

## 丹参综合提取分离及丹参酮 II A 磺酸钠制备工艺研究

李玉山\*, 王经安

西安惠丰生化有限公司, 西安 710075

**摘要:**本研究以陕西商洛所产丹参为原料,对丹参中主要有效成分的同时综合提取工艺进行了优化。优化后的提取工艺为:乙醇浓度为80%,料液比为1:25,提取时间3h,提取温度60℃。提取液浓缩至比重1.05后加入4倍量(mL/g)的水沉淀,过滤,将水溶性成分和脂溶性成分分离。水液以大孔树脂吸附,水洗脱,得到丹参素和原儿茶醛的水洗液。水洗脱后的树脂以40%的乙醇洗脱,收集乙醇洗脱液得到丹酚酸B;提取浓缩液水沉后的沉淀干燥,以苯溶解,过滤,滤液以中性氧化铝柱层析,得到各种单体成分。优化后的纯化工艺各成分的得率为:原儿茶醛3.6%,丹参素1.2%,丹酚酸B5.5%,丹参酮I0.23%,丹参酮IIA3.8%,丹参酮IIB0.72%,隐丹参酮0.18%,丹参酸甲酯0.09%;含量分别为:98.3%,99.2%,91.7%,97.2%,98.8%,98.5%,97.6%,98.3%。以配料比、反应时间、反应温度和溶液碱度为影响因素,采用最陡坡实验法对水溶性化合物丹参酮IIA磺酸钠的制备工艺进行了优化,得率为86.2%,含量为96.7%。

**关键词:**丹参;综合提取;丹参酮IIA磺酸钠;酚酸类化合物;二萜醌类;纯化

中图分类号:TQ351.0

文献标识码:A

## Study on Integrated Extraction of Effective Components from *Salvia miltiorrhiza* Bunge and Preparation of Tanshinone II A Sodium Sulfonate

LI Yu-shan\*, WANG Jing-an

Xi' An hui feng Biochemistry Co., LTD, Xi'an 710075, China

**Abstract:** In this study, the synchronous integrated extraction of the effective components from *Salvia miltiorrhiza* was optimized. The optimum extraction condition was: 80% as ethanol concentration, 1:25 as ratio of solid to liquid, 3 h as extraction time, 60 °C as extraction temperature. The extract was then concentrated to the proportion of 1.05 followed by adding 4 times amount (mL/g) of water for sedimentation. The water-soluble fraction and sediment were then separated. The water-soluble fraction was applied to macroporous resin adsorption, elution, to afford two sub-fractions, containing Danshensu and protocatechuic aldehyde, respectively. The macroporous resin was further eluted with 40% ethanol to afford salvianolic acid B. The sediment was dried and dissolved in benzene. It was then filtrated and applied to neutral alumina column chromatography to afford each single component. The yields of the purified components using the optimized purification process were: protocatechuic aldehyde 3.6%, Danshensu 1.2%, salvianolic acid B 5.5%, tanshinone I 0.23%, tanshinone II A 3.8%, tanshinone II B 0.72%, cryptotanshinone 0.18%, salvia acid methyl ester 0.09%. Their respective purities were: 98.3%, 99.2%, 91.7%, 97.2%, 98.8%, 98.5%, 97.6% and 98.3%. The preparation process of water soluble compound, tanshinone A sulfonate, was optimized by the steep slope experiment using mixture ratio, reaction time, reaction temperature, solution alkalinity as influencing factors. The yield and content were determined to be 86.2% and 96.7%, respectively.

**Key words:** *Salvia miltiorrhiza* Bunge; comprehensive extraction; tanshinone II A sodium sulfonate; phenolic compounds; two terpeno quinones; purification

唇形科(Labiatae)鼠尾草属(*salvia*)植物丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)的干燥根及根茎中可提

取多种化合物<sup>[1]</sup>,主要有两部分:脂溶性的萜醌类和水溶性的酚酸类化合物。具有祛瘀止痛、活血调经、清心除烦、抗菌、扩张血管和耐缺氧,还具有抗癌、抗肿瘤、抗氧化作用,主要用于原发性肝癌、胃癌、白血病的预防和治疗<sup>[2]</sup>,丹参对癌细胞转移和

血行扩散有促进作用,与化疗结合具增效作用<sup>[3]</sup>。丹参在临床制剂中应用于以下方面:内科的保护肝脏,抗动脉粥样硬化,抗炎及增强机体免疫作用,对心脑血管的保护,肺心病,抗炎科外的血栓引起的闭塞性脉管炎,静脉曲张、化脓感染及运动创伤,银屑病的治疗,妇产科的妊娠毒血症;小儿科的新生儿硬肿症;皮肤科的硬皮症;牛皮癣增生性瘢痕的治疗,五官科的视网膜中央动静脉栓塞,神经性耳聋,神经科的缺血性中风等<sup>[4-7]</sup>。丹参主要用于以下产品加工:丹参注射液、复方丹参注射液、丹参酮Ⅱ-A 磺酸钠注射液、复方丹参片。目前关于丹参中有效成分的提取,文献报道很多,但都只是针对某一两个成分的单独提取而弃去了其他有效成分,而且只是提取得到的粗提取,对分离纯化得到单体的报道就更少了。本文利用各成分的理化性质,摒弃传统提取,采用综合提取的全新思路,对各成分进行了提取,尤其是对各成分进行了分离纯化,对水溶性丹参酮ⅡA

的合成进行了研究。

## 1 实验部分

### 1.1 材料及仪器

CS-9031 薄层扫描仪(日本岛津公司);硅胶 G(青岛海洋化工厂);BS1101 型电子分析天平(北京赛多利斯仪器有限);HH-Z 数显恒温水浴锅(常州国华电器公司);R-201 旋转蒸发器(上海申科机械研究所);101-Z-BS 电热鼓风干燥箱(上海跃进医疗仪器厂)。

### 1.2 检测方法

丹参素、丹酚酸 B、丹参酮ⅡA、丹参酮Ⅰ、丹参酮ⅡB、隐丹参酮、丹参酸甲酯检测方法参照文献报道方法<sup>[8-10]</sup>。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 提取流程

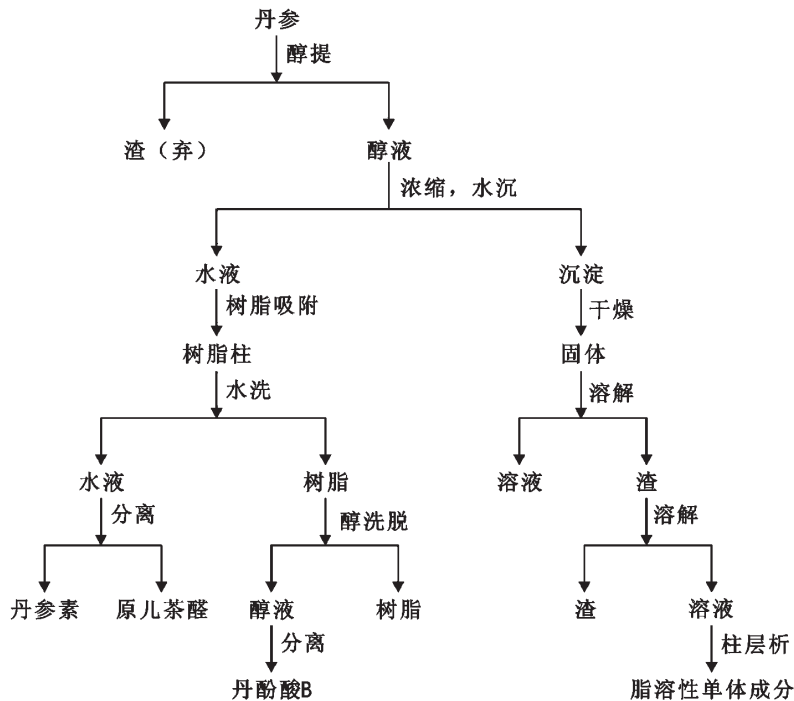


图1 丹参提取工艺流程

Fig. 1 Extraction procedures of *S. miltiorrhiza*

丹参中主要的8种成分可分为水溶性和脂溶性,水溶性成分主要有丹参素、丹酚酸B、原儿茶醛,脂溶性成分有丹参酮Ⅰ、丹参酮ⅡA、丹参酮ⅡB、隐丹参酮、丹参酸甲酯,传统的方法是采用先水提后醇提,经两步提取法将这几种成分先粗分为水溶性和

脂溶性两大部分,然后再对各部进一步分离纯化。由于水提取需要高温长时间提取,致使二萜醌类成分在高温和水加热时另发生氧化-降解,导致最后得不到脂溶性成分或其含量很低。鉴于此本实验采用先醇提取,再分离纯化,因为水溶性的3个成分在醇

中均易溶,而脂溶性成分在水中不溶,因此采用乙醇提取,将全部成分一同提取出,减少了两步提取法在第二步提取时对脂溶性成分的破坏,极大地提高了脂溶性成分的收率和纯度。

### 1.3.2 总提取物的制备

以70%、80%、90%的乙醇在料液比为1:10、1:15、1:20,提取时间为1、2、3h,提取温度为50、60、70℃,以丹参中的代表性成分丹参酮IIA的收率和含量为考察指标,因这些提取因素对丹参酮IIA的提取都有显著影响,可基本代表其他成分。按 $L_9(3^4)$ 正交表进行条件优化。

### 1.3.3 水溶性成分的分离

上述总提取浓缩液加水沉淀后,收集水液,以树

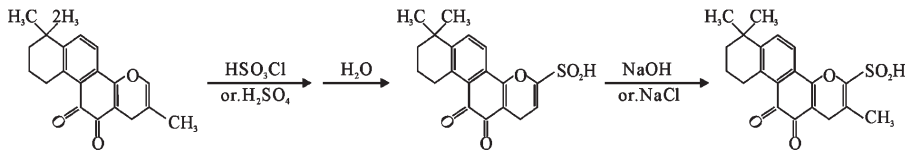


图2 丹参酮IIA磺酸钠合成工艺

Fig. 2 Synthesis routes for Tanshinone IIA sodium sulfonate

## 2 结果与讨论

### 2.1 总粗提物的提取

正交试验结果见表1。根据极差R的大小,可

表1  $L_9(3^4)$  试验方案及试验结果

Table 1  $L_9(3^4)$  experimental scheme and results

实验号 No.	A 乙醇体积分数 Ethanol volume fraction (%)	B 料液比 Ratio of liquid to solid (mL:g)	C 提取时间 Extraction time (h)	D 提取温度 Extraction temperature	丹参酮IIA得率 Yield (%)
1	70	10:1	1	50	2.56
2	70	15:1	2	60	3.12
3	70	20:1	3	70	3.87
4	80	10:1	2	70	3.35
5	80	15:1	3	50	3.08
6	80	20:1	1	60	3.51
7	90	10:1	3	60	3.17
8	90	15:1	1	70	3.79
9	90	20:1	2	50	3.26
$K_1$	9.55	9.08	9.86	8.90	
$K_2$	9.44	9.99	9.73	9.70	
$K_3$	10.22	10.64	10.12	11.01	
极差 R	0.26	0.52	0.09	0.71	

由于丹参中的8个主要成分都是醇溶性的,因此随乙醇体积分数的升高,提取率增加,乙醇为亲水

脂吸附,吸附饱和后以水洗,收集水液,其中含有丹参素和原儿茶醛,将水液浓缩,加乙醇沉淀,过滤,收集滤液,加活性炭脱色,过滤,滤液浓缩,静置,冷却,结晶物为丹参素,母液浓缩,结晶得原儿茶醛。水洗后的树脂再以乙醇洗脱,收集乙醇液,浓缩,结晶,得丹酚酸B。

### 1.3.4 脂溶性成分的分离

提取浓缩液加水沉淀后的沉淀物干燥后,先以低极性溶剂去除杂质,再以苯溶解后用 $Al_2O_3$ 柱层析。以适当洗脱剂洗脱,TLC检查,合并具有相似成分的同一流分,浓缩、结晶、重结晶,得各脂溶成分的单体。

### 1.3.5 丹参酮IIA磺酸钠的制备

知其影响顺序为 $D > B > A > C$ ,直观分析可知最佳工艺为 $A_2B_2C_3D_2$ ,即乙醇浓度为80%,料液比为1:25,提取时间3h,提取温度60℃。

性和亲脂性均较好的溶剂,对药材的浸润和溶胀能力强,在利于溶剂快速充分地向药材中渗透,药材中

的各成分在溶剂中存在溶解及扩散行为。有效成分(溶质)由于亲合作用离开固体或附着物表面进入溶剂,当渗透饱和时,这种溶解就达动态平衡,因此需加更换溶剂,或提高温度,破坏平衡,料液比,提取次数均影响这种平衡,此外还有吸附平衡,是固体表面对溶质的亲合作用,表面积大,温度低吸附作用增加,因此原料的粒度不宜过小,即不可粉的太细,否则提取率下降,温度低,吸附作用增加,提取率低,但丹参中二萜醌类对温度敏感,不宜太高,温度高加速杂质的溶出,不利于后序分离纯化,以 60 °C 为宜,提取时间长使提取物增多,但当因液平衡后再延长时间也不会使收率增加,反而会使有效成分在高温下破坏,以提取 2 h 为宜。

## 2.2 水溶性成分的分离

### 2.2.1 脂溶性成分的沉淀

加水沉淀后,水液中含水溶性成分,沉淀为脂溶性成分,结果见图 3。

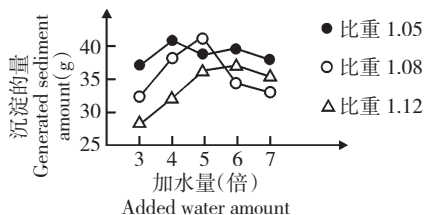


图 3 加水量与沉淀生成量

Fig. 3 Relationships of added water amount and generated sediment amount

加水的目的是为了让脂溶性沉淀析出,在浓缩液比重一定的情况下,水量达一定时,沉淀基本完全,此时过量的水会使后序纯化更为复杂。同时脂溶性成分有一定损耗。从图中可看出,为使沉淀析出完全。比重越大,用水量越大,因此考虑后序纯化工艺,选取比重为 1.05,同时比重越小,在浓缩时可缩短时间,减少成分破坏,从纯化前后两步工艺看出,比重越小越好,此时选用浓缩液比重为 1.05,加入浓缩液体积 4 倍量 (mL/mL) 的水即可沉淀完全。

由此可知在浓缩液比重为 1.05 时,加水量为 3 倍量 (mL/g) 时,即可沉淀完全,在比重为 1.05 时,加水量为 4 倍量 (mL/g) 时即可沉淀完全,在浓缩液比重为 1.10 时,需加 5 倍量 (mL/g) 的水才沉淀完全,考虑到浓缩时的能耗及长时间浓缩时对成分的破坏,以浓缩液比重为 1.05 为最佳,而且比重小在后序的树脂吸附时更好,不易发生漏泄,但耗时,工作效率增加,综合考虑以比重 1.10%。

### 2.2.2 丹参素和原儿茶醛的分离

沉淀后的水液以 AB-8 树脂吸附,由于比重为 1.05 的浓缩液加入 3 倍量水后的比重是一定的,故考察了水溶液的用量对洗脱的影响,采用三种成分鉴别法来判断水洗液的成分,结果见表 2。

表 2 洗脱液的鉴别

Table 2 Comparison of different volumes of water elution

水洗液体积 Volume	FeCl <sub>3</sub> 反应 Faction	2% FeCl <sub>3</sub> — 1% K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub> 液 Liquied	345 nm 紫外灯下 Ultraviolet lamp
100	+	+	+
200	+	+	+
300	+	+	+
400	+	+	+
450	+	+	+
500	+	+	+
550	+	+	+
600	-	+	+
650	-	-	-

当洗脱液为 650 mL 时,三种成分的鉴别反应呈阴性,故洗脱液为 650 mL 时可将 3 种水溶性成分能很好洗脱。丹参素也可合成制得。

### 2.2.3 丹酚酸 B 的分离

上述树脂中吸附了丹酚酸 B,可采用适当的醇液将其洗脱,以 30%、40%、50% 的乙醇在不同流速下洗脱,目的是将有效成分尽可能的洗脱完全,由于目标成分明确,以薄层色谱法判断洗脱终点,主要考察了洗脱流速与乙醇用量的关系,以及不同体积分数的乙醇洗脱能力。在醇度一定时,洗脱流速越大,洗脱液用量越大,因此,由表 2 可看出在有效成分 TLC 检测不再流出的情况下,流速 1.0 mL/min 时乙醇用量最少,但流速再小时可能耗时,工效低下,因此选用 1.0 mL/min,在流速明确的情况下考察了乙醇体积分数对洗脱物的收率和含量的影响,结果见图 4。

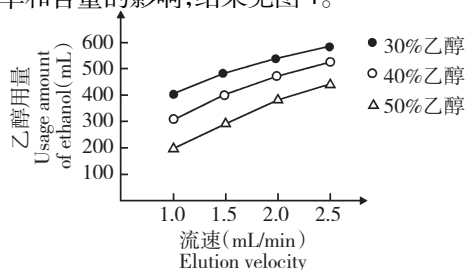


图 4 流速与乙醇用量关系

Fig. 4 Relationships of elution velocity and usage amount of ethanol

由图 4 可知,洗脱液的醇度越高,其用量也越小,醇度高,大孔树脂借助氢键和范德华力从溶液中吸附各种成分,遵循类似物易吸附类似物,醇度高,相对极性小,能使吸附表面界面张力降低,有利于洗脱,而洗脱流速过大时,洗脱剂与洗脱成分来不及更换便流出,不利于洗脱,因此洗脱剂用量大,综合考虑以 40% 乙醇在 1.0 mL/min 的流速下流脱,此时洗脱剂用量为 390 mL。

可以利用的乙醇浓度有 3 种,而在每个浓度的乙醇下可以有 4 种不同的流速,对每种流速下的丹本分酸 B 的实际得率(干物质与含量的乘积)进行三次实验,以二级套设计优化乙醇浓度为因素 A,洗脱流速为因素 B,A 有 3 个水平(30%、40%、50%),B 有 4 个水平(1.0、1.5、2.0、2.5 mL/min),因素 B 的 4 个水平被套在 A 的每个水平下。将得率数据减去 5 后得规范数据如表 3。方差分析见表 4。

表 3 得率的规范数据  
Table 3 Normative date rate

流速 (mL/min) Current speed	醇度 30% Alcohol degree				醇度 40% Alcohol degree				醇度 50% Alcohol degree			
	1.0	1.5	2.0	2.5	1.0	1.5	2.0	2.5	1.0	1.5	2.0	2.5
	-1.5	-1.2	-1.0	-1.4	0.5	0.5	1.0	1.2	0.2	0.7	0.1	0.2
	-2.0	-1.8	-1.5	-1.0	0.2	0.4	0.4	0.9	0.8	0.4	0.3	0.3
	-1.8	-1.5	-1.3	-1.1	0.8	0.6	0.7	0.3	0.5	0.9	0.2	0.1
流速总和 Velocity sum	-5.3	-4.5	-3.8	-3.5	1.5	1.5	2.1	2.4	1.5	2.0	0.6	0.6
醇度总和 Alcohol degree sum		-17.1				7.5				4.7		

表 4 表 3 数据的方差分析  
Table 4 Analysis of variance

变异来源 Source of variation	平方和 Quadratic sum	自由度 Freedom	均方 Mean square	F <sub>0</sub>			
				A 固定 B 随机 A fixed B random	A 随机 B 固定 A random B fixed	A 固定 B 固定 A fixed B fixed	A 随机 B 随机 A random B random
A	30.23	2	15.12	100.8	12.67	100.8	12.67
B	1.32	9	0.15	0.125	0.01	0.01	0.125
误差 Error	28.91	24	1.2				
总和 Sum	60.46	35					

由此可以看出不论是哪种情况,乙醇浓度对丹酚 B 的得率有显著影响,而乙醇的流速没有显著性效应,得率是以洗脱下来的有效成分的实际收量计算的,醇度高能将有效成分最大限度的洗脱下来,但杂质也随之洗下,对后序纯化不利,我们再考察醇度同一流速不同醇度的乙醇对洗脱物含量的影响,结

果见图 5。

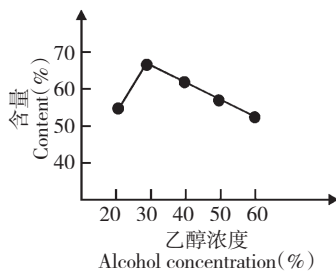


图 5 洗脱纯度与含量的关系

Fig. 5 Relationship of elution purity and content

### 2.3 脂溶性成分的分离

脂溶性成分以石油醚经 3 次脱脂,脱脂物以氯仿溶解,溶解物以氧化铝柱层析,脂溶性成分主要有丹参酮 I、丹参酮 II A、丹参酮 II B、隐丹参酮、丹参酸甲酯,根据它们的极性大小不同,以中性氧化铝为填料层析,TLC 检测,结果见图 6。

由于脂溶性成分都具有邻醌结构,而硅胶具有

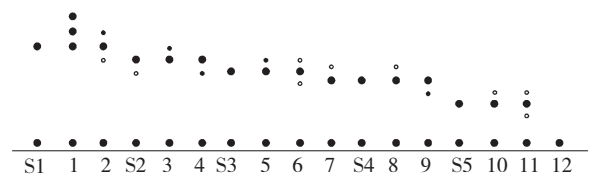


图 6 柱层析 TLC 图

Fig. 6 Simulated TLC analysis results

弱酸性,不宜在以硅胶为填料层析,会破坏结构,导致成分损失,也会产生不可逆吸附,因此选用中性氧化铝为吸附剂,以及适当溶剂能很好地将这5种成分分离, $S_1$ 、 $S_2$ 、 $S_3$ 、 $S_4$ 为对照品样,1-12为层析流出样。

流动相进行洗脱实际是流动相分子与被分离分子竞争吸附剂表面活性中心的过程,统计相数性强竞争能力强,从而洗脱能力强,因此要选择一适当溶剂,使其极性逐步增加,跳跃不能太大,采用混合溶剂,巧妙调节比例以改变极性,达到极度洗脱分离物质的目的,一般先用一种极性很小的溶剂冲洗前杂,再以极性较大的溶剂以不同比例改变极性,得各种不同极性的物质洗脱,最后用一种极性较大的溶剂将吸附剂上的后杂洗去。

## 2.4 丹参酮II A 磺酸钠的制备

目前主要有两种制备方法,磺化试剂为氯磺酸和浓硫酸,成盐时一个用氢氧化钾,一个用氯化钠,使用氯磺酸法所用试剂较少,操作方便,成本低,收率也高达92.6%,含量95.3%;使用浓硫酸法所用试剂较多,操作繁杂,成本高,收率低,仅为82.2%,含量为93.5%,建议采用氯磺酸法。

丹参酮II A 磺酸钠的合成已有工艺路线,我们只是对其工艺参数进行优化考查的因素为配料比(A, g/mL),反应时间(C, h),反应温度(D, °C),溶液碱度(B, pH值)。这样的设计不混杂全部主效应,仅混交互作用项,有利于最陡坡的查找。最陡坡实验因素水平见表5,实验结果见表6。

表5 因素水平表

Table 5 Factor and level table

水平 Level	因素 Code			
	A	C	D	B
-1	1:1.2	0	15	5
0	1:1.6	6	20	6
+1	1:2.0	12	25	7

表6 最陡坡法实验结果

Table 6 Results of the steepest ascent experiments

序号 No.	A	B	ABCD	C	ACBD	BCAD	D	得率 Yield(%)
1	-1	-1	+1	-1	+1	+1	-1	88.2
2	+1	-1	-1	-1	-1	+1	+1	92.6
3	-1	+1	-1	-1	+1	-1	+1	88.7
4	+1	+1	+1	-1	-1	-1	-1	88.5
5	-1	-1	+1	+1	-1	-1	+1	84.4
6	+1	-1	-1	+1	+1	-1	-1	84.6
7	-1	+1	-1	+1	-1	+1	-1	84.1
8	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	85.8
B+	87.9	86.8	86.7	84.7	86.8	87.8	87.9	
B-	86.4	87.5	87.5	89.5	87.4	86.6	86.4	
R	1.5	-0.7	-0.8	-4.8	-0.6	1.2	1.5	
b	0.75	-0.35	-0.4	-2.4	-0.3	0.6	0.75	

效应最显著的是湿度,其次是配料比和反应时间,最不显著的是酸碱度。四因素主效应比值为: $bC:bA:bB:bD = -1:0.3:0.15:0.3$  最陡方向是反应温度每调一步,配料比调0.3步,酸碱度调0.15步,反应时间调0.3步。C新步长为原步长的 $\frac{2}{3}$ ,

即新步长为4.0C;A新步长为 $0.3 \times \frac{2}{3} \times 0.4 = 0.08$ , $B' = 0.15 \times \frac{2}{3} \times 1 = 0.1$ , $D' = 0.3 \times \frac{2}{3} \times 5 = 1$ 。以原实验最优条件2为起始条件,A=1:1.20(g/mL);B,pH为5,C:0°C;D:25min。于是可重新确定登山路上各试点的条件。

表 7 登山实验条件和结果  
Table 7 The experimental conditions and results

序号 No.	配料比 Mixture ratio A (g/mL)	酸碱度 pH value B (pH 值)	反应温度 Temperature C ( °C )	反应时间 Time D (min)	得率 Yield ( % )
2	1:1.20	5	0	2.5	92.6
9	1:1.28	5.1	-4	2.6	93.4
10	1:1.36	5.2	-8	2.7	94.3
11	1:1.44	5.3	-12	2.8	93.7

实验结果表明,最优点为 10 分,相关条件为:配料比 1:1.36 (g/mL),酸碱度 pH5.2,反应温度-8 °C,反应时间 27 °C,得率可达 94.3%。

### 3 结论

中药材的资源是有限的,传统的中药往往只利用某一药用部位,而抛弃其他部位,造成大量的资源浪费。同时,因每味中药材常用多种功能和疗效,各种用途都有不同类型的成分起作用,中药生产时常根据其作用提取某类成分,而浪费了其它成分,实际上也浪费了中药材资源。丹参根中主含脂溶性的二萜类成分和水溶性的酚酸成分,还含黄酮类、三萜类、甾醇等其他成分。脂溶性成分中主要有属醌、酮型结构的丹参酮 I、II A、II B、隐丹参酮、丹参酸甲酯;水溶性成分最有应用价值的有原儿茶醛、丹参素、丹酚酸 B、丹参酸丙等。本文采用一步法提取总成分,逐级分离有效成分的方法分离得到了大部分重要成分,为综合利用丹参资源提供了理论依据。

#### 参考文献

- Liu J(刘静), Dai Z(戴忠), Wang GL(王钢力), *et al.* Progress in bioactive constituents and isolation and analysis methods of *Salvia miltiorrhizae* Radix et Rhizoma. *Chin J Exp Tradit Med Formul*(中国实验方剂学杂志), 2012, 18:288-295.
- Luo CL(罗彩莲). The pharmacological effects and clinical applications of the *Salvia*. *China Mod Med*(中国当代医

- 药), 2012, 19(12):11-12.
- Zhang Y(张玥), Zhang YZ(张英姿). 丹参及其主要成分抗肿瘤作用的研究进展. *J Binzhou Med Univ*(滨州医学院学报), 2012, 35:143-145.
- Zhu YQ(朱艳琴), Yin QH(殷勤红), Yang J(杨俊), *et al.* Research and development of chemical constituents in *Salvia yunnanensis* C. H. Wright and its pharmacological effects. *Chin J Spectro Lab*, 2012, 29:1563-1565.
- Zhang S(张硕). 丹参超临界提取物对肿瘤细胞的体外抑制作用及其机制. *Chin J Hosp Pharm*(中国医院药学杂志), 2012, 32:805-807.
- Fang F(方芳), Wang PZ(王平珍), Qiu Y(邱芸). 中药丹参的临床研究进展. *Inner Mongolia J Tradit Chin Med*(内蒙古中医药), 2012, 19:81-82
- Cao JY(曹金仪). 丹参的化学成分及临床用途. *Chin Med Guide*(中国医药指南), 2012, 29(10):53-55.
- Li AP(李安平), Yang X(杨锡), Ding YH(丁永辉), *et al.* HPLC method for simultaneous measurement of seven water-soluble ingredients with single marker in Danshen injection. *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2012, 32:1534-1540.
- Li Q(李倩), Liu W(刘伟), Luo ZL(罗祖良), *et al.* Simultaneous determination of four tanshinones in *Salvia miltiorrhiza* by QAMS. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2012, 36:824-828.
- Zhang L(张亮), Peng P(彭朋), Zhang XF(张新峰), *et al.* Determination of cryptotanshinone, tanshinone I and tanshinone IIA of 9 kinds of *Salviae miltiorrhizae* Radix et Rhizoma preparation by HPLC. *Chin Tradit Patent Med*(中成药), 2012, 34:1072-1076.