

· 药学 ·

丹参配伍三七和川芎不同提取工艺对丹参酮 A 含量的影响

陈宇飞¹ 王四旺² 罗卓荆¹ 栾冠楠³

(1 西京医院全军骨科研究所 陕西 西安 710032 2 第四军医大学 药学系天然药物研究所 陕西 西安 710032 ;
3 第四军医大学 图书馆 陕西 西安 710032)

摘要 目的 :丹参分别配伍三七和川芎经水煎煮和 70%乙醇回流后 ,检测丹参酮 A 含量的变化 ,探究配伍提取后对丹参中可检测成分含量的转移规律。方法 :丹参 ,丹参 + 三七 ,丹参 + 川芎 ,丹参 + 三七 + 川芎分别水煎煮、70%乙醇回流提取后 ,用 TLC 和 HPLC 方法检测丹参酮 A 含量。结果 :①全部水煎煮物中基本不含丹参酮 A ;②丹参单独醇回流和丹参 + 川芎混合醇回流加入三七后 ,丹参酮 A 含量分别上升 16.66%和 54.97% ;③丹参单独醇回流和丹参 + 三七混合醇回流加入川芎后 ,丹参酮 A 含量分别下降 57.34%和 43.33% ;④丹参单独醇回流加入三七 + 川芎后 ,丹参酮 A 含量下降 33.89% ;结论 :丹参配伍三七显现中药的 " 相使 " 药性 ,而川芎对丹参则是 " 相恶 " 药性 ,但三七可缓解川芎对丹参的 " 相恶 " 药性。
关键词 :丹参 ;三七 ;川芎 ;TLC ;HPLC
中图分类号 :R284.2 R93 **文献标识码** :A **文章编号** :1673-6273(2011)01-127-04

Compatibility of Salvia Miltiorrhiza with Panax Notoginseng and Rhizome Chuanxiong: Effect of Different Extraction Technologies on Content of Tanshinone A

CHEN Yu-fei¹, WANG Si-wang², LUO Zhuo-jing¹, LUAN Guan-nan³
(1 Institute of Orthopedics, Xijing Hospital, Xi'an 710032, Shanxi province, China;

2 Institute of Materia Medica, School of Pharmacology, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shanxi province, China;
3 The Library of the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shanxi province, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the content change of tanshinone A in extractive for Salvia Miltiorrhiza compatibility of Panax Notoginseng and Rhizome Chuanxiong by water decoction method and 70% ethanol refluxing extraction method. **Methods:** The tanshinone A were extracted by water decoction method and 70% ethanol reflux method in the Salvia Miltiorrhiza group, Salvia Miltiorrhiza with Panax Notoginseng group, Salvia Miltiorrhiza with Rhizome Chuanxiong group, Salvia Miltiorrhiza with Panax Notoginseng and rhizome chuanxiong group, and the content of tanshinone A were determined by TLC and HPLC. **Results:** ①Tanshinone A can hardly be detected in the water decoction. ②Ethanol refluxing extracted with Panax Notoginseng, the content of tanshinone A rose by 16.66% and 54.97% in the Salvia Miltiorrhiza group and Salvia Miltiorrhiza with Rhizome Chuanxiong group. ③Ethanol refluxing extracted with Rhizome Chuanxiong, the content of tanshinone A decreased by 57.34% and 43.33% in the Salvia Miltiorrhiza group and Salvia Miltiorrhiza with Panax Notoginseng group. ④Ethanol refluxing extracted with Panax Notoginseng and rhizome chuanxiong, the content of tanshinone A decreased by 33.89% in the Salvia Miltiorrhiza group. **Conclusion:** Pharmacological action for Salvia Miltiorrhiza compatibility of Panax Notoginseng has mutual assistance effect, compatibility of Rhizome Chuanxiong has mutual inhibition effect, and the mutual inhibition effect can be reduced by Panax Notoginseng.
Key words: Salvia Miltiorrhiza; Panax Notoginseng; Rhizome Chuanxiong; TLC; HPLC
Chinese Library Classification: R284.2, R93 **Document code:** A
Article ID: 1673-6273(2011)01-127-04

引言
丹参是中医临床常用的活血化瘀药 ,具有活血祛瘀 ,凉血消痈 ,养血安神等功效。现代药理研究表明丹参具有改善微循环 ,抑制炎症反应 ,抗血小板聚集、氧化、细胞凋亡、动脉粥样硬化 ,保护脑组织缺血 - 再灌注损伤等药理作用^[1]。丹参中已经发现了 100 多种化学成分 ,主要分为两类成分 ,一类是脂溶性成分 ,尤以丹参酮 为 代表 ,另一大类为酚酸类水溶性成分^[2]。其中 ,丹参酮 (tanshinone II)是中药丹参的主要有效单体 ,为 2005 年版药典丹参药材的指标成分之一^[3] ,是评价丹参药材质量和药理功效的重要成分。三七和川芎同属活血化瘀类重要中药 ,三七具扩张血管、降低心肌耗氧量、抑制血小板凝集、延长凝血时间、降血脂、清除自由基、抗炎、抗氧化等药理作用^[4] ,川芎的有效成分川芎嗪和阿魏酸等具有清除氧自由基、钙拮抗、

作者简介 陈宇飞(1984-) 男 ,硕士研究生。研究方向 :中药治疗脊髓损伤 ,Tel :15991771441 ,E-mail ifireman@126.com
(收稿日期 :2010-10-06 接受日期 2010-10-30)

扩血管、抗血小板聚集和血栓形成、改善心脑血管缺血等多种作用^[5]，临床应用三药伍用十分常见，然而三者配伍的药理学变化却鲜有报道，故本研究旨在探讨丹参配伍三七和川芎不同提取工艺对丹参酮 A 含量的转移规律。

1 材料与方法

1.1 实验试剂和仪器

电子天平（德国 Sartorius 公司 BL310 型）；1/100000 电子分析天平（德国 Sartorius 公司 R200D 型）；薄层色谱成像仪（瑞士 CAMAG 公司 REPROSTAR3 型）；定量点样器（瑞士 CAMAG 公司 NANOMAT4 型）；日本岛津高效液相色谱仪（配 LC-20AT 型二元高压梯度泵，SPD-M20A 型二极管阵列检测器，CBM-20A 系统连接器，CT0-10AS 柱温箱，7725i 手动定量进样阀，微量进样器，LC solution 工作软件及 HP 激光 1020 型打印机）；丹参酮 A 对照品（中国药品生物制品检定所 批号：

110766-200417）；丹参饮片、三七饮片、川芎饮片（由西安市药材公司提供）；乙醚、苯、石油醚（成都市科龙化工试剂厂）；乙酸乙酯、无水乙醇（天津市红岩化学厂）；HPLC 用色谱纯乙腈、甲醇（美国 Fisher 公司）。

1.2 提取方法

丹参饮片、三七饮片、川芎饮片按照《中华人民共和国 2005 版药典一部》质量检测合格。将丹参饮片，丹参饮片 + 三七饮片，丹参饮片 + 川芎饮片，丹参饮片 + 三七饮片 + 川芎饮片分别用水煎煮和乙醇提取。水煎煮：12 倍水煎煮 2 次，每次 90 分钟。醇提取：8 倍量 70%乙醇，加热回流提取 3 次，每次 90 分钟。提取液 4 层纱布过滤置烧瓶中浓缩至 50 mL，转入蒸发皿中水浴 90℃加热浓缩 24 小时，置真空干燥箱中 80℃，-0.09 MPa 压力条件下抽干，取出，小心将药粉刮下，放入一铝箔纸袋中用封口机密封，置干燥剂中保存，备用。各样品参数见表 1。

表 1 试药样品的处理参数
Table 1 the Parameters of the sample

Group	Proportion (g)	Extracted method	Weight of the dry powder (g)	Ratio of the dry powder (%)	Proportion of Salvia Miltiorrhiza in the dry powder (g/g)
Salvia Miltiorrhiza	50	water decoction	24.8298	49.66	2.01
	50	70% ethanol reflux	21.8086	43.62	2.29
Salvia Miltiorrhiza + Panax Notoginseng	30:30	water decoction	19.2477	32.08	1.56
	30:30	70% ethanol reflux	21.2492	35.42	1.41
Salvia Miltiorrhiza + Rhizome Chuanxiong	30:30	water decoction	27.5192	45.87	1.09
	30:30	70% ethanol reflux	27.0845	45.14	1.11
Salvia Miltiorrhiza + Panax Notoginseng + rhizome chuanxiong	20:20:20	water decoction	21.2122	35.36	0.94
	20:20:20	70% ethanol reflux	20.4556	34.09	0.98

1.3 丹参酮 A 的 TLC 鉴别

分别定量称取表 1 中 8 种相当于 1.0000 g 丹参药材的干粉试样，分别加乙醚 10 mL 超声振摇 5 分钟，放置 1 小时，滤过，滤液挥干，残渣加乙酸乙酯溶解并定容于 5 mL，作为供试品溶液。分别吸取 8 种供试品溶液、丹参酮 A 对照品点于同一块硅胶 G 薄层板上，点样量 25μ L，苯 - 乙酸乙酯（19：1）为展开剂，展开，取出，晾干。

1.4 丹参酮 A 含量测定

1.4.1 色谱条件 流动相为甲醇：水 =85：15；流速为 1.0 mL/min；色谱柱为 kromasil C18（250x4.6 mm，5μ m），柱温为室温，检测波长为 270 nm。

1.4.2 对照品溶液的制备 精密称取 2.87 mg 丹参酮 A 对照品，置于 25 mL 容量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，即得 11.5μ g/mL 对照品溶液。

1.4.3 供试品溶液的制备 精密称取供试药粉 0.2000 g，小心加入 25 mL 甲醇，用封口膜密封严实，超声 30 分钟后放冷，用 0.45μ m 微孔滤膜滤过，即得供试品溶液。

1.4.4 线性关系 精密吸取对照品 1，2，4，8，16，32μ L，依次进样，测定峰面积积分值。以进样量（μ L）为横坐标，以色谱峰面积为纵坐标进行回归分析，可求得回归方程为：Y = -24770.61694 + 4847.782397 X，r = 0.9999。结果表明丹参酮 A 在 0.0299μ g~0.9568μ g 范围内线性关系良好。

1.4.5 精密度 精密吸取丹参酮 A 对照品 16μ L，按照上述色谱条件连续进样 5 次，得丹参酮 A 的峰面积，测得 RSD 值为 0.12 %。

1.4.6 稳定性 精密吸取对照品溶液以及供试品溶液 20μ L，于 0，3，6，10，16 h 分别进样，测定峰面积，RSD 为分别为：RSD 对照品 =0.52%，RSD 供试品 =0.34%。结果表明对照品溶液以及供试品溶液在 16 h 内基本稳定。

1.4.7 重复性 按照上述供试品制备的方法，依次制备 5 份丹参 70%乙醇回流提取物供试品溶液，供试品溶液中丹参酮 A 的含量平均值为 0.4321 %，RSD 值为 2.38%(n = 5)。结果表明本法具有良好的重复性。

1.4.8 加样回收率 精密称定 6 份丹参 70%乙醇回流提取物药

粉，每份 0.0200 g，分别加入 5 mL，5 mL，7.5 mL，7.5 mL，10 mL，10 mL，11.5μ g/mL 丹参酮 A 对照品，加甲醇补足溶液量至 25 mL，按上述供试品溶液制备方法制备成供试品溶液，测

得 6 份样品的平均加样回收率为 101.05%，RSD=0.74%

2 结果分析

2.1 TLC 结果及分析

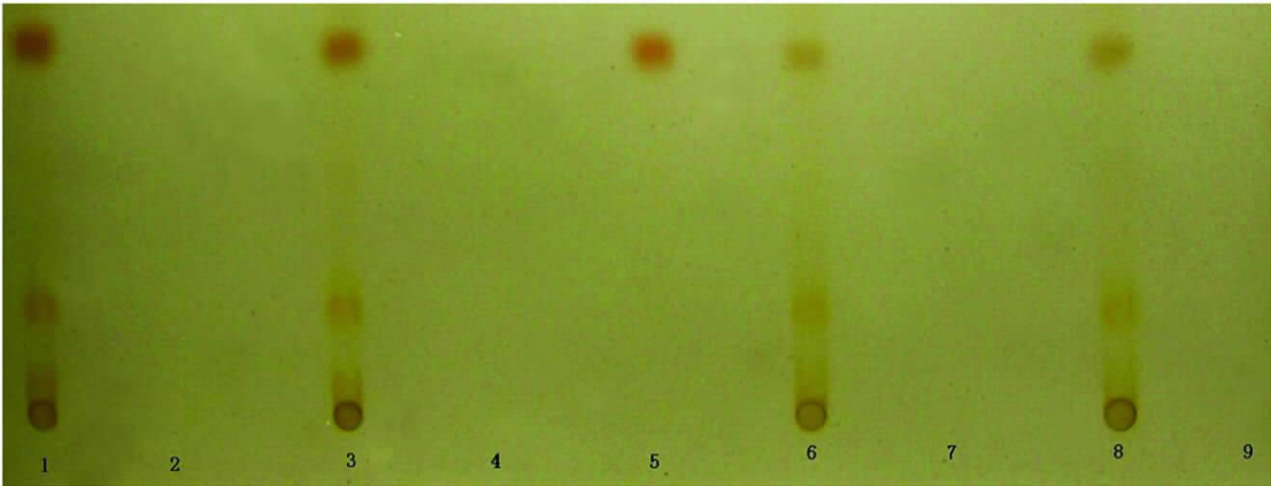


图 1 1 :丹参醇回流 2 :丹参水煎煮 3 :丹参+三七醇回流 4 :丹参+三七水煎煮 5 :丹参酮对照品，
6 :丹参+川芎醇回流 7 :丹参+川芎水煎煮 8 :丹参+三七+川芎醇回流 9 :丹参+三七+川芎水煎煮各 25μ L
Fig. 1 1 :Salvia Miltiorrhiza 70% ethanol reflux group 2 :Salvia Miltiorrhiza water decoction group ,3 :Salvia
Miltiorrhiza + Panax Notoginseng 70% ethanol reflux group 4 :Salvia Miltiorrhiza + Panax Notoginseng water
decoction group 5 :tanshinone A reference substance 6 :Salvia Miltiorrhiza + Rhizome Chuanxiong 70%
ethanol reflux group 7 :Salvia Miltiorrhiza + Rhizome Chuanxiong water decoction group 8 :Salvia
Miltiorrhiza + Panax Notoginseng + rhizome chuanxiong 70% ethanol reflux group 9 :Salvia Miltiorrhiza + Panax
Notoginseng + rhizome chuanxiong water decoction group each of 25μ L

由图 1 可见水提取物无斑点，颜色深度：丹参单独提取≈丹参+三七配伍>丹参+三七+川芎配伍>丹参+川芎配伍。

始加入的丹参药材量不同，故用提取物中有效成分质量/原药材中丹参饮片质量得出相当于原丹参药材 1 g 的有效成分含量作为对比因素，结果见表 2。

2.2 HPLC 结果及分析

按照上述方法，测定 8 种药粉的丹参酮 A 含量。由于初

表 2 HPLC 测得丹参酮 A 含量表
Table 2 content of tanshinone A determined by HPLC

Group	Extracted method	Ratio of tanshinone in the dry powder (%)	tanshinone / Salvia Miltiorrhiza crude drug(g/g)
Salvia Miltiorrhiza	water decoction	0.02657	— — —
	70% ethanol reflux	0.42460	0.18520
Salvia Miltiorrhiza + Panax Notoginseng	water decoction	0.02091	— — —
	70% ethanol reflux	0.30560	0.21605
Salvia Miltiorrhiza + Rhizome Chuanxiong	water decoction	— — — *	— — —
	70% ethanol reflux	0.08750	0.07900
Salvia Miltiorrhiza + Panax Notoginseng + rhizome chuanxiong water	decoction	— — — *	— — —
	70% ethanol reflux	0.11970	0.12243

*the content of tanshinone A lower than linearity range

全部水煎煮物中基本不含丹参酮 A,故以下仅对醇回流提取物做分析。

丹参单独提取和丹参+川芎混合提取加入三七后,丹参酮 A 含量分别上升 16.66%和 54.97%,可见三七对丹参酮 A 的溶出有正性的影响。

丹参单独提取和丹参+三七混合提取加入川芎后,丹参酮 A 含量分别下降 57.34%和 43.33%,可见川芎对丹参酮 A 的溶出有负性的影响。

丹参单独提取加入三七+川芎后,丹参酮 A 含量下降 33.89%,可见三七+川芎对丹参酮 A 的溶出有负性的影响。

3 讨论

3.1 丹参配伍三七

丹参、三七作为药对使用由来已久,名医施今墨在论治心绞痛时有如下经验:“冠心病心绞痛之初起,尚无器质性病变者,则重用丹参,少佐三七;反之……,则主取三七,佐以丹参……^[6]”,商洪才等人通过对丹参、三七配伍的药效化学物质、体内外药理实验研究,发现丹参、三七在方中发挥作用的时间、方式及靶点均有不同,二者配伍,直接对抗补充,间接整合调节,各有分工,相助为用,堪称良方之典范^[7]。有研究表明,三七总皂苷类成分对丹参的有效成分具有增溶与稳定的作用^[8]。本实验数据表明,丹参与三七配伍提取,丹参酮 A 的溶出呈现上升趋势,提示丹参配伍三七具有中药“相使”药性。

3.2 丹参配伍川芎

按照中医理论,丹参、川芎同为活血化瘀的中药,主治范围基本相同,临床上亦经常配伍使用,古书中也无有二者“相恶”的记载。有人曾实验证明,丹参、川芎之间可能存在“相恶”效应^[9],川芎伍用丹参后,总剂量加倍,作用反而略有下降^[10]。本实验数据表明,丹参配伍川芎提取,丹参酮 A 含量下降 50%左右,再次提示丹参与川芎“相恶”这一说法不无道理。

3.3 丹参配伍三七+川芎

本实验数据表明,丹参+川芎 70%乙醇回流,再加入三七混合提取,可使丹参酮 A 含量上升 54.97%,提示三七可以缓解川芎对丹参的“相恶”作用。

4 结语

本实验将丹参、三七、川芎用水煎煮和 70%乙醇回流的方法,分别单独提取,两两组合提取,以及三者混合提取,发现丹参配伍三七具有中药“相使”药性,丹参配伍川芎提取具有中药“相恶”药性,而三七可以缓解川芎对丹参的“相恶”作用,从而为进一步探讨复方配伍规律奠定基础。

参考文献(References)

[1] 刘艾林,李铭源,王一涛等.丹参药理学活性物质基础研究现状[J].中国药学杂志,2007,42(9):641-644

Liu A L, Lin M Y, Wang Y T, et al. Research Progression on the Substantial Basis of the Pharmacological Activity of Salvia [J]. Chin

Pharm J, 2007, 42(9):641-644

[2] 顾瑶华,朱悦.丹参不同炮制品中丹参酮 A 的含量差异研究[J].中成药,2010,32(2):252-254

Gu Y H, Zhu Y. Reach on the Contents of Tanshinone A in Different Processing Products of Salvia [J]. Chinese traditional Patent Medicine, 2010,32(2):252-254

[3] 梁臻,毛声俊,尹宗宁等.丹参酮 A 静脉乳剂的制备与质量评价[J].中国中药杂志,2008,33(11):1249-1251

Liang Z, Mao S J, Yin Z N, et al. Preparation and quality evaluation of intravenous tanshinone A emulsion[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2008,33(11):1249-1251

[4] 甘雨,徐惠波,孙晓波,三七总皂苷的药理作用研究进展[J].时珍国医国药,2007,18(5):1251-1252

Gan Y, Xu H B, Sun X B. Research Progression on the Pharmacological EFFECT of Panax Notoginseng[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2007,18(5):1251-1252

[5] 舒冰,周重建,马迎辉等.中药川芎中有效成分的药理作用研究进展[J].中国药理学通报,2006,22(9):1043~1047

Shu B, Zhou C J, Ma Y H, et al. Research progress on pharmacological activities of the available compositions in Chinese medicinal herb Ligusticum chuanxiong [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2006,22(9):1043~1047

[6] 吕景山.施今墨对药[M].北京:人民军医出版社,1996

Lv J S. Shi Jin Mo Paired Herbs [M]. Beijing: People's Military Medical Press, 1996

[7] 商洪才,张伯礼,高秀梅等.丹参三七配伍的效应特点与基于效应的新药设计思路[J].科技导报,2006,24(5):25-27

Shang H C, Zhang B L, Gao X M, et al. Effective Characteristics of Radix Salviae Miltiorrhiae with Radix Notoginseng and New Drug Design Idea on Account of Effectiveness [J]. Science & Technology Review, 2006, 24(5):25-27

[8] 郑琴,彭常春,沈美兰等.丹参和三七的配伍研究概况[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(2):83-86

Zheng Q, Peng C C, Shen M L, et al. Study on Compatibility of Radix Et Rhizoma Salviae Miltiorrhizae and Radix Et Rhizoma Notoginseng [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2009,15(2):83-86

[9] 黄熙,夏天,任平等.川芎伍用丹参煎剂对川芎嗪药力学的影响[J].中国中西医结合杂志,1994,14 (5):288

Huang X, Xia T, Ren P, et al. Influence of Combined Salvia Miltiorrhiza and Ligusticum Wallichii on Pharmacokinetics of Tetramethylpyrazine in Rats [J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 1994, 14 (5):288

[10] 朱建伟,郑广娟.川芎、丹参及其配伍对大鼠脑缺血再灌注损伤的不同影响[J].时珍国医研究,1997,8 (3):232-233

Zhu J W, Zheng G J. Effects of Ligusticum Chuanxiong (LC) and Salvia Miltiorrhiza (SM) and their Mixture on Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury in Rat[J]. Shizhen Journal of Traditional Chinese Medicine Research, 1997, 8 (3):232-233