

苦地丁化学成分和体内代谢产物的 LC-MS 鉴定

项 艳^{1,2}, 李木子^{1,2}, 谢亚萍^{1,2}, 曲晓洋^{1,2}, 谭晓斌^{1,2}, 崔国倩^{1,2}, 朱粉霞^{1,2*}

1. 南京中医药大学附属中西医结合医院, 江苏 南京 210028

2. 江苏省中医药研究院 国家中医药管理局中药口服释药系统重点实验室, 江苏 南京 210028

摘要: 目的 研究苦地丁 *Corydalis bungeana* 提取物中的化学成分和体内代谢产物, 探究其代表性成分质谱裂解规律。方法 采用高效液相色谱-电喷雾质谱联用技术 (HPLC-Q-TOF/MS), 正离子模式扫描, 对苦地丁提取物和大鼠口服苦地丁提取物后不同时间段内的血浆、胆汁、尿液和粪便分别进行检测分析, 通过与对照品和文献比对保留时间和质谱碎片信息, 确定化学成分归属及其裂解方式, 预测代谢产物的动态变化。结果 在苦地丁提取物中共鉴定得 31 个化合物, 其中共有 21 个化合物以原型进入体内; 并以紫堇灵为研究对象, 在大鼠血浆、胆汁、尿液和粪便中分别发现 3、3、4、4 个代谢产物。结论 借助 HPLC-Q-TOF/MS 方法鉴定了苦地丁体外化学成分和体内以原型存在的化学成分, 阐明了代表性成分紫堇灵的代谢产物及代谢规律, 推测苦地丁在体内发生了 I 相和 II 相代谢, 其中以 II 相代谢方式为主 (硫酸化、糖基化、甲基化和去甲基化), 为阐明苦地丁的药效物质基础提供依据。

关键词: 苦地丁; HPLC-Q-TOF/MS; 代谢产物; 紫堇灵; 原阿片碱

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)07-1949-15

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.07.004

LC-MS identification of chemical constituents and metabolites of *Corydalis bungeana*

XIANG Yan^{1,2}, LI Mu-zi^{1,2}, XIANG Yan^{1,2}, LI Mu-zi^{1,2}, XIE Ya-ping^{1,2}, QU Xiao-yang^{1,2}, Tan Xiao-bin^{1,2}, CUI Guo-qian^{1,2}, ZHU Fen-xia^{1,2}

1. The Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

2. Key Laboratory of Oral Drug Delivery System of Traditional Chinese Medicine, Jiangsu Academy of Traditional Chinese Medicine, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

Abstract: Objective To investigate the chemical components and metabolites in the extract of *Corydalis bungeana*, and to explore the mass spectrometry cleavage law of its representative components. **Methods** High-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry (HPLC-Q-TOF/MS) was used to adopt the positive ion mode scanning the extract and rat substance in different period. The plasma, bile, urine and faeces were separately detected and compared, with the standard and pieces of literature than retention time and mass spectrum information, the attribution of chemical constituents and their cracking mode. The dynamic change of metabolites was detected. **Results** A total of 31 compounds were identified in the extract, among which 21 compounds entered the body as the prototype. Besides, 3, 3, 4, and 4 metabolites were found in plasma, bile, urine and faeces of rats. **Conclusion** HPLC-Q-TOF/MS was used to identify the chemical constituents *in vitro* and *in vivo*, and the metabolites and metabolic rules of corydalis were elucidated. It was speculated that the metabolism of *Corydalis in vivo* occurred in phase I and phase II, and phase II was the main mode (sulfation, glycosylation, methylation, and demethylation). This study provides a basis for elucidating the pharmacodynamic material basis of *C. bungeana*.

Key words: *Corydalis bungeana* Turcz.; HPLC-Q-TOF/MS; metabolites; corydalis; protopine

收稿日期: 2021-09-23

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81473430); 江苏省医学创新团队项目 (CXTDB2017003)

作者简介: 项 艳, 女, 汉族, 江苏淮安人, 硕士研究生, 研究方向为中药药效物质基础。E-mail: yanxiang202010@126.com

*通信作者: 朱粉霞, 女, 汉族, 陕西人, 博士, 研究员, 主要从事中药药效物质基础研究。E-mail: zfxjq@126.com

苦地丁为中医和蒙医常用药材,是罂粟科紫堇属植物地丁草 *Corydalis bungeana* Turcz. 的干燥带跟全草,为《中国药典》和《卫生部药品标准·蒙药》收录品种,其产地分布于辽宁、河北、山东、山西等地。苦地丁性寒、味苦,具有清热解毒、散结消肿的功效^[1]。现代药理研究表明,苦地丁对感冒发热、咽喉疼痛等多种炎症和肝胆病有较好的疗效^[2],近年来受到国内外学者的广泛关注。苦地丁化学成分主要为生物碱和黄酮^[3],目前,有关其化学成分的研究主要集中在提取分离、鉴定及药理活性等^[4],对其化学成分的内代谢研究未有报道。

液质联用技术具有高效、快速、灵敏的特点,对于中药复杂体系的分析有着显著优势,已被广泛应用于中药化学成分及体内代谢产物的高通量分析^[5]。本实验采用超高效液相色谱与飞行时间质谱联用(HPLC-Q-TOF/MS)技术,分析苦地丁化学成分的质谱裂解规律,并应用于其在大鼠体内(血浆、尿液、粪便、胆汁)化学成分和代谢产物的鉴定,建立了苦地丁“体外化学成分群—大鼠体内化学成分群”的研究框架,为明确苦地丁体内药效物质及其质量控制的研究奠定基础,也为苦地丁的药理活性研究以及进一步开发利用提供依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

HH-4 型数显恒温水浴锅(常州金坛区环宇科学仪器厂);KQ2200V 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);TGL-16G 型高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂);RE-5203 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);Mettler Toledo 分析电子天平(Mettler Toledo 分析仪器有限公司);IKA VORTEX GENIUS 3 涡旋混合器(德国 IKA 公司);SIL-20A 型液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司);Triple TOF TM 5600 System-MS/MS 高分辨四极杆飞行时间质谱仪(美国 AB Sciex 公司);Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司)。

1.2 药品与试剂

苦地丁(江苏济川药业有限公司,批号 20180331)经江苏省中医药研究院朱粉霞研究员鉴定为罂粟科紫堇属植物地丁草 *C. bungeana* Turcz. 的干燥带根全草;乙腈、甲醇(德国 Merck 公司);氨水(日本 Tokyo Chemical Industry 公司);生理盐水(安徽丰原药业股份有限公司);对照品右旋异紫堇定、血根碱、乙酰紫堇灵、二氢血根碱(宝鸡市

辰光生物科技有限公司,质量分数均为 98%)、延胡素乙素、原阿片碱(中国食品药品检定研究院,质量分数均为 98%)、紫堇灵(实验室自制,质量分数 98%);10%水合氯醛溶液(江苏省中医院)。

1.3 动物

SD 雄性大鼠,体质量(220~250 g),由江苏省中医药研究院实验动物中心提供,许可证号:SYXK(苏)2016-0018。动物实验均按照《中国实验动物管理立法规定及一般建议》进行,并经江苏省中西医结合医院研究伦理委员会批准(AEWC-20180727-43)。

2 方法

2.1 溶液的配制

(1)对照品溶液的配制:分别精密称取紫堇灵、乙酰紫堇灵、原阿片碱、延胡素乙素、二氢血根碱、血根碱和右旋异紫堇定对照品适量,置于 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,配制成对照品储备液;精密吸取对照品储备液 1.0 mL,置于 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,得到含紫堇灵 0.134 mg/mL,乙酰紫堇灵 0.120 mg/mL,原阿片碱 0.057 mg/mL,二氢血根碱 0.048 mg/mL、延胡素乙素 0.038 mg/mL、血根碱 0.042 mg/mL 和 0.055 mg/mL 右旋异紫堇定的对照品溶液。

(2)动物给药药液的配制:取苦地丁药材,加 10 倍量的 80%乙醇提取 2 次,每次 1.5 h,减压浓缩提取液制得苦地丁浸膏。称取苦地丁浸膏适量,加入一定量的生理盐水,超声(250 W、33 kHz)溶解,制得 0.1 g/mL 的苦地丁提取物,用于动物 ig 给药。

(3)供试品溶液的配制:取苦地丁浸膏 0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 80%甲醇 50 mL,密塞,超声(250 W、33 kHz)处理 30 min,滤过,取续滤液以 0.22 μm 微孔滤膜滤过,得到约 3 mg/mL 的液质供试品溶液。

2.2 动物实验及样本收集

2.2.1 动物实验 取 18 只 SD 雄性大鼠,实验前于 SPF 级动物房适应性饲养 1 周,室温(25±2)℃,湿度 60%~70%,12 h 昼夜更替。给药前 12 h 禁食,不禁水,实验组大鼠 ig 给以 1 g/kg 苦地丁提取物,空白组大鼠 ig 给予等剂量生理盐水。

2.2.2 生物样品采集及制备 于 ig 给药 2、4、8、12 h 后,眼底静脉丛取血(每个时间点取约 0.2 mL)置于含肝素钠的 EP 管中,静置 15 min 后,3000 r/min

离心 10 min, 分离得血浆; 于血浆中加入 3 倍体积的甲醇涡旋 1 min, 以 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清, 在 45 °C 水浴下氮气吹干, 并储存在 -80 °C 冰箱中。

收集 0~4、4~8、8~12 h 的尿液, 取各时间段内的尿液样品 2 mL, 分别加入 3 倍体积的甲醇进行混合, 涡旋震荡, 以 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清。收集 0~12 h 内的粪便样品, 取 1 g 粪便溶于 5 倍量甲醇中, 在 25 °C 水浴中超声处理 30 min 后, 以 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清。将尿液和粪便上清液在 45 °C 水浴下氮气吹干, 并储存在 -80 °C 冰箱中。

胆汁组按照 0.5 mL/100 g ip 10% 的水合氯醛溶液, 待大鼠麻醉后, 收集 0~4、4~8、8~12 h 胆汁样品。取胆汁样品 2 mL 加入到 3 倍体积的甲醇中进行混合后, 涡旋震荡, 以 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清, 在 45 °C 水浴下氮气吹干, 并储存在 -80 °C 冰箱中。

在进样分析之前, 向粪便、尿液和胆汁样品残渣分别加入 1 mL 甲醇, 血浆样品残渣中加入 200 μ L 甲醇复溶, 涡旋震荡, 并在 12 000 r/min 下离心 10 min, 取上清液注入 HPLC-Q-TOF/MS 系统进行分析, 进样体积为 10 μ L。

2.3 色谱条件

色谱柱: Gemini C₁₈ 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m, 美国 Phenomenex 公司); 流动相: 乙腈 (A)-0.05% 氨水 (B), 洗脱程序: 0~35 min, 15%~55% A; 35~45 min, 55%~60% A; 45~60 min, 60%~75% A; 60~63 min, 75%~100% A。体积流量 1 mL/min, 柱温为 35 °C, 进样体积为 10 μ L, 检测波长 289 nm。

2.4 质谱条件

质谱仪采用电喷雾离子化源 (ESI), 正离子模式: 喷雾电压 (ISVF) 5500 V; 离子源温度 (TEM): 600 °C; 雾化气体为氮气, 雾化气 60 L/h; 辅助加热气 60 L/h; 气帘气速率 40 L/h; 碰撞能量 40 eV, 碰撞能量扩展为 20 eV。TOF Masses 为 50~1500; 数据采集所用软件为 Analyst TF 1.6 software, 数据处理软件为 Peakview 1.2。

3 结果

3.1 苦地丁提取物中化学成分的鉴定及其质谱裂解规律解析

本实验基于 HPLC-Q-TOF/MS 技术, 采用正离子模式对苦地丁的化学成分进行检测。结合文献报道、TCMSP 数据库 (<https://old.tcmsp-e.com>) 中收录的苦地丁化学成分信息, 对照品色谱保留时间, 精确相对分子质量、同位素丰度比、分子碎片峰、二级质谱图等信息, 共推断出 31 个化合物, 其中 30 个为生物碱成分, 1 个为黄酮类成分, 这与文献报道一致^[6-8], 即生物碱是苦地丁的主要化学成分。总离子流图如图 1 所示, 化合物的鉴定信息见表 1, 化合物结构式见图 2。

3.1.1 苦地丁异喹啉类生物碱质谱裂解规律 苦地丁中的化学成分大部分属于异喹啉类生物碱, LC-MS 鉴定出的 30 个生物碱成分中, 异喹啉类生物碱有 28 个, 其他生物碱 2 个。而异喹啉类生物碱按整体结构可分为苜基异喹啉类和简单异喹啉类, 其中苜基异喹啉类生物碱按骨架区分为苜菲啶型、普罗托品型、小檗碱型等 7 类, 而 LC-MS 鉴定出的 30 个中有 16 个属于苜菲啶型生物碱, 代表性化合物是药典规定的指标性成分紫堇灵, 也是目前苦地丁中药理活性研究较多的化合物^[9]。延胡索乙素

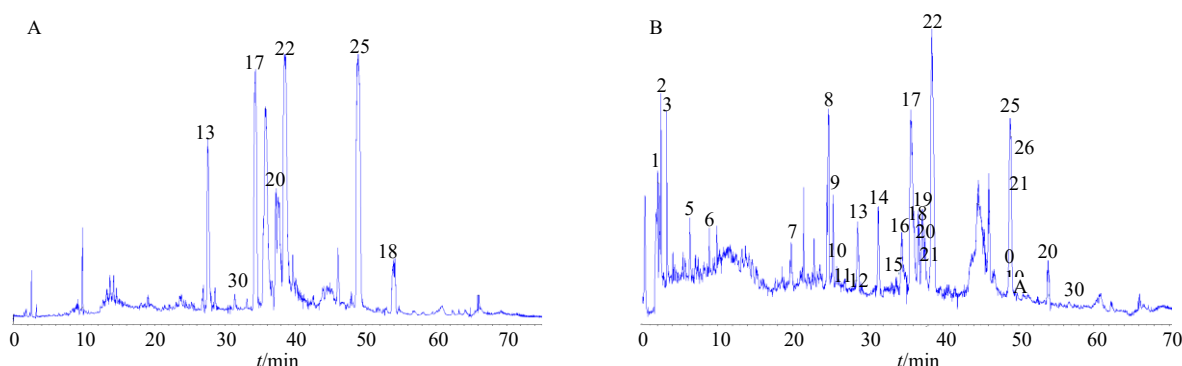


图 1 正离子模式下混标 (A) 及苦地丁提取物 (B) HPLC-Q-TOF/MS 离子流图
Fig. 1 TIC of *C. bungeana* extrat (A) and mixed (B) standard in positive mode

表 1 苦地丁提取物化学成分鉴定信息

Table 1 Attribution of chemical components of extract from *C. bungeana*

序号	<i>t_R</i> /min	分子离子峰	相对分子质量	碎片离子	分子式	化合物名称	误差 ($\times 10^{-6}$)
1	3.268	327.15	328.153 2	178.077 4, 165.062 9, 152.061 6, 265.084 7	C ₁₉ H ₂₁ NO ₄	金黄紫堇碱	0.4
2	3.312	327.41	328.154 2	297.113 1, 265.085 2, 237.090 0	C ₁₉ H ₂₁ NO ₄	异波尔定	-0.2
3	3.389	327.40	328.152 0	297.111 9, 235.073 0, 191.084 3, 222.067 2, 235.073 0	C ₁₉ H ₂₁ NO ₄	紫堇块茎碱	0.4
4	5.507	339.40	340.154 3	309.136 9, 192.057 9	C ₂₀ H ₂₁ NO ₄	四氢小檗碱	0.4
5	6.325	313.38	314.136 7	177.053 2, 145.028 0, 121.064 9	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	<i>N</i> -反式-阿魏酰 酪胺	0.6
6	9.917	391.38	392.111 3	332.090 5, 318.076 0	C ₂₂ H ₁₇ NO ₆	spallidamine	0.9
7	19.819	286.00	286.142 7	269.116 1, 107.049 0	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	山柰酚	-0.8
8	25.194	299.40	300.158 7	191.086 5, 107.049 1, 177.079 4	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃	衡州乌药碱	0.8
9	25.517	381.40	382.128 0	333.076 4, 275.070 5, 247.075 5, 189.069 2, 135.043 7	C ₂₁ H ₁₉ NO ₆	8-氧紫堇灵	0.7
10	27.371	395.40	396.180 4	209.093 4, 111.044 8, 286.143 7	C ₂₃ H ₂₅ NO ₅	白僵菌黄色素	-0.9
11	28.699	383.43	384.143 4	353.054 4, 335.113 5, 277.092 8	C ₂₁ H ₂₁ NO ₆	12-羟基紫堇灵	0.2
12	28.793	325.30	326.137 2	311.114 9, 178.084 9, 151.075 2, 91.055 2	C ₁₉ H ₁₉ NO ₄	碎叶紫堇碱	0.9
13*	28.885	341.41	354.133 2	324.123 5, 249.089 5, 247.076 4, 149.059 0	C ₂₀ H ₂₃ NO ₄	右旋异紫定碱	0.1
14	31.399	367.36	368.116 0	249.190 0, 277.307 0, 177.017 9, 190.084 9	C ₂₀ H ₁₇ NO ₆	比枯枯灵碱	-1.0
15	34.448	347.34	348.153 2	333.063 0, 305.067 3	C ₂₀ H ₁₃ NO ₅	氧化血根碱	1.0
16*	34.570	355.43	356.140 0	191.089 0, 190.084 3, 161.059 9	C ₂₁ H ₂₅ NO ₄	延胡索乙素	-6.5
17*	35.789	354.40	355.367 9	336.123 1, 320.091 5, 188.069 3, 189.075 4, 190.084 8, 149.058 7, 91.055 2, 165.055 4, 275.069 0, 206.080 1	C ₂₀ H ₁₉ NO ₅	原阿片碱	-0.3
18	36.688	365.38	366.132 2	317.079 1, 289.084 6, 206.080 2, 147.044 1	C ₂₁ H ₁₉ NO ₅	紫堇洛星碱	-0.7
19	36.873	367.43	368.136 2	337.104 4, 190.084 8, 307.060 0, 277.051 0	C ₂₁ H ₂₁ NO ₅	紫堇文碱	-0.9
20*	37.585	332.30	333.288 0	317.068 8, 274.085 6, 246.090 5, 218.090 4, 189.069 2	C ₂₀ H ₁₄ NO ₄	血根碱	-9.4
21	38.488	367.43	368.406 1	319.094 7, 289.084 4, 177.053 3	C ₂₁ H ₂₁ NO ₅	13-表紫堇灵	-0.9
22*	38.580	367.43	368.149 8	319.095 9, 289.085 6, 261.090 3, 231.079 7, 177.053 7	C ₂₁ H ₂₁ NO ₅	紫堇灵	-0.9
23	38.881	393.42	394.127 1	319.085 3, 290.081 3, 334.109 0	C ₂₂ H ₁₉ NO ₆	地丁紫堇碱	0.7
24	40.703	323.34	325.126 5	174.054 6, 175.058 0, 149.059 5, 177.073 7	C ₁₉ H ₁₇ NO ₄	四氢黄连碱	0.6
25*	48.921	409.15	410.158 3	350.136 9, 289.084 7, 261.089 2, 162.055 0	C ₂₃ H ₂₃ NO ₆	乙酰紫堇灵	-0.5
26	49.242	368.40	369.406 1	289.083 9, 261.091 9, 177.054 4	C ₂₁ H ₂₁ NO ₅	11-表紫堇灵	-0.9
27	49.358	409.15	410.160 6	348.123 5, 321.112 2, 337.106 0, 190.085 9, 176.069 8	C ₂₃ H ₂₃ NO ₆	乙酰异紫堇灵	-0.5
28	49.569	317.31	318.075 3	290.080 9, 261.079 5, 201.057 7, 174.046 4	C ₁₉ H ₁₁ NO ₄	去甲血根碱	0.5
29	52.629	337.40	338.137 6	163.054 9, 176.070 0, 149.059 6, 135.044 4	C ₂₀ H ₁₉ NO ₄	紫堇萨明	0.8
30*	53.892	333.10	334.107 9	319.082 8, 261.079 2	C ₂₀ H ₁₅ NO ₄	13,14-二氢血 根碱	-0.4
31	64.153	339.16	340.067 3	192.102 9, 149.077 3	C ₂₀ H ₂₁ NO ₄	四氢表小檗碱	0.4

*表示与混合对照品比对的结果

*indicates the comparison of mixed reference materials

和原阿片碱分别为原小檗碱型和普罗托品型异喹啉类生物碱代表性成分。故详细解析这 3 类代表性化合物的质谱裂解规律。

(1) 苯菲啶型：从苦地丁中鉴定了 30 种生物碱，其中 16 个化合物以异喹啉环上的氮原子的邻位和间位与萘环稠而成的苯菲啶型生物碱母核，其母核形成了 1 个大 π 系统，故而很难发生裂解，且异

喹啉环上的氮原子上常常连有甲基，这是苯菲啶类生物碱的特征性结构^[10-11]。紫堇灵是苦地丁中苯菲啶类异喹啉型生物碱的代表性成分，也是药典规定的苦地丁质量标准指标，在保留时间 38.58 min 处检测出紫堇灵。其分子离子峰为 368.149 8，化学组成为 C₂₁H₂₁NO₅，其二级质谱产生 350 [M-H₂O]⁺、319 [M-H₂O-OHCH₂]⁺、304 [M-H₂O-OHCH₂-

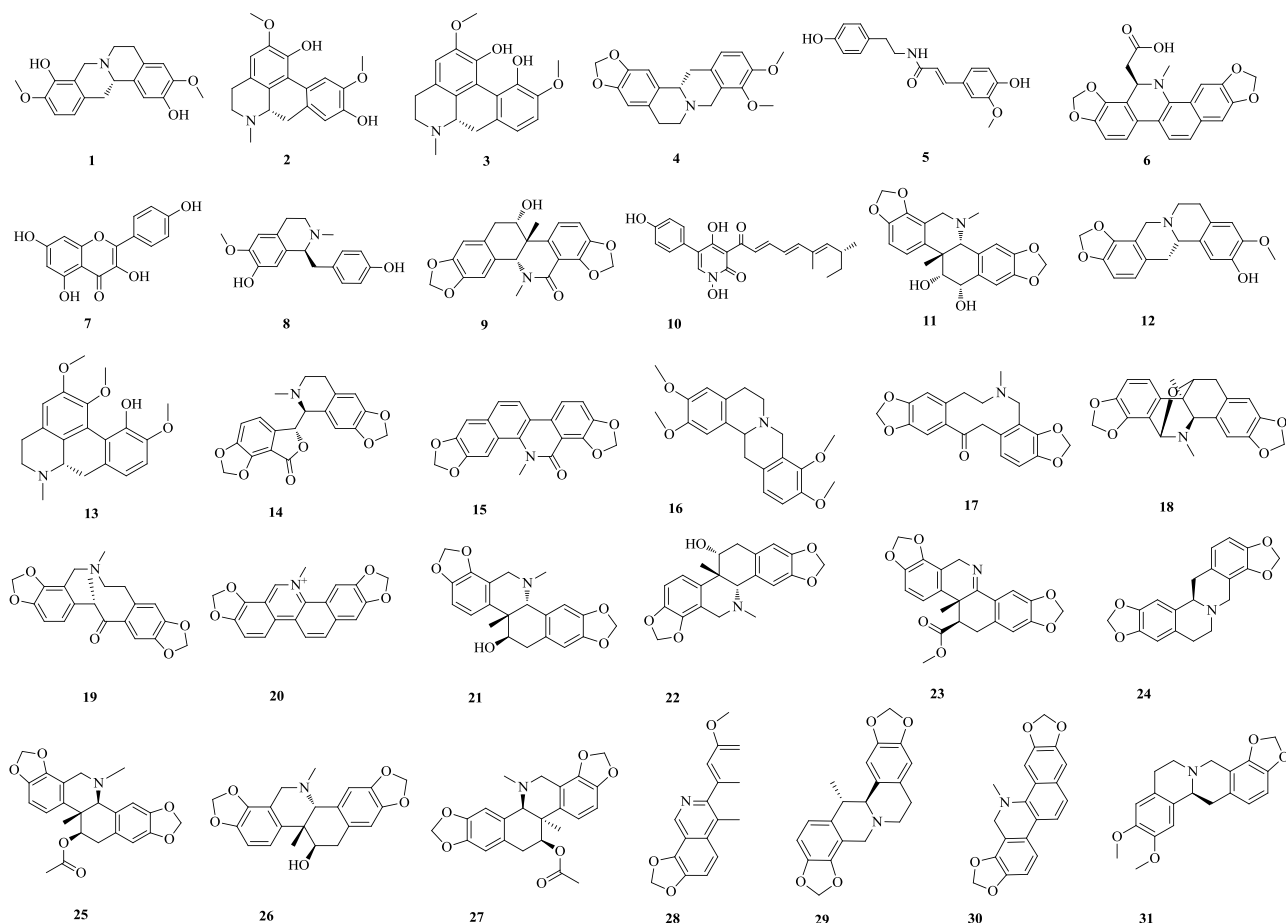


图 2 苦地丁提取物质谱鉴定出的 31 个化合物结构式

Fig. 2 Structures of 31 known chemical constituents

$\text{CH}_2]^+$ 、289 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}-\text{OHCH}_2-\text{CH}_2-\text{OHCH}_2]^+$ 、259 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}-\text{OHCH}_2-\text{CH}_2-\text{OHCH}_2-\text{CH}_2\text{O}]^+$ 、177 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}-\text{OHCH}_2-(\text{OCH}_2)_2\text{C}_6\text{H}_{14}]^+$ 等碎片离子，其二级质谱图及详细裂解方式见图 3。

(2) 原小檗碱型：原小檗碱类生物碱是苦地丁另一数量较多的一类化学成分，本实验鉴定出 7 个化合物，分别为 1、4、12、16、24、29、31，它们的 C 环上易发生逆-狄尔斯-阿尔德 (RDA) 反应，也可通过电子转移和重排使 B 环开裂，形成互补的碎片离子^[12-13]。本研究选取延胡索乙素为苦地丁原小檗碱型生物碱代表。在保留时间 34.57 min 处，检测到延胡索乙素。其分子离子峰为 356.140 0，化学组成为 $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_4$ ，在正离子模式下，延胡索乙素 B 环的 5、8 位和 C 环的 11、12 位发生断裂，再脱去 1 分子甲氧基形成 275 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_4-\text{OCH}_3]^+$ 碎片离子和 190 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_4-\text{C}_8\text{H}_6-(\text{OCH}_3)_2]^+$ ，在此基础上 C-N 键断裂、脱去 1 分子水、1 分子甲基形成 165 $[\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_4-\text{OCH}_3-\text{C}_6\text{H}_6\text{OH}]^+$ 、149 $[\text{M}+\text{H}-$

$\text{C}_4\text{H}_4-\text{OCH}_3-\text{C}_6\text{H}_6\text{OH}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 的碎片离子。其详细二级质谱图及裂解方式见图 4。

(3) 普罗托品型：普罗托品型生物碱的种类较少，在苦地丁中的数量不多，但在紫堇属植物中分布最广。普罗托品型生物碱的母核不存在大 π 共轭系统，很容易发生断裂，进行 RDA 裂解与 α 裂解反应形成小片段分子，小分子片段会继续失去 1 分子羟基或者 1 分子水从而形成 $[\text{M}-17]^+$ 或者 $[\text{M}-18]^+$ 的碎片峰^[14-15]。本研究选取原阿片碱为苦地丁异喹啉普罗托品型生物碱代表。在保留时间 35.789 min 处，检测到了原阿片碱。其分子离子峰为 354.133 3，化学组成为 $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{NO}_5$ 。在正离子模式下，原阿片碱脱去 1 分子水形成 336 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 碎片离子，进一步裂解生成 306 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}-2\text{H}-\text{CO}]^+$ 等碎片离子。与此同时原阿片碱母核发生可发生 α 裂解形成 190 $[\text{M}]^+$ 、165 $[\text{M}]^+$ 等碎片离子和 RDA 裂解形成 206 $[\text{M}]^+$ 等碎片离子。其详细二级质谱图及裂解方式见图 5。

3.1.2 苦地丁黄酮类成分质谱裂解规律 黄酮是一

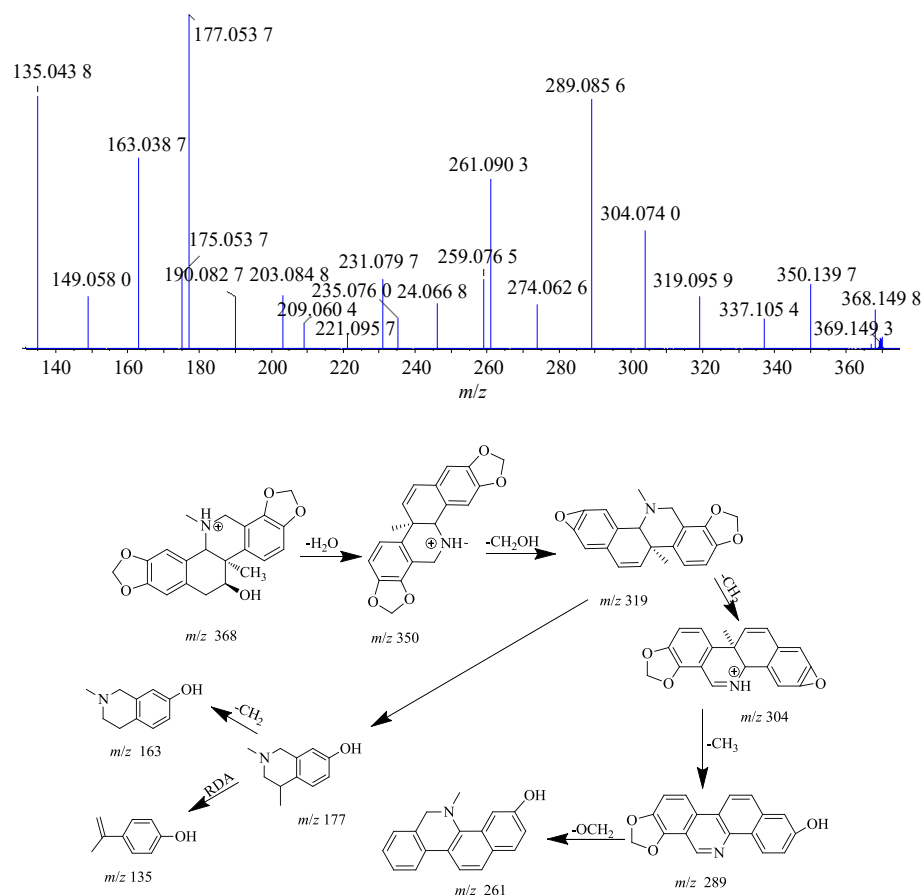


图 3 紫堇灵二级质谱和裂解示意图

Fig. 3 MS/MS chromatograph and pathways of corynoline

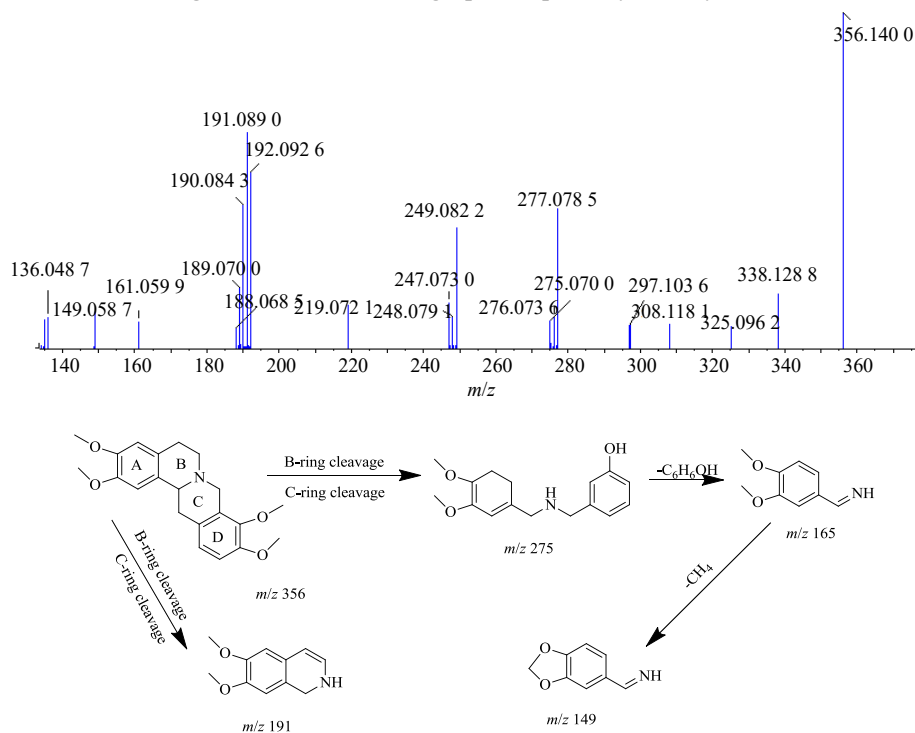


图 4 延胡索乙素二级质谱和裂解示意图

Fig. 4 MS/MS chromatograph and fragmentation pathways of tetrahydropalmatin

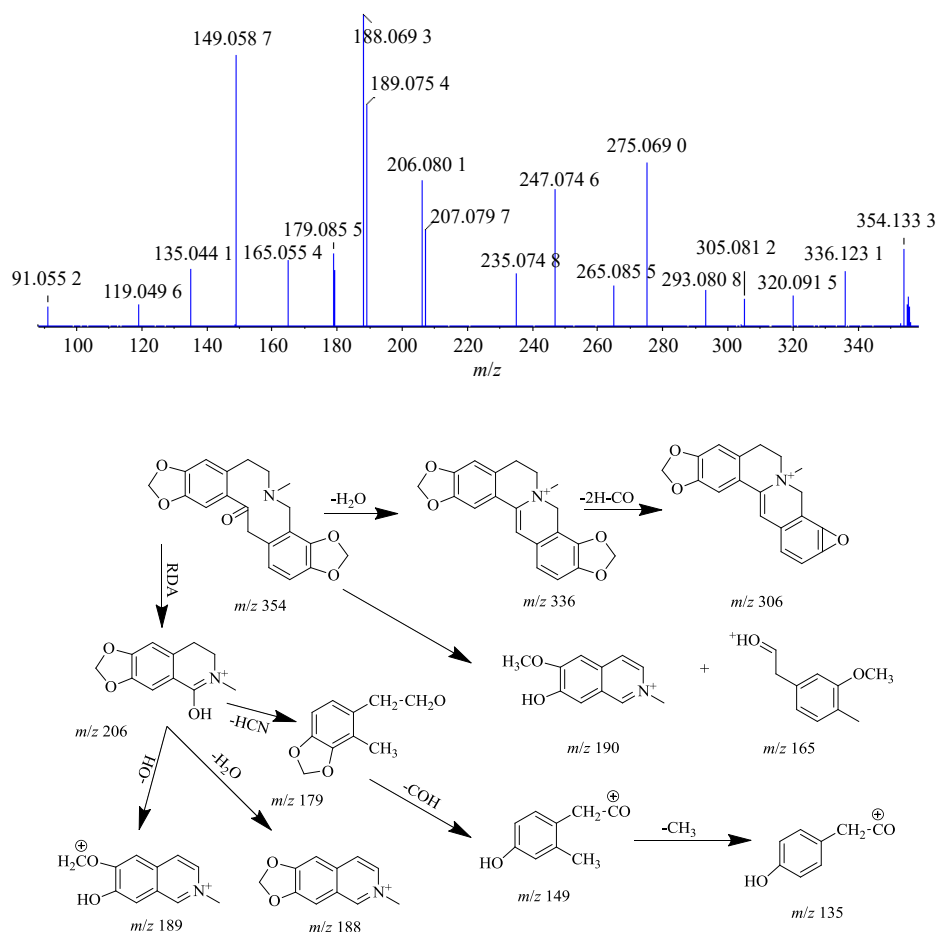


图 5 原阿片碱二级质谱和裂解示意图

Fig. 5 MS/MS chromatograph and fragmentation pathways of protopine

类含有 2 个苯环通过 3 个碳原子自相连结构的含氮化合物。在保留时间为 19.819 min 鉴定出山奈酚，其分子离子峰为 286.142 7，化学组成为 $C_{15}H_{10}O_6$ ，在正离子模式下，其母核脱去 1 分子羟基产生 269 $[M-OH]^+$ 的碎片离子，继而 B 环开裂形成 237 $[M-OH-CH_3OH]^+$ 的碎片离子，143 $[M-C_2H_7O_4-CH_3OH]^+$ 等碎片离子。其二级质谱图及裂解方式见图 6。

3.2 大鼠血浆、尿液、粪便及胆汁的原型成分的 HPLC-Q-TOF/MS 鉴定

任何药物都是通过与机体的相互作用而发挥疗效。中药入血移行成分，是了解其药效物质基础的基本依据。为了解苦地丁的体内药效物质基础，本研究运用 HPLC-Q-TOF/MS 技术分别对空白样本（血浆、尿液、粪便、胆汁）及给药后不同时间段样本的代谢物进行分析，通过对比空白与含药样品色谱峰的保留时间及质谱数据，并结合对照品及苦地丁化学成分的质谱裂解规律，对苦地丁体内代谢产

物进行了鉴定。

在给药 0~2 h 后的大鼠血浆中，发现了 17 个以原型存在的化合物；给药 2~4 h 后的大鼠血浆中，发现了 13 个原型化合物；给药 4~8 h 后的大鼠血浆中，发现了 11 个原型化合物；给药 8~12 h 后的大鼠血浆中，发现了 10 个以原型存在的化合物，具体信息见表 2。在 0~12 h 内大鼠血浆中共发现了 21 个原型成分，其中大部分为生物碱成分，这一发现与课题组前期研究结果一致^[16]，苦地丁中生物碱组分是苦地丁抗炎药效组分相印证。

为了解苦地丁提取物的主要代谢途径，本实验解析了给药后大鼠在不同时间段胆汁、尿液和粪便中化合物代谢情况。结果表明进入机体的苦地丁提取物主要经胆汁代谢，经尿液排出体外，少量化合物经粪便排泄。

3.3 苦地丁主要成分代谢产物及代谢途径分析

药物代谢是影响药物作用的最关键因素之一。

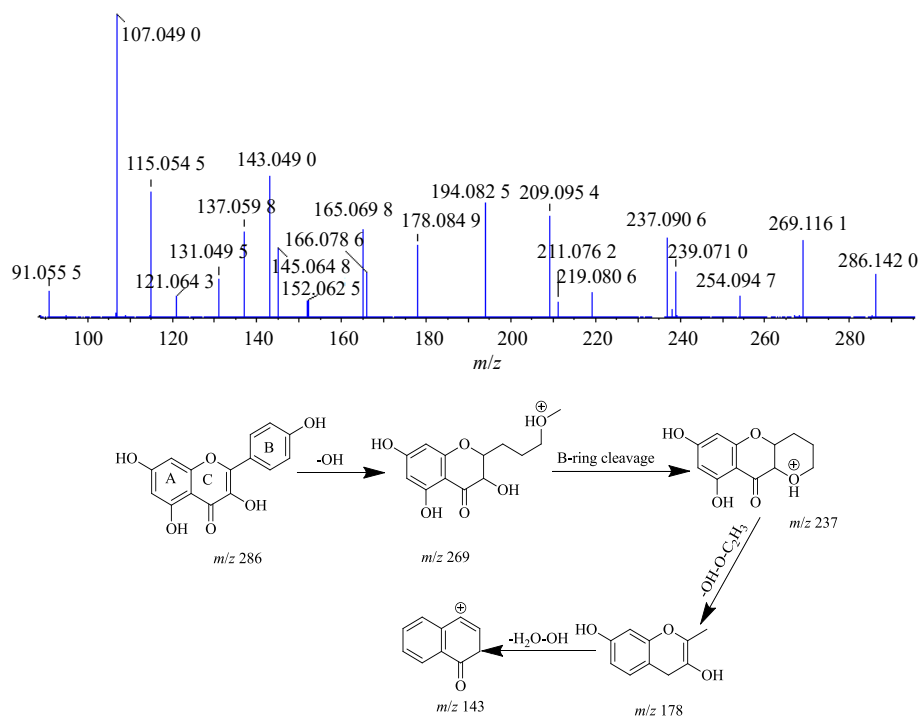


图 6 山柰酚二级质谱和裂解示意图

Fig. 6 MS/MS chromatograph and fragmentation pathways of kaempferol

表 2 苦地丁提取物在不同时间段大鼠血液、胆汁、尿液、粪便中的分布情况

Table 2 Metabolic distribution of *C. bungeana* extract in blood, bile, urine and feces of rats at different time periods

序号	化合物名称	血液				胆汁			尿液			粪便
		0~2 h	2~4 h	4~8 h	8~12 h	0~4 h	4~8 h	8~12 h	0~4 h	4~8 h	8~12 h	0~12 h
1	金黄紫堇碱	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-
2	异波尔定	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-
3	紫堇块茎碱	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-
4	四氢小檗碱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	N-反式-阿魏酰酪胺	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
6	spallidamine	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
7	山柰酚	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
8	衡州乌药碱	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
9	8-氧紫堇灵	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-
10	白僵菌色素	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	12-羟基紫堇灵	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+
12	碎叶紫堇碱	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-
13	右旋异紫堇灵	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	比枯枯灵碱	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
15	氧化血根碱	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-
16	延胡索乙素	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	原阿片碱	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18	紫堇洛星碱	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
19	紫堇文碱	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
20	血根碱	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-
21	13-表紫堇灵	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+

续表 2

序号	化合物名称	血液				胆汁			尿液			粪便
		0~2 h	2~4 h	4~8 h	8~12 h	0~4 h	4~8 h	8~12 h	0~4 h	4~8 h	8~12 h	0~12 h
22	紫堇灵	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
23	地丁紫堇碱	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
24	四氢黄连碱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	乙酰紫堇灵	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
26	11-表紫堇灵	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
27	乙酰异紫堇灵	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-
28	去甲血根碱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
29	紫堇萨明	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
30	13,14-二氢血根碱	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
31	四氢表小檗碱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+表示检出；-表示未检出

+ indicates detected; - indicates not detected.

通过对苦地丁在体内代谢产物和代谢机制的研究，可进一步了解其临床应用的安全性、有效性。依据上述质谱解析结果发现，苦地丁在大鼠血浆、胆汁、尿液、粪便中的原型成分大多属于生物碱成分，其中最为显著的是苯菲啶型生物碱，紫堇灵又为苦地丁中最为典型的苯菲啶型生物碱，也是药典规定的指标性成分，且在大鼠血浆、胆汁、尿液、粪便中的含量均较高，故而本实验以紫堇灵为例解析苦地丁中主要化学成分苯菲啶型生物碱的代谢途径。

3.3.1 紫堇灵代谢产物的分析 紫堇灵符合苯菲啶

型生物碱一般裂解规律，质谱分析发现，该类生物碱的质谱裂解主要可形成 $[M-H_2O]^+$ 、 $[M-H_2O-CH_3]^+$ 、 $[M-H_2O-NH_2CH_3]^+$ 等碎片离子。本研究运用 HPLC-Q-TOF/MS 技术，在大鼠血浆、胆汁、尿液、粪便中，均发现了紫堇灵原型 (C0) 的存在，同时在大鼠血浆中检测到 3 种紫堇灵代谢产物 P1、P2、P3，胆汁中检测到 3 种紫堇灵代谢产物 B1、B2、B3，尿液中检测到 4 种紫堇灵代谢产物 U1、U2、U3、U4，粪便中检测到 4 种紫堇灵的代谢产物 F1、F2、F3、F4。具体信息见表 3。

表 3 紫堇灵在大鼠血浆、胆汁、尿液、粪便中代谢产物分析

Table 3 Analysis of metabolites of corynoline in rat plasma, bile, urine and feces

序号	t_R/min	分子式	分子离子峰	相对分子质量 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)
C0	38.58	$C_{21}H_{21}NO_5$	368.149 8	367.395 1	-2.3
P1	7.80	$C_{20}H_{23}NO_5$	357.278 1	357.400 3	-3.4
P2	9.10	$C_{21}H_{23}NO_9S$	466.317 3	465.473 6	1.8
P3	9.50	$C_{25}H_{29}NO_{13}S$	616.173 3	615.646 6	8.6
C0	38.58	$C_{21}H_{21}NO_5$	368.149 5	367.395 1	0.7
B1	4.70	$C_{28}H_{33}NO_{10}$	544.177 5	543.562 3	1.1
B2	5.60	$C_{21}H_{23}NO_9S$	466.313 8	465.473 6	1.8
B3	7.80	$C_{27}H_{31}NO_9$	514.279 2	513.536 3	1.4
C0	38.58	$C_{21}H_{21}NO_5$	368.149 5	367.395 1	0.7
U1	5.50	$C_{20}H_{19}NO_6$	370.126 3	369.368 0	2.1
U2	7.30	$C_{23}H_{23}NO_7$	426.153 2	425.431 2	1.7
U3	7.70	$C_{28}H_{33}NO_{10}$	544.178 5	543.562 3	1.1
U4	18.60	$C_{21}H_{19}NO_6$	382.129 0	381.378 7	2.0
C0	38.58	$C_{21}H_{21}NO_5$	368.148 7	367.395 1	-1.5
F1	11.20	$C_{24}H_{25}NO_5$	408.311 3	407.459 0	2.1
F2	13.80	$C_{27}H_{33}NO_{12}$	563.261 6	563.550 4	-5.1
F3	18.50	$C_{23}H_{27}NO_{10}$	477.269 6	477.461 2	-4.0
F4	21.90	$C_{18}H_{19}NO_4S$	343.194 7	343.396 9	-5.9

3.3.2 紫堇灵代谢产物代谢途径分析

(1) 紫堇灵在大鼠血浆中代谢途径分析：在保留时间 7.8 min 处，检测到了代谢产物 P1。其分子离子峰为 357.278 1，化学组成为 $C_{20}H_{23}NO_5$ ，比紫堇灵减少 11，是 20、25 位 C-O 键断裂分别加上 2 个氢原子后，再脱去 1 分子甲基的相对分子质量。其二级质谱产生的碎片离子 m/z 339 为该代谢产物脱去 1 分子水所产生的碎片。见图 7。

在保留时间 9.1 min 处，检测到了代谢产物 P2。其分子离子峰为 466.317 3，化学组成为 $C_{21}H_{23}NO_9S$ ，比紫堇灵增加 98，恰好是 25 位 C-O 键断裂被还原且 23 位 C 所连的甲基被硫化后的分

子质量。其二级质谱产生的碎片离子 m/z 448、430 和 412 为该代谢产物进一步脱水所产生的碎片。 m/z 337、319 为该代谢产物去硫化后进一步脱甲基和水分子后所产生的碎片。

在保留时间 9.5 min 处，检测到了代谢产物 P3。其分子离子峰为 616.173 3，化学组成为 $C_{27}H_{37}NO_{13}S$ ，比紫堇灵增加 248，恰好是 25、26、20 位 C-O 键断裂被还原，2 位 C 被硫化后，8 位 C 所连的羟基被乙酰基取代后加上 1 分子葡萄糖的分子质量。其二级质谱产生的碎片离子 m/z 557 为 14 位 C-N 键断裂再脱去 1 分子甲基，18 位 C-O 键断裂脱去 1 分子甲氧基后所产生的碎片。

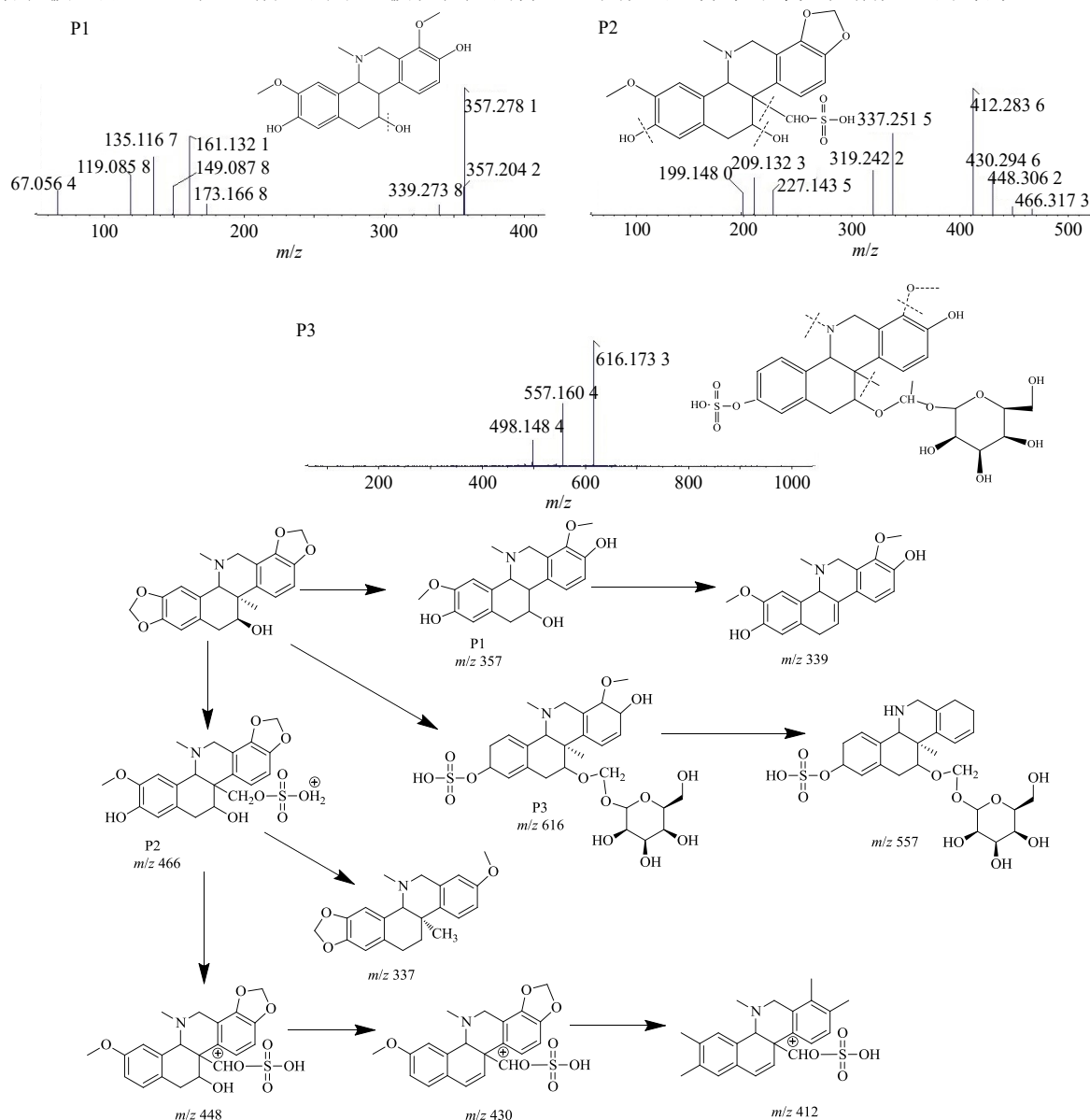


图 7 大鼠血浆中紫堇灵代谢产物二级质谱图及其代谢途径

Fig. 7 Secondary mass spectrometry of metabolites of corydaline in rat plasma and their metabolic pathways

(2) 紫堇灵在大鼠胆汁中代谢途径分析：在保留时间 4.7 min 处，检测到了代谢产物 B1。其分子离子峰为 544.177 5，化学组成为 $C_{28}H_{33}NO_{10}$ ，比紫堇灵增加 176，是 27 位羟基被 1 分子葡萄糖取代和 16 位 C 加上 1 分子甲基而得。其二级质谱产生的碎片离子 m/z 368 为紫堇灵原型， m/z 319、177 皆为该代谢产物脱去 1 分子甲基和 1 分子葡萄糖后，紫堇灵的特征裂解碎片。见图 8。

在保留时间 5.6 min 处，检测到了代谢产物 B2。

其分子离子峰为 466.313 8，化学组成为 $C_{21}H_{23}NO_9S$ ，比紫堇灵增加 98，是加上 1 个氧原子并硫化的分子质量。其二级质谱产生的碎片离子 m/z 430 为该代谢产物脱去 2 分子羟基和 1 分子氢气产生的碎片， m/z 412 为该代谢产物脱去 1 分子水产生的碎片， m/z 337 为该代谢产物去硫化后脱去 1 分子羟基、1 分子甲基和 3 分子氢气后产生的碎片， m/z 319 为该代谢产物进一步脱水产生。

在保留时间 7.8 min 处，检测到代谢产物 B3。其

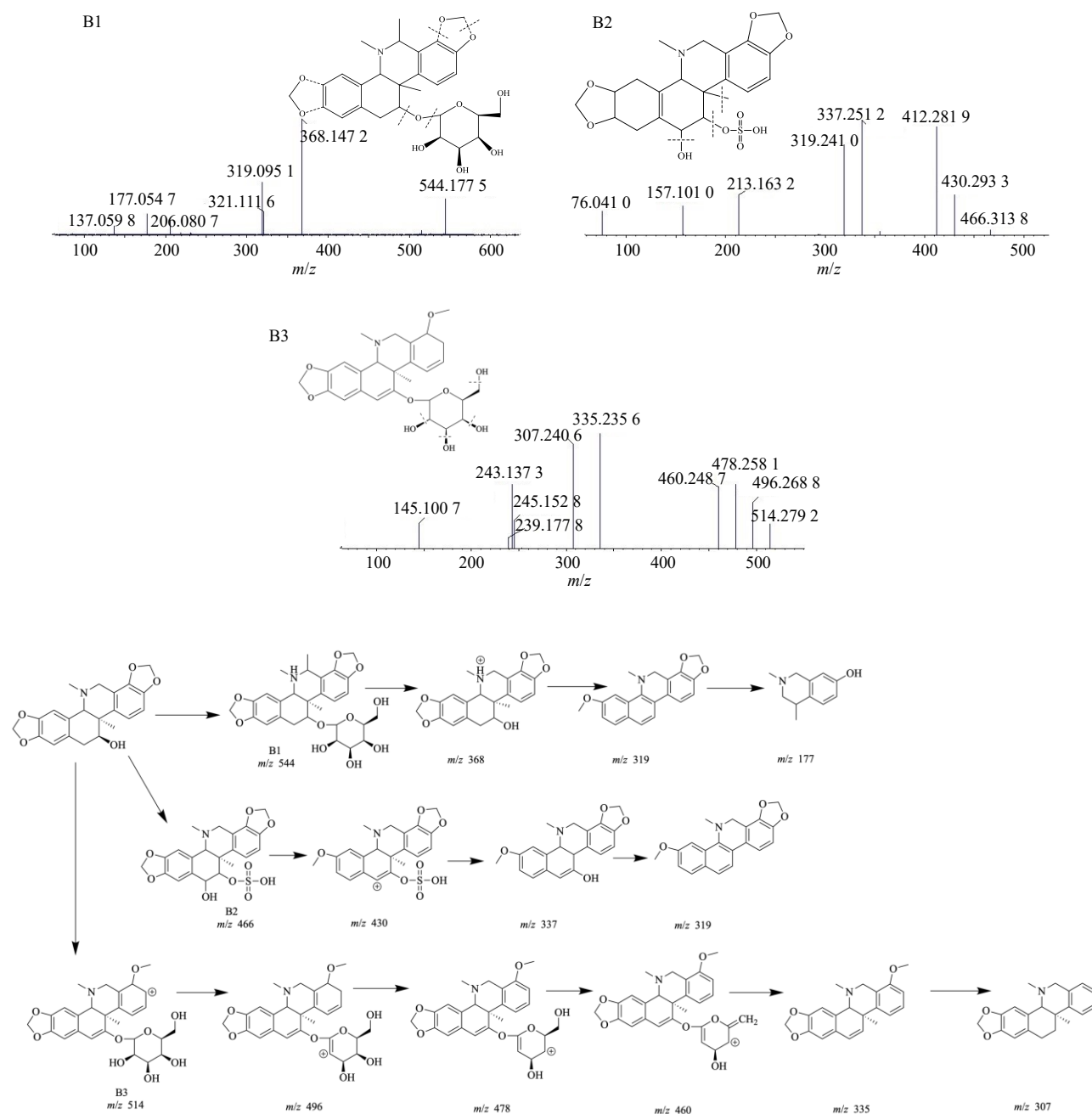


图 8 大鼠胆汁中紫堇灵代谢物的二级质谱图及其代谢途径

Fig. 8 Secondary mass spectrometry of metabolites of corynoline in rat bile and their metabolic pathways

分子离子峰为 514.279 2, 化学组成为 $C_{27}H_{31}NO_9$, 比紫堇灵增加 146, 是加上 1 分子葡萄糖并脱去 1 个氧原子的相对分子质量。其二级质谱产生的碎片离子 m/z 496、478、460 为该代谢产物脱水后产生的碎片。 m/z 335、307 为该代谢产物脱去葡萄糖分子后进一步脱去 1 分子水和 1 分子甲氧基产生的碎片。

(3) 紫堇灵在大鼠尿液中代谢途径分析: 在保留时间 5.5 min 处, 检测到了代谢产物 U1。其分子离子峰为 370.126 3, 化学组成为 $C_{20}H_{16}NO_6$, 比紫堇灵增加 2, 恰好是 27 位甲基被羟基取代后的分子质量。其二级质谱产生的碎片离子 m/z 352 为该代谢产物脱去 1 分子水所产生的碎片, m/z 303 为该代谢产物进一步在 7 位碳原子脱 1 分子甲氧基后再失 1 分子水所产生的碎片, m/z 291 为该代谢产物进一步脱去 1 分子甲基所产生的碎片, m/z 190 为该代谢产物在 m/z 303 的基础上 4、12、14 和 15 位 C-C 键断裂所产生的碎片。见图 9。

在保留时间 7.3 min 处, 检测到了代谢产物 U2。其分子离子峰为 426.153 2, 化学组成为 $C_{23}H_{23}NO_7$, 比紫堇灵增加 58, 恰好是 16 位 C 被 1 分子乙酸取代后的分子质量。其二级质谱产生的碎片离子 m/z 408 为该代谢产物脱去 1 分子水所产生的碎片, m/z 366 为该代谢产物进一步脱 1 分子甲基和 1 分子 $-CO_2$ 所产生的碎片, m/z 348、317 为该代谢产物在 m/z 366 的基础上进一步脱去 1 分子水和 2 分子甲基所产生的碎片。

在保留时间 7.7 min 处, 检测到了代谢产物 U3。其分子离子峰为 544.178 5, 化学组成为 $C_{28}H_{33}NO_{10}$, 比紫堇灵增加 176, 恰好是加上 1 分子甲基和 1 分子葡萄糖的相对分子质量。其二级质谱产生的碎片离子 m/z 368 为紫堇灵原型, m/z 350、319、289、177 和 135 皆为该代谢产物脱去 1 分子甲基和 1 分子葡萄糖后, 紫堇灵的特征裂解碎片。

在保留时间 18.6 min 处, 检测到了代谢产物 U4。其分子离子峰为 382.129 0, 化学组成为 $C_{21}H_{19}NO_6$, 比乙酰紫堇灵减少 28, 恰好是脱去 2 分子甲基后加上 2 个氢原子的分子质量。其二级质谱产生的碎片离子 m/z 333 为母核 C-O 键断裂并失去 4 个氢原子所产生的碎片, m/z 303 为该代谢产物进一步脱去 1 分子甲氧基所产生的碎片。

(4) 紫堇灵在大鼠粪便中代谢途径分析: 在保留时间 11.2 min 处, 检测到了代谢产物 F1。其分子离子峰为 408.311 3, 化学组成为 $C_{24}H_{25}NO_5$, 比紫

堇灵增加 40, 恰好是 10 位 C 被 1 分子丙基取代后的分子质量。其二级质谱产生的碎片离子 m/z 368 为紫堇灵原型, m/z 355 为紫堇灵脱 1 分子甲基后加上 1 分子氢被还原产生的碎片, m/z 337、319 为该代谢产物进一步脱水所产生的碎片。见图 10。

在保留时间 13.8 min 处, 检测到了代谢产物 F2。其分子离子峰为 563.261 6, 化学组成为 $C_{27}H_{33}NO_{12}$, 比紫堇灵增加 195, 恰好是 8、13 位 C-O 键断裂分别加上 2 个氢原子、26 位上的碳原子被羟基取代后加上 1 分子葡萄糖醛酸的相对分子质量。其二级质谱产生的碎片离子 m/z 504 为该代谢产物进一步脱去 1 分子甲氧基、1 分子羟基和 1 分子甲基所产生的碎片, m/z 489 为其继续脱 1 分子甲基所产生的碎片。

在保留时间 18.5 min 处, 检测到了代谢产物 F3。其分子离子峰为 477.269 6, 化学组成为 $C_{23}H_{27}NO_{10}$, 比紫堇灵增加 109, 恰好是 25、27 位分别失去 1 分子甲基、26 位上的羟基上的氢被 1 分子葡萄糖醛酸取代产生的碎片。其二级质谱产生的碎片离子 m/z 459 为该代谢产物脱去 1 分子水所产生的碎片。

在保留时间 21.9 min 处, 检测到了代谢产物 F4。其分子离子峰为 343.194 7, 化学组成为 $C_{18}H_{19}NO_4S$, 比紫堇灵减少 25, 恰好是 1、2、11、21 位 C-O 键断裂, 27 位上的碳原子脱去 1 分子甲基后 20 位碳原子所连羟基被硫化后的分子质量。其二级质谱产生的碎片离子 m/z 165 为该代谢产物 17 位氮原子发生 C-N 键断裂 14 位碳原子 C-C 键断裂所产生的碎片。

4 讨论

中药化学成分和体内代谢产物的分析和鉴定, 是研究中药药效物质的基础, 对明确中药化学成分发挥药效具有重要意义, 是中药活性成分开发利用的重要环节。李木子等^[9]采用 UHPLC-ESI-MS/MS 技术, 对苦地丁 70%乙醇提取物进行定性定量分析, 对其 14 种生物碱进行鉴定。Dong 等^[17]建立了一种 UHPLC-MS/MS 方法, 测定口服苦地丁提取物后比格犬血浆中生物碱成分的药代动力学。Yang 等^[18]采取 UHPLC-ESI-MS/MS 法, 研究了大鼠口服苦地丁提取物后, 紫堇灵和乙酰紫堇灵的药动学。本研究建立了一种快速有效的苦地丁化学成分体内代谢产物及其代谢途径的分析方法, 为苦地丁的药效物质基础明确鉴定了基础。

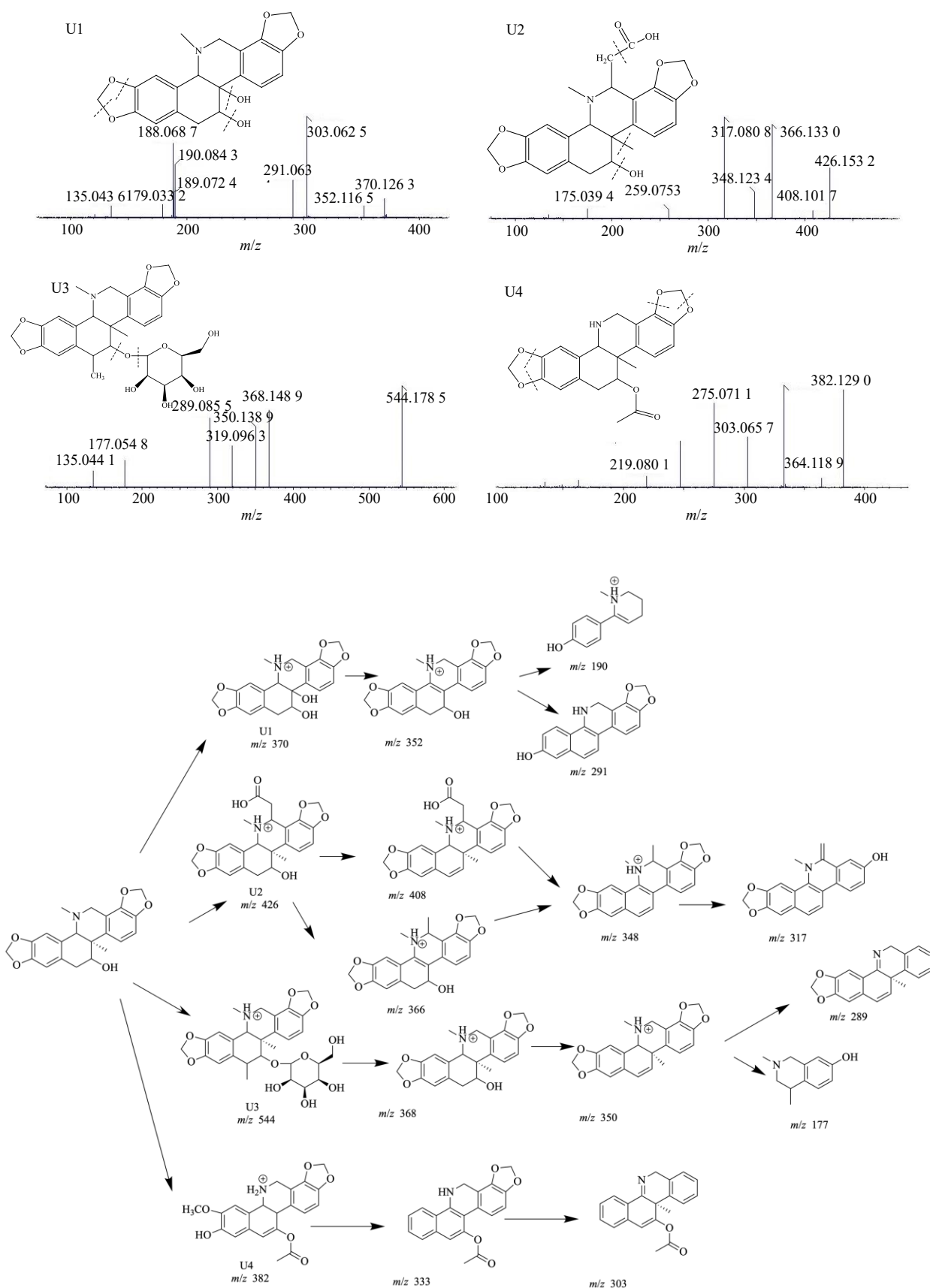


图 9 大鼠尿液中紫堇灵代谢产物二级质谱图及其代谢途径

Fig. 9 Secondary mass spectrometry of metabolites of corynoline in rat urine and their metabolic pathways

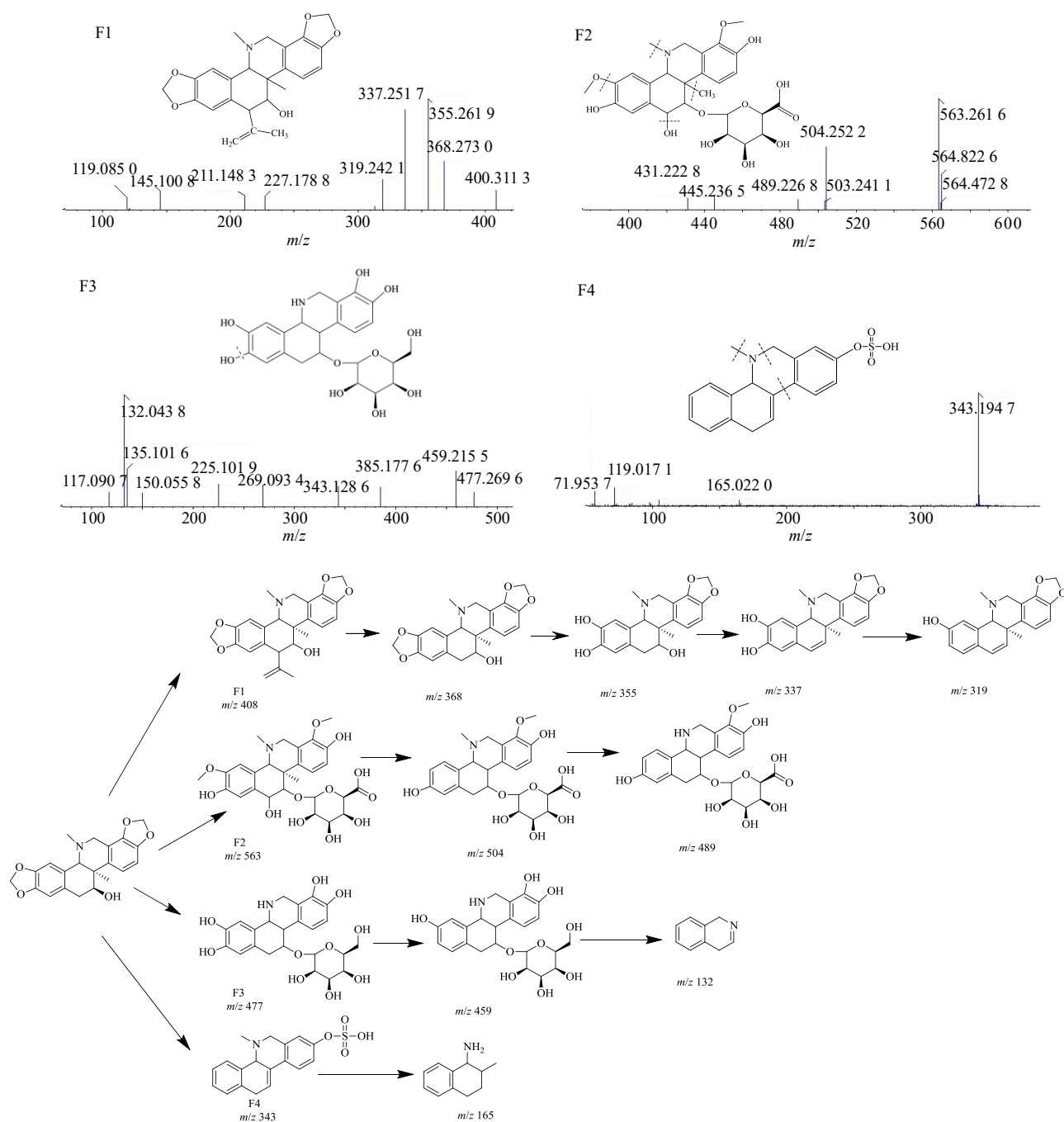


图 10 大鼠粪便中紫堇灵代谢产物二级质谱图及其代谢途径

Fig. 10 Secondary mass spectrometry of metabolites of corynoline in rat feces and their metabolic pathways

本实验运用 HPLC-Q-TOF/MS 技术, 通过对照品保留时间及质谱信息的比对, 详细解析了大鼠口服苦地丁提取物后在不同时间段内的血浆、胆汁、尿液和粪便的原型成分和代谢产物变化, 建立了苦地丁“体外化学成分群-大鼠体内化学成分群”的研究框架, 进一步了解到苦地丁的体内物质代谢动态变化。在苦地丁提取物中, 鉴定了 31 种化学物质(生

物碱类化合物 30 个, 黄酮类化合物 1 个), 同时鉴定了不同时间段内的苦地丁提取物在血液、胆汁、尿液、粪便的原型成分。结果表明, 原阿片碱、紫堇灵、乙酰紫堇灵、13,14-二氢血根碱等化合物在 0~2 h 内已经入血, 并在 12 h 后仍可在血浆中检测到, 这与苦地丁药理活性研究结果相匹配。但是在大鼠 0~12 h 粪便中, 仅发现了衡州乌药碱、12-羟基紫堇灵、原阿

片碱、13-表紫堇灵、紫堇灵这 5 个化合物,由此说明,苦地丁提取物主要经胆汁代谢,尿液排泄。此项研究进一步明确了苦地丁的体内药效物质基础,揭示其体内化学成分群的组成。

本研究中的 21 个入血成分大部分属于苯菲啶型生物碱,故而选取紫堇灵为代表,进一步阐明苯菲啶型生物碱在血浆、胆汁,尿液和粪便中的代谢产物及其代谢途径。从中分别鉴定出 3、3、4、4 种代谢产物,其代谢反应涉及了 I 相代谢(氧化、还原、开环)和 II 相代谢(甲基化、脱羟基、脱羧、葡萄糖醛酸化、硫酸酯化),其中以 II 相代谢反应为主,这与文献报道基本一致^[19]。这一发现为进一步明确苦地丁中苯菲啶型生物碱的代谢途径提供实验依据,为进一步解释紫堇灵的药理和活性机理研究提供了实验依据,也为阐明苦地丁药效物质基础及活性研究提供了实验依据,为苦地丁的进一步开发和临床合理应用奠定了理论基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 210.
- [2] Zhai X T, Chen J Q, Jiang C H, *et al.* *Corydalis bungeana* Turcz. attenuates LPS-induced inflammatory responses via the suppression of NF- κ B signaling pathway *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 194: 153-161.
- [3] 肖扬, 杨春娟, 钟明亮, 等. 苦地丁化学成分研究 (英文) [J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(12): 1665-1668.
- [4] Wang X, Dong H J, Shu X K, *et al.* Large-scale separation of alkaloids from *Corydalis bungeana* Turcz. by pH-zone-refining counter-current chromatography [J]. *Molecules*, 2012, 17(12): 14968-14974.
- [5] 杨悦, 刘颖, 刘晓谦, 等. 基于超高效液相色谱串联质谱技术的山楂核抗菌、抗氧化药效物质基础研究 [J]. 世界中医药, 2021, 16(17): 2527-2532.
- [6] 郑建芳, 秦民坚, 郑昱, 等. 苦地丁生物碱的化学成分 [J]. 中国药科大学学报, 2007, 38(2): 112-114.
- [7] Tian M, Yang C J, Yang J, *et al.* Ultrahigh performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry method for qualitative and quantitative analyses of constituents of *Corydalis bungeana* Turcz extract [J]. *Molecules*, 2019, 24(19): 3463.
- [8] Niu L L, Xie Z S, Cai T X, *et al.* Preparative isolation of alkaloids from *Corydalis bungeana* Turcz. by high-speed counter-current chromatography using stepwise elution [J]. *J Sep Sci*, 2011, 34(9): 987-994.
- [9] 李木子, 张浩, 朱粉霞. 苦地丁的化学成分研究 [J]. 华西药理学杂志, 2019, 34(3): 120-126.
- [10] Gathungu R M, Oldham J T, Bird S S, *et al.* Application of an integrated LC-UV-MS-NMR platform to the identification of secondary metabolites from cell cultures: Benzophenanthridine alkaloids from elicited *Eschscholzia californica* (California poppy) cell cultures [J]. *Anal Methods*, 2012, 4(5): 1315-1325.
- [11] Chen Y Z, Liu G Z, Shen Y, *et al.* Analysis of alkaloids in *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br. using high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(11): 2104-2110.
- [12] Hu Y M, Wang Y T, Sze S C W, *et al.* Identification of the major chemical constituents and their metabolites in rat plasma and various organs after oral administration of effective Erxian Decoction (EXD) fraction by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Biomed Chromatogr*, 2010, 24(5): 479-489.
- [13] Zhu S L, Dou S S, Liu X R, *et al.* Qualitative and Quantitative Analysis of Alkaloids in Cortex Phellodendri by HPLC-ESI-MS/MS and HPLC-DAD [J]. *Chem Res Chin Universities*, 2011, 27(1): 38-44.
- [14] Liu Q X, Zhou B B, Wang X L, *et al.* Establishment of a search library about benzyloisoquinoline alkaloids based on selective separation on the binaphthyl column and standard analysis on C₁₈ column [J]. *J Sep Sci*, 2012, 35(23): 3317-3325.
- [15] Hu Y M, Su G H, Sze S C W, *et al.* Quality assessment of Cortex Phellodendri by high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Biomed Chromatogr*, 2010, 24(4): 438-453.
- [16] 李木子, 张浩, 崔国倩, 等. 苦地丁的抗炎药效物质基础组分及作用机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(11): 2586-2594.
- [17] Dong H R, Yan G Y, Wang Z B, *et al.* Liquid chromatography-tandem mass spectrometry simultaneous determination and pharmacokinetic study of fourteen alkaloid components in dog plasma after oral administration of *Corydalis bungeana* Turcz extract [J]. *Molecules*, 2018, 23(8): 1927.
- [18] Yang C J, Xiao Y, Wang Z B, *et al.* UHPLC-ESI-MS/MS determination and pharmacokinetic study of two alkaloid components in rat plasma after oral administration of the extract of *Corydalis bungeana* Turcz [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2014, 960: 59-66.
- [19] Liu Z H, Chang S, Guan X Y, *et al.* The metabolites of ambinine, a benzo[c]phenanthridine alkaloid, in rats identified by ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry (UPLC/Q-TOF-MS/MS) [J]. *J Chromatogr B*, 2016, 1033-1034: 226-233.

[责任编辑 王文倩]