

不同产地丹参茎叶 UPLC 指纹图谱与化学模式识别研究

曾慧婷, 沙秀秀, 宿树兰*, 严辉, 郭盛, 尚尔鑫, 钱大玮, 段金廛*

南京中医药大学 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心 中药资源产业化与方剂创新药物国家地方联合工程研究中心
国家中医药管理局中药资源循环利用重点研究室, 江苏 南京 210023

摘要: **目的** 研究并建立不同产地丹参茎叶 UPLC 指纹图谱, 采用电喷雾离子源-四极杆-飞行时间质谱 (ESI-QTOF/MS) 对其特征峰进行定性研究, 为丹参地上茎叶资源的综合开发利用提供科学依据。**方法** 采用 UPLC 法构建丹参茎叶的指纹图谱, 色谱条件为 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱, 以乙腈-0.1%甲酸水为流动相梯度洗脱, 体积流量 0.4 mL/min, 检测波长 280 nm, 柱温 35 °C。质谱检测采用负离子模式; 电压 3.0 kV; 离子源温度 120 °C; 雾化温度 400 °C; 雾化气 800 L/h。同时应用相似度评价、聚类分析和主成分分析 (PCA) 对实验数据进行处理, 以分析 5 个不同产地 12 批丹参茎叶样品间的相似性及差异性, 并通过 UPLC/Q-TOF/MS 对丹参茎叶共有峰进行了定性分析。**结果** 获得丹参茎叶 UPLC 特征图谱, 共有峰 13 个。12 批丹参茎叶的相似度为 0.823~0.997, 聚类分析、PCA 结果与相似度分析结果一致。**结论** 丹参茎叶 UPLC 指纹图谱的构建和化学模式的识别为其质量控制和丹参非药用部位利用价值的挖掘提供科学依据。

关键词: 丹参茎叶; 指纹图谱; UPLC; ESI-QTOF/MS; 化学模式识别

中图分类号: R286.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)04-0767-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.04.024

UPLC fingerprint and chemical pattern recognition of *Salvia miltiorrhiza* stems and leaves from different habitats

ZENG Hui-ting, SHA Xiu-xiu, SU Shu-lan, YAN Hui, GUO Sheng, SHANG Er-xin, QIAN Da-wei, DUAN Jin-ao
Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, National and Local Collaborative Engineering Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization and Formulae Innovative Medicine, and Key Laboratory of Chinese Medicinal Resources Recycling Utilization, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective To study and establish the UPLC of *Salvia miltiorrhiza* stems and leaves (SMSL) and analyze the specific peaks composition by ESI-QTOF/MS, and provide scientific basis for the comprehensive development and utilization of resources SMSL. **Methods** The fingerprint of SMSL was established by UPLC, the samples were conducted by Acquity UPLC BEH C₁₈ (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) and eluted with acetonitrile and 0.1% formic acid at the flow rate of 0.4 mL/min. The detection wavelength was set at 280 nm and column temperature was 35 °C. Negative ion mode was chosen for qualitative analysis. The capillary voltage was set at 3.0 kV. The nebulization gas was set to 800 L/h at 400 °C, and the source temperature was 120 °C. The similarity evaluation, cluster analysis (CA), and principal component analysis (PCA) were used to deal with the experimental data, in order to find out the similarities and differences among the 12 batches of SMSL from five different areas. **Results** The specific chromatogram of SMSL was obtained, and 13 common peaks were identified by ESI-QTOF/MS. Similarities of the 12 batches of samples were 0.823—0.997, the results of CA and PCA were consistent with similarity evaluation. **Conclusion** The establishment of UPLC fingerprint of SMSL and the application of chemical pattern recognition can provide a more comprehensive reference for the quality control of SMSL and the utilization value of non-medicinal parts of *S. miltiorrhiza*.

Key words: stems and leaves of *Salvia miltiorrhiza*; fingerprint; UPLC; ESI-QTOF/MS; chemical pattern recognition

收稿日期: 2016-09-26

基金项目: 江苏省“333 高层次人才培养工程”资助项目 (BRA2015391)

作者简介: 曾慧婷 (1991—), 女, 在读硕士, 研究方向为中药资源化学研究。Tel: 15895975782 E-mail: Zenght1991@163.com

*通信作者 宿树兰 (1974—), 女, 副教授, 主要从事中药资源化学及方剂功效物质基础研究。Tel: 13809043258 E-mail: sushulan1974@163.com
段金廛 (1956—), 男, 教授, 博士生导师, 中国自然资源学会中药及天然药物资源专业委员会主任委员, 国家“973”计划首席科学家。Tel: (025)85811116 E-mail: dja@njucm.edu.cn

丹参为唇形科鼠尾草属植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根及根茎, 是最常用的活血化瘀中药之一, 始载于《神农本草经》, 具有祛瘀止痛、养血安神的功效^[1]。目前研究主要集中在丹参中水溶性丹酚酸类和脂溶性丹参酮类有效成分^[2-3]。丹参药材临床用量较大, 国内已大量栽培, 其地上茎叶未被有效利用而废弃, 造成资源浪费及环境污染。

本草记载和现代研究证实丹参茎叶具有与根和根茎相似的临床疗效及药理活性, 在《山东药用植物志》中记载: “丹参茎叶具有活血祛瘀, 清心除烦之效”。化学成分研究表明, 丹参地上茎叶中几乎不含丹参酮 II_A 等脂溶性成分, 但含有丰富的丹酚酸类化合物, 以迷迭香酸和丹酚酸 B 量最高^[4], 除此之外, 丹参茎叶中还含有黄酮类、三萜类、糖类、皂苷类及香豆素类成分^[5-6], 可用于治疗心血管疾病、慢性肝炎、糖尿病糖代谢紊乱、因化疗引起的白细胞减少等症^[7-8]。目前, 尚无对不同产地丹参茎叶指纹图谱的研究, 本实验采用具有高分析效率和高灵敏度的 UPLC 法, 建立丹参茎叶 UPLC 特征图谱, 以高分辨率的四极杆-飞行时间 (quadrupole time-of-flight, QTOF) 串联质谱技术对共有峰进行定性鉴别分析, 结合相似度分析、聚类分析和主成分分析 (PCA) 的方法^[9-10], 为丹参茎叶质量控制及标准的制定提供科学依据, 以期提升丹参资源利用效率, 实现经济-社会-生态效益的统一。

1 仪器与材料

1.1 仪器

ACQUITY UPLC 系统 (二元高压泵, 自动进样器, 柱温箱, 二极管阵列检测器, Waters 公司); SynaptTM Q-TOF 质谱仪 (Lock-spary 接口, 电喷雾离子源, Waters 公司); MassLynxTM 质谱工作站 (Waters 公司); DHG-9023A 型电热恒温鼓风干燥箱

(上海精宏实验设备有限公司); Sartorius BT125D 电子分析天平 (德国塞多利斯公司); EPED 超纯水系统 (南京易普达易科技发展有限公司); KQ-250E 型超声波清洗器 (昆山禾创超声仪器有限公司); AnkeGL-16 GII 型离心机 (上海安亭科学仪器厂)。

1.2 材料

对照品丹参素 (批号 MUST-13030108)、咖啡酸 (批号 110885-200102)、芦丁 (批号 100080-201409)、迷迭香酸 (批号 111871-201203) 均购自中国食品药品检定研究院; 异槲皮苷批号 (MUST-15070211)、紫草酸 (批号 MUST-15022407)、丹酚酸 B (批号 MUST-13030203)、丹酚酸 A (批号 MUST-13030701)、丹酚酸 C (批号 MUST-15011305) 均购自北京普天同创生物科技有限公司, 质量分数均大于 98%。甲醇 (南京化学试剂有限公司) 为分析纯, 乙腈 (美国 TEDIA 公司) 及甲酸均为色谱纯 (美国 ACS 公司), 超纯水由 Milli-Q 纯水机制备。

12 批丹参茎叶样品, 其详细信息见表 1。植物基原经南京中医药大学段金廛教授鉴定为唇形科鼠尾草属植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的地上茎叶。所得样品分别于热风 (50 °C) 条件下进行烘干, 干燥至恒定质量后粉碎成粗粉, 常温密封干燥保存备用。

2 方法与结果

2.1 UPLC 分析条件

2.1.1 色谱条件 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱; 柱温为 35 °C; 流动相为乙腈 (A) -0.1% 甲酸水溶液 (B), 梯度洗脱 (0~1 min, 5% A; 1~3 min; 5%~10% A; 3~7 min, 10%~15% A; 7~11 min, 15%~21% A; 11~15 min, 21%~33% A; 15~17 min, 33%~70% A; 17~18 min, 70%~80% A; 18~20 min, 80% A; 20~21 min, 80%~5% A); 体积流量 0.4 mL/min;

表 1 12 批不同产地丹参茎叶

Table 1 Twelve batches of samples from different habitats

样品编号	产地/品种	采集时间	样品编号	产地/品种	采集时间
S1	山西稷田	2015-07	S7	江苏南京	2015-06
S2	山西绛县	2015-09	S8	山东/华丹一号	2015-07
S3	山西绛县	2015-07	S9	山东/华丹一号 (变型)	2015-07
S4	陕西商洛	2015-09	S10	山东济南	2015-07
S5	河南桐柏	2015-07	S11	山东济南	2015-07
S6	河南洛阳	2015-07	S12	山东济南	2015-08

进样量 2 μL；检测波长为 280 nm。

2.1.2 质谱条件 ESI 源；扫描方式 ESI⁺、ESI⁻模式；毛细管电压 3.0 kV；锥孔电压 30 V；萃取电压 4.0 V；离子源温度 120 °C；脱溶剂气温度 400 °C；锥孔气流量 50 L/h；脱溶剂气流量 800 L/h；碰撞能量 6~40 eV，离子能量 1 V；质量扫描范围 *m/z* 100~1 000，数据采集方式和模式：Centroid。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液制备 分别精密称取丹参素、咖啡酸、芦丁、异槲皮苷、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A、丹酚酸 C 对照品适量，用甲醇配成质量浓度分别为 0.108、0.106、0.354、0.305、0.137、0.132、0.211、0.106、0.120 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液制备 取样品粉末（40 目）1 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，加 80% 甲醇 50 mL，静置过夜，室温超声 45 min，摇匀，离心 10 min（13 000 r/min）。取上清液适量，0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液作为供试品溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 取 S1 号样品，按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，连续进样 6 次，记录色谱图。结果表明，各主要色谱峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值均小于 3.0%，符合特征图谱要求，表明仪器精密度良好。

2.3.2 重复性试验 取 S1 号样品 6 份，按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，分别检测，色谱图中各主要色谱峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值均小于 3.0%，符合特征图谱要求，表明方法重复性良好。

2.3.3 稳定性试验 取 S1 号样品，按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，分别在 0、2、4、8、12、24 h 检测色谱图。计算各色谱峰与内参比峰的相对保留时间和相对峰面积，其 RSD 值均小于 3.0%，符合特征图谱要求，结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4 丹参茎叶 UPLC 指纹图谱与化学模式识别研究

2.4.1 UPLC-UV 特征图谱的建立 分别精密吸取 12 批茎叶样品供试品溶液 2 μL，注入液相色谱仪，记录色谱图，将各样品色谱图导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”（国家药典委员会 2004A 版），选定 S12 号样品色谱图为参照图谱，设定时间漂移值 0.1，采用中位数法谱峰自动匹配生成丹参茎叶对

照图谱，叠加图谱及对照图谱见图 1。将该对照图谱的相似度值定为 1，计算 12 批样品特征图谱的相似度，见表 2。

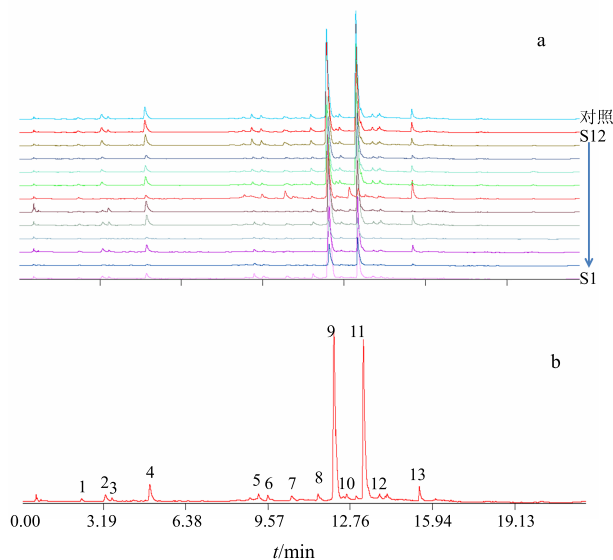


图 1 12 批丹参茎叶的叠加 UPLC-UV 特征图谱 (a) 及对照图谱 (b)

Fig. 1 UPLC-fingerprint (a) and reference-fingerprint (b) for 12 batches of samples

表 2 12 批丹参茎叶相似度分析结果

Table 2 Similarity of 12 batches of samples

样品编号	相似度	样品编号	相似度
S1	0.912	S7	0.823
S2	0.974	S8	0.955
S3	0.988	S9	0.997
S4	0.989	S10	0.993
S5	0.985	S11	0.996
S6	0.991	S12	0.990

2.4.2 共有峰的确定 以 9 号峰为参照峰，标示出丹参茎叶 UPLC-UV 色谱图中 13 个共有峰，共有峰的峰面积之和大于 90%，计算各色谱峰与参照峰相对保留时间的 RSD 值。结果表明，样品各色谱图共有峰的相对保留时间 RSD 值均小于 3.0%；而相对峰面积的 RSD 值相差较大，其中 3、7、13 号峰 RSD 值较大，结果见表 3 和表 4。

2.4.3 共有峰的归属 采用对照品对照和参考文献中的质谱一级、二级数据和色谱保留行为^[11]，鉴定了 10 个共有峰所代表的化学成分，其中 1、4、5、6、7、9、10、11、12、13 号峰采用对照品对照分别确定为丹参素、咖啡酸、芦丁、异槲皮苷、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸 B、丹酚酸 A 和丹酚酸 C，7 号峰经质谱鉴定推测为槲皮素，结果见表 5。

表 3 共有峰相对保留时间

Table 3 Relative retention times of common peaks

峰号	相对保留时间												RSD/%
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	
1	0.195	0.196	0.196	0.195	0.196	0.195	0.195	0.195	0.195	0.194	0.194	0.194	0.356
2	0.271	0.271	0.271	0.270	0.272	0.271	0.270	0.270	0.270	0.270	0.271	0.270	0.236
3	0.292	0.292	0.292	0.293	0.291	0.290	0.291	0.291	0.291	0.291	0.291	0.290	0.268
4	0.413	0.414	0.413	0.413	0.413	0.412	0.412	0.412	0.411	0.412	0.412	0.410	0.240
5	0.761	0.760	0.759	0.758	0.760	0.759	0.751	0.759	0.758	0.757	0.758	0.757	0.321
6	0.791	0.790	0.790	0.789	0.790	0.789	0.788	0.789	0.788	0.788	0.789	0.788	0.132
7	0.866	0.868	0.864	0.863	0.865	0.864	0.863	0.871	0.863	0.867	0.863	0.863	0.302
8	0.951	0.949	0.950	0.949	0.950	0.949	0.949	0.949	0.949	0.949	0.949	0.949	0.078
9	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
10	1.068	1.064	1.065	1.064	1.063	1.066	1.063	1.063	1.063	1.063	1.063	1.063	0.199
11	1.095	1.092	1.092	1.093	1.092	1.093	1.099	1.094	1.095	1.093	1.096	1.095	0.177
12	1.147	1.143	1.144	1.143	1.144	1.145	1.143	1.148	1.148	1.145	1.149	1.149	0.201
13	1.273	1.269	1.270	1.270	1.271	1.271	1.274	1.275	1.276	1.272	1.277	1.277	0.221

表 4 共有峰相对峰面积

Table 4 Relative areas of common peaks

峰号	相对峰面积												RSD/%
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	
1	0.004	0.012	0.015	0.014	0.016	0.014	0.017	0.013	0.011	0.017	0.010	0.014	26.226
2	0.017	0.037	0.075	0.034	0.043	0.031	0.010	0.042	0.030	0.048	0.042	0.047	43.375
3	0.009	0.005	0.023	0.003	0.032	0.051	0.005	0.002	0.001	0.003	0.002	0.012	124.606
4	0.033	0.054	0.164	0.077	0.148	0.210	0.057	0.106	0.079	0.093	0.091	0.125	49.223
5	0.023	0.082	0.045	0.065	0.026	0.009	0.024	0.032	0.024	0.031	0.041	0.037	54.936
6	0.010	0.020	0.017	0.049	0.025	0.005	0.038	0.021	0.016	0.023	0.024	0.020	52.297
7	0.019	0.038	0.032	0.055	0.027	0.014	0.108	0.029	0.025	0.033	0.032	0.032	65.860
8	0.027	0.019	0.019	0.063	0.042	0.039	0.030	0.035	0.040	0.037	0.034	0.038	33.168
9	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
10	0.005	0.029	0.014	0.034	0.018	0.014	0.004	0.019	0.022	0.042	0.016	0.018	55.738
11	0.256	1.254	1.061	1.042	1.159	0.779	0.095	1.651	0.914	0.951	0.678	1.061	46.430
12	0.009	0.020	0.018	0.022	0.020	0.016	0.009	0.027	0.025	0.025	0.017	0.024	30.886
13	0.001	0.061	0.111	0.020	0.084	0.007	0.202	0.022	0.046	0.048	0.039	0.060	94.631

表 5 共有峰的化学成分鉴定

Table 5 Identification of chemical components from common peaks

峰号	t_R/min	$\text{ESI}^-(m/z)$	二级碎片离子 (m/z)	分子式	鉴定结果
1	1.691	197.046 2	395, 179, 135	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5$	丹参素
4	3.925	179.035 2	411, 135	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$	咖啡酸
5	7.548	609.145 9	300, 301, 662	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	芦丁
6	7.844	463.089 0	301, 464, 609	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	异槲皮苷
7	8.686	301.034 4	505, 389, 371	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$	槲皮素
9	10.373	359.074 6	161, 179, 719	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_8$	迷迭香酸
10	11.424	537.194 3	519, 357, 493	$\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$	紫草酸
11	11.910	717.140 8	519, 321, 339	$\text{C}_{36}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	丹酚酸 B
12	13.005	493.110 9	185, 295, 313	$\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	丹酚酸 A
13	14.588	491.096 1	293, 311	$\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$	丹酚酸 C

2.4.4 相似度评价 与 12 批丹参茎叶生成的对照指纹图谱相比较, 各批次丹参茎叶样品的相似度在 0.823~0.997, 表明各批次丹参茎叶样品的质量相对稳定, 从图 1 可以看出不同产地丹参茎叶的化学成分基本一致, 各成分在量上存在差异。由表 2 可知, 样品 S7 (产地江苏南京) 相似度较低, 而产地为山东的丹参茎叶样品 (S9~S12) 相似度则较高。

2.4.5 聚类分析 聚类分析是通过将观察对象依据某些特征加以归类, 从而建立样本与样本之间的相似关系或亲疏关系的一种探索性数据分析手段, 目前已广泛应用于中药鉴别、质量评价和品种分类等方面^[11-12]。本实验对 12 个产地的丹参茎叶样品进行指纹图谱分析, 获得 13 个共有色谱峰, 将各个共有峰峰面积导入 SPSS 19.0 版软件, 采用组间连接法, 选用欧氏距离对 12 批药材进行聚类分析, 结果见图 2。聚类分析结果表明, 12 个产地的丹参茎叶主要分为两类, 除 S10 外, 产地为山东的茎叶样品 (S8、S9、S11 和 S12) 与其他产地样品分别聚为一类, 说明山东的茎叶样品与其他产地的存在一定差异, 观察 2 类样品各共有峰相对峰面积可以发现, 其差异主要表现在 3 号峰和 13 号峰 (丹酚酸 C), 提示其可能是造成山东丹参茎叶样品与其他产地样品存在差异的原因之一, 且采收期为 9 月份的丹参茎叶样品 (S2 和 S4) 较为相近, 说明不同采收期的丹参茎叶中化学成分积累变化明显。

2.4.6 PCA 分析 为了更直接地评价 13 个共有成分对样品的分辨能力, 采用 SPSS 19.0 版软件对 12 批丹参茎叶样品进行 PCA 分析, 结果得到 3 个最大特征值的主成分 PC1、PC2、PC3, 主成分 PC1 贡献率为 55.5%, 贡献率最大, 包含的信息最多; PC2 贡献率为 19.3%, PC3 贡献率为 11.3%, 前 3 个主成分的累计贡献率 86.0%, 所以选取前 3 个主成分能反映丹参茎叶中化学成分的基本特征。分别以 PC1、PC2、PC3 建立坐标系进行投影, 得到 12 批样品的 3D-PCA 分析投影图 (图 3)。由图可知, S7 号样品与其他样品投影点相距较远, 表明 S7 号丹参茎叶 (产地江苏南京) 与其他产地丹参茎叶差异性很大, 这一结果与相似度分析结果相一致。

3 讨论

3.1 提取方法的考察

考虑不同比例提取溶液 (70%、80%、90% 甲醇)、不同提取时间 (30、45、60 min) 对提取效率的影响, 结果表明用 80% 甲醇作为溶剂, 超声处理 45

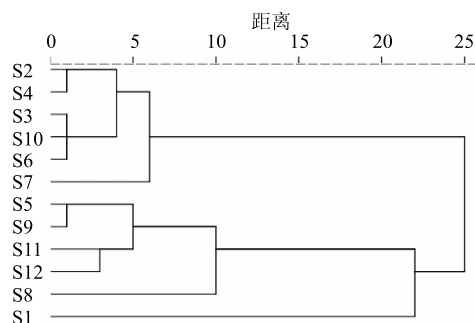


图 2 12 批丹参茎叶聚类树状图

Fig. 2 Dendrogram of 12 batches of samples

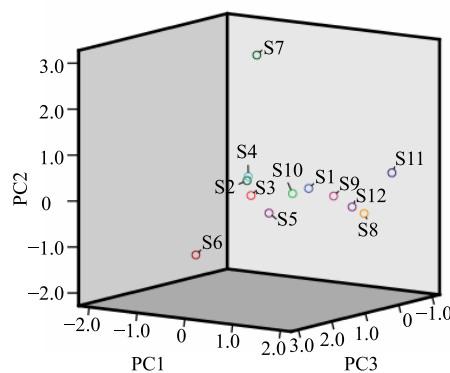


图 3 12 批丹参茎叶的 PCA 图

Fig. 3 PCA diagram of 12 batches of samples

min, 即能将丹参茎叶中酚酸类成分和黄酮类成分提取充分, 且含量稳定。

3.2 色谱条件的优化

本实验在色谱图处理过程中比较了 280 nm 和 254 nm 不同波长下的色谱峰响应情况, 结果表明在 280 nm 波长下能较好反映各成分的紫外吸收, 色谱信息丰富且基线平稳, 因此选择 280 nm 为丹参茎叶 UPLC 指纹图谱的检测波长。按照“2.1.2”项下 UPLC-QTOF/MS 分析条件, 对上述混合对照品溶液及供试品溶液进行 ES⁺、ES⁻扫描, 发现 ES⁺条件下响应信号较少, 而在 ES⁻条件下可以得到良好响应, 便于检测, 因此, 丹参茎叶中特征峰成分采用 ES⁻模式进行分析。

3.3 丹参茎叶指纹图谱评价

本实验首次建立丹参地上茎叶指纹图谱, 采用的 UPLC-UV 技术, 能较全面反映样品中化学成分的信息, 相对于常规 HPLC 建立指纹图谱, 分析时间明显缩短, 21 min 即可完成分析, 且灵敏度高, 分离效率高。通过 UPLC-QTOF/MS 对各共有峰定性分析表明丹参地上茎叶醇提取物中主要化学成分为丹酚酸类和黄酮类, 提示可能为丹参茎叶发挥活血化痰、抗氧化、

保护肾损伤等作用的活性物质基础^[13-14]。由 12 批丹参茎叶指纹图谱信息可知,各共有峰相对保留时间差异较小,而相对峰面积差异则较大,表明不同批次丹参茎叶样品中化学成分在量上存在较大差异。从表 4 中共有峰相对峰面积结果可见,S7 号丹参茎叶(产地江苏南京)与其他产地样品差异较大,主要表现在各化学成分量较低,因此说明江苏产丹参茎叶质量相对其他产地较差。综合相似度评价、聚类分析和 PCA 分析结果,总体来说,来自山西、陕西、河南等地的丹参茎叶聚为一类,而产地为山东的丹参茎叶样品与其他产地的样品存在一定差异,说明由于地域水土、气候等因素的影响,造成不同产地丹参茎叶样品在化学成分和积累量上存在一定差异。S2 和 S4 均为采收期 9 月份的丹参茎叶,在聚类树状图中聚为一类,因此要规范丹参茎叶质量,必须规范其适宜采收期。研究表明本实验建立的方法简便、准确、可靠,可为丹参茎叶资源的合理应用及产品开发提供科学依据。

参考文献

- [1] Su C Y, Qian L M, Khalid R, et al. *Salvia miltiorrhiza*: Traditional medical uses, chemistry, and pharmacology [J]. *Chin J Nat Med*, 2015, 13(3): 163-182.
- [2] 周晓希,孔羽,魏宇昆,等. RP-HPLC-DAD 同时测定丹参及丹参片中 6 种水溶性成分的含量 [J]. *中药材*, 2014, 37(2): 337-339.
- [3] Ma P D, Liu J Y, Zhang C L, et al. Regulation of water-soluble phenolic acid biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza* Bunge [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2013, 170(6): 1253-1262.
- [4] 沙秀秀,宿树兰,沈飞,等. 不同生长期丹参茎叶及花序中丹酚酸类化学成分的分布与积累动态分析评价 [J]. *中草药*, 2015, 46(22): 3414-3419.
- [5] 史国玉,郭庆梅,周凤琴. 丹参叶的化学成分研究 [J]. *山西大学学报*, 2015, 38(4): 692-695.
- [6] Zhang Q, Chang Z, Yang J, et al. Antiatherogenic property of triterpenoids-enriched extract from the aerial parts of *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Phytother Res*, 2008, 22(8): 1040-1045.
- [7] 张寒,贾敏,杨颖. 丹参地上部分抗脑缺血活性部位筛选 [J]. *中药药理与临床*, 2013, 29(3): 133-136.
- [8] 李大伟,蔡洪信,张玲,等. 白花丹参叶水提物对糖尿病大鼠糖化血红蛋白的影响 [J]. *中成药*, 2008, 30(5): 764-766.
- [9] 沙秀秀,戴新新,宿树兰,等. 丹参茎叶药材的质量标准研究 [J]. *药物分析杂志*, 2016, 36(6): 1096-1100.
- [10] 韦卓纯,姚志红,王其意,等. UPLC 结合化学计量学方法的肿节风指纹图谱研究 [J]. *中草药*, 2015, 46(6): 895-900.
- [11] 赵洪芝,王静,姜民,等. 丹参总酚酸提取物 UPLC 指纹图谱及成分定性研究 [J]. *药物分析杂志*, 2012, 32(4): 620-622.
- [12] 宿树兰,叶亮,尚尔鑫,等. 基于层次聚类分析与数据图形化技术探讨少腹逐瘀汤与温经汤的组方配伍特点 [J]. *中华中医药杂志*, 2011, 26(10): 2228-2233.
- [13] 赵琪,冯春玲,孙玉珍,等. 丹参多酚酸盐治疗老年糖尿病肾病的临床研究 [J]. *现代药物与临床*, 2015, 30(4): 441-444.
- [14] Chen H, Zhang Q, Wang X M, et al. Qualitative analysis and simultaneous quantification of phenolic compounds in the aerial parts of *Salvia miltiorrhiza* by HPLC-DAD and ESI/MSⁿ [J]. *Phytochem Anal*, 2011, 22(3): 247-257.