

紫花丹参与白花丹参谱学对比分析

刘政波¹, 程秀贞², 宋振巧³, 王建华³ (1. 山东省泰安市农业科学研究院, 山东 泰安 271000; 2. 山东医药技师学院, 山东 泰安 271000; 3. 山东农业大学农学院, 山东 泰安 271018)

摘要: 目的 研究紫花丹参与白花丹参二者谱学性质的差异。方法 综合运用紫外-可见光谱 (UV-Vis)、红外光谱 (FT-IR) 和高效液相色谱 (HPLC) 3 种方法研究紫花丹参与白花丹参 5 种不同提取部位的谱学行为, 宏观比较谱图中峰的数目、形状和强度, 以及 5 种主要活性物质的相对含量。结果 紫花丹参与白花丹参主要成分的种类基本相同, 只是同类成分的含量有所差异。结论 确定了紫花丹参与白花丹参谱学性质的差别, 为二者具有不同的药效学提供了分子依据。

关键词: 紫花丹参; 白花丹参; 光谱学

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)03-0304-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.01.026

Comparative Analysis of Spectroscopy of *Salvia miltiorrhiza* Bge. and *Salvia miltiorrhiza* Bge. f. alba

LIU Zhengbo¹, CHENG Xiuzhen², SONG Zhenqiao³, WANG Jianhua³ (1. Tai'an Academy of Agricultural Sciences, Tai'an 271000 Shandong, China; 2. Shandong Medicinal Technician College, Tai'an 271000 Shandong, China; 3. College of Agronomy, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018 Shandong, China)

Abstract: **Objective** To investigate the differences of spectroscopy between *Salvia miltiorrhiza* Bge. and *Salvia miltiorrhiza* Bge. f. alba. **Methods** The spectroscopic properties of five extractions of *S. miltiorrhiza* Bge. and *S. miltiorrhiza* Bge. f. alba were studied by UV, IR and HPLC. The peak number, peak shape, peak intensity, and contents of five active compounds were compared broadly. **Results** The components existed in *S. miltiorrhiza* Bge. and *S. miltiorrhiza* Bge. f. alba were nearly the same, but the contents of the similar components were different. **Conclusion** The differences of spectroscopy between *S. miltiorrhiza* Bge. and *S. miltiorrhiza* Bge. f. alba are confirmed, which will provide the molecular proof of pharmacodynamics of *S. miltiorrhiza* Bge and *S. miltiorrhiza* Bge. f. alba.

Keywords: *Salvia miltiorrhiza* Bge.; *Salvia miltiorrhiza* Bge. f. alba; Spectroscopy

山东省是丹参的道地产区之一, 丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge.)栽培面积最广。白花丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge. f. alba)为紫花丹参的变型种, 主要分布于泰山及周边地区, 其他地区较为少见^[1-2]。《中国药典》(2010 版)只收录了紫花丹参, 而没有收录白花丹参^[3]。二者的主要化学成分均为以丹参酮、丹参酮 II A 等为代表的脂溶性成分和以丹参素、原儿茶醛、丹酚酸 B 等为代表的水溶性成分^[4-6]。但在临床上白花丹参除具有紫花丹参的生物活性和用途之外, 对治疗血栓性脉管炎具有独特的疗效^[7-9]。为了较好地评价和开发白花丹参的药材资源, 本文综合运用了紫

外-可见光谱(UV-Vis)、红外光谱(FT-IR)和高效液相色谱(HPLC)等方法系统地研究了紫花丹参与白花丹参 5 种不同提取部位的谱学行为, 为紫花丹参与白花丹参具有不同的药效学提供分子依据。

1 仪器与材料

UV-2450 双光束紫外可见分光光度计, 日本岛津公司; IR-200 红外分光光度计, FI-IR 傅立叶-红外变换光谱仪, 包括中红外 DTGS 检测器, NICOLET 公司; DF-4 型压片机, 天津市港东科技发展有限公司; Waters 600E 高效液相色谱仪, 美国 waters 公司,

收稿日期: 2012-12-26

作者简介: 刘政波, 女, 农艺师, 研究方向: 中草药的栽培、育种及质量评价。Email: Liuzhengbo2000@163.com。通讯作者: 王建华, 男, 教授, 博导, 研究方向: 中药资源与开发。Email: sdauwangjh@yahoo.cn。

基金项目: 国家自然科学基金资助(81274012, 81001603); 山东省农业良种工程资助项目([2007]217-12)。

包括 600E 四元梯度泵, 2996 光电二极管正列(PDA)检测器, 中文 Empowers 色谱管理系统, 四通道脱气机; SZ-93 自动双重蒸馏水器, 上海亚荣化学仪器厂; FW177 型中草药粉碎机, 天津泰斯特仪器有限公司; KQ5200D 数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司。

丹参样品均于 2008 年 2 月采自山东农业大学中药园, 经本院王建华教授鉴定为紫花丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge.)和白花丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge. f. *alba*)的干燥根及根茎。

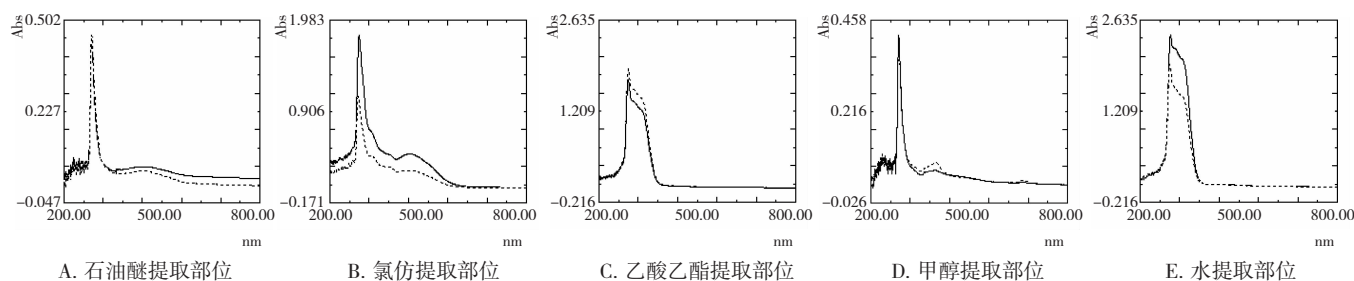


图 1 紫花丹参(实线)和白花丹参(虚线)的紫外光谱图

Figure 1 UV spectra of extract from *S. miltiorrhiza* Bge. and *S. miltiorrhiza* Bge. f. *alba*

按照《中国药典》附录要求药检中使用的 2 个比色皿吸光度配对误差 $\Delta A \leq 0.002$, 可配对使用, 采用空气为参比测量不同比色皿吸光度。以相应甲醇溶剂为空白对照, 置 UV-2450 双光束紫外可见分光光度计上扫描(200~800 nm)。

2.2.1 石油醚提取部位比较 紫花丹参和白花丹参石油醚提取部位, 波谱形状几乎一致, 最大吸光度差别较小, 紫花丹参为 0.439, 白花丹参为 0.456; 最大吸收波长一致, 均为 285 nm。

2.2.2 氯仿提取部位比较 紫花丹参和白花丹参氯仿提取部位, 谱图形状相近, 最大吸光度有较明显的差别, 紫花丹参为 1.804, 白花丹参为 1.087; 最大吸收波长相近, 紫花丹参为 290 nm, 白花丹参为 286 nm。

2.2.3 乙酸乙酯提取部位比较 紫花丹参和白花丹参乙酸乙酯提取部位, 谱图形状几乎一致, 最大吸光度差别较小, 紫花丹参为 0.428, 白花丹参为 0.406; 最大吸收波长均为 285 nm。在 397 nm 处白花丹参吸光度较紫花丹参大, 白花丹参为 0.082, 紫花丹参为 0.069。

2.2.4 甲醇提取部位比较 紫花丹参和白花丹参的甲醇提取部位, 谱图形状相近, 最大吸光度有较明显的差别, 紫花丹参为 2.397, 白花丹参为 1.939; 最大吸收波长几乎一致, 紫花丹参为 293 nm(330 nm

2 方法与结果

2.1 样品的制备 将紫花丹参和白花丹参粉碎, 各精密称取 5.0 g, 依次用 100 mL 石油醚、氯仿、乙酸乙酯、甲醇、水超声波提取 30 min, 提取液浓缩至干, 用少量甲醇溶解, 备用。

2.2 紫外-可见光谱对比分析(UV-Vis) 分别将紫花丹参和白花丹参 5 种不同部位提取物溶解并转移到 25 mL 容量瓶中, 用甲醇定容, 样品溶液根据紫外扫描情况适当稀释, 同一提取物紫花丹参和白花丹参稀释相同的倍数, 以便对照, 见图 1。

为肩峰), 白花丹参为 291 nm(338 nm 为肩峰)。

2.2.5 水提取部位比较 紫花丹参和白花丹参水提取部位, 谱图形状相近, 最大吸光度差别较小, 紫花丹参为 1.692, 白花丹参为 1.870; 最大吸收波长均为 290 nm。

2.3 红外光谱对比分析(FT-IR) 将提取液于水浴锅中蒸干, 取大约 1 mg 样品粉末和 150 mg 干燥溴化钾碎状晶体置于玛瑙研钵中, 研匀至粘稠状, 置于模具中, 压力调至 20~30 mPa, 约 10 min 后取下模具, 即得到 1~2 mm 厚的样品片。将制备好的溴化钾样品片置于红外光谱仪中进行扫描, 扫描前先扣除背景, 见图 2。

2.3.1 实验条件 傅里叶红外变换光谱仪, 中红外 DTGS 检测器, 光谱分辨率为 4 cm^{-1} , 扫描范围是 $4000 \sim 400 \text{ cm}^{-1}$, 扫描信号累加 16 次, 扫描时扣除水及二氧化碳的干扰。

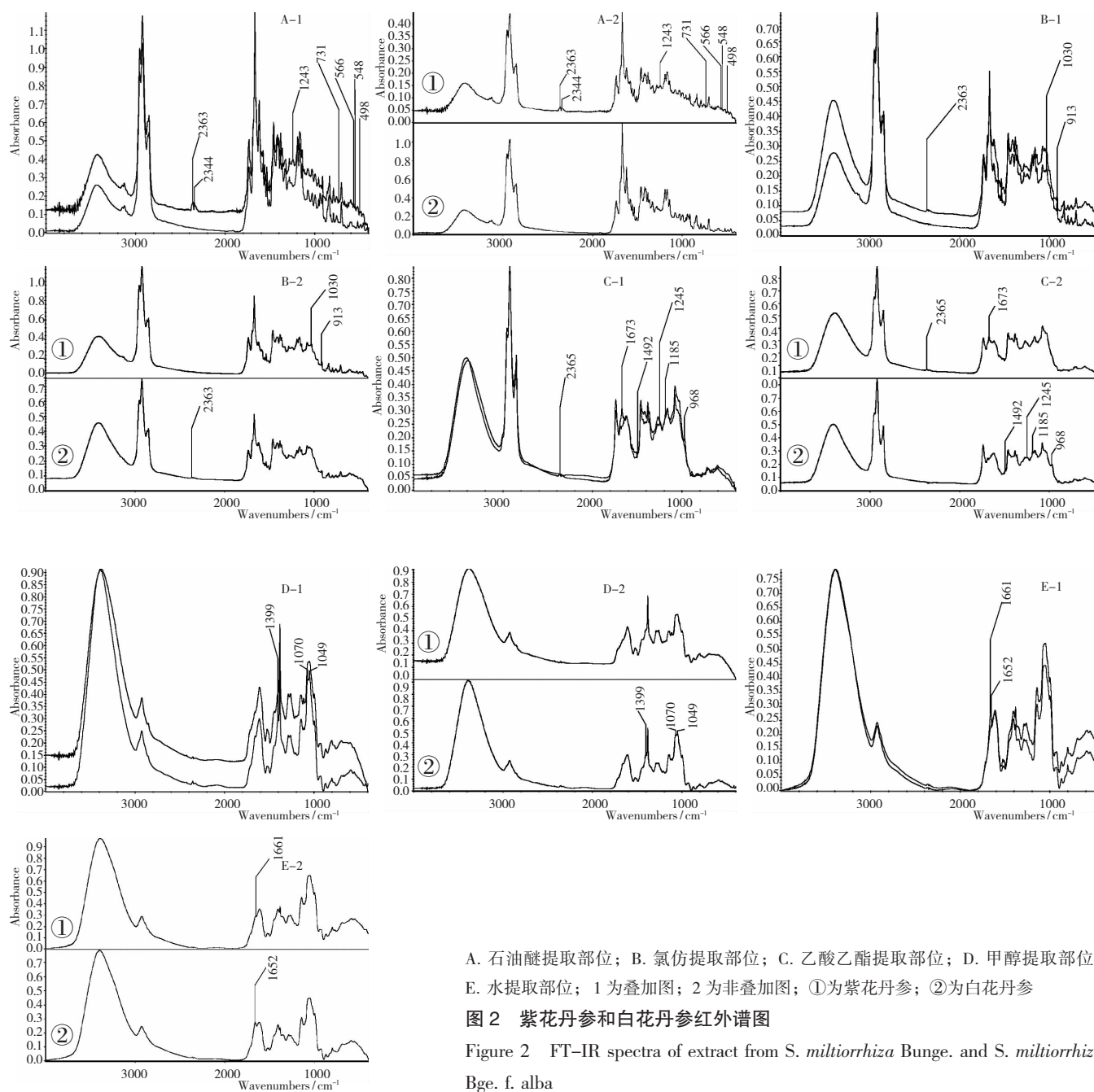
2.3.2 石油醚提取部位比较 紫花丹参和白花丹参石油醚提取部位的红外谱图并没有明显的差别, 整体红外图谱的峰形、峰位、相对峰高基本相同, 具有明显鉴别特征的为紫花丹参在 2363 cm^{-1} 和 2344 cm^{-1} 处有特征吸收, 而白花丹参没有吸收, 这预示着紫花丹参石油醚提取物中可能存在 $\text{—C}\equiv\text{C—}$ 官能团; 此外, 紫花丹参在 $1243, 731, 566, 548, 498 \text{ cm}^{-1}$ 处均有吸收, 具有指纹特征。

2.3.3 氯仿提取部位比较 紫花丹参和白花丹参氯仿提取部位的红外谱图没有明显的差别, 整体红外图谱的峰形、峰位、相对峰高基本相同, 具有明显鉴别特征的是白花丹参在 2363 cm^{-1} 处具有较弱的特征吸收, 紫花丹参没有, 这预示着白花丹参氯仿提取物中可能存在 $\text{—C}\equiv\text{C—}$ 官能团, 这个结论跟二者石油醚提取物正好相反。此外, 在指纹区 1030 cm^{-1} 和 913 cm^{-1} 处紫花丹参的吸收较白花丹参强。

2.3.4 乙酸乙酯提取部位比较 紫花丹参和白花丹参乙酸乙酯提取部位的红外谱图几乎重叠, 指纹区具有微小差别。具有明显鉴别特征的是在 2365 cm^{-1} 和

1673 cm^{-1} 处紫花丹参均有明显吸收, 而白花丹参此处没有吸收, 1673 cm^{-1} 吸收较强这预示着紫花丹参乙酸乙酯提取物中可能含有 —C=O— , 而白花丹参没有。此外, 在指纹区 $1492, 1245, 1185, 968\text{ cm}^{-1}$ 白花丹参均有较强吸收。

2.3.5 甲醇提取部位 紫花丹参和白花丹参甲醇提取部位的红外谱图没有明显的差别, 整体红外图谱的峰形、峰位、相对峰高基本相同, 二者在 $3600\sim 3200\text{ cm}^{-1}$ 区间的吸收都很强, 为 O—H 伸缩振动区。另外, 差别相对较小的特征为在 1399 cm^{-1} 处白花丹参的吸收较紫花丹参强。在指纹区 1070 cm^{-1} 和 1049 cm^{-1} , 白花丹参的红外吸收有双峰。



2.3.6 水提取部位 紫花丹参和白花丹参水提取部位的红外谱图没有明显的差别，整体红外图谱的峰形、峰位、相对峰高基本相同，具有明显鉴别特征的为在 1661 cm^{-1} 处白花丹参有明显的吸收，而紫花丹参在 1652 cm^{-1} 处有微弱的吸收。

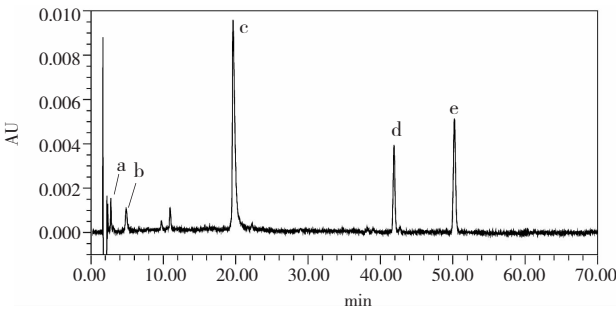
2.4 高效液相色谱对比分析(HPLC) 分别将紫花丹参和白花丹参 5 种不同部位提取物溶解并转移到 50 mL 容量瓶中，色谱甲醇定容，进样之前用 0.45 μm 有机膜过滤，进样量为 20 μL 。实验条件：色谱柱 Symmetry- C_{18} (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm)，流动相为 A: 乙腈, B: 水(加 1 % 的冰醋酸)，梯度洗脱见表 1；流速 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ；测定温度为室温；检测波长：270 nm。

2.4.1 5 种标准物质的测定 取 5 种标准品丹参素、原儿茶醛、丹酚酸 B、隐丹参酮、丹参酮 II A 适量，混合均匀后进样 20 μL 进行高效液相色谱分析，色谱图见图 3。

2.4.2 紫花丹参和白花丹参 5 种不同提取部位的对比分析 比较紫花丹参和白花丹参的石油醚、氯仿、乙酸乙酯、甲醇、水共 5 个不同提取部位，分别在

表 1 高效液相洗脱方式

Table 1 Elution Mode of HPLC				
	时间 /min	流速 / $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	乙腈 /%	水 /%
1	0	1.00	15.0	85.0
2	35.00	1.00	60.0	40.0
3	65.00	1.00	80.0	20.0
4	75.00	1.00	80.0	20.0

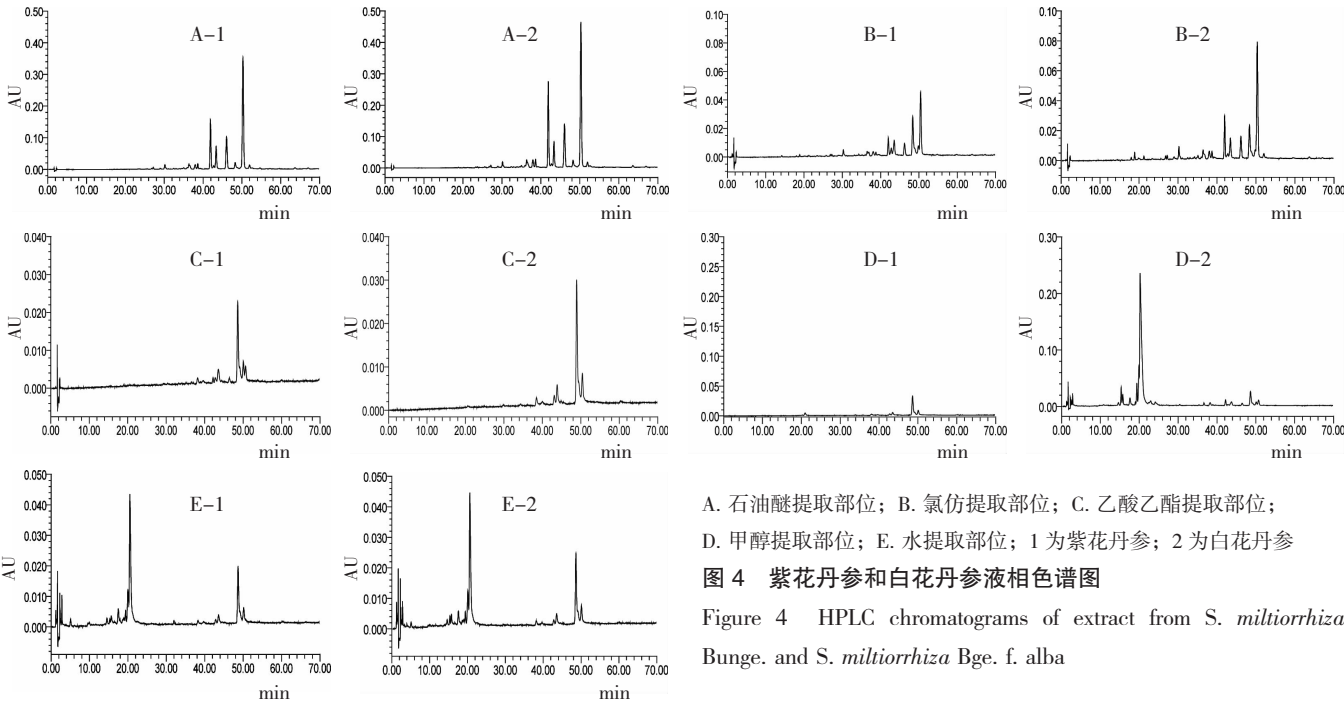


a. 丹参素; b. 原儿茶醛; c. 丹酚酸 B; d. 隐丹参酮; e. 丹参酮 II A

图 3 5 种混标的液相色谱图(270 nm)

Figure 3 Chromatograms of a mixture of five standards

检测波长为 270 nm 下的色谱过程，取 0~70 min 色谱图进行对比分析，如图 4 所示。



A. 石油醚提取部位; B. 氯仿提取部位; C. 乙酸乙酯提取部位; D. 甲醇提取部位; E. 水提取部位; 1 为紫花丹参; 2 为白花丹参

图 4 紫花丹参和白花丹参液相色谱图

Figure 4 HPLC chromatograms of extract from *S. miltiorrhiza* Bunge. and *S. miltiorrhiza* Bge. f. alba

2.4.2.1 石油醚提取部位 紫花丹参和白花丹参石油醚提取部位的色谱图基本一致。紫花丹参和白花丹参中总共检测到 23 个组分(含量大于 1 %，下同)。在紫花丹参中检测出 12 个组分，其中，检测到两种对照化合物成分，为隐丹参酮和丹参酮 II A，总量为 15.36 %和 44.81 %；在白花丹参中检测出 11 个组分，其中，也检测到两种对照化合物成分，为隐丹

参酮和丹参酮 II A，总量分别为 19.58 %和 42.03 %。通过液相色谱分析比较发现，紫花丹参和白花丹参石油醚提取部位所含主要成分的种类基本相同，只是同类成分的含量有差异。

2.4.2.2 氯仿提取部位 紫花丹参和白花丹参氯仿提取部位色谱图具有一定区别。紫花丹参和白花丹参中共检测到 27 个组分。紫花丹参中检测出 13 个组

分,其中,检测到3种对照化合物成分,丹参素、隐丹参酮和丹参酮ⅡA,总量分别为1.30%、7.51%和34.39%;在白花丹参中检测出14个组分,其中,也检测到3种对照化合物成分,丹酚酸B、隐丹参酮和丹参酮ⅡA,总量分别为1.23%、10.76%和37.75%。通过液相色谱分析比较发现,紫花丹参和白花丹参氯仿提取部位所含主要成分的主要区别在于,紫花丹参样品可检测到丹参素成分,而白花丹参中没有检测到丹参素成分。

2.4.2.3 乙酸乙酯提取部位 紫花丹参和白花丹参乙酸乙酯提取部位的色谱图有一定区别。紫花丹参和白花丹参中总共检测到15个组分。在紫花丹参中检测出10个组分,其中,检测到3种对照化合物,分别为丹参素、隐丹参酮和丹参酮ⅡA,总量分别为3.04%、3.39%和11.72%;在白花丹参中检测出5个组分,其中,检测到两种对照化合物,为隐丹参酮和丹参酮ⅡA,总量分别为5.04%和13.88%。通过液相色谱分析比较发现,紫花丹参和白花丹参乙酸乙酯提取部位所含化学成分的主要区别在于,紫花丹参色谱图可检测到丹参素成分,而白花丹参中没有检测到丹参素。

2.4.2.4 甲醇提取部位 紫花丹参和白花丹参甲醇提取部位的色谱图有很大的区别,同类成分含量明显不同。紫花丹参和白花丹参中总共检测到20个组分。在紫花丹参中检测出8个组分,其中检测到4种对照化合物成分,为丹参素、丹酚酸B、隐丹参酮和丹参酮ⅡA,总量分别为3.41%、7.45%、3.99%和12.08%;在白花丹参中检测出12个组分,其中检测到4种对照化合物成分,分别是丹参素、丹酚酸B、隐丹参酮和丹参酮ⅡA,总量分别为1.39%、7.43%、1.25%和1.51%。通过液相色谱分析比较发现,紫花丹参和白花丹参甲醇提取部位所含主要成分的种类基本相同,只是同类成分的含量有很大差异。

2.4.2.5 水提取部位 紫花丹参和白花丹参水提取部位的色谱图基本一致。紫花丹参和白花丹参中总共检测到32个组分。在紫花丹参中检测出16个组分,其中,检测到5种对照化合物成分,为丹参素、原儿茶醛、丹酚酸B、隐丹参酮和丹参酮ⅡA,总量分别为2.91%、1.51%、44.53%、1.03%和3.26%;在白花丹参中检测出16个组分,其中,检测到5种对照化合物成分,为丹参素、原儿茶醛、丹酚酸B、隐丹参酮和丹参酮ⅡA,总量分别为3.25%、1.05%、42.42%、1.21%和3.91%。通过液相色

谱分析比较发现,紫花丹参和白花丹参水提取部位所含主要成分的种类基本相同,只是同类成分的含量有差异。

3 讨论

谱学性质的研究已经广泛用于多种中药的鉴别上,目前谱学表征已经成为鉴定物质结构的重要手段之一^[10-11]。本研究通过紫花丹参和白花丹参的紫外光谱对比分析中发现石油醚、氯仿、乙酸乙酯和水提取部位,波谱形状几乎相同,只是最大吸光度有一定的差别。而甲醇提取部位,波谱形状有明显区别,最大吸光度差别也比较大。

通过紫花丹参和白花丹参的红外光谱对比分析中发现石油醚提取部位、氯仿提取部位,波谱形状差别较大。乙酸乙酯、甲醇和水提取部位,波谱形状相近,吸收强度有较小差别。

紫花丹参和白花丹参的高效液相色谱对比分析中发现,石油醚、甲醇、水提取部位所含主要成分的种类基本相同,只是同类成分的含量有差异。而紫花丹参和白花丹参的氯仿和乙酸乙酯提取部位所含主要成分的主要区别在于,紫花丹参样品可检测到丹参素成分,而白花丹参中没有检测到丹参素成分。

参考文献:

- [1] 中国科学院植物志编辑部委员会. 中国植物志(第66卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1990: 71.
- [2] 邵明辉, 张永清, 李长峰. 丹参与白花丹参产量及有效成分含量的比较研究[J]. 齐鲁药事, 2009, 28(1): 24-26.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 52.
- [4] 李志田, 杨保津, 马广恩. 白花丹参化学成分的研究[J]. 药学报, 1991, 2(3): 209-213.
- [5] 杭亮, 王俊儒, 杨东风, 等. 紫花丹参和白花丹参不同部位有效成分的分布特征[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2008, 36(12): 217-222.
- [6] 曹春泉, 孙隆儒, 姜红祥, 等. 白花丹参化学成分与药理作用研究进展[J]. 中药材, 2008, 31(6): 938-939.
- [7] 李家泰. 临床药理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 1408.
- [8] 尚德俊, 赵绪德. 活血化瘀法治疗血栓闭塞性脉管炎144例临床研究[J]. 山东中医杂志, 1986, 5(2): 14-16.
- [9] 张百铭. 白花丹参为主治疗血栓闭塞性脉管炎113例临床观察[J]. 山东中医药大学学报, 1979, 3(2): 40-41.
- [10] 刘智, 李赛君, 田洪波, 等. 三七不同部位成分的谱学性质研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2005, 25(4): 579-583.
- [11] 汪俊, 许琼明, 孙晓飞. 斑蝥素及其衍生物的谱学研究[J]. 波谱学杂志, 2009, 26(1): 126-135.

(编辑: 宋威)