

中药饮片丹参表里关联的研究

田红林¹ 刘兆龙¹ 孙 芸²

(1 新疆医科大学附属中医医院药学部, 乌鲁木齐, 830000; 2 新疆医科大学中学院, 乌鲁木齐, 830011)

摘要 目的: 研究中药丹参饮片外观性状和内在成分的相关性。方法: 通过外观、色泽、质地、大小、气味等传统经验鉴别判定饮片质量, 同时采用高效液相色谱法(HPLC)测定饮片中丹参酮ⅡA和丹酚酸B的含量。对比实验结果的一致性。结果: 传统经验鉴别与HPLC测定结果对中药丹参饮片的判定结果一致。结论: 传统经验鉴别方法简便、可靠, 可用于丹参饮片的质量控制。

关键词 丹参; 传统经验鉴别; 高效液相色谱法; 表里关系

Research on Exterior Properties and Content Correlation of *Salviae Miltiorrhiza*

Tian Honglin¹, Liu Zhaolong¹, Sun Yun²

(1 Department of Pharmacy, the Sixth Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China;

2 School of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

Abstract Objective: To observe the correlation between properties and tastes of *Salviae Miltiorrhiza* (Dan shen) and its contents. **Methods:** To identify the quality of Chinese herbs from its shape, color, texture, size and taste as well as the content of tanshitone IIA and salvianolic B by HPLC. Then compare the results. **Results:** The two results of assessment conform to each other. **Conclusion:** Traditional ways in identifying herbs are reliable and convenient.

Key Words *Salviae Miltiorrhiza*; Traditional identifying ways; HPLC; Correlation between interior and exterior

中图分类号: R284 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2017.09.051

丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge.)是传统中药之一, 为活血祛瘀、凉血、养血安神的妇科要药。常用于月经不调, 经行困难, 产后瘀滞腹痛以及肢体疼痛, 心腹刺痛, 症瘕等症^[1]。古人入药丹参多为野生品, 外观形态在古典医籍均有记载, 李时珍《本草纲目》曰:“处处山中有之, 一枝五叶, 叶如野苏而尖, 青色, 皱皮。小花成穗如蛾形, 中有细子, 其根皮丹而肉紫”^[2]。

现今丹参的使用以栽培品为主, 其主根粗壮, 分枝较少, 直径5~15 mm, 表面红褐色, 具纵皱, 质地坚实, 折断面平整, 以条粗, 色紫红者为佳^[3]。药典规定丹参饮片含丹参酮ⅡA不得少于0.20%, 丹酚酸B不得少于3.0%^[1]。

丹参为临床重要的常用中药饮片, 医院购买丹参批次多、批量大, 若每批都通过高效液相色谱法测定含量, 会使得检验时间长, 影响药材在临床中的使用。笔者在医院多年从事中药材鉴定工作, 结合工作经验, 首先通过传统经验鉴别^[4], 即性状鉴别, 判定丹参是否合格, 然后通过HPLC考察丹参酮ⅡA和丹酚酸B含量。通过对比2个实验的结果, 发现

传统经验鉴别与高效液相色谱法测定结果一致。表明传统经验鉴别方法简便、可靠, 可广泛用于日常中药饮片的验收。由于野生资源不足, 本文只讨论栽培品。

1 材料与方法

1.1 一般材料

1.1.1 仪器 Waters2695 高效液相色谱仪(美国Waters公司); AG-135 电子天平 0.01 mg(瑞士); AL204 电子天平 0.1 mg(梅特勒-托利多仪器有限公司); SK3300LH 超声清洗器(上海科导超声仪器有限公司); Direct-QTM5 超纯水仪(MilliPore); DYQ-188 流水式粉碎机(中国浙江省瑞安市环球药械厂); KDM 型控温电热套(山东甄城华鲁电热仪器厂)。

1.1.2 材料 丹参酮ⅡA(批号:110766-200518)、丹酚酸B(批号:A0056-12020104)对照品均由中国食品药品检定研究院提供; 丹参(批号分别为: (131103-1、131112-1、131120-1、131124-1131129-1、140205-1、140214-1、140302-1、140316-1、140327-1、141010-1、141022-1、141104-1、141128-1、141207-1))

基金项目: 新疆医科大学附属中医医院院级课题(ZYY201311); 全国中药特色技术传承人才培养项目(2014)

作者简介: 田红林(1976.03—), 男, 本科, 副主任药师, 主要从事中药民族药研究开发, E-mail: 547626727@qq.com

通信作者: 孙芸(1976.12—), 女, 硕士, 副教授, 研究方向: 中药民族药创新与研发, Tel: (0991)4366567, E-mail: sunyun330@163.com

由新疆奇康哈博维药有限公司提供;甲醇、乙腈为色谱纯,由美国 Fisher 试剂公司提供;其他试剂均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 传统经验鉴别^[5-6] 笔者采用传统经验分别鉴别 15 批丹参饮片,通过丹参饮片表面色泽、质地、端面色泽、端面质地判断中药饮片的质量优劣^[7]。并由新疆维吾尔自治区中医医院李延升主任中药师复核鉴定结果。

1.2.2 色谱条件与溶液制备^[1] 1)丹参酮 II_A:参照药典高效液相色谱法(附录 VI D)测定。

色谱条件与系统适用性试验:以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以甲醇-水(75:25)为流动相;检测波长为 270 nm。理论板数按丹参酮 II_A 峰计算应不低于 2 000。

对照品溶液的制备:取丹参酮 II_A 对照品适量,精密称定,置棕色量瓶中,加甲醇制成每 1 mL 含丹参酮 II_A 16 μg 的溶液,即得。

供试品溶液的制备:取本品粉末(过三号筛)约 0.3 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称定重量,加热回流 1 h,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

测定法:分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5 μL,注入液相色谱仪,测定,即得。

本品含丹参酮 II_A (C₁₉H₁₈O₃) 不得少于 0.20%。

2)丹酚酸 B:参照药典高效液相色谱法(附录 VI D)测定。

色谱条件与系统适用性试验:以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以甲醇-乙腈-甲酸-水(30:10:1:59)为流动相;检测波长为 286 nm。理论板数按丹

酚酸 B 峰计算应不低于 2 000。

对照品溶液的制备:取丹酚酸 B 对照品适量,精密称定,加 75% 甲醇制成每 1 mL 含 0.14 mg 的溶液,即得。

供试品溶液的制备:取本品粉末(过三号筛)约 0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 75% 甲醇 50 mL,称定重量,加热回流 1 h,放冷,再称定重量,用 75% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

测定法:分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,测定,即得。

本品按干燥品计算,含丹酚酸 B(C₃₆H₃₀O₁₆) 不得少于 3.0%。

1.2.3 方法学考察^[8-11] 1)线性关系考察:依次分别精密量取丹参酮 II_A、丹酚酸 B 标准品溶液各 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、3.0 mL 置 10 mL 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,摇匀,即得系列对照品溶液。分别进样,记录色谱图。2)精密度试验:取同一质量浓度的对照品溶液,重复进样 5 次,测定。3)稳定性试验:精密吸取同一供试品溶液,每 2 h 进样 1 次,每次进样 10 μL。连续考察 12 h。4)重复性试验:取样品,依法制备供试溶液,平行制备 5 份,测定。5)回收率试验:精密吸取已知含量的样品 6 份,每样吸取 5 mL,分别精密加入丹参酮 II_A 对照品溶液 0.1 mL、丹酚酸 B 对照品溶液 0.5 mL,依法测定并计算回收率。

1.2.4 样品含量测定 将上述 15 批丹参药材按照《中国药典》2010 年版一部第 70 页丹参项下含量测定方法分别测定了丹参酮 II_A 和丹酚酸 B 的含量,判断药材是否合格。

表 1 传统经验鉴别结果

序号	样品批次	传统经验鉴别结果	判定结果
1	131103-1	饮片表面棕红色(铁锈红),直径为 0.2~0.7 cm,质坚实,端面色或黑色,杂质少,端面坚实。	合格
2	131112-1	饮片表面铁锈红有的发黑,直径为 0.3~0.6 cm,端面类白色或黑色,杂质少,端面坚实,角质样。	合格
3	131120-1	饮片表面面桃红色,直径 0.5~0.7 cm,质坚实,端面色,杂质少,端面坚实,角质样。	不合格
4	131124-1	饮片表面红棕色,直径 0.2~0.8 cm,质坚实,端面色或黑白色,杂质少,端面坚实角质样。	合格
5	131129-1	饮片表面铁锈红色,直径 0.2~0.8 cm,端面类白色或是发点黑。地上部分少见,端面坚实角质样。	合格
6	140205-1	饮片表面棕红色发黑,直径 0.3~0.7 cm,端面类白色或是白中带黑色,杂质少,端面坚实角质样。	合格
7	140214-1	饮片表面棕红色,直径 0.5~1.0 cm,端面色,杂质少,端面坚实角质样。	不合格
8	140302-1	饮片表面棕红色,直径 0.1~0.4 cm,端面类白色带黑色,杂质少,端面坚实角质样。	不合格
9	140316-1	饮片表面棕红色带黑色,直径 0.2~0.7 cm,端面类白色带黑色,杂质少,端面坚实角质样。	合格
10	140327-1	饮片表面黑红色,直径 0.2~0.8 cm,端面黑色,杂质少,端面松散。	不合格
11	141010-1	饮片表面棕红色带点黑色,直径 0.2~0.7 cm,端面类白色有的带黑色,杂质少,端面坚实角质样。	合格
12	141022-1	饮片表面棕红色带黑色。直径 0.3~0.8 cm,端面类白色,地上部分较多,质坚实角质样。	不合格
13	141104-1	饮片表面淡棕红色,直径 1.0~1.2 cm,端面色。杂质少。质地坚实角质样。	不合格
14	141128-1	饮片表面棕红色带点黑色,直径 0.2~0.8 cm,端面类白色带黑色,杂质少,质地坚实,端面角质样。	合格
15	141207-1	饮片铁锈红色带黑色。直径 0.3~0.7 cm,端面类白色带黑色,杂质少,端面坚实角质样	合格

2 结果

2.1 传统经验鉴别

2.1.1 丹参验收标准 1)颜色棕红色为3分,棕红色带黑色2分,桃红色1分,黑色0分;2)直径0.2~0.8 cm为3分,0.2~0.4 cm为0分,0.8~1.2 cm为0分;3)断面颜色类白色2分,断面白色1分,黑色为0分;4)气味苦涩味3分,淡苦涩为2分,无味为0分;5)非药用部位多为1分。10%以上判为不合格;6)0~6分为不合格,6~10分为合格。非药用部位过多为劣药既为不合格。

2.1.2 依据丹参验收标准 15批样品判定其中6批(批号分别为:131120-1、140214-1、140302-1、140327-1、141022-1、141104-1)为不合格药材。见表1。

2.2 方法学考察^[12-15]

2.2.1 线性关系考察 以对照溶液浓度为横坐标(C,mg/mL),以峰面积为纵坐标(A)作图,得丹参酮II A、丹酚酸B的回归方程分别为: $Y = 1.4683 \times 10^{-5}X - 0.04340$ ($r = 0.9999$); $Y = 1.3234 \times 10^{-7}X - 0.003175$ ($r = 0.9998$),结果表明,丹参酮II A在5.2~156 μg 、丹酚酸B在28~840 μg 、范围内与峰面积均呈良好的线性关系。

2.2.2 精密度试验 结果丹参酮II A RSD为1.06% ($n = 5$),丹酚酸B RSD为1.17% ($n = 5$),表明仪器精密度良好。

2.2.3 稳定性试验 结果的丹参酮II ARSD为1.79% ($n = 5$),丹酚酸B RSD为2.01% ($n = 5$),表明供试品溶液在12 h内稳定。

2.2.4 重复性试验 结果丹参酮II ARSD为1.68% ($n = 5$),丹酚酸B RSD为1.05% ($n = 5$)。表明方法重复性良好。

2.2.5 回收率试验 结果测得的丹参酮II A平均回收率为99.34%,RSD为0.58% ($n = 6$);丹酚酸B平均回收率为99.79%,RSD为0.66% ($n = 6$),结果见表2、表3。

表2 回收率试验结果($n = 6$)

编 取 样 量	样品中丹	添加丹参	实测丹参	回收率	平均回	RSD
号 /mL	参酮II A 量	酮II A 量	酮II A 量	/%	收率/%	/%
	μg	μg	μg			
1	5	14.125	13.000	27.018	99.18	99.64 0.58
2	5	14.125	13.000	27.025	99.23	
3	5	14.125	13.000	27.153	100.22	
4	5	14.125	13.000	27.010	99.12	
5	5	14.125	13.000	27.188	100.48	
6	5	14.125	13.000	27.075	99.62	

表3 回收率试验结果($n = 6$)

编 取 样 量	样品中丹	添加丹酚	实测丹酚	回收率	平均回	RSD
号 /mL	酚酸 B 量	酸 B 量	酸 B 量	/%	收率/%	/%
	μg	μg	μg			
1	5	131.0	123.2	254.2	100.00	99.80 0.66
2	5	131.0	123.2	252.4	98.54	
3	5	131.0	123.2	254.6	100.32	
4	5	131.0	123.2	254.4	100.16	
5	5	131.0	123.2	253.8	99.68	
6	5	131.0	123.2	254.3	100.08	

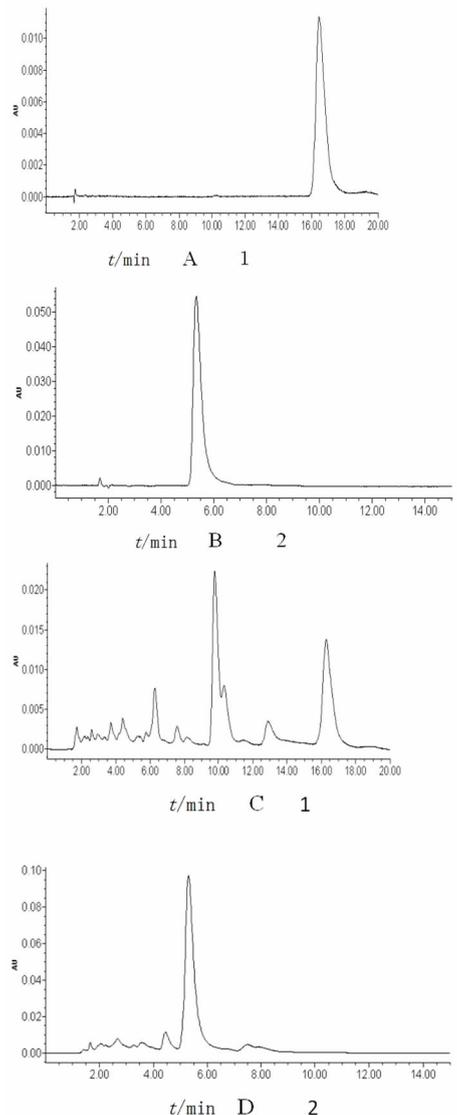


图1 丹参酮II A、丹酚酸B HPLC 色谱图

注:A. 丹参酮II A 对照品,B. 丹酚酸B 对照品,C. 药材中丹参酮II A,D. 药材中丹酚酸B;1 丹参酮II A,2 丹酚酸B

2.3 样品含量测定 将上述15批丹参药材分别测定丹参酮II A和丹酚酸B的含量,按照药典规定,丹参酮II A不得少于0.20%,丹酚酸B不得少于3.0%,判断药材是否合格,结果5批(批号分别

为: 131120-1、140214-1、140327-1、141022-1、141104-1) 不合格。结果见表 4。含量测定结果显示, 有 5 批不合格的丹参均为丹参酮 II A 的含量较低, 不符合《中国药典》规定, 与传统经验鉴别判定不合格的批次及数量吻合。实验结果说明传统经验鉴别的可靠性、准确性高, 可以用于日常中药饮片的验收。

表 4 HPLC 法测定丹参酮 II A 和丹酚酸 B 含量结果

序号	样品批号	丹参酮 II A 含量	丹酚酸 B 含量	判定结果
1	131103-1	0.28%	3.70%	合格
2	131112-1	0.21%	3.10%	合格
3	131120-1	0.12%	5.57%	不合格
4	131124-1	0.28%	3.09%	合格
5	131129-1	0.28%	3.24%	合格
6	140205-1	0.25%	3.40%	合格
7	140214-1	0.13%	4.10%	不合格
8	140302-1	0.25%	3.00%	合格
9	140316-1	0.21%	3.12%	合格
10	140327-1	0.13%	5.60%	不合格
11	141010-1	0.23%	3.15%	合格
12	141022-1	0.18%	2.79%	不合格
13	141104-1	0.13%	6.11%	不合格
14	141128-1	0.31%	3.90%	合格
15	141207-1	0.24%	3.23%	合格

2.4 统计学分析

2.4.1 将高效液相色谱法测定结果与传统经验鉴别结果的数据交易比对, 并采用响应面统计学公式进行含量方程的拟合, 得到以下结果。见表 5。

表 5 2 种鉴别方法的统计

方法 结果		高效液相定性鉴别	
		合格	不合格
传统经验鉴别	合格	5	0
	不合格	0	10

注: $\chi^2 = 15.00, P = 0.001$

2.4.2 利用经验拟合丹参酮含量方程

$$Y = -0.1866 + 0.0525 * \text{颜色} + 0.0276 * \text{直径} + 0.05962 * \text{断面颜色} + 0.11725 * \text{非药用部位}$$

$$R^2 = 0.820881 \quad R^2_s = 0.749234 \quad F = 11.4572 \quad P = 0.0009$$

2.4.3 丹酚酸 B 含量预测方程

$$Y = 9.5587 - 0.9274 * \text{颜色} - 0.61480 * \text{直径} - 1.08712 * \text{断面颜色} + (\text{颜色} - 2.2667) * [(\text{直径} - 2.4) * 0.90677]$$

$$R^2 = 0.906296 \quad R^2_s = 0.868814 \quad F = 24.1798 \quad P = 0.0001$$

结果显示, 传统经验鉴别与现代仪器鉴别有较好的相关性。

3 讨论

丹参外表颜色主要为棕红色, 有的略带黑色, 断面角质样。若断面出现黑色, 说明丹参未熏过硫磺。外表颜色为淡的红棕色, 则说明饮片大部分经过硫磺熏蒸。丹参饮片的粗细主要是影响丹参酮 II A 和丹酚酸 B 的含量。丹参直径较粗则丹酚酸 B 含量符合药典规定, 丹参酮 II A 含量不符合规定。反之, 丹参较细则丹参酮 II A 符合药典规定。因此, 丹参饮片批号为 131120-1、140214-1、140327-1、141022-1、141104-1、131120-1、140214-1 的直径较粗, 丹酚酸 B 含量符合药典规定, 丹参酮 II A 含量不符合规定。批号 140302-1 丹参直径较小, 丹参酮 II A 符合药典要求。

本实验采用传统经验鉴别和 HPLC 含量测定, 2 种方法比较了 15 个批次丹参饮片的质量, 实验结果说明传统经验鉴别和 HPLC 含量测定在判定中药材质量方面存在表里关系。虽然目前有很多研究单位已经开始使用电子鼻、电子眼、电子舌来研究中药材及饮片性状和内在品质的相关性^[4], 但是由于中药材及饮片来源为矿物药、植物药、动物药, 使用电子设备考察中药材质量也在摸索之中, 而且设备价格昂贵, 容易损坏。

对于全国各级医疗单位来说, 尤其是相对偏远的县级医疗单位, 由于各种原因使用现代仪器检验中药饮片较为困难, 故而多采用传统经验鉴别来验收中药饮片。因此传统中药材鉴别就显得更加实用, 传承传统经验鉴别就显的更为迫切。本实验结果说明传统经验鉴别方法可靠、快速简便、准确性高, 可以用于日常中药饮片的验收。

参考文献

- [1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(一部, 2010 年版) [S]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 70.
- [2] 谢宗万. 中药品种理论与应用 [S]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 202.
- [3] 中国药品生物制品检定所, 广东省药品检定所. 中国中药材真伪鉴别图典(2) [S]. 广州: 广东科技出版社, 2007: 49.
- [4] 李兵, 张志勇. 几种常见中药饮片掺伪、掺杂鉴别及快速检验 [J]. 中国药业, 2010, 19(18): 78-79.
- [5] 邹广珍. 几种中药饮片掺伪鉴别 [J]. 实用中医药杂志, 2009, 25(12): 839.
- [6] 丁维毅, 付光煜, 赵莲芳, 等. 常见中药饮片中伪充品的鉴别 [J]. 中国中药杂志, 2001, 26(9): 641-642.
- [7] 刘春梅, 石琪, 李佩, 等. 丹参饮片分级与质量评价指标的现状分析 [J]. 湖北中医药大学学报, 2012, 14(2): 66-68.
- [8] 张慧烟, 杜守颖, 陆洋, 等. HPLC 同时测定丹参水溶性及脂溶性 5 种成分的含量 [J]. 中国实验方剂学, 2010, 16(15): 34-38.

- [9]刘艳华,赵陆华,黄剑,等.丹参 HPLC 指纹图谱的研究[J].中国药科大学学报,2002,33(12):127-130.
- [10]涪英妮,袁丹,付文里,等.HPLC 法测定丹参类注射液中4种水溶性成分含量[J].沈阳药科大学学报,2004,21(3):176-200.
- [11]张英丰,朱黎霞,梁东辉.HPLC 同时检测丹参提取物中5种水溶性和脂溶性成分含量[J].中国实验方剂学,2012,18(11):76-79.
- [12]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.

- [13]唐道生.高效液相色谱法测定二甲散结胶囊中丹参酮 II A 含量[J].中国药业,2015,24(22):119-120.
- [14]孙芸,施洋,宫海燕,等.高效液相色谱法测定天香丹颗粒中红景天苷和丹参酮 II A 的含量[J].新疆医科大学学报,2015,38(4):449-451.
- [15]于百青,杨敏,孙鹏云.高效液相色谱法测定心舒丸中丹参酮 II A 含量[J].中国药业,2012,21(13):36-37.

(2016-09-06 收稿 责任编辑:徐颖)

第三届中非中医药国际合作与发展论坛 第二轮会议通知(2017 埃及·开罗)

为贯彻落实《中医药“一带一路”发展规划(2016-2020年)》要求,促进在“一带一路”沿线国家的中医药海外中心建设、中医药国际标准认可、中药产品注册以及中医药对外交流合作示范基地的建设,整合中医药国际合作资源,构建中医药国际合作平台,世界中医药学会联合会决定在埃及首都开罗举办“第三届中非中医药国际合作与发展论坛”。论坛期间国内外学者、埃及以及周边国家的医药卫生行业主管部门及企业代表将进行学术研讨、技术交流合作及商业对接。

现将会议有关事项通知如下:

一、大会主题:推动中医药交流合作 服务非洲人民健康

二、主办单位:世界中医药学会联合会

承办单位:北京东方恒信国际交流有限公司

三、会议时间:2017年11月10日-16日,11月9日报到。

四、会议地点:埃及·开罗

五、论坛内容:

(一)学术及商业研讨

1、中医中药在埃及以及周边国家的现状与未来;

2、埃及以及周边国家食品药品监督管理部门医药(包括植物药等)进口的相关政策、法规,所在国家对接企业、机构以及相关商业程序;

3、埃及以及周边国家医疗行业的执业要求及进口药品市场销售业的要求与规定;

4、埃及以及周边国家使用中药(中药饮片、植物提取物、中成药)的情况、药品来源以及主要进口商;

5、中国中医药相关厂商在埃及以及周边国家开设分厂、进行二次加工或成品分装上市的可能性及对策。

(二)实地考察与座谈

1、考察埃及的医药大学和制药企业;

2、考察埃及中医诊所及私立医院;

3、与埃及以及周边国家的经销商、投资商以及有合作意向的企业座谈并商业洽谈。

六、报名方式

(一)网络报名

登陆网站(<http://tcmforum.medmeeting.org/cn>),在个人代表注册专区中报名,一次性缴纳全部参会费用。

(二)线下报名

电话报名,并通过以下账户汇款缴纳全部参会费用。

账户名:世界中医药学会联合会

账号:110060971018002604480117

开户行:交通银行北京育惠东路支行

特别提示:请准确填写或来电说明住宿要求,单位名称及相关信息务请准确,以便开具发票。线下汇款者请注明:参会者姓名+中非论坛。

网络报名截止日期:2017年10月10日12:00。

参会者须在2017年11月7日统一在北京报到,报到时务请携带报名表、护照、身份证。特殊情况请提前联系说明。

七、参会费用

共计26000元人民币。费用包括:会议费、往返机票,签证费、地接费、英文助理、车费、食宿费。9月15日前缴费:个人优惠500元人民币;团体(10人及以上)每人优惠1000元人民币。

签证未通过者退还全部团费(签证费除外)。签证已办妥,因个人原因不能参加会议者,团费退还百分之三十。如需换乘商务舱或入住酒店单房,须提前告知并支付相应差价。

八、联系方式

办公室电话: +86 10 58239055

张老师: +86 13811425951,魏老师: +86 13621390426

世界中医药学会联合会

2017年8月1日