

表 6 蒽醌种类对蒽醌产量影响比较分析  
Table 6 Effect comparison of different concentration on anthraquinone yield of *R. palmatum* root

蒽醌种类	蒽醌产量 /( $\mu\text{g} \cdot \text{瓶}^{-1}$ )	显著水平	
		0.05	0.01
大黄酸	7.91	a	A
芦荟大黄素	6.95	a	AB
大黄酚	4.55	b	BC
大黄素	3.29	b	C
大黄素甲醚	3.63	b	C

SD: 0.50

有人认为,植物激素的促进作用与  $\text{Ca}^{2+}$ -CaM 系统有密切关系,稀土具有类似钙的化学性质,被认为是超级钙 (supercalcium),低浓度稀土能激活依赖于 CaM 的各种酶的活性,高浓度抑制这些酶的活性。由此认为稀土的促进作用可能与 CaM 有关<sup>[6]</sup>。稀土可能是同细胞膜外侧的受体结合,然后通过信号转导的途径,对植物的生长作出调控<sup>[7]</sup>。

稀土对掌叶大黄毛状根生长表现的促进作用,其实质是影响了体内的生理机制,提高了有关酶的含量和活力,进而提升了体内能量代谢和物质代谢水平。研究表明,稀土可以对植物体内生长激素的形成和激活起催化作用。因此,在大黄毛状根中也可能是通过促进生长激素(如赤霉素、细胞分裂素)的合成及运输,使之有足量的生长激素去解与 DNA

(基因)结合的组蛋白,释放出活动自由、具有表达功能的基因,从而促进 mRNA 的转录(合成)和酶蛋白的合成<sup>[8]</sup>。

#### References:

- [1] Hu Q H, Ye Z J. Physiological effects of rare-earth elements on plants [J]. *Plant Physiol* (植物生理学通讯), 1996, 32 (4): 296-300.
- [2] Ni J Z. *Bioinorganic Chemistry on Rare Earth* (稀土生物无机化学) [M]. Beijing: Science Press, 1995.
- [3] Lu K K, Chang Z Z, Pei D Q, et al. Effect of rare-earth element on *Rhubarb* callus and anthraquinone level [J]. *J Northwest Pharm* (西北药学杂志), 1998, 13(5): 199-220.
- [4] Lu P, Guo H Z, Lu K K, et al. Effect of rare-earth elements on callus growth and alkaloid in *Coptis chinensis* [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 1999, 34(3): 153-155.
- [5] Mei X G, Tian Z X, Wang C G, et al. Increased accumulation of taxol by some cellines of *Taxus* in response to addition of lanthanide [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2000, 12(5): 38-41.
- [6] Chang Z Z. Studies on *in vitro* culture and active constituents of Ri plasmid-transformed roots of *Rheum wittrochii* Lundser., *Rheum palmatum* L., *Cassia obtusifolia* L. [A]. *Dissertation of Doctor Degree of Beijing Medical University* (北京医科大学博士学位论文) [D]. Beijing: Beijing Medical University, 1997.
- [7] Li W, Liang J S, Li Y R, et al. Studies on biological dosage effect of rare earth element on protein [J]. *Biotechnology* (生物技术), 2002, 12(1): 42-44.
- [8] Wang J Y. RE has some influence on safflower—seedling, part ferment and isozyme [J]. *Biotechnology* (生物技术), 2002, 12(2): 34-36.

## 不同产地丹参水溶性成分和脂溶性成分指纹图谱测定及相关性研究

金樟照, 祝 明, 张文婷, 戚雁飞  
(浙江省药品检验所, 浙江 杭州 310004)

**摘要:**目的 分析不同产地丹参水溶性成分和脂溶性成分指纹图谱的变化情况,研究丹参脂溶性成分含量与水溶性成分含量之间的相关性。方法 采用 HPLC 法测定不同产地丹参水溶性成分、脂溶性成分的指纹图谱以及主要成分的含量,运用 SPSS 统计软件分析丹参成分变化情况。结果 丹参脂溶性成分和水溶性成分指纹图谱随产地不同而变化,丹参脂溶性成分含量与水溶性成分含量高低无内在关系。结论 建议制订丹参丹酚酸类成分含量,作为适用于丹参类注射液用的丹参药材标准,以区别于供复方丹参片等制剂用的丹参。

**关键词:**丹参;丹参类注射液;丹酚酸 B;丹参酮 I<sub>A</sub>;指纹图谱

中图分类号:R282.6 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2004)10-1174-04

### Studies on relationship between fingerprints of hydrophilic and hydrophobic components in *Salvia miltiorrhiza*

JIN Zhang-zhao, ZHU Ming, ZHANG Wen-ting, QI Yan-fei  
(Zhejiang Institute for Drug Control, Hangzhou 310004, China)

**Abstract:** Object To study the different fingerprints of hydrophilic and hydrophobic components in

收稿日期:2004-01-22

作者简介:金樟照(1972—),男,浙江磐安人,主管药师,学士,主要从事中药质量标准研究。

Tel: (0571) 86459425 E-mail: jzz@zjyj.org.cn

roots of *Salvia miltiorrhiza* Bge. collected from different habitats, and discovery the relationship between the two types of components. **Methods** The fingerprints were detected by RP-HPLC and the results were analyzed by SPSS software. **Results** Roots of *S. miltiorrhiza* collected from different habitats showed different fingerprints of hydrophilic and hydrophobic components, there is no obvious relationship between the two types of components. **Conclusion** In order to control the quality of *S. miltiorrhiza* roots that is used to manufacture injections, we must assay the hydrophilic components, such as salvianolic acid B should be determined.

**Key words:** *Salvia miltiorrhiza* Bge; Danshen Injection; salvianolic acid B; Tanshionone- $\text{I}_A$ ; chromatographic fingerprint

丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 收载于《中华人民共和国药典》2000 年版一部, 主要含脂溶性二萜醌类和水溶性酚酸类等成分, 《中华人民共和国药典》2000 年版一部丹参项下只测定丹参酮  $\text{I}_A$  来控制丹参的质量, 对于丹参类注射液制剂如: 丹参注射液、香丹注射液、冠心宁注射液等均采用水提、醇沉的工艺, 主要提取丹参中水溶性酚酸类成分, 如丹参素、原儿茶醛、丹酚酸 A、丹酚酸 B、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 D 和丹酚酸 E 等<sup>[1~3]</sup>, 也是丹参类注射液中的主要一类有效成分<sup>[4~6]</sup>。而原药材丹参只控制脂溶性丹参酮  $\text{I}_A$  的含量, 水溶性酚酸类成分的质量如何? 二者是否有内在联系? 如何控制原药材质量? 本实验希望通过测定不同产地来源的丹参中脂溶性成分和水溶性成分的指纹图谱, 研究两者之间的相关性, 为解决上述问题提供依据。

## 1 仪器与试剂

HP1100 系列高效液相色谱仪: 包括 G1322A 脱气机, G1311A 四元泵, G1313A 自动进样仪, G1316-AVWD 监测器, Agilent Chemstation (A. 09. 03)。

甲醇为分析纯和色谱纯, 水为重蒸水, 冰醋酸为分析纯; 二氢丹参酮 I、丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮  $\text{I}_A$ 、丹参素钠、原儿茶醛和丹酚酸 B 对照品均购于中国药品生物制品检定所。不同来源的丹参药材共 33 批。经浙江省药品检验所中药室郭增喜中药师鉴定。

## 2 方法

### 2.1 色谱条件

2.1.1 丹参脂溶性成分指纹图谱测定色谱条件: 色谱柱: Shim-pack VP-ODS (150 mm × 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 流动相: 甲醇(A)-水(B), 程序梯度洗脱: 64% A (30 min)  $\xrightarrow{15 \text{ min}}$  65% A  $\xrightarrow{15 \text{ min}}$  85% A (15 min); 检测波长: 270 nm; 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 25  $^{\circ}\text{C}$ 。

2.1.2 丹参水溶性成分指纹图谱测定色谱条件: 色谱柱: Shim-pack VP-ODS (150 mm × 4.6 mm, 5

$\mu\text{m}$ ); 流动相为甲醇(A)-0.5% 冰醋酸(B)水溶液, 程序梯度洗脱: 10%(A)  $\xrightarrow{0\sim 60 \text{ min}}$  60%(A)  $\xrightarrow{20 \text{ min}}$  100%; 检测波长: 280 nm; 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 25  $^{\circ}\text{C}$ 。

### 2.2 溶液制备

2.2.1 丹参脂溶性成分供试品溶液制备: 精密称取本品粉末 0.2 g (过三号筛), 加乙醚 30 mL, 加热回流提取 30 min, 滤过, 用适量乙醚洗涤, 合并滤液及洗液, 挥至近干, 取出, 残留物用甲醇适量溶解, 置于 25 mL 棕色量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液作为供试品溶液。

2.2.2 丹参水溶性成分供试品溶液制备: 称取本品粉末 0.5 g (过三号筛), 包于滤纸中, 置于 150 mL 的玻璃烧瓶中, 加水 50 mL, 在 95  $^{\circ}\text{C}$  水浴上提取 4 h, 取出, 放冷, 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液作为供试品溶液。

## 3 实验结果

3.1 脂溶性成分和水溶性成分指纹图谱中主要成分的含量测定: 结果见表 1 (相同产地来源的丹参, 各成分含量以平均含量 + 标准偏差计算)。

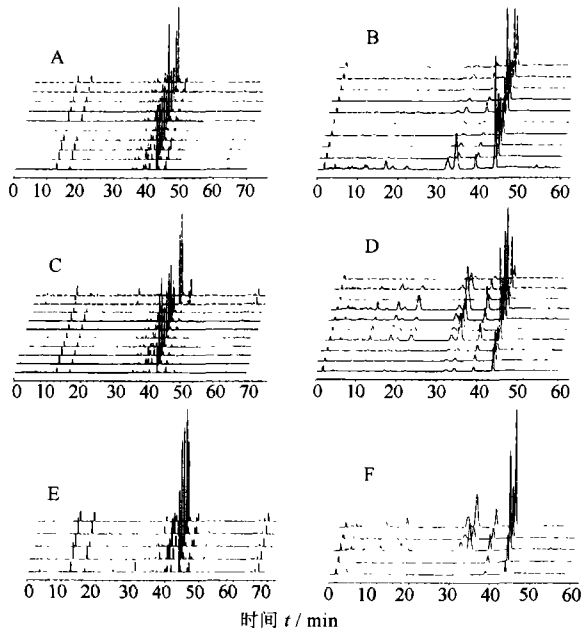
3.2 丹参脂溶性成分和水溶性成分指纹图谱: 见图 1。

3.3 丹参脂溶性成分和水溶性成分之间内在的相关性研究: 以丹参素、原儿茶醛和丹酚酸 B 含量之和为纵坐标, 以二氢丹参酮 I、丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮  $\text{I}_A$  含量之和为横坐标, 作散点图。由于丹参素、原儿茶醛和丹酚酸 B 3 个峰的总峰面积占水溶性成分指纹图谱总峰面积的 60% 以上, 二氢丹参酮 I、丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮  $\text{I}_A$  4 个峰的总峰面积占脂溶性成分指纹图谱总峰面积的 70% 以上。因此认为丹参素、原儿茶醛和丹酚酸 B 含量之和能够体现水溶性成分中丹酚酸类成分含量; 二氢丹参酮 I、丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮  $\text{I}_A$  4 个峰的含量之和能够体现脂溶性成分中的二萜醌类成分含量。从图 2 可知, 水溶性成分含量并没有随脂溶性成

表 1 脂溶性和水溶性成分指纹图谱中主要成分的含量测定结果

Table 1 Main components in fingerprints of hydrophilic and hydrophobic parts

样品 序号	产地	水溶性部分/%			脂溶性部分/%			
		丹参素	原儿茶醛	丹酚酸 B	二氢丹参酮	丹参酮 I	隐丹参酮	丹参酮 I <sub>A</sub>
1	山东	0.53	0.03	4.52	0.06	0.17	0.22	0.28
2~5,7~9	四川中江石泉乡	0.63±0.11	0.07±0.01	3.97±0.62	0.00±0.00	0.02±0.01	0.02±0.01	0.12±0.03
6,10	四川中江集凤	0.76±0.08	0.07±0.00	6.44±1.49	0.01±0.00	0.03±0.02	0.03±0.02	0.17±0.09
11	江苏省(饮片)	0.33	0.03	1.28	0.02	0.06	0.04	0.10
12~13	浙江省嵊州王院乡	0.52±0.05	0.04±0.01	4.20±0.33	0.01±0.00	0.05±0.00	0.03±0.00	0.11±0.01
14~18	山东莱芜市留山镇	0.39±0.07	0.04±0.01	2.68±0.45	0.07±0.01	0.16±0.04	0.30±0.11	0.35±0.09
19	山西省	0.36	0.02	2.92	0.06	0.13	0.19	0.22
20	河北行唐	0.45	0.03	3.74	0.01	0.03	0.04	0.05
21	河北安国地产	0.41	0.03	2.89	0.01	0.03	0.02	0.04
22	浙江省磐安新渥镇	0.67	0.10	4.35	0.01	0.04	0.03	0.08
23	浙江省磐安深泽乡	0.50	0.05	4.52	0.00	0.03	0.00	0.05
24	山西芮城	0.62	0.10	4.56	0.02	0.05	0.05	0.10
25	山东莱芜	0.41	0.08	2.86	0.02	0.09	0.12	0.26
26	山东	0.42	0.07	2.63	—	—	—	—
27	山东莱芜	0.34	0.05	2.31	—	—	—	—
28	四川	0.53	0.09	3.94	—	—	—	—
29	山东济宁	0.45	0.04	3.65	0.02	0.10	0.08	0.15
30	山东	0.52	0.04	5.16	0.07	0.23	0.24	0.34
31~33	河南桐柏	0.50±0.11	0.03±0.01	3.44±1.82	—	—	—	—



A, B-1~10 号样品 C, D-11~20 号样品  
E, F-21~25 号样品(序号从下向上)  
A, B-No. 1-10 C, D-No. 11-20  
E, F-No. 21-25 (from down to up)

(各色谱图按样品顺序从下向上排列,各样品序号与表 1 中序号相同)

图 1 丹参水溶性成分(A,C,E)和脂溶性成分(B,D,F)指纹图谱

Fig. 1 Fingerprints of hydrophilic (A, C, E) and hydrophobic (B, D, F) components in *S. miltiorrhiza*

分含量升高而升高或降低,而是呈独立的两个体系。  
3.4 丹参中脂溶性成分和水溶性成分含量与产地

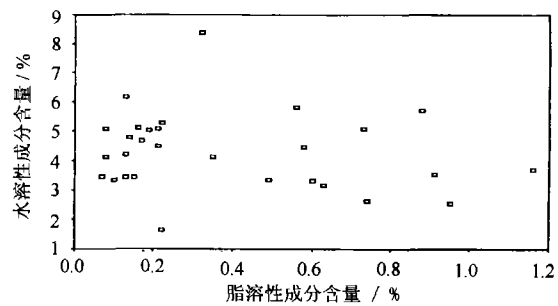


图 2 丹参脂溶性成分和水溶性成分之间内在的相关性图

Fig. 2 Relationship between fingerprints of hydrophilic and hydrophobic components

关系分析:由于脂溶性成分和水溶性成分之间无明显的内在关系,因此分别研究脂溶性和水溶性成分含量与样品产地之间的关系,采用 SPSS 统计软件进行聚类分析,其中水溶性成分以丹参素钠、原儿茶醛、丹酚酸 B 和三者含量之和为变量,脂溶性成分以二氢丹参酮 I、丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 I<sub>A</sub> 含量及其含量之和为变量,结果见图 3。

若临界组间距离控制在 5,根据脂溶性成分含量,可把样品分成 4 组,第 1 组包括:3、7、5、10、2、20、22、11、24、12、13、9、4、8、21、6、26,4 个脂溶性成分质量分数之和为 0.07%~0.35%,丹参酮 I<sub>A</sub> 质量分数在 0.04%~0.23%;第 2 组包括:1、18、31、32、19、15、25,4 个脂溶性成分质量分数之和为 0.56%~0.74%,丹参酮 I<sub>A</sub> 质量分数在 0.22%~0.28%;第 3 组包括:16、30、14,4 个脂溶性成分质

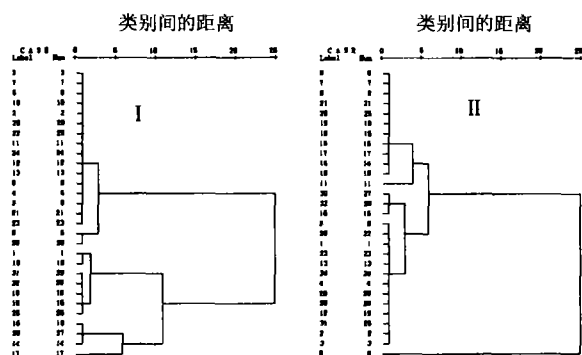


图 3 不同产地来源丹参中脂溶性成分(I)和水溶性成分(II)含量的聚类分析

Fig. 3 Cluster dendrogram of hydrophilic (I) and hydrophobic components (II)

量分数之和 0.88%~0.95%, 丹参酮 I<sub>A</sub> 质量分数在 0.35%~0.40%; 第 4 组为 17, 4 个脂溶性成分质量分数之和大于 1.0%, 丹参酮 I<sub>A</sub> 大于 0.40%。可见丹参酮 I<sub>A</sub> 质量分数与丹参中脂溶性成分成正比, 从这一点看, 药典规定丹参酮 I<sub>A</sub> 含量既控制了脂溶性成分含量。

若临界组间距离控制在 5, 根据水溶性成分含量, 可把样品分成 3 组, 第 1 组包括: 5、7、8、21、25、19、15、16、17、14、18、11, 3 个水溶性成分质量分数之和为 1.64%~3.69%, 丹酚酸 B 质量分数为 1.28%~3.13%; 第 2 组包括: 30、32、10、9、22、1、23、13、24、4、29、20、12、31、2、3, 3 个水溶性成分质量分数之和为 4.12%~6.17%, 丹酚酸 B 为 3.65%~5.39%; 第 3 组包括: 6, 3 个水溶性成分质量分数之和大于 8.0%, 丹酚酸 B 质量分数大于 7.0%。可见丹酚酸 B 含量基本可以判定不同丹参中溶性成分含量。

#### 4 讨论

4.1 实验中水溶性成分和脂溶性成分指纹图谱按国家有关规定进行了方法学研究, 并符合要求。

4.2 从对 33 个不同产地的丹参脂溶性成分和水溶性成分含量测定结果与相关性分析可知脂溶性成分和水溶性成分含量随产地不同而有明显差异, 但水溶性成分含量并没有随脂溶性成分含量升高而升高或降低, 而是呈独立的两个体系, 即无内在关系。

4.3 经 SPSS 统计软件的聚类分析结果可知丹参酮 I<sub>A</sub> 含量与丹参中脂溶性成分含量成正比, 即丹参酮 I<sub>A</sub> 可作为脂溶性成分的质控指标成分; 丹酚酸 B 含量与丹参中水溶性成分含量成正比, 即丹酚酸 B 可作为水溶性成分的质控指标成分。

4.4 从表 1 可知四川、浙江、河北种植的丹参, 丹参酮 I<sub>A</sub> 含量较低, 达不到药典要求, 但水溶性酚酸类成分含量较高, 并高于丹参酮 I<sub>A</sub> 含量较高的丹参, 建议可作为丹参水溶性成分制剂的原料, 以扩大药用资源, 另丹参类注射剂可制定适合自身使用的药材标准, 即制订丹酚酸 B 含量以控制药材质量。

#### References:

- [1] Xu G J. *Category and Quality Control of Common Chinese Herbs* (常用中药材品种整理和质量研究) [M]. Fuzhou: Fujian Science and Technology Publishing House, 1997.
- [2] Zhou C X, Luo H W, Niwa M. Studies on isolation and identification of water-soluble constituents of *Salvia miltiorrhiza* [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1999, 30(6): 411-416.
- [3] Shi C O, Tao P. Identification of main composition in Danshen injection by HPLC and LC-MS analysis [J]. *World Sci Tech—Mod Tradit Chin Med* (世界科学技术—中药现代化基础研究), 2001, 3(5): 29-31.
- [4] Ge S R, Yu Y X, Xie G G. Recent advances in study on pharmacological effects of salvianolic acid [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2002, 25(9): 683.
- [5] Gao X M, Zhang B L, Gong T, et al. Recent advances in study on pharmacological effects of *Salvia miltiorrhiza* Bge. and its extracts on cardiovascular system [J]. *Tianjin Tradit J Chin Med* (天津中医), 2002, 19(1): 74-76.
- [6] Du G H, Zhang J T. Recent advances in study on salvianolic acid—one of active hydrophilic components in *Salvia miltiorrhiza* Bge. [J]. *Basic Med Sci Clin* (基础医学与临床), 2000, 2(5): 394-398.

### 《中药新药与临床药理》杂志 2005 年征订启事

《中药新药与临床药理》杂志是由国家食品药品监督管理局主管, 广州中医药大学主办的一份学术性杂志, 为中国科技论文统计源期刊, 标准刊号 ISSN 1003-9783, CN 44-1308/R, 国内外公开发行。主要栏目有: 论坛、专题报道、专家笔谈、临床研究、临床用药、药效及毒理学研究、质量分析研究、工艺研究、中药现代化、中药指纹图谱研究、不良反应与合理用药、新药介绍、新技术与新方法、讲座、学术探讨、综述、论著摘要、药政法规、企业之窗、信息、书评、国外药事、简讯等。

本刊为双月刊, 逢单月 25 日出版; 每册定价 10 元, 全年 60 元, 邮发代号: 46-210。欢迎各有关单位及广大读者及时向当地邮局订阅本刊, 读者尚可直接向编辑部补购近年的合订本。

编辑部地址: 510405 广州市机场路 12 号大院《中药新药与临床药理》编辑部

编辑部电话: (020) 36585525 36585613 传真: (020) 36590367

E-mail: zz@adr.com.cn zyxytc@pub.guangzhou.gd.cn