

· 药剂与炮制 ·

# UPLC-Q-TOF/MS 分析孟河医派特色猪心血丹参 炮制前后化学成分的变化

颜晓静<sup>1,2</sup>, 郑博文<sup>2</sup>, 张毅达<sup>2</sup>, 李娜<sup>2\*</sup>, 刘产明<sup>1</sup>, 曹震<sup>1</sup>, 张琪<sup>1\*</sup>

(1. 南京中医药大学 常州附属医院 孟河医学研究所, 江苏 常州 213003;  
2. 澳门科技大学 中药质量研究国家重点实验室, 澳门 999078)

**[摘要]** 目的:分析猪心血丹参炮制前后的化学成分变化情况,为深入阐明该饮片的炮制机制提供科学依据。方法:采用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱联用技术(UPLC-Q-TOF/MS),色谱条件为 ACQUITY UPLC<sup>®</sup> C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm),流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-0.1% 甲酸乙腈溶液(B)梯度洗脱(0~1 min, 8% B; 1~1.5 min, 8%~20% B; 1.5~4 min, 20% B; 4~5 min, 20%~60% B; 5~9 min, 60%~70% B; 9~10 min, 70%~95% B; 10~13 min, 95% B),柱温 40 °C,流速 0.3 mL·min<sup>-1</sup>;质谱分析使用电喷雾离子源(ESI),分别在正、负离子模式下扫描,扫描范围均为 *m/z* 50~1 200,采用对照品比对、质谱数据、数据库匹配和文献参照对各离子峰进行归属,通过比较猪心血丹参炮制前后离子峰数目和峰面积,研究其化学成分变化。**结果:**猪心血丹参炮制前后共鉴别出 59 个成分,未发现有新的成分产生。猪心血炮制丹参后,共有 25 种化学成分峰面积发生显著变化,其中丹参水溶性成分原儿茶醛,丹酚酸 C, F, G 和脂溶性成分丹参醛,丹参二醇 A, 丹参酮 I 和氨基酸类成分 *L*-苯丙氨酸峰面积显著增高。**结论:**猪心血丹参炮制前后化学成分的含量变化显著,其中丹参部分水溶性、脂溶性和氨基酸类成分产生了量变,推测这可能与猪心血促进丹参治疗脑缺血的作用有关。

**[关键词]** 孟河医派; 特色炮制; 猪心血丹参; 水溶性成分; 脂溶性成分; 氨基酸; 超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱联用技术

[中图分类号] R22;O657;R28;C37;R943.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2019)09-0109-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190204

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181031.0852.012.html>

[网络出版时间] 2018-11-02 11:40

## Changes of Chemical Components in Raw Products and Characteristic Processed Products with Porcine Cardiac Blood of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* from Menghe Medical School by UPLC-Q-TOF/MS

YAN Xiao-jing<sup>1,2</sup>, ZHENG Bo-wen<sup>2</sup>, ZHANG Yi-da<sup>2</sup>, LI Na<sup>2\*</sup>, LIU Chan-ming<sup>1</sup>, CAO Zhen<sup>1</sup>, ZHANG Qi<sup>1\*</sup>

(1. Menghe Medical Institute, Changzhou Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Changzhou 213003, China; 2. State Key Laboratory of Quality Research of Chinese Medicine, Macau University of Science and Technology, Macau 999078, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the chemical components in raw products and characteristic processed products with porcine cardiac blood of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* from Menghe medical school. **Method:** The ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry (UPLC-Q-

[收稿日期] 20180813(009)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81603296);国家中医药管理局中医药标准化项目(SATCM-2015-BZ[400]);国家公共卫生专项——中药炮制技术传承基地建设项目(2015)

[第一作者] 颜晓静,博士,主管中药师,从事孟河医派特色炮制质量控制及炮制机制研究, Tel:0519-89896783, E-mail: yanxiaojing963@163.com

[通信作者] \*张琪,博士,教授,从事孟河医派中医药治疗心脑血管疾病及临方特色炮制研究, E-mail: czzyyzq@163.com;

\*李娜,博士,副教授,从事中药质量控制研究, Tel:853-63589065, E-mail: nali9898@hotmail.com

TOF/MS) was performed on an ACQUITY UPLC® C<sub>18</sub> column (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm), mobile phase was 0.1% formic acid aqueous solution (A) -0.1% formic acid acetonitrile solution (B) for gradient elution (0-1 min, 8% B, 1-1.5 min, 8%-20% B, 1.5-4 min, 20% B, 4-5 min, 20%-60% B, 5-9 min, 60%-70% B, 9-10 min, 70%-95% B, 10-13 min, 95% B). The column temperature was 40 °C and the flow rate was 0.3 mL · min<sup>-1</sup>. Q-TOF/MS with electrospray ionization (ESI) and scanning range of *m/z* 50-1 200 were applied for analysis under positive and negative ion mode, respectively. All ionic peaks were assigned by comparison of reference substances, mass spectra data, database matching and literature reference, changes of chemical components in *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* were investigated by comparing number and area of ionic peaks before and after processing. **Result:** A total of 59 components were identified from raw products and characteristic processed products, and peak areas of 25 components showed obvious change. However, there were no new compound was found in characteristic processed products. After being processed with porcine cardiac blood, the contents of water-soluble ingredients (protocatechuic aldehyde, salvianolic acid C, F, G), fat-soluble ingredients (tanshinolide, tanshinone I) and amino acid (*L*-phenylalanine) in *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* were significantly increased. **Conclusion:** Changes of contents of chemical components in raw products and processed products of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* are remarkable, part of water-soluble ingredients, fat-soluble ingredients and amino acids have quantitative change, which may be related to promoting treatment of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* on cerebral ischemia after being processed with porcine cardiac blood.

[**Key words**] Menghe medical school; characteristic processing; *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* processed with porcine cardiac blood; water-soluble ingredients; fat-soluble ingredients; amino acids; ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF/MS)

孟河医派是源自江苏常州的著名地域性医学流派, 源于南北朝时期, 逐渐形成于明代, 鼎盛于清末民初, 因其学术造诣高深、临床经验丰富、诊治方法灵活、治疗效果显著而享誉海内外<sup>[1]</sup>。孟河医派经千余年而不衰, 在临床上之所以有独到而确切的疗效, 除了脉理精细、用药精当外, 其独特的中药炮制技术也是其重要的原因之一<sup>[2-3]</sup>。

孟河医派临方特色炮制品——猪心血丹参是历代孟河医家经过临床反复实践总结的智慧结晶, 已传承数百年, 在临床上常用于治疗心神不宁、心悸怔忡及痰迷心窍等证, 历代医家认为猪心血为养心药之向导, 能增强丹参入脑补血安神之功<sup>[4-5]</sup>。但是, 由于猪心血丹参物质基础不明, 炮制机制不清, 再加上孟河医派临方特色炮制在传承方面出现了较为严重的断层和脱节, 导致猪心血丹参炮制方法正面临着逐渐流失的风险<sup>[6]</sup>。本实验拟采用 UPLC-Q-TOF/MS 研究猪心血丹参炮制前后的物质基础, 从而更全面地分析该品种炮制前后化学成分的变化情况, 为深入阐明其炮制机制和制定其质量标准提供科学依据, 并为全面挖掘、继承和发展孟河医派临方特色炮制技术作出贡献。

## 1 材料

1290 型超高效液相色谱-6545 型超高质量精确度四极杆飞行时间质谱联用仪(美国 Agilent 公司), BSA2223S-CW 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司), S6104-07-271 型超声提取仪(美国芯硅谷公司), Oven FD53 型干燥器(德国 Binder 公司), Milli-Q 型纯水仪(美国 Millipore 公司)。

丹参酮 I, 丹参酮 II<sub>A</sub>, 丹参素, 丹酚酸 A, 丹酚酸 B, 原儿茶酸, 原儿茶醛, 迷迭香酸, 咖啡酸, 紫草酸, 异阿魏酸, 二氢丹参酮 I 对照品(北京嘉世玉禾化工技术研究院, 批号分别为 568-73-0, 568-72-9, 76822-21-4, 96574-01-5, 121521-90-2, LY0087, LY0088, LY0648, LY0557, LY0269, LY0004, LY0262, 对照品纯度均 > 98%); 隐丹参酮对照品(中国食品药品检定研究院, 批号 110852, 纯度 > 98%), *L*-苯丙氨酸对照品(上海惠兴生化试剂有限公司, 批号 151018, 纯度 > 98%), 电喷雾离子源(ESI)低浓度混合调谐液、六(1H, 1H, 3H-全氟丙氧基)磷氮对照品(美国 Agilent 公司, 批号分别为 G1969-85000, 58943-98-9, 纯度 > 98%), 丹参(北京三和药业有限公司, 批号 70270602, 经南京中医药大学中药鉴定教研室刘训红教授鉴定为唇形科植物

丹参 *Salvia miltiorrhiza* 的干燥根及根茎), 猪心血为广东珠海市生猪定点屠宰场现场提供的鲜猪心血, 黄酒(浙江古越龙山绍兴酒股份有限公司, 批号 SJB1108013), 水为超纯水, 甲醇、乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 炮制品的制备** 参照2008年版《上海市中药饮片炮制规范》中猪心血丹参项下的炮制工艺进行炮制<sup>[7]</sup>。取丹参生品用鲜猪心血、黄酒混合液拌匀, 使之吸尽, 干燥。每100 g丹参生品用鲜猪心血20 g, 加黄酒30 g混匀。

**2.2 供试品溶液的制备** 分别精密称取丹参生品及猪心血丹参粉末(过三号筛)3 g, 置100 mL具塞锥形瓶中, 加入甲醇30 mL超声提取30 min, 4 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min, 取上清液; 药渣加甲醇30 mL按相同条件提取、离心后取上清液; 药渣沉淀再加水30 mL按照以上条件超声提取2次。将上述4次超声提取所得上清液等比例合并, 精密吸取混合提取液1 mL置10 mL量瓶中, 加50%甲醇定容, 摇匀, 13 000 r·min<sup>-1</sup>高速离心10 min, 取续滤液, 经0.22 μm微孔滤膜滤过, 即得。

**2.3 对照品溶液制备** 精密称取丹参素, 丹酚酸A, 丹酚酸B, 紫草酸, 咖啡酸, 迷迭香酸, 原儿茶醛, 丹参酮I, 丹参酮II<sub>A</sub>, 原儿茶酸, 异阿魏酸, 隐丹参酮, 二氢丹参酮I, L-苯丙氨酸对照品适量, 加甲醇制成质量浓度分别为1.575, 1.330, 1.422, 4.860, 1.110, 4.625, 5.000, 2.060, 1.138, 3.950, 2.140, 1.139, 1.615, 1.000 g·L<sup>-1</sup>的对照品母液。

**2.4 色谱条件** ACQUITY UPLC® C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm), 流动相0.1%甲酸水溶液(A)-0.1%甲酸乙腈溶液(B)梯度洗脱(0~1 min, 8% B; 1~1.5 min, 8%~20% B; 1.5~4 min, 20% B; 4~5 min, 20%~60% B; 5~9 min, 60%~70% B; 9~10 min, 70%~95% B; 10~13 min, 95% B), 每次进样后使用初始流动相比比例平衡3 min, 流速0.3 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温40℃, 负离子模式进样量5 μL, 正离子模式进样量1 μL。

**2.5 质谱条件** UPLC-Q-TOF/MS正、负离子模式下分别采集数据, 离子源为电喷雾离子源(ESI), 干燥气流速10 L·min<sup>-1</sup>, 干燥气温度325℃, 保护气温度350℃, 保护气流速10 L·min<sup>-1</sup>, 雾化器压力275.8 kPa。正离子模式下喷嘴电压500 V, 毛细管电压4 kV, 扫描范围m/z 50~1 200; 负离子模式下喷嘴电压1.5 kV, 毛细管电压3.5 kV, 扫描范围m/z

50~1 200。质谱仪使用前, 准确质量数用ESI低浓度混合调谐液在m/z 0~1 700进行校正, 误差<3 ppm; 样品分析过程中, 使用对照品六(1H, 1H, 3H-全氟丙氧基)磷氮(C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>F<sub>24</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>P<sub>3</sub>)正离子模式在线校正m/z 922.009 8, 负离子模式在线校正m/z 966.000 7。

**2.6 丹参化学成分数据库的建立** 根据天然产物词典(DNP)数据, 共收集了丹参120种水溶性及脂溶性化合物成分信息, 建立丹参化学成分数据库。

**2.7 猪心血丹参炮制前后的UPLC-Q-TOF/MS分析** 按2.4和2.5项下条件进行检测, 获得丹参生品和猪心血炮制品的UPLC-Q-TOF/MS总离子流图, 见图1, 2。通过化合物分子式查找方法及二级质谱特征的解析检测出45种丹参化合物, 见表1; 通过化合物分子特征查找方法及二级质谱特征的解析鉴定14种未包含于数据库中成分, 见表2。

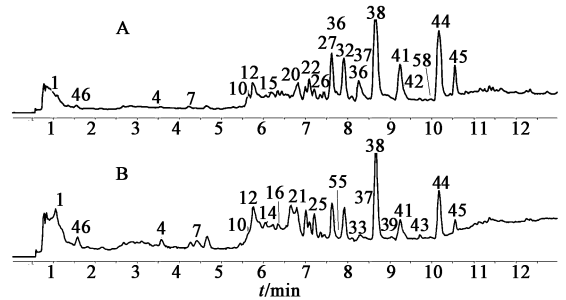


图1 丹参(A)和猪心血丹参(B)在正离子模式下的总离子流色谱  
Fig.1 Total ion current chromatograms of raw products(A) and processed products with porcine cardiac blood(B) of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* under positive ion mode

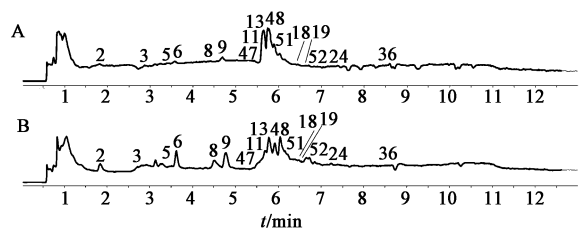


图2 丹参(A)和猪心血丹参(B)在负离子模式下的总离子流色谱  
Fig.2 Total ion current chromatograms of raw products(A) and processed products with porcine cardiac blood(B) of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* under negative ion mode

**2.7.1 根据对照品定位和质谱数据分析** 2号峰( $t_R = 1.629$  min)在负离子模式下获得的分子离子峰经数据库匹配, 分子式为C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>, 其保留时间和质谱行为与丹参素对照品和文献[8]一致, 据此推断为丹参素。3号峰( $t_R = 2.779$  min)在负离子模式下获得的分子离子峰经数据库匹配, 分子式为

表 1 丹参数据库中化学成分的 UPLC-Q-TOF/MS 分析

Table 1 UPLC-Q-TOF/MS analysis of chemical components in database of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*

编号	$t_R$ /min	分子式	$m/z$	误差 /ppm	MS/MS	化合物	离子 模式	峰面积 变化值 <sup>3)</sup>
1	1.242	C <sub>7</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	140.070 5	-0.93	125.027 1, 112.076 0, 54.962 7	5-(methoxymethyl)-1H-pyrrole-2-carbaldehyde	正	0.17 <sup>2)</sup>
2	1.629	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	197.045 4	-1.00	179.035 7, 162.849 9, 135.045 6	丹参素 <sup>1)</sup>	负	-0.57 <sup>2)</sup>
3	2.779	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	137.024 2	-1.38	108.023 3, 91.035 1	原儿茶醛 <sup>1)</sup>	负	0.10 <sup>2)</sup>
4	3.394	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	341.065 9	1.94	323.054 9, 295.059 3, 277.049 1, 249.054 6	丹酚酸 G	正	0.36 <sup>2)</sup>
5	3.408	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	313.071 8	-0.08	269.082 2, 159.045 2, 109.033 0	丹酚酸 F	负	0.94 <sup>2)</sup>
6	3.408	C <sub>26</sub> H <sub>2</sub> O <sub>10</sub>	491.097 3	-2.03	313.072 7, 269.082 9, 159.046 3	丹酚酸 C	负	0.56 <sup>2)</sup>
7	4.321	C <sub>27</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	539.119 1	1.15	521.118 6, 323.055 6, 269.100 0, 181.141 6	丹酚酸 H/I/J/T 或其异构体	正	-
8	4.327	C <sub>27</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	537.104 4	0.64	339.051 7, 295.061 4, 185.024 1	丹酚酸 H/I/J 或其异构体	负	-
9	4.799	C <sub>42</sub> H <sub>40</sub> O <sub>21</sub>	879.197 1	-2.41	681.145 9, 519.094 6, 483.090 0, 321.044 5, 197.047 0	salvinoside	负	-0.65 <sup>2)</sup>
10	5.529	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	341.066 0	1.45	323.052 4, 295.067 4, 279.079 7, 251.101 4, 137.209 6	multiolignanolate C/D	正	-0.46 <sup>2)</sup>
11	5.535	C <sub>26</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	493.115 0	1.54	178.977 5, 162.839 6, 135.045 4	丹酚酸 A <sup>1)</sup>	负	-0.39 <sup>2)</sup>
12	5.678	C <sub>27</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	539.118 8	0.85	521.109 1, 323.055 9, 269.081 9, 181.050 5	紫草酸 <sup>1)</sup>	正	-0.43 <sup>2)</sup>
13	5.684	C <sub>36</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	717.147 5	2.07	591.095 1, 321.040 9, 339.051 0	丹酚酸 B <sup>1)</sup>	负	-0.24 <sup>2)</sup>
14	6.009	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>	313.107 5	1.40	285.155 0, 269.164 2, 253.112 3, 199.147 9, 171.083 8	丹参二醇 C	正	-
15	6.216	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	313.143 5	0.60	285.422 0, 269.152 1, 253.083 9, 171.082 0	丹参酚醌 I	正	-
16	6.315	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	313.144 1	2.64	295.141 1, 277.105 6, 267.159 2, 253.114 5, 249.122 2	丹参酚醌 II 或其异构体	正	-0.23 <sup>2)</sup>
17	6.398	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	283.097 0	2.29	265.107 5, 237.093 4, 277.101 4, 195.087 8, 181.149 4, 165.180 6, 153.056 9, 141.096 4	15,16-二氢去甲丹参酮	正	-
18	6.429	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>	311.092 1	-1.29	311.094 5, 267.103 7, 223.115 1	丹参二醇 A	负	0.44 <sup>2)</sup>
19	6.768	C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> O <sub>5</sub>	331.154 2	-3.00	298.157 2, 283.134 4, 268.146 5, 253.122 4	salviaalba acid	负	-0.31 <sup>2)</sup>
20	6.787	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>	311.128 5	2.17	295.141 3, 267.159 9, 225.139 0, 185.182 6	丹参酮 II <sub>B</sub>	正	-
21	7.027	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	297.112 6	1.57	270.174 1, 237.131 2, 223.162 4, 211.172 5, 183.088 8	tanshinol B	正	-0.16 <sup>2)</sup>
22	7.027	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub>	341.139 2	2.39	281.130 2, 263.129 3, 235.116 5	小红参醌丙	正	-0.19 <sup>2)</sup>
23	7.126	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>	297.149 4	2.93	270.148 9, 253.122 5, 237.091 1, 223.111 4	异隐丹参酮 II 或其异构体	正	-
24	7.149	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	313.144 3	-0.61	313.146 2, 269.154 8, 241.793 9, 213.151 6	新隐丹参酮	负	-
25	7.267	C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	309.112 7	2.54	294.087 9, 281.117 5, 263.106 5, 235.109 4	丹参醌	正	0.45 <sup>2)</sup>

续表 1

编号	$t_R$ /min	分子式	$m/z$	误差 /ppm	MS/MS	化合物	离子 模式	峰面积 变化值 <sup>3)</sup>
26	7.358	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	281.154 1	1.90	266.130 1, 252.142 1, 238.135 9, 221.148 5	去氢丹参新酮	正	-
27	7.524	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	279.102 0	1.69	261.115 9, 233.139 4, 205.167 8, 169.171 4	二氢丹参酮 I <sup>1)</sup>	正	-
28	7.540	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>	297.149 2	2.38	270.148 9, 253.122 5, 237.091 1, 223.111 4	异隐丹参酮 II 或其异构体	正	-
29	7.697	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	273.184 9	0.55	255.202 2, 243.210 3, 199.184 5, 171.184 1, 147.086 0, 95.085 9	紫丹参萜醚	正	-0.21 <sup>2)</sup>
30	7.764	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>	339.123 4	2.03	279.116 1, 261.115 2	methyl tanshinate	正	-
31	7.764	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	279.102 0	1.62	219.072 9, 233.135 1, 205.189 6, 190.206 8, 169.171 2	亚甲基丹参醌/异二氢丹参酮	正	-
32	7.813	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	281.117 8	2.16	281.132 4, 263.129 7, 235.153 2, 207.181 7, 192.172 9, 169.170 6	trijuganone B	正	-
33	7.979	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>	295.133 4	1.82	280.107 0, 262.121 2, 249.121 5, 225.138 1, 185.182 5	异丹参酮 II <sub>A</sub>	正	-
34	8.045	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	269.117 7	2.26	269.172 8, 263.129 9, 235.152 9	丹参螺缩酮内酯或其异构体	正	-0.08 <sup>2)</sup>
35	8.186	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	267.138 3	1.49	250.210 5, 235.091 7, 207.181 7, 179.175 2, 171.080 2	4-亚甲丹参新酮	正	-
36	8.450	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	301.216 6	0.81	271.188 3, 256.172 8, 241.158 7, 177.187 3	柳杉酚	正	-
36	8.481	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	299.201 7	-0.12	299.203 3, 277.184 0	柳杉酚	负	-
37	8.459	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	277.086 4	1.70	249.121 2, 234.074 1, 193.178 8, 178.081 7	丹参酮 I <sup>1)</sup>	正	0.05 <sup>2)</sup>
38	8.525	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>	297.148 8	1.18	282.138 5, 279.153 1, 268.130 4, 254.122 9, 251.174 1	隐丹参酮 <sup>1)</sup>	正	-
39	8.781	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	265.122 7	1.77	250.128 0, 232.132 9, 219.169 5, 204.174 1, 195.156 9, 179.179 4, 167.194 6, 155.096 7	2-isopropyl-8-methyl-3, 4-phenanthraquinone	正	-
40	8.788	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	265.123 1	-1.22	265.123 8, 249.097 7	4-亚甲丹参新酮	负	-
41	9.030	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	279.102 0	1.49	261.154 9, 233.139 3, 205.167 6, 190.158 5	1,2-二氢丹参酮	正	-
42	9.179	C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	293.117 8	2.91	278.234 0, 261.154 4, 247.144 2, 219.229 7	去氢丹参酮 II	正	-
43	9.187	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	297.112 1	0.59	297.154 5, 282.136 2, 268.128 5, 254.122 1, 251.173 0	丹参酮 VI	正	-
44	9.948	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>	295.133 2	1.45	280.121 6, 277.102 5, 262.121 6, 249.122 5, 234.144 7	丹参酮 II <sub>A</sub> <sup>1)</sup>	正	-
45	10.403	C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	283.169 8	2.19	265.181 6, 240.153 3, 223.163 1, 195.197 6, 181.157 1	丹参新酮	正	-

注: <sup>1)</sup>与对照品比对;与丹参生品峰面积均值比较<sup>2)</sup> $P < 0.05$ ; <sup>3)</sup>炮制后峰面积与炮制前峰面积的差值除以炮制前峰面积;“-”表示无明显变化(表 2 同)。

C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>, 其保留时间和质谱行为与原儿茶醛对照品和文献[9]一致, 据此推断为原儿茶醛。13 号峰( $t_R = 5.684$  min)在负离子模式下所得分子离子峰经数据库匹配, 分子式 C<sub>36</sub>H<sub>30</sub>O<sub>16</sub>, 其保留时间和质谱

行为与丹酚酸 B 对照品一致, 据此推断为丹酚酸 B。27 号峰( $t_R = 7.524$  min)在正离子模式下获得的分子离子峰经数据库匹配, 分子式为 C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>, 其保留时间和质谱行为与二氢丹参酮 I 对照品

表 2 丹参数据库外化学成分的 UPLC-Q-TOF/MS 分析

Table 2 UPLC-Q-TOF/MS analysis of chemical components outside database of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*

编号	$t_R$ /min	分子式	$m/z$	误差 /ppm	MS/MS	化合物名称	离子 模式	峰面积 变化值 <sup>3)</sup>
46	1.669	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	166.086 7	2.41	150.191 1, 131.128 8, 120.085 7, 103.132 2	L-苯丙氨酸 <sup>1)</sup>	正	0.37 <sup>2)</sup>
47	5.423	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>	359.077 2	0.00	197.025 1, 179.035 0, 161.025 0	迷迭香酸 <sup>1)</sup>	负	-
48	5.804	C <sub>36</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	701.151 2	0.00	519.092 8, 503.106 2, 321.040 3	3''-deoxy-salvianolic acid B	负	-0.46 <sup>2)</sup>
49	5.846	C <sub>24</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	501.104 8	2.00	235.063 4, 220.040 8, 207.069 1, 193.053 1	二阿魏酰酒石酸	负	-
50	5.959	C <sub>28</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	551.118 3	-2.18	353.065 8, 321.040 2, 235.060 6, 178.026 8	丹酚酸 I 甲酯及其异构体	负	-0.24 <sup>2)</sup>
51	6.134	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>	329.233 2	-0.30	313.107 7, 287.201 8, 224.128 6, 171.102 3, 99.926 2	pinellic acid	负	0.95 <sup>2)</sup>
52	6.714	C <sub>22</sub> H <sub>26</sub> O <sub>6</sub>	387.181 0	2.07	267.127 1, 121.064 7, 105.070 3	19-acetoxy-19-deoxocetexone	正	-
53	7.054	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	287.201 3	2.44	257.214 6, 229.167 8, 203.171 2, 137.082 6	przewalskin Y1	正	-0.18 <sup>2)</sup>
54	7.170	C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> O <sub>6</sub>	415.212 4	2.17	119.085 9	salvia apiana diterpenoid	正	-
55	7.556	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>	297.149 2	2.36	297.155 9, 269.174 2, 171.183 7	异隐丹参酮	正	-
56	7.841	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O	235.112 2	2.13	220.140 9, 202.146 5, 192.171 8, 179.178 2	dibenzalacetone	正	-
57	9.541	C <sub>8</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	149.023 6	2.01	121.077 8, 93.038 2, 65.043 7	邻苯二甲酸酐	正	-
58	9.549	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	301.141 6	-5.98	271.160 7, 256.172 2, 241.159 4, 203.174 5, 177.095 6	salvianonol	正	-
59	9.956	C <sub>21</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>3</sub>	340.191 1	1.18	277.138 1, 266.115 6, 249.159 4, 234.105 8, 207.085 1	dehydropiperonaline	正	-

一致, 据此推断为二氢丹参酮 I。37 号峰 ( $t_R = 8.459$  min) 在正离子模式下获得的分子离子峰经数据库匹配, 分子式为 C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>, 其保留时间和质谱行为与丹参酮 I 对照品一致, 据此推断为丹参酮 I。38 号峰 ( $t_R = 8.525$  min) 在正离子模式下获得的分子离子峰经数据库匹配, 分子式为 C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub>, 其保留时间和质谱行为与隐丹参酮对照品一致, 据此推断为隐丹参酮。44 号峰 ( $t_R = 9.948$  min) 在正离子模式下获得的分子离子峰经数据库匹配, 分子式为 C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>O<sub>3</sub>, 其保留时间和质谱行为与丹参酮 II<sub>A</sub> 对照品一致, 据此推断为丹参酮 II<sub>A</sub>。46 号峰 ( $t_R = 1.669$  min) 在正离子模式下获得的分子离子峰, 分子式为 C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>, 其保留时间和质谱行为与 L-苯丙氨酸对照品一致, 据此推断为 L-苯丙氨酸。

**2.7.2** 根据质谱数据和文献参照分析 4 号峰 ( $t_R = 3.394$  min) 在正离子模式下获得的分子离子峰有 341.065 9 [M + H]<sup>+</sup> 的碎片离子, 经数据库匹配, 分子式为 C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>, 二级质谱碎片峰分别为

323.054 9 [M + H - H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 295.059 3 [M + H - H<sub>2</sub>O - CO]<sup>+</sup>, 277.049 1 [M + H - 2H<sub>2</sub>O - CO]<sup>+</sup>, 249.054 6 [M + H - H<sub>2</sub>O - 2CO]<sup>+</sup>, 与文献[8]中丹酚酸 G 一致, 故推断为丹酚酸 G。5 号峰 ( $t_R = 3.408$  min) 在负离子模式下获得的分子离子峰有 313.071 8 [M - H]<sup>-</sup> 的碎片离子, 经数据库匹配, 分子式为 C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>, 二级质谱碎片峰分别为 269.082 2 [M - H - CO<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, 159.045 2 [M - H - CO<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, 109.033 0 [M - H - C<sub>11</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>]<sup>-</sup>, 与参考文献中丹酚酸 F 二级碎片一致<sup>[10]</sup>, 故推断为丹酚酸 F。25 号峰 ( $t_R = 7.267$  min) 在正离子模式下获得的分子离子峰有 309.112 7 [M + H]<sup>+</sup> 的碎片离子, 经数据库匹配, 分子式为 C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>, 二级质谱碎片峰分别为 294.087 9 [M + H - CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 281.117 5 [M + H - CO]<sup>+</sup>, 263.106 5 [M + H - CO - H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 235.109 4 [M + H - 2CO - H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 与参考文献中丹参醛一致<sup>[8]</sup>, 故推断为丹参醛。47 号峰 ( $t_R = 5.423$  min) 在负离子模式下获得的分子离子峰有

359.077 2 [M - H]<sup>-</sup> 的碎片离子,分子式 C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>O<sub>8</sub>, 二级质谱碎片峰分别为 197.025 1 [M - H - C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>]<sup>-</sup>, 179.035 0 [M - H - C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub> - H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup>, 161.025 0 [M - H - C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub> - 2H<sub>2</sub>O]<sup>-</sup>, 与参考文献中迷迭香酸一致<sup>[11]</sup>, 故推断为迷迭香酸。

### 2.8 猪心血丹参炮制前后化学成分的变化分析

通过对丹参生品和猪心血丹参的离子峰数目和峰面积比较,结果共鉴别出 59 个成分,丹参经猪心血炮制后,未发现新的成分产生,共有 25 种化学成分峰面积发生显著变化,其中有 10 种化合物峰面积显著升高;15 种化合物峰面积显著降低,见表 1,2。

### 3 讨论

丹参具有祛瘀止痛、活血通经、清心除烦等功效,其有效成分主要包括丹酚酸类的水溶性成分和丹参酮类的脂溶性成分<sup>[12]</sup>。清代孟河医家为了增强丹参的人脑补血安神作用,创新了丹参的炮制品种——猪心血丹参<sup>[13]</sup>。猪心血,为我国传统中药,历代孟河医派医家常用其和丸作养心安神药之向导,治疗心神不宁、心悸怔忡及痰迷心窍等证。猪心血中除了具有补血作用的维生素和铁等营养成分,还含有丰富的蛋白成分。猪血蛋白包括血红蛋白和血浆蛋白,进入人体首先被胃蛋白酶消化成较稳定的具有生物活性的肽段,实验研究证实其中一部分小分子活性肽能被人体小肠直接吸收进入血液循环而在体内产生生物学效应<sup>[14-15]</sup>。现代研究表明,丹参脂溶性和水溶性成分均能与血浆蛋白相互作用形成复合物<sup>[16-18]</sup>,脂溶性成分引入氨基酸或短肽后使其成为盐类,能很大程度上增加其溶解性,从而提高了药物的功效,并降低其不良反应<sup>[19]</sup>;水溶性丹酚酸类成分由于胃肠道黏膜渗透性低不易被小肠吸收入血,因而生物利用度也低<sup>[20]</sup>,而且丹参部分有效成分很难通过血脑屏障<sup>[21-23]</sup>,因此,与肽类结合将有助于提高其吸收入血入脑的浓度。

丹参水溶性成分包括丹酚酸 A, B, C, D, E, F 和 G, 丹参素, 原儿茶醛, 迷迭香酸等, 具有抗氧化、抗凝血、抗血栓形成、抗心肌缺血等作用, 是丹参活性祛瘀的主要活性成分; 脂溶性成分包括丹参酮 I, 丹参酮 II<sub>A</sub>, 丹参酮 II<sub>B</sub>, 隐丹参酮, 丹参酮 V, 丹参醛, 丹参二醇等, 具有改善血液循环、抑制血小板聚集、提高耐缺氧能力、改善冠状动脉供血等药理作用<sup>[24-27]</sup>。本文通过液质联用技术比较猪心血丹参炮制前后的化学成分变化结果显示, 猪心血炮制后, 丹参水溶性成分(如原儿茶醛, 丹酚酸 C, F, G 等)的含量升高; 而丹参素, 丹酚酸 A, 丹酚酸 B 和紫草酸

均下降,可能是由于和猪心血血浆蛋白类成分相互作用形成了复合物,从而未被检测到。文献[23]也证实丹酚酸 A 和 B 的生物利用度低且难透过血脑屏障,而猪心血炮制丹参后,可能通过与血浆蛋白结合为复合物,再经胃肠道消化为生物活性小肽复合物,这样易被小肠吸收入血增加其入脑浓度;丹参脂溶性成分丹参醛,丹参二醇 A,丹参酮 I 和氨基酸类成分 L-苯丙氨酸峰面积均显著增高,文献[23]研究表明脂溶性成分更易透过血脑屏障,且氨基酸类成分含量与脑缺血密切相关<sup>[28-29]</sup>,提示这些成分含量的变化推测可能与猪心血促进丹参治疗脑缺血作用有关。此外,猪心血的主要成分为蛋白类,经胃肠道消化为肽类及氨基酸类成分,实验结果也显示 L-苯丙氨酸含量增加,后续将对猪心血丹参炮制前后肽类和氨基酸类成分进行指纹图谱分析,为进一步阐明猪心血丹参的物质基础和炮制机制提供科学依据,也为猪心血丹参饮片的质量控制和规范化研究提供参考。UPLC-Q-TOF/MS 技术能够较为直观准确地反映猪心血丹参炮制前后化学成分的变化情况,从整体上弥补了 HPLC 和 UPLC 分析的不足,对进一步阐明猪心血丹参药效物质基础和炮制机制提供了重要的实验依据。

### [参考文献]

- [1] 张琪,曹震,周奇峰. 孟河医派传承特色探析[J]. 江苏中医药, 2010, 42(12): 1-4.
- [2] 张琪,刘产明,朱月琴,等. 孟河医学临床特色炮制规范化研究[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(6): 2350-2352.
- [3] 徐晓晶,徐雨敏,沈春锋,等. 孟河医派徐迪华治疗咳嗽经验用药分析研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(21): 4301-4305.
- [4] 中医研究院中药研究所,北京药品生物制品检定所. 中药炮制经验集成[M]. 北京:人民卫生出版社, 1963: 27.
- [5] 王静,吕佳,袁子民,等. 猪胆汁炮制对黄连中生物碱类成分溶出的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(5): 5-8.
- [6] 颜晓静,刘产明,曹震,等. 孟河医派特色猪心血丹参炮制历史沿革及现代研究进展[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(15): 3101-3104.
- [7] 上海市食品药品监督管理局. 上海市中药饮片炮制规范[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2015.
- [8] YANG S T, WU X, RUI W, et al. UPLC/Q-TOF-MS analysis for identification of hydrophilic phenolics and lipophilic diterpenoids from Radix Salviae Miltiorrhizae

- [ J ]. Acta Chromatogr, 2015, doi: 10.1556/AChrom.27.2015.4.9.
- [ 9 ] ZHU J, YI X, ZHANG J, et al. Chemical profiling and antioxidant evaluation of Yangxinshi tablet by HPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS combined with DPPH assay [ J ]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2017, 1060:262-271.
- [ 10 ] 王少敏, 胡青, 季申. GC/MS 法和 UPLC/Q-TOF-MS 法研究丹香冠心注射液中的有效成分 [ J ]. 中成药, 2012, 34 ( 1 ) : 78-84.
- [ 11 ] ZHENG L, CONG H J, WU B, et al. HPLC-Q-TOF-MS/MS analysis of the constituents in the rat biological fluids after oral administration of Qing Ru Xiao granules [ J ]. J Chromatogr Sci, 2015, 53 ( 9 ) : 1562-1569.
- [ 12 ] JIANG M, WANG X Y, ZHOU W Y, et al. Cerebral protection of salvianolic acid A by the inhibition of granulocyte adherence [ J ]. Am J Chin Med, 2011, 39 ( 1 ) : 111-120.
- [ 13 ] 张元凯, 时雨苍, 杨伯堂, 等. 孟河四家医集 [ M ]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1985: 793, 984.
- [ 14 ] Möller N P, Scholz-Ahrens K E, Roos N, et al. Bioactive peptides and proteins from foods: indication for health effects [ J ]. Eur J Nutr, 2008, 47 ( 4 ) : 171-182.
- [ 15 ] Iwai K, Hasegawa T, Taguchi Y, et al. Identification of food-derived collagen peptides in human blood after oral ingestion of gelatin hydrolysates [ J ]. J Agric Food Chem, 2005, 53 ( 16 ) : 6531-6536.
- [ 16 ] 姜吉刚. 荧光光谱法研究丹参酮 I 与人血清白蛋白的相互作用 [ J ]. 理化检验: 化学分册, 2010, 46 ( 11 ) : 1286-1288.
- [ 17 ] PENG X, QI W, HUANG R L, et al. Elucidating the influence of gold nanoparticles on the binding of salvianolic acid B and rosmarinic acid to bovine serum albumin [ J ]. PLoS One, 2015, 10 ( 4 ) : e0118274.
- [ 18 ] PENG X, WANG X C, QI W, et al. Deciphering the binding patterns and conformation changes upon the bovine serum albumin-rosmarinic acid complex [ J ]. Food Funct, 2015, 6 ( 8 ) : 2712-2726.
- [ 19 ] Drag-Zalesinska M, Kulbacka J, Saczko J, et al. Esters of betulin and betulinic acid with amino acids have improved water solubility and are selectively cytotoxic toward cancer cells [ J ]. Bioorg Med Chem Lett, 2009, 19 ( 16 ) : 4814-4817.
- [ 20 ] GAO D Y, HAN L M, ZHANG L H, et al. Bioavailability of salvianolic acid B and effect on blood viscosities after oral administration of salvianolic acids in beagle dogs [ J ]. Arch Pharm Res, 2009, 32 ( 5 ) : 773-779.
- [ 21 ] XU M, FU G, QIAO X, et al. HPLC method for comparative study on tissue distribution in rat after oral administration of salvianolic acid B and phenolic acids from *Salvia miltiorrhiza* [ J ]. Biomed Chromatogr, 2007, 21 ( 10 ) : 1052-1063.
- [ 22 ] 胡绍英. 丹参酚酸体内代谢规律及其穿透血脑屏障特性研究 [ D ]. 南京: 南京中医药大学, 2014.
- [ 23 ] 刘胜敏, 杨志宏, 孙晓波. LC-MS/MS 测定 6 种丹参主要有效成分及其脑靶向分布研究 [ J ]. 中国中药杂志, 2014, 39 ( 9 ) : 1704-1708.
- [ 24 ] HU P, LIANG Q L, LUO G A, et al. Multi-component HPLC fingerprinting of Radix Salviae Miltiorrhizae and its LC-MS-MS identification [ J ]. Chem Pharm Bull ( Tokyo ), 2005, 53 ( 6 ) : 677-683.
- [ 25 ] LIU M, LI Y G, ZHANG F, et al. Chromatographic fingerprinting analysis of Danshen root ( *Salvia Miltiorrhiza Radix et Rhizoma* ) and its preparations using high performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray mass spectrometry ( HPLC-DAD-ESI/MS ) [ J ]. J Sep Sci, 2007, 30 ( 14 ) : 2256-2267.
- [ 26 ] ZHOU L, ZUO Z, Chow M S. Danshen: an overview of its chemistry, pharmacology, pharmacokinetics, and clinical use [ J ]. J Clin Pharmacol, 2005, 45 ( 12 ) : 1345-1359.
- [ 27 ] 吴鹏, 李慧芬, 张学兰, 等. HPLC-TOF/MS 分析丹参酒炙前后化学成分的变化 [ J ]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22 ( 11 ) : 6-9.
- [ 28 ] 钟明, 陈虹, 姜勇, 等. 松果菊苷对脑缺血大鼠纹状体细胞外液中氨基酸水平的影响 [ J ]. 中国药理学通报, 2012, 28 ( 3 ) : 361-365.
- [ 29 ] 吉恋英, 杨志宏, 孙晓波. 微透析技术在脑内药物代谢动力学及脑缺血研究中的应用 [ J ]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18 ( 12 ) : 303-307.

[ 责任编辑 刘德文 ]