

3 种鼠尾草属植物有效成分分析

冯 珂, 赵 鑫, 郑丽玲, 梁宗锁*

(西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨陵 712100)

摘 要:采用超声波提取法结合高效液相色谱法(HPLC)对丹参(*Salvia miltiorrhiza*)、鼠尾草(*S. japonica*)、绒毛鼠尾草(林芝丹参)(*S. castanea f. tomentosa*)的叶、根以及丹参毛状根及其培养液中脂溶性和水溶性成分进行了测定。结果表明:3 种鼠尾草属植物的叶和根中有效成分种类及含量存在差异。脂溶性有效成分分布在这 3 种鼠尾草属植物的根部,而水溶性有效成分在其根和叶均有分布。丹参毛状根及其培养液中仅含有 4 种脂溶性成分,并未检测出水溶性有效成分。

关键词:鼠尾草; 毛状根; 有效成分; HPLC

中图分类号:S759.82 文献标志码:A 文章编号:1001-7461(2010)06-0140-04

Analysis of Active Ingredients in Three *Salvia* Plants

FENG Ke , ZHAO Xin , ZHENG Li-ling, LIANG Zong-suo

(College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Both liposoluble and hydrosoluble components contained in the leaves and roots of three *Salvia* plants (*Salvia miltiorrhiza*, *S. japonica*, and *S. castanea f. tomentosa*) and in the hair root of *S. miltiorrhiza* were measured by ultrasonic aided extraction and high performance liquid chromatography. It was found that differences existed in the types and contents of the components in the leaves and roots. Liposoluble components were found in the roots, however, both liposoluble and hydrosoluble components were found either in the leaves or roots. Four components were found in the hair roots and cultured media of *S. miltiorrhiza*, and no hydrosolubel components were detected.

Key words: *Salvia*; hairy roots; active ingredients; HPLC

丹参(*Salvia miltiorrhiza*)、鼠尾草(*S. japonica*)、绒毛鼠尾草(林芝丹参)(*S. castanea f. tomentosa*)均为唇形科鼠尾草属植物,其根可药用。《中华人民共和国药典》(2005 版)规定丹参为正品^[1],其有效成分为水溶性的丹酚酸 B 和脂溶性的丹参酮 II A。现代药理研究表明,丹参对心血管系统作用十分明显,是治疗冠心病最常用的中药材之一^[2]。传统有以鼠尾草和绒毛鼠尾草的根作为丹参的替代品使用。鼠尾草属植物的根含有脂溶性有效成分丹参酮 II A、丹参酮 I、隐丹参酮和二氢丹参酮 I 等,具有一定的抗菌消炎、改善冠状动脉供血等药理作用。

由于鼠尾草属植物具有重要的药用价值,中外

学者对其主要化学成分的研究较多。汪红等^[3]运用梯度洗脱测定鼠尾草属植物,对鼠尾草属 13 个种 26 个样本进行非线性映射分析,鉴定出鼠尾草属植物中所含丹参素等 9 种主要成分的含量。常军民等^[4]从新疆鼠尾草(*S. deserta*)根中分离得到正三十三烷(Tritriacontane)等 8 个单体成分。屈英薇等^[5]发现鼠尾草属植物的化学成分按结构可分为精油、萜类化合物、多酚类化合物、甾类化合物等。Smirnova^[6]发现鼠尾草属植物中含有类黄酮及乙酰基。Bozan 等^[7]发现从鼠尾草属植物中可提取抗氧化剂以及清除自由基的成分。研究表明,鼠尾草属植物的种子油中主要含不饱和油酸、亚油酸、亚麻酸和棕榈酸等^[8],植物体中主要含二萜类和三萜类化

收稿日期:2010-04-21 修回日期:2010-05-11

基金项目:国家“十一五”支撑计划(2007BAD79B06)

作者简介:冯珂,女,在读硕士研究生,主要从事植物生理研究。

* 通讯作者:梁宗锁,男,教授,博士生导师,主要从事植物生理研究。E-mail: liangzs@ms.iswc.ac.cn.

合物^[9-10]及黄酮^[11]。Kelen^[12]研究了几种鼠尾草属植物,发现其中所含的迷迭香酸具有抗氧化功能。

丹参毛状根是农杆菌中 Ri 质粒的一段 DNA 嵌入丹参基因组中并表达的结果^[13],其具有生长速度快,无需外援植物激素,合成次生代谢物质能力强且稳定的特点^[14-15]。有报道认为丹参毛状根中含脂溶性成分丹参酮ⅡA、二氢丹参酮Ⅰ、隐丹参酮、丹参酮Ⅰ以及水溶性成分丹酚酸 B^[16]。

本文采用 HPLC 法测定 3 种鼠尾草属植物叶和根,以及丹参毛状根及其培养液中 8 种水溶性成分及 4 种脂溶性成分的含量,并对这些成分进行了比较分析,为这 3 种鼠尾草属植物的开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

植物材料 将丹参、鼠尾草、绒毛鼠尾草根和叶分别晾干,105℃杀青 30 min,60℃烘干至恒重,研磨至粉末,过 60 目筛子,混匀备用;丹参毛状根液氮研磨后,60℃烘干至恒重,备用;丹参毛状根培养液于旋转蒸发仪上蒸干,备用。

仪器 舒美 KQ-5200DE 型数控超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司);飞鸽 Anke TGL-16G 型离心机(上海安亭科学仪器厂);旋转蒸发仪;高效液相色谱仪:Waters1525 二元梯度液相色谱仪(Waters 公司);检测器 Waters2996 光电二极管阵列检测器(Waters 公司);Waters Sunfire-C18 色谱柱,5 μm,4.6 mm×250 mm(Waters 公司);Empower 工作站。

试剂 甲醇:色谱纯和分析纯(购自西安化学试剂厂);水为超纯水;乙腈:色谱级;丹参素钠、原儿茶酸、原儿茶醛、咖啡酸、对香豆酸、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B、二氢丹参酮Ⅰ、隐丹参酮、丹参酮Ⅰ、丹参酮ⅡA 标准品购自中国药品生物制品检验检定所。

色谱条件 色谱柱:Waters Sunfire-C18(5 μm,4.6 mm×250 mm);流动相:乙腈(B)-0.02%磷酸水溶液(A);检测波长:全波长扫描,丹参素钠、原儿茶酸、原儿茶醛、咖啡酸、对香豆酸、阿魏酸、迷迭香酸、丹酚酸 B、二氢丹参酮Ⅰ、隐丹参酮、丹参酮Ⅰ、丹参酮ⅡA 的检测波长依次为 281、260、279、325、310、325、331、288、241、264、245 和 269nm;流动相流速:1 mL·min⁻¹;柱温:30℃。梯度洗脱程序:5%B(0 min)→20%B(10 min)→25%B(15 min)→25%B(20 min)→20%B(25 min)→30%B(28 min)→30%B(40 min)→45%B(45 min)→50%B(50 min)→58%B(58 min)→

50%B(67 min)→60%B(70 min)→65%B(80 min)→100%B(85 min)。

1.2 方法

1.2.1 对照品溶液的制备 分别称取标准品丹参素钠 4.3 mg、咖啡酸 6.7 mg、迷迭香酸 5.5 mg、丹酚酸 B 4.2 mg、对香豆酸 6.5 mg、阿魏酸 6.3 mg、原儿茶酸 25.9 mg、原儿茶醛 6.2 mg,用 70%甲醇配制成浓度分别为 1.08、1.34、1.10、1.05、2.86、1.30、1.26、5.18、1.24 mg·mL⁻¹ 的标准品原液;分别称取标准品二氢丹参酮Ⅰ、隐丹参酮、丹参酮Ⅰ、丹参酮ⅡA 4.90、4.80、0.22、3.30 mg,用 100%甲醇配制成浓度分别为 0.817、0.686、0.022、0.55 mg·mL⁻¹ 的标准品原液。

用 70%甲醇配制水溶性混合对照品溶液 2 mL,其中各标准品浓度分别为,丹参素钠 0.215 mg·mL⁻¹、咖啡酸 0.033 5 mg·mL⁻¹、迷迭香酸 0.137 5 mg·mL⁻¹、丹酚酸 B 0.420 0 mg·mL⁻¹、对香豆酸 0.026 0 mg·mL⁻¹、阿魏酸 0.031 5 mg·mL⁻¹、原儿茶酸 0.129 5 mg·mL⁻¹、原儿茶醛 0.031 0 mg·mL⁻¹;用 100%甲醇配制脂溶性混合对照品溶液 2 mL,其中各标准品浓度分别为:二氢丹参酮Ⅰ 0.102 1 mg·mL⁻¹、隐丹参酮 0.171 5 mg·mL⁻¹、丹参酮Ⅰ 0.004 4 mg·mL⁻¹、丹参酮ⅡA 0.068 8 mg·mL⁻¹。

1.2.2 样品溶液的制备 取丹参根粉末 0.011 3 g、丹参叶粉末 0.010 5 g、鼠尾草根粉末 0.010 0 g、鼠尾草叶粉末 0.010 4 g、绒毛鼠尾草根粉末 0.100 0 g、绒毛鼠尾草叶粉末 0.010 3 g、丹参毛状根粉末 0.400 0 g、丹参毛状根培养液 185 mL(经过旋转蒸发仪蒸干),分别置于 25 mL 具塞试管中,依次加入 70%甲醇 2.26、2.10、2.00、2.08、10.00、2.06、25.00、25.00 mL,摇匀后称定重量,室温下浸泡 7 h,超声提取 45 min(全功率,250 W),再称重,用甲醇补足减失的重量,摇匀,5 000 rpm 常温离心 5 min,上清液经过 0.45 μm 滤膜过滤,即可上样测定。

2 结果与分析

2.1 脂溶性有效成分比较

脂溶性有效成分仅存在于 3 种鼠尾草植物的根部,而其叶中均未检测到脂溶性有效成分(表 1);丹参毛状根及其培养液中均含有 4 种脂溶性有效成分。除鼠尾草仅含丹参酮Ⅰ和丹参酮ⅡA 外,丹参和绒毛鼠尾草根均含有 4 中脂溶性有效成分。脂溶性有效成分含量为绒毛鼠尾草根>丹参根>鼠尾草

根>丹参毛状根>毛状根培养液。

表 1 供试品 4 种脂溶性活性成分含量

Table 1 Contents of 4 liposoluble components in samples				
	$\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$			
材料	二氢丹参酮 I	隐丹参酮	丹参酮 I	丹参酮 II A
丹参叶	—	—	—	—
丹参根	4.460×10^4	7.252×10^4	1.588×10^4	2.341×10^5
鼠尾草叶	—	—	—	—
鼠尾草根	—	—	1.434×10^4	2.654×10^4
绒毛鼠尾草叶	—	—	—	—
绒毛鼠尾草根	6.931×10^3	4.857×10^4	6.216×10^3	2.465×10^5
丹参毛状根	5.880×10^2	7.693×10^2	1.284×10^2	7.243×10^2
毛状根培养液 ^①	126.10	477.40	3.53	20.80

①毛状根培养液浓度为 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ；“—”为未检出，下表同。

2.2 水溶性有效成分比较

水溶性有效成分在 3 种鼠尾草属植物的根和叶

表 2 供试品 8 种水溶性活性成分含量

Table 2 Contents of 8 hydrosoluble components in samples								
	$\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$							
材料	丹参素钠	原儿茶酸	原儿茶醛	咖啡酸	对香豆酸	阿魏酸	迷迭香酸	丹酚酸 B
丹参叶	1.227×10^5	—	1.165×10^4	1.464×10^4	1.734×10^4	1.127×10^4	1.523×10^5	2.798×10^5
丹参根	8.638×10^4	—	7.580×10^3	7.747×10^3	1.528×10^4	1.119×10^4	—	1.112×10^6
鼠尾草叶	9.228×10^4	3.769×10^4	2.761×10^4	6.918×10^4	1.699×10^5	5.769×10^4	7.438×10^5	3.100×10^5
鼠尾草根	9.313×10^4	3.352×10^4	7.921×10^3	5.762×10^4	9.531×10^3	3.068×10^4	1.302×10^6	2.398×10^5
绒毛鼠尾草叶	1.388×10^5	3.157×10^4	9.387×10^3	2.352×10^4	2.142×10^5	2.288×10^4	9.220×10^5	3.748×10^5
绒毛鼠尾草根	4.021×10^2	—	36.21	46.48	—	74.79	8.594×10^3	9.916×10^2
丹参毛状根	—	—	—	—	—	—	—	—
毛状根培养液	—	—	—	—	—	—	—	—

研究结果表明,3 种鼠尾草植物叶中所含有的水溶性有效成分高于其根中的含量。丹参叶和根中均未检测出原儿茶酸,其中叶丹酚酸 B、丹参素钠、原儿茶醛、咖啡酸的含量远远高于其根中含量;其叶中对香豆酸和阿魏酸的含量略高于根中含量;其叶中含有大量迷迭香酸,但在其根中并未检测出。在鼠尾草根和叶中均含有 8 种水溶性成分。其中,丹参素钠和原儿茶酸的含量在鼠尾草根和叶中基本相同;咖啡酸、阿魏酸、丹酚酸 B 在其叶中的含量略高于根中;对香豆酸和原儿茶醛在其叶中的含量远远高于其根中。与此相反的是迷迭香酸,其含量在鼠尾草根中高于叶中。绒毛鼠尾草叶中含有 8 种水溶性成分,而其根中并未检测出原儿茶酸和对香豆酸,且其余 6 种水溶性成分在叶中的含量远远高于其根中。总体而言,丹参叶和绒毛鼠尾草叶中的水溶性成分含量高于鼠尾草叶中水溶性成分含量,而丹参根和鼠尾草根中水溶性成分的含量高于绒毛鼠尾草根中水溶性成分含量。丹酚酸 B 的含量顺序为丹参根>绒毛鼠尾草叶>鼠尾草叶>丹参叶>鼠尾草根>绒毛鼠尾草根。

丹参根、绒毛鼠尾草根、丹参毛状根及其培养液均含有 4 种脂溶性成分,绒毛鼠尾草根中二氢丹参

中均有分布,而在丹参毛状根及其培养液中并未检测出(表 2)。总体而言,3 种植物叶中所含的水溶性有效成分含量高于其根中的含量。

3 结论与讨论

采用超声波结合 HPLC 法,同时测定了 3 种鼠尾草植物及丹参毛状根中 8 种水溶性成分和 4 种脂溶性成分的含量。结果表明,脂溶性有效成分分布在这 3 种鼠尾草属植物的根部,而水溶性有效成分在其根和叶均有分布。丹参毛状根及其培养液中仅含有 4 种脂溶性成分,并未检测出水溶性有效成分。这种成分上的差异,可能与其栽植地点不同及遗传性差异有关。

酮 I、隐丹参酮和丹参酮 I 含量低于丹参根中,但其丹参酮 II A 含量高于丹参根中含量;鼠尾草根中仅含有丹参酮 I 和丹参酮 II A,并未检测出二氢丹参酮 I 和隐丹参酮。丹参毛状根中 4 种脂溶性成分的含量远远高于其培养液中的含量,其培养液中微量的脂溶性成分可能是在培养过程中,毛状根中的脂溶性成分溶在其中而得。几种材料中均含有《药典》规定的丹参酮 II A,含量顺序为绒毛鼠尾草根>丹参根>鼠尾草根>丹参毛状根>毛状根培养液。

通过比较 3 种鼠尾草属植物根、叶和丹参毛状根及其培养液中脂溶性和水溶性有效成分的含量差异,证明了丹参的叶片并不具有与其根类似的药理作用,为以丹参毛状根作为丹参替代品进行了有效论证,并为开发鼠尾草属植物的药用价值提供了理论依据。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:化学工业出版社,2005. 52-53.
[2] 郭秋杰,丁薇. 复方丹参与黄芪注射治疗冠心病疗效观察[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2004,2(2):69-70.
[3] 汪红,王强. 非线性映射法用于鼠尾草属植物的分析鉴定[J]. 中国野生植物资源,2006,25(4):51-54.

WANG H, WANG Q. The application of nonlinear mapping in the identification of *Salvia* plants[J]. Chinese Wild Plant Resources, 2006, 25(4): 51-54.

[4] 常军民, 热娜·卡斯木, 诸年生. 新疆鼠尾草的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2000, 13(1): 27-29.

CHANG J M, RENA K, DU N S. Chemical study of *Salvia deserta* schang[J]. Natural Product Research and Development, 2000, 13(1): 27-29.

[5] 屈英薇, 李喆, 王淑月. 鼠尾草属植物的化学成分及药理活性[J]. 河北医科大学学报, 2005(6): 311-312.

[6] SMIRNOVA L P, GLYZIN V I, PATUDIN A V, *et al.* Flavonoids of some species of *Salvia* [J]. Chemistry of Natural Compounds, 1974, 10(5): 687-688.

[7] BOZAN B, OZTURK N, KOSAR M, *et al.* Antioxidant and free radical scavenging activities of eight *Salvia* species[J]. Chemistry of Natural Compounds, 2002, 38(2): 198-200.

[8] AZCAN N, ERTAN A, DEMIRCI B, *et al.* Fatty acid composition of seed oils of twelve *Salvia* species growing in Turkey [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2004, 40(3): 218-221.

[9] KUZMA, SKRZYPE K Z, WYSOKINSKA H. Diterpenoids and triterpenoids in hairy roots of *Salvia sclarea* [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2006, 84(2): 100152-100160.

[10] SHAMSUDINOV S, DZHUMYRKO S F, SIMONYAN A V. Polyphenols and triterpenes from *Salvia limbata* [J]. Chemistry of Natural Compounds, 1979, 15(1): 80.

[11] KENJERI D, MANDIA M L, PRIMORACA L, *et al.* Flavonoid pattern of sage (*Salvia officinalis* L.) unifloral honey [J]. Food Chemistry, 2008, 110(1): 187-192.

[12] KELEN M, TEPE B. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora [J]. Bioresource Technology, 2008, 99(10): 4096-4104.

[13] CHEN H, CHEN F, FRANCIS C K. *et al.* The effect of yeast elicitor on the growth and secondary metabolism of hairy root cultures of *Salvia miltiorrhiza* [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2001; 28: 100-105.

[14] CHEN H, CHEN F. Induction of phytoalexin production of tanshinone in *Salvia miltiorrhiza* by viologen[J]. Biotechnol Lett, 2000, 22: 715.

[15] ZHANG C H, YAN Q, CHEUK W K, *et al.* Enhancement of tanshinone production in *Salvia miltiorrhiza* hairy root culture by Ag⁺ elicitation and nutrient feeding[J]. Planta Med, 2004, 70: 147.

[16] 吕冬梅, 袁媛, 张东, 等. 丹参毛状根化学成分稳定性研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(6): 653-656.

LV D M, YUAN Y, ZHANG D, *et al.* Chemical stability of *Salvia miltiorrhiza* hairy root[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2008, 33(6): 653-656.

欢迎订阅 2011 年《南京林业大学学报(自然科学版)》

CN 32-1161/S 国内外公开发行 ISSN 1000-2006

《南京林业大学学报(自然科学版)》创刊于 1958 年,是江苏省教育厅主管、国内外公开发行的全国性以林学与林业工程为主的学术期刊。本刊拥有以南京林业大学、中国林业科学研究院、国内一些综合性重点大学、农林院校、工科院校以及国外有关科研机构 and 大学等单位的研究人员为主体的作者队伍。

本刊是中文核心期刊、中国自然科学核心期刊、科技部“中国科技论文统计源期刊”和中国科学院“中国科学引文数据库统计源期刊”,曾连续多次荣获中国高校科技期刊优秀期刊等多项全国性优秀期刊奖。连续收录《南京林业大学学报》的著名检索期刊和数据库有:美国《化学文摘》(CA)、美国剑桥科学文摘、日本科学技术文献速报(JST)、英国“国际农业与生物科学研究中心”数据库(CABI)、英国《动物学记录》(ZR)、哥白尼文摘(CI)、中国科技论文引文数据库(CSTPCD)、中国科学引文数据库、《中国学术期刊文摘》、《中国生物学文摘》、中国林业科技文献数据库等。

《南京林业大学学报(自然科学版)》为双月刊,大 16 开本,150 页左右,单月月底出版。从 2010 年起每期定价 20 元。

全国各地邮政局(所)均可订阅,邮发代号:28-16;国外发行:中国国际图书贸易总公司(北京 399 信箱),发行代号:Q552。

也可通过全国非邮发中心联合征订服务部办理订阅手续:天津市大寺泉集北里别墅 17 号,邮编:300385 如有需要近年过刊的读者请直接与本刊编辑部联系:210037 南京市龙蟠路南京林业大学学报编辑部。

地址:南京市龙蟠路 159 号《南京林业大学学报》编辑部 邮编:210037

发行电话:025-85427076 发行电子信箱:xuebao_3@njfu.edu.cn