# 不同产地丹参脂溶性成分的比较研究

甘晓燕,谭友莉,陈 新\* (成都中医药大学药学院,中药材标准化教育部重点实验室,四川成都 611137)

摘要 [目的]建立不同产地丹参 5 种脂溶性成分二氢丹参酮【、丹参酮【【八息丹参酮、凡参酮【【1,2 - 二氢丹参酮的含量测定方法,比较不同产地丹参脂溶性成分含量的差异。 [方法]以不同产地丹参为材料,用 HPLC 法测定,色谱柱为 Agilent ZORBAX Eclipse Plus  $C_{18}$ 柱(Analytial  $4.6 \times 250 \text{ mm}$ ,5  $\mu$ m),以乙腈 - 水为流动相进行梯度洗脱,检测波长为 270 nm,柱温为 25  $\Omega$  ,进样量为 20  $\mu$ l。 [结果]二氢丹参酮【、隐丹参酮、、丹参酮【、1,2 - 二氢丹参酮、 丹参酮【A 的线性范围分别为 0.009 9 ~ 0.990 0、0.020 7 ~ 3.105 0、0.019 6 ~ 1.960 0、0.021 7 ~ 2.170 0、0.041 4 ~ 4.140 0  $\mu$ g/ml( $R^2$ 分别为 0.999 8、0.999 9、0.999 6、0.999 8 和 0.999 8),线性关系良好;平均回收率分别为 99.92%、100.15%、100.10%、99.96% 和 100.34%;RSD分别为 0.957%、1.175%、1.038%、1.156% 和 1.04%。不同产地丹参中 5 种成分含量差别较大。 [结论] 该方法稳定可靠,重现性好,可用于丹参中脂溶性成分的测定。

关键词 丹参(Salvia miltiorrhiza Bge.);HPLC;脂溶性成分

中图分类号 S567 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2013)32-12575-03

#### Study on Comparison of Fat-Soluble Active Principles of Salvia miltiorrhiza Producing at Different Areas

GAN Xiao-yan et al (Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicines of Ministry of Education, College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu, Sichuan 611137)

Abstract [Objective] To establish the method for the content determination of dihydrotanshinone I, tanshinone II A, cryptotanshinone, tanshinone I, 1,2-dihydrotanshinone in Salviae miltiorrhizae from different habitats. [Method] HPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent ZORBAX Eclipse Plus  $C_{18}$  (Analytial  $4.6 \times 250$  mm,  $5~\mu m$ ) column with the gradient eluent consisted of acetonitrile-water. The detection wavelength was set at 270 nm and the column temperature was 25~C. The injection size was  $20~\mu L$ . [Result] The linear ranges of dihydrotanshinone I, tanshinone II A, cryptotanshinone, tanshinone I, 1,2-dihydrotanshinone in S. miltiorrhizae were  $0.009~9~-0.990~0~\mu g$  ( $R^2=0.999~8$ ),  $0.020~7~-3.105~0~\mu g$  ( $R^2=0.999~9$ ),  $0.019~6~-1.960~0~\mu g$  ( $R^2=0.999~6$ ),  $0.021~7~-2.170~0~\mu g$  ( $R^2=0.999~8$ ),  $0.041~4~4.140~0~\mu g$  ( $R^2=0.999~8$ ), respectively. The average recoveries were 99.92%, 100.15%, 100.10%, 99.96%, 100.34%, respectively. RSDs were 0.957%, 1.175%, 1.038%, 1.156%, 1.04% (n=6). There were significant differences in the contents of dihydrotanshinone I, tanshinone II A, cryptotanshinone, tanshinone I, 1,2-dihydrotanshinone in S. miltiorrhizae from different habitats. [Conclusion] The method is stable, reliable and reproducible for the quality control of S. miltiorrhizae.

Key words Salvia miltiorrhiza Bge.; HPLC; Fat-soluble active principles

丹参(Salvia miltiorrhiza Bge.)为唇形科(Lamiaceae)鼠尾草属(Salvia)植物,分布广泛,主产于四川、河南和山东等。丹参的干燥根及根茎,具有活血化瘀、凉血消肿和清心除烦的功效<sup>[1]</sup>,主要活性成分可分为脂溶性丹参酮类和水溶性丹酚酸类<sup>[2]</sup>。现代药理学研究表明,丹参中酚酸类和丹参酮类成分均具有明显生物活性<sup>[3-5]</sup>。其中,脂溶性丹参酮类化合物主要具有抑菌消炎<sup>[6]</sup>、抗肿瘤<sup>[7-8]</sup>、保护心血管系统<sup>[9]</sup>、清除自由基<sup>[10]</sup>等药理活性。由于受产地、气候和生态环境等地的影响,不同产地丹参所含成分差异较大<sup>[15-17]</sup>。且丹参的产地较多,在现有的报道中不同学者对各地丹参化学成分分析的结果和结论相去甚远<sup>[11-14]</sup>。笔者采用高效液相色谱(HPLC)法,建立色谱条件和样品前处理方法,测定丹参5种脂溶性成分(二氢丹参酮I、丹参酮IIA、隐丹参酮、丹参酮I和1,2-二氢丹参酮),并对16个产地丹参活性成分进行含量测定,旨在全面控制丹参的质量。

## 1 材料与方法

## 1.1 材料

1.1.1 研究对象。采集丹参各产地栽培或野生丹参的根及根茎,样品采集后快速运回实验室。样品经成都中医药大学陈新教授鉴定为丹参(Salvia miltiorrhiza Bge.)的根及根茎。

作者简介 甘晓燕(1988-),女,四川绵阳人,硕士研究生,研究方向: 中药品种、质量与资源开发。\*通讯作者,博士,教授。

收稿日期 2013-10-11

表 1 丹参各样品来源

|    | 7, 7, 7, 5 HTH |          |
|----|----------------|----------|
| 样品 | 产地             | <u>t</u> |
| 1  | 山东             | 临沂       |
| 2  |                | 临朐       |
| 3  | 山西             | 曲沃       |
| 4  |                | 芮城       |
| 5  | 陕西             | 蓝田       |
| 6  |                | 商洛       |
| 7  | 四川             | 中江古店     |
| 8  |                | 中江集凤     |
| 9  |                | 中江石泉     |
| 10 |                | 野生       |
| 11 | 河南             | 方城       |
| 12 |                | 灵宝       |
| 13 |                | 商丘       |
| 14 |                | 栾川       |
| 15 |                | 卢氏       |
| 16 |                | 栾川野生     |

1.1.2 主要仪器。Agilent 1200 高效液相色谱仪:包括在线脱气机(G1322A)、四元素泵(G1311A)、DAD 二极管阵列检测器(G315C 1260)和 Agilent 色谱工作站,购自美国 Agilent 公司;电子分析天平(Sartorius BP211D 和 Sartorius BP121S),购自赛多利斯公司;KQ5200E 型超声仪,购自昆山舒美超声仪器有限公司。

1.1.3 主要试剂。丹参酮IIA、隐丹参酮、丹参酮I和1,2-二氢丹参酮对照品,全部为实验室自制,高效检测纯度为98%

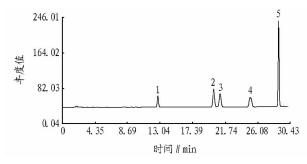
以上;二氢丹参酮I(批号130223),购自成都普菲德生物技术有限公司;乙腈,购自 OCEANPAK ALEXATIVE CHEMICAL, Ac00030281 HPLC;甲醇,分析纯,批号:20130809,购自成都市科龙化工厂;水为重蒸去离子水,其余试剂均为分析纯,市售。

#### 1.2 方法

- 1.2.1 色谱条件。色谱柱为 Agilent ZORBAX Eclipse Plus  $C_{18}$ 柱(4.6 mm×250 mm,5  $\mu$ m);流动相为:A 相为乙腈,B 相为水,梯度洗脱,A 相:0~21 min,55%~62%;21~30 min,62%~100%;B 相:0~21 min,45%~38%;21~30 min,38%~0;流速为1.0 ml/min;进样量为20  $\mu$ l;柱温为室温;检测波长为270 nm。
- 1.2.2 对照品溶液的配制。分别精密称取对照品置棕色容量瓶中,以无水甲醇为溶剂,配制成单组分对照品溶液,再配制混合对照品溶液,其中含二氢丹参酮I 49.50 μg/ml、丹参酮I 98.00 μg/ml、1,2-二氢丹参酮 108.50 μg/ml、隐丹参酮103.50 μg/ml、丹参酮IIA 207.00 μg/ml。
- 1.2.3 供试品溶液的制备。快速精密称定 1.000 g 已粉碎鲜丹参粉,转移到三角瓶中,置具塞锥形瓶中,精密加入 10 ml 无水甲醇,密塞,称定重量,过夜,超声提取 1 h,冷却后再称定重量,加无水甲醇补足减失重量,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过,备用。
- 方法学考察。(1)系统适应性试验。取供试品溶液 1.2.4 和对照品溶液,按上述色谱条件进样,并进行测定,作出光谱 图,考察系统适应性。(2)线性关系的考察。取上述混合对 照品溶液,分别进样 1.0、2.5、5.0、10.0、15.0 和 20.0 µl,按 确定色谱条件进样,测定峰面积,各对照品分别以进样量为 横坐标,峰面积为纵坐标进行线性回归,绘制标准曲线,计算 线性回归方程。(3)系统精密度试验。精密吸取混合对照品 溶液 20 µl 注入液相色谱仪,连续进样 5 次,计算所测二氢丹 参酮I、隐丹参酮、丹参酮I、1,2-二氢丹参酮、丹参酮IIA 5 个组 分的峰面积的相对标准偏差(RSD)。(4) 重复性试验。取山 东临沂丹参样品,精密称取5份,每份1.000g,按供试品制备 方法处理,进样20 µl,测定样品中二氢丹参酮I、隐丹参酮、丹 参酮I、1,2-二氢丹参酮和丹参酮ⅡA 的含量。(5)稳定性试 验。取山东临沂丹参供试品溶液分别在 0、2、4、8、12 和 24 h 进样 20 µl,测定样品中二氢丹参酮I、隐丹参酮、丹参酮I、1, 2-二氢丹参酮和丹参酮IIA 的含量。(6)加样回收率试验。 精密称取已知含量的丹参样品(山东临沂)适量共9份,3份 为一组,分别加入3种不同浓度混合对照品溶液,按供试品 溶液制备方法处理,进样后测定含量,计算平均回收率和  $RSD_{\circ}$
- 1.2.5 样品含量测定。取不同产地的丹参样品,按供试品溶液的制备方法处理,进行 HPLC 分析,计算不同产地丹参中脂溶性成分的含量。

## 2 结果与分析

**2.1** 方法学考察 (1)系统适应性试验。图 1~2 表明,对 照品溶液和供试品溶液在相同的保留时间上有对应的吸收 峰,且各峰之间无明显影响,表明该方法系统适应性良好。(2)线性关系的考察。由表2可知,在各自的范围内,各对照品浓度与峰面积的线性关系良好。(3)系统精密度试验。计算所测二氢丹参酮I、隐丹参酮、丹参酮I、1,2-二氢丹参酮、丹参酮IIA 5个组分的峰面积的相对标准偏差(RSD)均小于2.0%,表明精密度良好。(4)重复性试验。计算得5种所测成分的RSD均小于1.0%,表明提取和检测方法的重现性好。(5)稳定性试验。计算得5种所测成分的RSD均小于2.0%,供试品溶液在24h内稳定,表明稳定性良好。(6)加样回收率试验。计算得二氢丹参酮I、隐丹参酮、丹参酮I、1,2-二氢丹参酮和丹参酮IIA的平均回收率分别为99.92%、100.15%、100.10%、99.96%、100.34%;RSD分别为0.957%、1.175%、1.038%、1.156%和1.04%(表3),表明该方法准确,可靠,可用于丹参中脂溶性成分的测定。



注:1. 二氢丹参酮I;2. 隐丹参酮;3. 丹参酮I;4. 1,2 - 二氢丹参酮;5. 丹参酮IIA。

图 1 混合对照品 HPLC 图谱

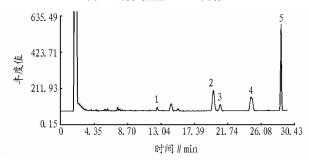


图 2 山东临朐样品 HPLC 图谱表 2 丹参脂溶性成分的线性关系

| 成分名称      | 回归方程                            | 决定系数     | 线性范围                     |
|-----------|---------------------------------|----------|--------------------------|
| 双刀石桥      | 四归刀性                            | $(R^2)$  | μg/ml                    |
| 二氢丹参酮I    | $y = 3 \ 105. \ 2x + 5.446 \ 9$ | 0. 999 8 | 0.009 9 ~0.990 0         |
| 隐丹参酮      | y = 2 608.7x + 13.2360          | 0. 999 9 | 0. 020 7 $\sim$ 3. 105 0 |
| 丹参酮I      | y = 1 349.6x + 3.6010           | 0. 999 6 | 0.019 6 ~ 1.960 0        |
| 1,2-二氢丹参酮 | $y = 1 \ 115. \ 4x + 7.065 \ 3$ | 0. 999 8 | 0. 021 7 $\sim$ 2. 170 0 |
| 丹参酮IIA    | y = 2 694.7x + 31.919 0         | 0. 999 8 | 0. 041 4 ~ 4. 140 0      |

2.2 样品含量测定结果 由表 4 可知,5 种成分中,二氢丹参酮 I 在各样品中量差异较大,最大可达 22 倍。丹参酮 II A 来自同一个省的不同产地的丹参样品含量差异也较大,其中来自山东省临沂和临朐的样品丹参酮 II A 的含量分别为 0.476 4 和 2.396 0 mg/g,相差近 5 倍;来自陕西蓝田和商洛的样品丹参酮 II A 含量分别为 0.372 3 和 1.761 6

mg/g,相差近5倍。

表3 加样回收率试验测定结果(n=3)

| 序号      | 化合物         | 原始值      | 加入量       | 实测值       | 回收      |
|---------|-------------|----------|-----------|-----------|---------|
| <u></u> | PG [1 10)   | mg       | mg        | mg        | 率//%    |
| 1       | 二氢丹参酮I      | 0.017 7  | 0.051 84  | 0.069 54  | 101.23  |
|         | 隐丹参酮        | 0.181 5  | 0.108 40  | 0.289 90  | 99.45   |
|         | 丹参酮I        | 0.128 3  | 0.102 64  | 0.230 94  | 99.07   |
|         | 1,2 - 二氢丹参酮 | 0.495 6  | 0.113 64  | 0.609 24  | 98.14   |
|         | 丹参酮IIA      | 0.4764   | 0.216 80  | 0.693 20  | 101.54  |
| 2       | 二氢丹参酮I      | 0.0178   | 0.051 84  | 0.069 64  | 99.54   |
|         | 隐丹参酮        | 0.182 0  | 0.108 40  | 0.29040   | 100.94  |
|         | 丹参酮I        | 0.128 5  | 0.102 64  | 0.231 14  | 98.67   |
|         | 1,2 - 二氢丹参酮 | 0.495 7  | 0.113 64  | 0.609 34  | 100.18  |
|         | 丹参酮IIA      | 0.4764   | 0.216 80  | 0.693 20  | 100.25  |
| 3       | 二氢丹参酮I      | 0.0179   | 0.051 84  | 0.069 74  | 99.24   |
|         | 隐丹参酮        | 0.1817   | 0.108 40  | 0.290 10  | 100.57  |
|         | 丹参酮I        | 0.128 3  | 0.102 64  | 0. 230 94 | 99.57   |
|         | 1,2 - 二氢丹参酮 | 0.495 4  | 0. 113 64 | 0.609 04  | 101.56  |
|         | 丹参酮IIA      | 0.476 6  | 0. 216 80 | 0.693 40  | 101.87  |
| 4       | 二氢丹参酮I      | 0.017 8  | 0.065 06  | 0.082 90  | 98.54   |
| 7       | 高子<br>隐丹参酮  | 0. 182 0 | 0. 106 03 | 0. 288 00 | 98.04   |
|         | 丹参酮I        | 0. 128 8 | 0. 128 8  | 0. 257 60 | 100.17  |
|         |             | 0. 494 5 | 0. 128 6  | 0.637 10  | 101.35  |
|         | 1,2 - 二氢丹参酮 |          |           |           |         |
| _       | 丹参酮IIA      | 0.476 0  | 0. 272 06 | 0.748 10  | 99.10   |
| 5       | 二氢丹参酮I      | 0.017 7  | 0.065 06  | 0.082 80  | 100.71  |
|         | 隐丹参酮        | 0. 182 2 | 0. 106 03 | 0. 288 20 | 101.77  |
|         | 丹参酮I        | 0. 128 6 | 0. 128 8  | 0. 257 40 | 101.83  |
|         | 1,2-二氢丹参酮   | 0.494 6  | 0. 142 60 | 0.637 20  | 99. 52  |
|         | 丹参酮IIA      | 0.476 4  | 0. 272 06 | 0.748 50  | 98.58   |
| 6       | 二氢丹参酮I      | 0.018 0  | 0.065 06  | 0.083 10  | 100.87  |
|         | 隐丹参酮        | 0. 182 4 | 0.106 03  | 0.288 40  | 100.84  |
|         | 丹参酮I        | 0. 128 8 | 0.128 8   | 0.257 60  | 100.68  |
|         | 1,2 - 二氢丹参酮 | 0.494 1  | 0.142 60  | 0.636 70  | 98.49   |
|         | 丹参酮IIA      | 0.476 5  | 0.272 06  | 0.748 60  | 100. 14 |
| 7       | 二氢丹参酮I      | 0.017 8  | 0.778 87  | 0.796 67  | 100.43  |
|         | 隐丹参酮        | 0.183 1  | 0.162 85  | 0.345 95  | 99.58   |
|         | 丹参酮I        | 0.129 0  | 0.154 20  | 0.283 20  | 99.84   |
|         | 1,2 - 二氢丹参酮 | 0.4954   | 0.17072   | 0.666 12  | 100.12  |
|         | 丹参酮IIA      | 0.475 8  | 0.325 71  | 0.801 51  | 100.24  |
| 8       | 二氢丹参酮I      | 0.0180   | 0.778 87  | 0.796 87  | 99.95   |
|         | 隐丹参酮        | 0.183 4  | 0.162 85  | 0.346 25  | 101.05  |
|         | 丹参酮I        | 0.127 8  | 0.154 20  | 0.282 00  | 98. 19  |
|         | 1,2 - 二氢丹参酮 | 0.495 8  | 0.17072   | 0.666 52  | 99.67   |
|         | 丹参酮IIA      | 0.477 1  | 0.325 71  | 0.802 81  | 100.55  |
| 9       | 二氢丹参酮I      | 0.178 4  | 0.778 87  | 0.957 27  | 98.78   |
|         | 隐丹参酮        | 0. 182 9 | 0. 162 85 | 0. 345 75 | 99. 10  |
|         | 丹参酮I        | 0. 128 8 | 0. 154 20 | 0. 283 00 | 100.98  |
|         | 1,2 - 二氢丹参酮 | 0.495 4  | 0. 170 72 | 0.666 12  | 100.57  |
|         |             |          |           |           |         |
|         | 丹参酮IIA      | 0.476 8  | 0. 325 71 | 0.802 51  | 100.78  |

## 3 结论与讨论

相关文献报道<sup>[18-19]</sup>,丹参酮丹参酮IIA 等脂溶性成分用甲醇回流提取效果最佳。杨新杰等以 100% 甲醇为提取溶剂,比较了过夜超声提取 1 h、回流提取 1 h 和索氏提取 5 h 的提取效果。结果表明,超声提取、回流提取和索氏提取无明显差异<sup>[20]</sup>。由于丹参酮丹参酮IIA 对热的不稳定性<sup>[21]</sup>,为了尽量避免加热回流导致的成分破坏,故选用超声提取法,与郭孝武等<sup>[22]</sup>的研究相符。

试验采用乙腈 - 水作为溶剂系统进行梯度洗脱,在该色

谱条件下,丹参中5种脂溶性成分均能得到完全分离,表明该方法稳定,重现性好。

|    | 表 4     | 不同产地丹参脂溶性成分测定结果 |         |         | mg/g    |
|----|---------|-----------------|---------|---------|---------|
| 样品 | 二氢丹     | 隐丹              | 丹参      | 1,2-二氢  | 丹参      |
| 编号 | 参酮I     | 参酮              | 酮I      | 丹参酮     | 酉∏A     |
| 1  | 0.017 7 | 0.1815          | 0.128 3 | 0.495 6 | 0.4764  |
| 2  | 0.3700  | 1.1644          | 0.3512  | 2.225 9 | 2.396 0 |
| 3  | 0.042 5 | 0.108 1         | 0.202 3 | 0.528 2 | 0.593 0 |
| 4  | 0.0522  | 0.454 6         | 0.2780  | 2.0124  | 1.659 0 |
| 5  | 0.0444  | 0.1162          | 0.146 8 | 0.769 3 | 0.3723  |
| 6  | 0.068 5 | 0.5680          | 0.4000  | 2.113 5 | 1.761 6 |
| 7  | 0.055 1 | 0.3996          | 0.1799  | 1.077 0 | 0.6125  |
| 8  | 0.075 7 | 0.9528          | 0.3100  | 2.095 6 | 1.599 4 |
| 9  | 0.0366  | 0.135 3         | 0.125 1 | 0.702 1 | 0.345 4 |
| 10 | 0.020 3 | 0.065 3         | 0.157 2 | 0.325 4 | 0.3140  |
| 11 | 0.029 1 | 0.2164          | 0.1145  | 0.364 5 | 0.827 0 |
| 12 | 0.0360  | 0.1314          | 0.2172  | 0.6369  | 0.572 3 |
| 13 | 0.031 2 | 0.2317          | 0.130 6 | 0.873 0 | 1.264 9 |
| 14 | 0.042 1 | 0.3227          | 0.136 2 | 1.233 3 | 1.2209  |
| 15 | 0.049 6 | 0.403 5         | 0.2544  | 1.155 6 | 1.057 6 |
| 16 | 0.088 4 | 0.409 3         | 0.262 7 | 0.742 4 | 0.773 6 |

试验收集了四川、河南、山东、陕西、山西等地的家种和野生丹参,对其中的脂溶性成分进行测定。试验结果表明,不同产地丹参脂溶性成分含量差异较大。其中,山东临朐丹参的隐丹参酮、1,2-二氢丹参酮和丹参酮IIA含量均为最高,丹参酮I和二氢丹参酮I的含量以陕西商洛丹参为最高。5种成分中,二氢丹参酮I在各样品中量差异较大,最大可达22倍。丹参酮IIA来自同一个省的不同产地的丹参样品含量差异也较大,其中来自山东省临沂和临朐的样品丹参酮IIA的含量分别为0.4764和2.3960mg/g,相差近5倍;来自陕西蓝田和商洛的样品丹参酮IIA含量分别为0.3723和1.7616mg/g,相差近5倍,表明不同产地的丹参质量存在明显差别,故在临床用药时应从丹参的来源进行控制。

#### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:人民卫生出版 社,2010:70-71.
- [2] 万德光. 中药品质研究一理论、方法与实践[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2008: 79.
- [3] 丰成相. 丹参的化学成分及药理作用概况[J]. 中国民族民间医药, 2012,21(2);25-26.
- [4] 刘艾林,李络源,王一涛,等. 丹参药理学活性物质基础研究现状[J]. 中国获学杂末 2007 (2(9),612-616
- 中国药学杂志,2007,42(9):642-646. [5] 赵艳威,杨宣,谢文利,等. 丹参素及原儿茶醛研究进展[J]. 武警医学
- 院学报,2009,18(3):260-262. [6] 房其年,张佩玲,徐宗沛. 丹参抗菌有效成分的研究[J]. 化学学报,
- 1976,34(3):197 209.
- [7] 袁淑兰,王修杰. 丹参酮的抗肿瘤作用及其机理研究[J]. 癌症,2003,22 (12):1363-1366.
- [8] WU W L, CHANG H Y, CHEN C F. Cytotoxic activities of tanshinones against human carcinoma cell lines[J]. American Journal of Chinese Medicine, 1991, 19; 207 – 216.
- [9] 黄熙,藏益民. 丹参酮 IIA 磺酸钠心血管药理[J]. 国外医学:中医中药分册,1995,17(1): 9-12.
- [10] ZHAO Y, JIANG W, HOU J W, et al. Effect of calcium overload and salvia (tanshinone) on tile lipid free radicals generated from lipid peroxidation of the mitochondrial membrane [J]. Acta Biochem Biophy Sinica, 1995, 27:610.
- [11] 唐晓清,王康才,陈暄,等. 丹参不同栽培类型的生物量与水溶性、脂溶性成分积累的相关性研究[J]. 中草药, 2006, 37(5): 753-758.

(下转第12579页)

耳2面,左耳不涂作为对照,1 h 后脱颈处死小鼠。沿耳廓基线剪下2耳,用8 mm 打孔器在双耳同一部位打下圆片,用电子分析天平精密称重。左右耳重量差值为肿胀度,计算肿胀抑制率,肿胀率(%)=(空白组平均肿胀度一给药组平均肿胀度)/空白组平均肿胀度×100。

#### 2 乌苏里瓦韦的抗炎作用研究

由表 1 可知,与空白对照组比较,水提取物高、中剂量组均能显著减轻二甲苯致炎小鼠的耳廓肿胀程度(P < 0.05);而浓度 70% 乙醇提取物高剂量组与空白对照组比较具有极显著差异(P < 0.01),并优于阿司匹林阳性对照组。绿原酸标准品对照组与空白对照组比较无明显差异(P > 0.05)。

表 1 乌苏里瓦韦提取液对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响 $(x \pm s, n = 9)$ 

| 组别         | 剂量    | 肿胀度                       | 抑制率   |
|------------|-------|---------------------------|-------|
| 组 <b>加</b> | g/kg  | m/mg                      | %     |
| 模型组        | -     | $0.007\ 2\pm0.001\ 8$     | -     |
| 水提高剂量组     | 6.000 | $0.003\ 5\pm0.002\ 5^{*}$ | 51.38 |
| 水提中剂量组     | 4.000 | $0.003\ 6\pm0.001\ 8^{*}$ | 50.00 |
| 水提低剂量组     | 2.000 | $0.005\ 2\pm0.001\ 7$     | 27.77 |
| 醇提高剂量组     | 6.000 | $0.002~8 \pm 0.002~0$ **  | 61.11 |
| 醇提中剂量组     | 4.000 | $0.005\ 5\pm0.002\ 0$     | 23.61 |
| 醇提低剂量组     | 2.000 | $0.005\ 1\pm0.001\ 9$     | 29.16 |
| 阿司匹林组      | 0.075 | $0.004~0\pm0.002~0^{*}$   | 44.44 |
| 绿原酸标准品组    | 0.060 | $0.006\ 7\pm0.001\ 7$     | 6.94  |

注:与模型组比较: \*P<0.05; \*\*P<0.01。

#### 3 结论与讨论

试验参考有关乌苏里瓦韦用法用量,分别设计了相当于人用小剂量(低剂量组)、正常用量(中剂量组)与极量(高剂量组),并分别采用水与浓度 70% 乙醇对乌苏里瓦韦进行提取并进行抗炎功效对比。结果表明,在常规用量下水提液效果最好,符合相关用法用量记载,浓度 70% 醇提液高剂量组抗炎效果最明显,但中低剂量组无明显抗炎活性,表明其抗炎效果有一定的剂量依赖关系,而对比水提液则中高剂量组则发现其剂量依赖关系并不明显。乌苏里瓦韦水提液中高剂量抗炎活性明显,表明其对人常规用量下水提液效果最好,结果与相关文献书籍记载相符。浓度 70% 醇提液高剂量具有显著差异,表明乌苏里瓦韦水提取液与浓度 70% 乙醇提取液中的抗炎活性成分有一定差异;在乌苏里瓦韦水提取液

与浓度 70% 乙醇提取液高剂量组试验中,未见有小鼠中毒死亡,小鼠的体重饮食均无明显变化,小鼠状态良好,表明在较大剂量下乌苏里瓦韦无明显毒副作用。乌苏里瓦韦中已知的活性成分为绿原酸,而试验中绿原酸标准品组未见有明显抗炎活性,表明绿原酸与乌苏里瓦韦中其他成分之间的关系尚未明确或其仅为乌苏里瓦韦中有效成分之一,其抗炎成分及其相互间构效关系仍需进一步研究。

#### 参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草:第二册[M]. 上海: 上海科学技术出版社,1999:238.
- [2] YONG HAE CHOI, YOUNG HEE DM, HOSUP YEO, et al. Aflavonoed diglycoside from lepisorus ussuriensis [J]. Pergamon, 1996; 43 (5):1111 – 1113
- [3] YOUNG HAE CHOI, JINWOONG KIM, YOUNG-HEE CHOI. A steroidal glycoside from lepisorus ussuriensis [J]. Pergamon, 1999, 51(3):453 456.
- [4] 王志文,张爱国,袁强,等. 麝香乌龙丸抗炎及镇痛药理研究[J]. 时珍国医国药,2007,18(3):584-586.
- [5] 欧阳胜,申作洁,潘琳娜. 白桂木抗炎镇痛作用有效部位筛选[J]. 中草药,2010,41(11);1850-1853.
- [6] 王玉亮, 张磊, 辛海量. 水龙骨镇痛抗炎有效部位的筛选[J]. 中国医药科学杂志, 2008, 28(20):1749-1751.
- [7] 冯艺萍,李彬,郭力城,等. 小叶金花草抗炎镇痛作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(12):197-199.
- [8] 艾丹. 白鲜皮抗炎有效部位的研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2010
- [9] 霍清, 王晓旭, 郑蕾, 等. 臭椿叶提取物抗炎作用研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(9): 4524.
- [10] 何晓燕,汪明,梁立文. 东北红豆杉抗炎作用研究[J]. 安徽农业科学, 2010,38(2):908-909.
- [11] 何颖,杨桂林,胡翔宇,等. 青果总黄酮的抗炎作用研究[J]. 安徽农业科学,2012,40(5):2632,2650.
- [12] 肖静,朱梦军,肖辉,等. 百眼藤抗炎镇痛作用有效部位的筛选[J]. 中国医药学杂志,2013,33(15);1281-1282.
- [13] 潘利明, 林励, 胡旭光. 玉叶金花水提物的抗炎抑菌作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(23): 248-251.
- [14] 马烽,朱亚玲,陈明辉,等,金银花中绿原酸提取工艺研究进展[J]. 食品研究与开发,2010,31(7);164-166,184.
- [15] 李宁,李楚. 金银花中绿原酸提取工艺的正交优化法研究[J]. 山西农业科学,2010,38(3);14-15,22.
- [16] 李伟,王伯初. 金银花中物质提取纯化及工艺研究[D]. 重庆:重庆大学,2012.
- [17] 伍贤进,李胜华,李爱明,等. 鱼腥草化学成分研究[J]. 中药材,2008,31(8):1168-1170.
- [18] 郭晓园,朱文学,罗磊. 金银花中绿原酸的提取分离及抗氧化作用研究[D]. 洛阳:河南科技大学,2009.
- [19] 王丽红,赵龙,刘德江,等. 乌苏里瓦韦的性状及显微鉴别[J]. 中药材, 2013,36(3):394-397.
- [20] 周舟,彭淼,钟晓红. 绿原酸提取分离及检测研究进展[J]. 长江大学学报:自然科学版,2011,8(3):243-246.

## (上接第12577页)

- [12] 曹春泉,孙隆儒,王小宁. 白花丹参的化学成分研究(Ⅱ)[J]. 中草药, 2009,40(2):173-175.
- [13] 赵磊磊, 谢凯, 朱盛山, 等. 不同产地丹参的 HPLC 和 TLC 图谱分析 [J]. 中药材, 2007, 30(6):646-648.
- [14] 金樟照,祝明,张文婷,等.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[J].中草药,2004,35(10):1174-1177.
- [15] 王举涛,彭代银,刘金旗,等. 不同产地丹参中丹参酮 IIA 的含量比较 [J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(3):4.
- [16] 马云桐,陈新,陈静,等. 丹参中丹参酮 IIA 含量的数据分布特征与差异原因分析[J]. 中国中药杂志,2010,35(16):2119-2123.
- [17] 孔祥文,韩杰. 不同产地丹参中隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮IIA 的含

- 量比较[J]. 中国药房,2011,22(19):1794-1795.
- [18] 刘重芳,张钰泉,戴居云,等. 丹参不同提取工艺比较[J]. 中成药, 1999,29(8):385-388.
- [19] 杨千才,柳仁民. 丹参脂溶性成分提取方法研究[J]. 中成药,2010,32 (4):585-588.
- [20] 杨新杰,万德光,林贵兵,等. 丹参脂溶性成分的地域分布特点分析 [J]. 中草药,2010,41(5):809-812.
- [21] 杜志谦,冯坤,刘月桂,等. 丹参中丹参酮IIA 受热降低的规律研究[J]. 中草药,2002,33(10):892-893.
- [22] 郭孝武, 沈志刚. 超声提取对丹参药材中脂溶性成分的影响[J]. 陕西师范大学学报: 自然科学版, 2007, 35(3): 48.