

高速逆流色谱-UPLC-Q-TOF-MS/MS 法分离制备延胡索中脱氢紫堇碱和海罂粟碱

张晓峰¹, 张宏^{1,3}, 李小云², 李琪^{1,3*}

1. 四川师范大学生命科学学院, 四川 成都 610101

2. 四川师范大学化学与环境科学学院, 四川 成都 610068

3. 四川师范大学植物资源应用与开发研究所, 四川 成都 610101

摘要: 目的 采用高速逆流色谱(HSCCC)快速分离延胡索提取物中脱氢紫堇碱和海罂粟碱。方法 以氯仿-正丁醇-甲醇-水(4:1:2:5)混合溶剂作为两相溶剂体系, 正转, 转速为800 r/min, 体积流量为10.0 mL/min, 洗脱时间30 min; 反转, 转速为800 r/min, 体积流量10.0 mL/min, 洗脱时间30 min, 检测波长282 nm, 1次进样量50 mg; HPLC-UV法分析目标产物纯度; 超高效液相色谱串联四级杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS/MS)法对目标产物进行结构鉴定。结果 制备得到7.1 mg和3.4 mg 2种单体, 收率分别为81.43%和91.11%, 利用HPLC法测得其质量分数分别为98.9%和94.3%; 经HPLC、紫外光谱和UPLC-Q-TOF-MS/MS鉴定, 分别为脱氢紫堇碱和海罂粟碱。结论 该方法快速、简便, 可以作为对延胡索中脱氢紫堇碱和海罂粟碱的分离制备方法。

关键词: 高速逆流色谱法; 延胡索; 脱氢紫堇碱; 海罂粟碱; UPLC-Q-TOF-MS/MS; HPLC

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)24-4351-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.24.010

Isolation and identification of dehydrocorydaline and glaucine from *Corydalis Rhizoma* by using high-speed counter-current chromatography and UPLC-Q-TOF-MS/MS

ZHANG Xiao-feng¹, ZHANG Hong^{1,3}, LI Xiao-yun², LI Qi^{1,3}

1. College of Life Science of Sichuan Normal University College, Chengdu 610101, China

2. College of Chemistry and Environmental Science, Sichuan Normal University College, Chengdu 610068, China

3. Institute of Plant Resources Application and Development Research, Sichuan Normal University College, Chengdu 610101, China

Abstract: Objective To isolate dehydrocorydaline and glaucine by high-speed counter-current chromatography (HSCCC) from the extraction of *Corydalis Rhizoma* (CR). **Methods** A mixture of chloroform-*n*-butanol-methanol-water (4:1:2:5) was used as the two phase solvent system both in forward and reversal direction, with a flow rate of 10.0 mL/min and a rotary speed of 800 r/min eluting for 30 min. The detection wavelength was 282 nm and injection volume was 50 mg. The purity of the target product was analyzed by HPLC-UV and the structure was identified by ultra performance liquid chromatography-tandem quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS/MS). **Results** Under optimized conditions, 7.1 mg and 3.4 mg of two compounds were obtained and their yields were 81.43% and 91.11% respectively. Their purities were 98.9% and 94.3% detected by HPLC. dehydrocorydaline and glaucine were identified through HPLC, ultraviolet absorbance, and UPLC-Q-TOF-MS/MS. **Conclusion** The result indicate that HSCCC is a powerful technique for the purification of dehydrocorydaline and glaucine from CR.

Key words: HSCCC; *Corydalis Rhizoma*; dehydrocorydaline; glaucine; UPLC-Q-TOF-MS/MS; HPLC

收稿日期: 2016-08-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30870257); 成都市科技惠民技术研发项目(2015-HM01-00617-SF)

作者简介: 张晓峰(1991—), 男, 硕士研究生, 主要从事天然产物研究。Tel: 18708156794 E-mail: 624028147@qq.com

*通信作者 李琪(1983—), 女, 实验师, 研究方向为天然产物化学。Tel: 13438317397 E-mail: liqi-99@163.com

延胡索 *Corydalis Rhizoma* (CR) 亦名元胡, 为罂粟科紫堇属植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎, 具有活血、行气和止痛的功效, 用于胸胁、脘腹疼痛、胸痹心痛、经闭痛经、产后瘀阻、跌扑肿痛^[1-3]。有研究发现延胡索中去氢紫堇碱 (dehydrocorydaline) 和海罂粟碱 (glaucine) 对慢性疼痛可能有很好的疗效, 并且没有耐药性^[4-5]。

高速逆流色谱 (high-speed counter-current chromatography, HSCCC) 是 20 世纪 60 年代发展起来的一种新型的液-液分配色谱技术, 作为一种新型的分离纯化技术, 操作方便、快捷, 分离度高, 液-液分配体系选择广泛, 克服了由固相载体带来的样品结合、失活、污染等缺陷, 被广泛应用于天然产物活性成分的分离制备和中草药的分析鉴定^[6-9]。

近年来对延胡索的分离纯化方法研究中, Tong 等^[10]采用 1 次 HSCCC 法分离了 4 种异喹啉生物碱类化合物, 冯静等^[11]采用 1 次 HSCCC 法联合制备色谱分离了 4 种生物碱, 仅保证了化合物纯度, 但其收率未进行考察, 其他研究则多采用大孔吸附树脂和硅胶柱色谱, 或者采用制备高压液相色谱等方法^[12-14], 获得高纯度的产品往往需要反复地色谱和结晶, 步骤繁琐, 分离时间较长, 而且产品收率不高。本实验采用 1 次 HSCCC 技术选择合适的溶剂体系从延胡索的提取物中快速分离得到了脱氢紫堇碱和海罂粟碱单体, 并且采用超高效液相色谱串联四级杆飞行时间质谱 (UPLC-Q-TOF-MS/MS) 法对其结构进行鉴定^[15-19], 获得较高纯度和高收率的脱氢紫堇碱和海罂粟碱单体产品, 为这类化合物的分离纯化提供了一种快速简便的方法。

1 仪器与材料

TBE-300C 型高速逆流色谱仪, 上海同田生物技术有限公司; AB SCIEX Triple 4600 型 UPLC-MS/MS, 高分辨质谱仪, 美国 SCIEX 公司; DIONEX-Summit P680A DGP-6 型双三元高效液相色谱仪, 美国 Thermo Fisher 公司; Sartorius BP211D 精密电子天平, 德国 Sartorius 公司。

延胡索药材, 购置于四川德仁堂中药饮片有限公司, 并由成都中医药大学药学院邓赞教授鉴定为罂粟科紫堇属植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang, 批号为 130101; D101 大孔树脂, 粒度 0.3~1.25 mm, 规格 HG2-885-76, 天津市光复精细化工研究所; 色谱乙腈, 正丁醇、氯仿、甲醇、乙醇 (分析纯); 对照品脱氢紫堇碱, 批号 T-033-160912, 质

量分数 98.8%, 购于成都普菲德生物技术公司; 对照品海罂粟碱, 批号 B21272, 质量分数 98%, 购于上海源叶生物技术公司。

2 方法与结果

2.1 延胡索提取物的制备

取延胡索粉末 500 g 加 50%乙醇 10 L, 80 °C 回流提取 3 次, 每次 1 h。滤过合并提取液, 减压回收提取溶剂得浸膏 75.123 g。取 5 kg D101 大孔树脂用 95%乙醇活化后装入色谱柱中, 用蒸馏水洗柱至洗液无醇味。取浸膏 50 g 溶解于 1 L 蒸馏水中, 溶解后上 D101 大孔树脂柱, 静态吸附 12 h, 蒸馏水洗柱 10 个柱体积弃去水洗片段。用 30%乙醇洗脱 15 个柱体积, 合并洗脱液, 减压回收提取溶剂得粗提物干粉 9.815 g, 备用。

2.2 HSCCC 溶剂体系筛选

选取氯仿-正丁醇-甲醇-水 (4:1:2:5) 混合溶剂体系, 振摇后静置分层。再次振摇并记录分层时间为 22.2 s, 静置完全分层后取 4 mL 上相, 加入少量“2.1”项下制备的粗提物干粉, 充分震荡溶解, 移取 2 mL, 加入 2 mL 下相进行震荡萃取, 用 HPLC 分别测定萃取前以及萃取后上相中目标物的峰面积 (S), 按照下式计算其分配系数 (K) 为 0.70 和 1.29。根据 K 值和分层时间确定其为最佳分离体系。

$$K = (S_{\text{萃取前}} - S_{\text{萃取后}}) / S_{\text{萃取后}}$$

溶剂体系的选择是 HSCCC 成功分离的关键, 通常通过测定目标物质在溶剂体系中的 K 值来判断溶剂体系是否适合目标组分的分离。在 HSCCC 分离中, 目标物质在两相溶剂体系中的 K 值最适范围为 0.5~2.0, 且两相体系间的分层时间越短越好。根据延胡索粗提物的 D101 大孔树脂 30%乙醇洗脱片段的 HPLC 图谱结合所要分离的目标物的化学性质及常用溶剂体系, 实验中考察溶剂体系及 2 个目标化合物在该溶剂体系中的 K 值, 结果见表 1。从表中可以看出溶剂体系氯仿-正丁醇-甲醇-水 (4:1:2:5) 中化合物 1 和化合物 2 的 K 值均在 0.5~2.0, 且分层时间 < 25 s, 因此, 选择该溶剂体系作为 HSCCC 分离的溶剂体系。

2.3 HSCCC 分离方法确定

以氯仿-正丁醇-甲醇-水 (4:1:2:5) 混合液置于分液漏斗中, 充分震荡后静置分层, 分别取上下相, 超声脱气 20 min。上相作为流动相, 下相作为固定相。将固定相以 30 mL/min 的体积流量注满高速逆流色谱仪的螺旋管, 正转转速为 800 r/min,

表 1 目标化合物在不同比例氯仿-正丁醇-甲醇-水系中的 K 值

Table 1 K values of target components in different solvent systems of chloroform-*n*-butanol-methanol-water

氯仿-正丁醇-甲醇-水	分层时间/s	K 值	
		化合物 1	化合物 2
3 : 2 : 3 : 5	8.5	4.39	18.95
4 : 1 : 3 : 5	12.7	0.29	2.08
2 : 3 : 3 : 5	41.8	1.71	4.06
5 : 5 : 6 : 10	14.7	10.33	15.28
5 : 5 : 4 : 10	25.7	11.36	17.41
3 : 2 : 2 : 5	8.3	4.31	4.58
4 : 1 : 2 : 5	22.2	0.70	1.29
4 : 1 : 1 : 5	20.0	0.18	2.97
7 : 3 : 6 : 10	28.1	1.25	4.46

体积流量 10 mL/min 的条件泵入流动相, 温度为 25 ℃, 检测波长 282 nm 有下相流出时体系平衡, 称取“2.1”项下制备的粗提物干粉 50 mg, 用 20 mL 下相溶解后进样。正转反向洗脱 30 min 后反转转速为 800 r/min, 体积流量 10 mL/min 反转正向洗脱 30 min, 根据色谱图收集各个色谱峰组分。

在氯仿-正丁醇-甲醇-水 (4 : 1 : 2 : 5) 体系中, 化合物 1 主要保留在上相中, 所以在以上相为流动相, 下相为固定相的反向洗脱体系中, 化合物 1 易被洗脱。而化合物 2 在溶剂体系中多保留在下相, 反向洗脱不能洗脱出化合物 2, 因此在洗脱 30 min (1 个柱体积) 的条件下, 选择下相为流动相, 上相为固定相的正向洗脱, 化合物 2 易被下相洗脱, 其 HSCCC 分离图见图 1, 2 个化合物在 1 次分离中被完全分离。

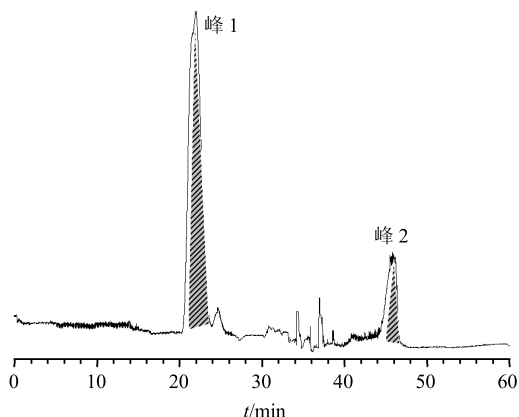


图 1 延胡索生物碱纯化物的 HSCCC 图
Fig. 1 HSCCC of alkaloids purified from CR

2.4 HPLC-UV 法分析目标物纯度

采用 HPLC 法对延胡索提取物的分离片段以及单一化合物进行纯度分析。

2.4.1 混合对照品溶液的配制 精密称取脱氢紫堇碱和海罂粟碱对照品适量至 25 mL 棕色量瓶中, 加色谱乙腈溶解, 定容至刻度, 摇匀, 配制成质量浓度分别为脱氢紫堇碱 811 μg/mL 和海罂粟碱 402 μg/mL 的混合对照品储备液。

2.4.2 色谱条件 Kromasil C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.2%冰乙酸的三乙胺水溶液 (pH 4.0), 二元梯度洗脱: 0~25 min, 10%~26%乙腈; 25~33 min, 26%乙腈; 33~55 min, 26%~80%乙腈; 55~60 min, 80%乙腈; 60~65 min, 80%~10%乙腈; 65~75 min, 10%乙腈; 体积流量 1 mL/min; 柱温 30 ℃; 进样 10 μL; 紫外检测波长 282 nm。理论板数以脱氢紫堇碱峰和海罂粟碱峰计算不低于 10 000, 色谱图见图 2。

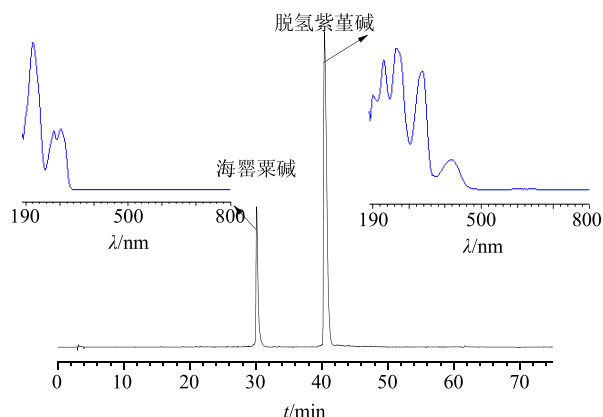


图 2 混合对照品 HPLC 图及紫外扫描图
Fig. 2 HPLC and 3D-Ultraviolet absorbance of the mixed reference substance solutions

2.4.3 供试品溶液的配制 精密称取“2.1”项下的粗提物干粉 5 mg 至 10 mL 量瓶中, 用色谱乙腈定容至刻度摇匀, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 滤液为粗提干粉供试品溶液。

2.4.4 线性关系考察 精密移取混合对照品储备液 0.1 mL 于 10 mL 量瓶中, 移取 0.1、0.2、0.4、0.6、1.2、1.8、3.6 mL 于 5 mL 量瓶中, 加乙腈定容至刻度摇匀, 按“2.4.2”色谱条件进行分析, 测定不同质量浓度的混合对照品溶液中各化合物的峰面积。以峰面积为纵坐标 (Y), 进样量为横坐标 (X), 进行回归分析, 得海罂粟碱线性方程 $Y=2.5108X-0.1284$, $r=0.9997$, 线性范围 4.020~402.00 μg/mL,

检出限 0.053 $\mu\text{g/mL}$, 定量限 0.026 $\mu\text{g/mL}$; 脱氢紫堇碱线性方程 $Y=0.834X-0.7341$, $r=0.9993$, 线性范围 8.107 4~810.74 $\mu\text{g/mL}$, 检出限 0.070 $\mu\text{g/mL}$, 定量限 0.035 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.4.5 精密度试验 取混合对照品溶液, 按照“2.4.2”项色谱条件重复进样 6 次, 记录色谱峰面积, 其中海罂粟碱峰面积的 RSD 值为 0.97%, 脱氢紫堇碱峰面积的 RSD 值为 0.84%, 结果表明仪器精密度良好。

2.4.6 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别放置 0、2、4、8、12、24 h 后, 按“2.4.2”项色谱条件测定峰面积, 其中海罂粟碱峰面积的 RSD 值为 1.05%, 脱氢紫堇碱峰面积的 RSD 值为 0.77%, 结果表明供试品溶液在 24 h 是稳定的。

2.4.7 重复性试验 精密称取延胡索粉末 6 份, 按照“2.1”方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.4.2”项色谱条件分别测定海罂粟碱和脱氢紫堇碱的峰面积, 计算其质量分数的 RSD 值分别为 1.37% 和 1.25%, 表明方法重复性高。

2.4.8 回收率试验 分别精密称取 5 mg 粗提物干粉 6 份置 10 mL 量瓶中, 再分别加入 1 mL 混合对照品储备液, 乙腈定容至刻度线, 摇匀, 按照“2.4.2”项色谱条件进样测定并计算, 其中脱氢紫堇碱平均加样回收率为 104.5%, RSD 值为 2.37%, 海罂粟碱的平均加样回收率为 99.05%, RSD 值为 1.82%。

2.5 样品测定

精密称取粗提物干粉 5 mg 以及分离得到的组分 I 7.1 mg 和组分 II 3.4 mg, 按照“2.4.3”项方法进行制备, 在“2.4.2”项色谱条件下进行测定, 得色谱峰面积, 带入“2.4.4”项线性回归方程, 计算脱氢紫堇碱和海罂粟碱的量。图谱见图 3。

2.5.1 定量测定结果 通过与对照品比对, 组分 I 和组分 II 的保留时间和 3D 紫外全波长扫描图分别与脱氢紫堇碱和海罂粟碱一致。通过标准曲线法计算得出粗提物干粉中脱氢紫堇碱质量分数为 17.44%, 海罂粟碱 7.46%, 组分 I 中脱氢紫堇碱 98.89%, 组分 II 中海罂粟碱 94.29%。

2.5.2 组分 I、II 收率测定结果 50 mg 粗提物中含有脱氢紫堇碱和海罂粟碱分别为 8.719 mg 和 3.731 mg, 通过 1 次纯化获得脱氢紫堇碱和海罂粟碱的质量分别为 7.1 mg 和 3.4 mg, 脱氢紫堇碱和海罂粟碱的收率为 81.43% 和 91.11%。

目标物收率 = 制备目标物的量 / 粗提物中目标物的量

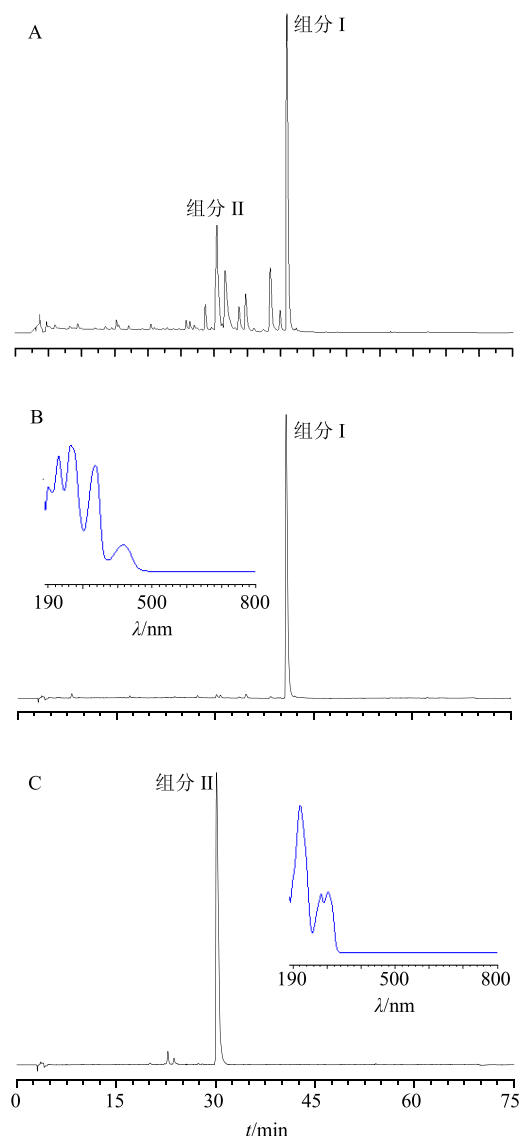


图 3 粗提物 (A)、组分 I (B) 和组分 II (C) 的 HPLC 图及紫外扫描图

Fig. 3 HPLC and 3D-Ultraviolet absorbance of crude extract (A), component I (B), and component II (C)

2.6 UPLC-Q-TOF-MS/MS 法对目标产物进行结构鉴定

2.6.1 色谱条件 色谱柱为 Kinetex XB-C₁₈ 柱 (100 mm×2.1 mm, 2.6 μm); 流动相为 0.05% 甲酸水溶液-乙腈, 梯度洗脱: 0~0.5 min, 10% 乙腈; 0.5~8 min, 10%~90% 乙腈; 8~12 min, 90% 乙腈; 12~15 min, 90%~10% 乙腈; 体积流量 0.2 mL/min; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 自动进样 2 μL 。理论板数以脱氢紫堇碱峰和海罂粟碱峰计算不低于 6 000。

2.6.2 质谱条件 Triple TOF 4600 高分辨质谱系统采用 ESI 离子源、采用 Positive 离子化模式, 质量

扫描范围 m/z : 100~1 000, 雾化气为氮气, 鞘气 (DP1) 为 379.225 kPa (55 psi), 辅助气 (DP2) 为 379.225 kPa (55 psi), 气帘气 (CUR) 为 172.375 kPa (25 psi), 雾化温度 600 °C, 采用 TOF-MS-Product Ion-IDA 扫描模式, TOF/MS 一级预扫描和触发的二级扫描 Product-Ion-IDA 离子积累时间为 600 ms, 150 ms 采用多重质量亏损 (MMDF) 和动态背景扣除 (DBS) 作为二级触发条件, 解簇电压 80 V, 离子源电压为 5 500 V/-5 500 V, 碰撞能量 (CE) 为 40 eV, 碰撞能量叠加 (CES) 为 (40±10) eV, 数据分析软件 Analyst TF1.6 Software (AB SCIEX, Foster City, CA)。

2.6.3 2 个化合物的 LC-MS/MS 的结构分析

(1) 组分 I 的结构鉴定: 图 4 中的一级质谱图显示组分 I 的准分子离子峰为 m/z 366.169 6, 与脱氢紫堇碱的理论质量数相差 -2.5×10^{-6} 。观察组分 I 的二级质谱图, 准分子离子 m/z 366.173 3 丢失 1 分子甲基形成 m/z 351.149 5 碎片离子, 而失去 1 分子 CH_4 形成 m/z 350.141 8 碎片离子, 再失去 1 分子羰

基形成碎片离子 m/z 322.146 4。这些碎片离子与文献中报道^[16,18]的脱氢紫堇碱的碎片离子基本相同。所以根据其精确质量数和碎片离子进一步推测组分 I 为脱氢紫堇碱。

(2) 组分 II 的结构鉴定: 图 5 中的一级质谱图显示组分 II 的准分子离子峰为 m/z 356.185 2, 与海罂粟碱的理论质量数相差 -2.8×10^{-6} 。观察组分 II 的二级质谱图, 准分子离子 m/z 356.185 2 丢失 1 分子甲氧基形成 m/z 325.142 1 碎片离子, 丢失 1 分子甲氧基和 1 分子甲基形成 m/z 310.118 5 碎片离子, 丢失 2 分子甲基形成 m/z 294.123 8 碎片离子, 失去 2 分子甲氧基和 1 分子甲基形成 m/z 279.100 0 碎片离子。上述碎片离子与文献中报道^[18,20]的海罂粟碱的碎片离子基本相同。所以根据其精确质量数和碎片离子进一步推测组分 II 为海罂粟碱。

经对照品对照后, 组分 I 与组分 II 保留时间分别为 40.08 min 和 30.12 min, 与对照品的出峰时间 40.02 min 和 30.07 min 基本能够吻合。可确定组分 I 与组分 II 分别为脱氢紫堇碱和海罂粟碱。

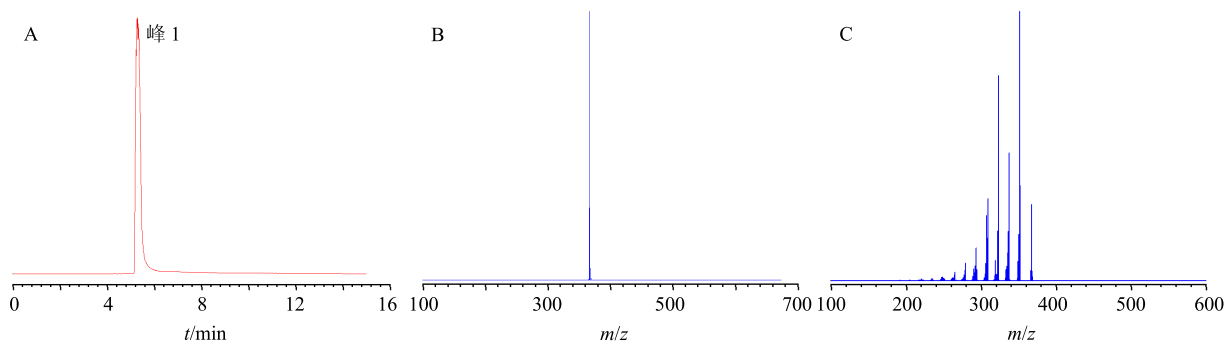


图 4 组分 I 的总离子流图 (A)、MS 图 (B) 和 MS/MS 图 (C)

Fig. 4 Total ion chromatogram (A), MS spectrum (B), and MS/MS spectrum (C) of component I

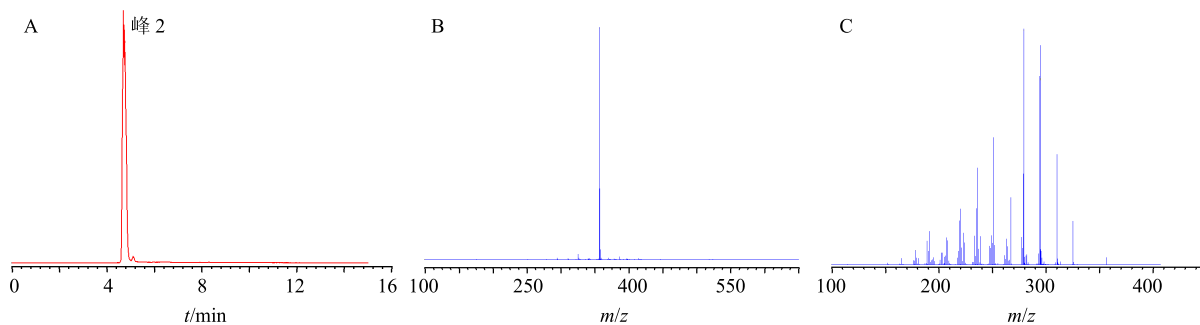


图 5 组分 II 的总离子流图 (A)、MS 图 (B) 和 MS/MS 图 (C)

Fig. 5 Total ion chromatogram (A), MS spectrum (B), and MS/MS spectrum (C) of component II

3 讨论

采用 HSCCC 以氯仿-正丁醇-甲醇-水 (4:1:2:5) 为四元溶剂系统从延胡索 D101 大孔树脂 30%

乙醇洗脱片段 (50 mg) 中分离得到脱氢紫堇碱 7.1 mg 和海罂粟碱 3.4 mg, 其收率分别为 81.43% 和 91.11%。经 HPLC 分析测得分离的脱氢紫堇碱和海

罂粟碱的质量分数为 98.9%和 94.3%。与传统的分离方法相比较, HSCCC 简便、快速、节省溶剂和时间, 实现了短时间内的高纯度、高得率产品的制备, 具有很好的使用价值。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 张永欣, 张 颖, 张启伟. 醋制延胡索微粉提取条件的研究 [J]. 中国中药杂志, 2003, 28(10): 57.
- [3] 张铁军, 许 浚, 韩彦琪, 等. 中药质量标志物 (Q-marker) 研究: 延胡索质量评价及质量标准研究 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1458-1467.
- [4] Liang X M. The analgesic components is discovered from *Rhizoma Corydalis*. [J]. *Curr Biol*, 2014, 24(2): 117-123.
- [5] 张笑恺. 元胡止痛方治疗偏头痛的功效成分分析和作用机制研究 [D]. 西安: 第四军医大学, 2015.
- [6] 严志宏, 黄秀珍, 顿珠次仁, 等. 高速逆流色谱分离制备裂叶独活中香豆素类成分 [J]. 中草药, 2015, 46(20): 3023-3027.
- [7] 刘 琳. 高速逆流色谱分离桑叶乙酸乙酯部位化学成分的研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.
- [8] 李文娟. 黄芩中汉黄芩素的高速逆流色谱制备及其抗肿瘤作用 [D]. 福州: 福建中医药大学, 2014.
- [9] 胡利锋, 廖晓兰, 柏连阳, 等. 硅胶柱色谱-高速逆流色谱法分离纯化羌活中佛手柑内酯 [J]. 中草药, 2013, 44(6): 701-704.
- [10] Tong S Q, Yan J Z. Preparative isolation and purification of alkaloids from *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang by high speed counter-current chromatography [J]. *Liquid Chromatogr*, 2007, 18(28): 2979-2989.
- [11] 冯 静, 王 晓, 于宗渊, 等. 延胡索中生物碱成分研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(6): 124-127.
- [12] 张少君. 延胡索中生物碱类化合物的分离纯化及指纹图谱研究 [D]. 大连: 大连理工大学, 2009.
- [13] 杨鑫宝, 刘扬子, 杨秀伟, 等. 磐安延胡索化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(16): 2201-2207.
- [14] Zhang J, Jin Y, Liu Y F, *et al*. Purification of alkaloids from *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang using preparative 2-D HPLC [J]. *Sep Sci*, 2009, 32(3): 1401-1406.
- [15] 任伟光, 武拉斌, 降 雪, 等. 豨莶草及其酒炙品 UPLC-Q-TOF/MS 分析 [J]. 中草药, 2014, 45(2): 181-187.
- [16] 孙明谦. 中药复杂样品电喷雾质谱分析方法研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2009.
- [17] 黄林芳, 李文涛, 王冬梅, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术研究酒苁蓉增效的物质基础 [J]. 中草药, 2013, 44(24): 3471-3475.
- [18] Sun M Q, Liu J X, Li C R, *et al*. Alkaloid profiling of the traditional Chinese medicine *Rhizoma Corydalis* using high performance liquid chromatography-tandem quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2014, 4(3): 208-216.
- [19] 李明潺, 王玉丽, 郭春宏, 等. UPLC-Q-TOF-MS 法同时测定平消片中 7 种成分 [J]. 中草药, 2015, 46(11): 1625-1628.
- [20] Eun-K J, Sun Y L, Se M Y *et al*. Identification of structurally diverse alkaloids in *Corydalis* species by liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Eur J Rapid Commun Mass Spectrom*, 2012, 26(8): 1661-1674.