醚萃取丹参注射液, 乙醚层浓缩析出原儿茶醛; 水层用饱和食盐水盐析, 过滤盐析物, 滤液放置得到的白色沉淀物在水中重结晶得丹参素。

3 含量测定

丹参素含量测定方法主要有紫外分光光度法、荧光分光光度法、HPLC 法等。HPLC 法具有分析精度高、测量结果准确、方法简便和重现性好等特点, 是目前测定丹参素含量最常用的方法之一。代彩芹等^[3]报道, 用反相 HPLC 法, 以甲醇-0.4% 醋酸 (5:95) 作流动相, 检测波长为 281 nm, 结果样品平均加样回收率为 99.71%, RSD 为 0.96%。王杰民等^[4]采用以甲醇和 0.25% 醋酸溶液分别为流动相 A 和 B 的梯度洗脱技术, YWG C_{18} H H_7 色谱柱, 280 nm 检测波长以及对羟基苯甲酸为内标。结果线性关系良好, 丹参素的回收率为 (104.0 $\pm$ 1.7)%。戴忠等建立了反相 HPLC 法测定丹参粉针剂中丹参素及原儿茶醛的含量的方法, 采用 YWG C_{18} 柱, 以对羟基苯甲酸为内标, 水-甲醇-二甲基甲酰胺-冰醋酸 (90:4:4:2) 为流动相, 检测波长 281 nm, 测得丹参素的线性范围为 1~4 μg ($r=0.9997$), 平均回收率为 99.8%, RSD 为 1.5%。李正国等^[5]采用 Nu-cleasil- C_{18} 反相色谱柱, 以水-甲醇-冰醋酸 (94:4:0.6) 为流动相, 检测波长 278 nm, 外标法测定丹红注射液中丹参素含量。

4 药理作用

4.1 对心肌的作用: 丹参素具有缩小心肌梗死范围和减轻病程的作用, 同时对心肌缺血再灌注损伤具有保护作用。张力等报道丹参素为超氧阴离子 (O_2^-) 清除剂, 从而推测其可保护心肌线粒体免受氧自由基引发的脂质过氧化物的损伤。苏晓华等^[6]研究表明, 丹参素对大鼠心肌线粒体 ADP/O, RCR 及细胞色素氧化酶具有保护作用, 提示丹参素为良好的 $\cdot\text{OH}$ 清除剂, 并对大鼠心肌线粒体膜具有保护作用。

4.2 抑制血小板聚集及抗凝作用: 丹参素能明显抑制血小板的聚集, 并明显增加血小板膜的流动性, 提示其对冠心病有效。史举彤等^[7]报道, 丹参素可提高红细胞的负电荷, 使彼此不易聚集; 降低全血粘度, 抑制血小板聚集, 激活纤溶酶系统; 增加红细胞膜的机械强度, 减少红细胞的破坏。大剂量丹参素可增加血管脆性, 这可能与丹参素具有抗血小板聚集和促进纤维降解功能有关。

4.3 抗炎及增强机体免疫作用: 丹参素阻止钙离子内流, 显著抑制大鼠腹腔巨噬细胞产生前列腺素 E_2 (DGE_2) 及血栓素 B_2 (TXB_2)。能分别激活单核巨噬细胞分泌 $\text{TNF-}\alpha$, IL-1 , IL-6 及 IL-8 。另据王文俊等^[8]报道, 丹参素能显著抑制由内毒素诱导的上述因子的大量分泌 ($P<0.05$), 具有抗炎及增强机体免疫作用。

* 收稿日期: 2002-11-13

作者简介: 周茂金 (1966-), 男, 博士生, 副主任药师, 主要从事药物代谢及药动学研究工作。

4.4 抗动脉粥样硬化及降血脂作用:孙锡铭等^[9]报道,丹参素抑制细胞内源性胆固醇的合成,还具有抗脂质蛋白氧化作用,因此具有保护血管屏障,防止脂质沉积及动脉粥样硬化作用。王南等^[10]研究表明丹参素对牛主动脉平滑肌细胞氧化修饰低密度脂蛋白(LDL)具有抑制作用。

5 药动学与药物代谢

5.1 药动学:洪馨等^[11]采用 HPLC测定了血清中丹参素的浓度,检测波长为 279 nm,内标为对羟基苯甲酸,丹参素的血药浓度在 0.5~16 mg/mL 内线性关系良好($r^2=0.9988$),方法回收率为 93.1~101.7%。丹参素在大鼠体内动力学过程符合二室开放模型。说明丹参素在体内主要以消除为主,属慢消除过程,由于药物吸收进入血流后分布到组织或消除到体外,如果消除速度较慢,故药物在体内的作用时间较长。赵福芹等^[12]利用 HPLC对丹参中药制剂中的丹参素在家兔体内的组织分布及含量进行了研究。结果表明,丹参素在家兔肾、肝、肺、心、脑、脾组织中均有分布。高华等^[13]取家兔 5只,按 5 mg/kg快速耳缘 iv益脉灵,分别于不同时间采血,测定血浆浓度。丹参素的药代动力学过程符合单室模型。其药代动力学参数 A为 0.025 μ g/mL K为 0.058 min⁻¹, $T_{1/2}$ 为 12.03 min 通过本实验可知,丹参素在体内代谢较快,240 min后已测不到丹参素。

5.2 药物代谢:王宁生等^[14]报道,健康志愿者口服复方丹参滴丸后,采用 LC-MS联用技术,与健康志愿者空白血清及已知的丹参水溶性相关成分对照,研究了丹参水溶性相关成分在体内的代谢情况。实验结果表明,在(+/-)ESI-MS全扫描一级质谱条件下,测得血清中一些相关成分的准分子离子峰,其中 m/z 197, 137, 493, 167分别与对照品丹参素、原儿茶醛、丹酚酸 A和香草酸的质荷比相符。 m/z 277, 313有可能为丹参素的硫酸结合物及原儿茶醛葡萄糖醛酸结合物。

6 结语

丹参素作为复方丹参滴丸中主要的水溶性成分,具有抑制血小板聚集、抗凝、扩张冠脉、改善心脏功能、抗动脉粥样硬化、抗氧化损伤和降血脂等作用,临床上常用于冠心病的治疗,具有疗效高、作用迅速和不良反应少等特点。其提取分离、含量测定、药理作用及药代动力学方面的研究报道较多,但其药物代谢方面的研究报道较少。根据其化学结构可知,丹参素结构中含有醇羟基和酚羟基,绝对构型为 D型,丹参素在体内是否发生构型转化(D→L型)还有待于进一步研究。根据药物在体内代谢的一般规律,醇羟基和酚羟基均可与硫酸或葡萄糖醛酸结合,这些结合物仅用一级质谱分析是不够的,必须用多级质谱(MSⁿ)和核磁共振技术(NMR)进一步确认。

References

- [1] Ling H Y, Lu X Z, Zhao Y L, *et al.* The survey on the research of water-soluble components of *Salvia miltiorrhiza* Bunge [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1999, 11(1): 75-81.
- [2] Dai C Q, Yuan J. Determination of Danshensu in compound Danshen injection by HPLC [J]. *Pharm J Chin PLA* (解放军药学报), 2000, 16(5): 277-288.
- [3] Wang J M, He H M, Zhu Y B, *et al.* Determination of Danshensu and protocate chualdehyde in *Salvia miltiorrhiza* Bunge by RP-HPLC [J]. *Acta Acad Med Shanghai* (上海医科大学学报), 1991, 18(1): 27-31.
- [4] Chen Z Q, Zhong K J. Determination of Danshensu in Weiníng Chongji by HPLC [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学), 1999, 16(1): 52-53.
- [5] Su X H, Liang D Q, Wang X M, *et al.* The effect of Danshensu (DS-182) of the injury of oxygen free radicals in myocardial mitochondria from rat myocardium [J]. *Chin J Pathophysiol* (中国病理生理杂志), 1992, 8(2): 122-124.
- [6] Shi J T, Yang W H, Chang C Q, *et al.* Effects of *Salvia miltiorrhiza* on blood cell during bypass [J]. *Acta Acad Med Shandong* (山东医科大学学报), 1991, 29(3): 237-239.
- [7] Zhang L X, Wang M, Qian Y, *et al.* Pharmacological regulation of PGE₂ and TXB₂ product by rat peritoneal macrophages [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1990, 6(4): 31-34.
- [8] Wang W J, Wu X Z, Yao Z, *et al.* The influence of emodin and Danshensu on monocyte's secretion of inflammatory cytokines [J]. *Chin J Immunol* (中国免疫学杂志), 1995, 11(6): 370-372.
- [9] Sun X M, Cai H J, Song S Y, *et al.* Studies on new pharmacological action of an extract from Danshen [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1991, 22(1): 20-23.
- [10] Wang N, Cai H J, Zhu Y, *et al.* Inhibition of bovine smooth muscle cell-mediated low density lipoprotein oxidation by *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Acta Acad Med Nanjing* (南京医科大学学报), 1994, 14(4): 529-531.
- [11] Hong X, Mi S Q, Wang N S. Study on pharmacokinetics of Danshensu in Compound Danshen Diwan [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 2000, 11(5): 286-288.
- [12] Zhao F Q, Wang A L, Wang L. The distribution of Danshensu in rabbit [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1994, 29(5): 291-293.
- [13] Gao H, Liu C Y, Lin Y. Study on pharmacokinetics of Yimailing injection in rabbit [J]. *Chin J Tradit Med Sci Technol* (中国中医药科技), 1995, 2(3): 28-29.
- [14] Wang N S, Mi S Q, Hong X, *et al.* Determination of serum Danshen components in Compound Danshen Diwan by LC/MS [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 2000, 11(3): 141-142.