

溶剂系统极性在高速逆流色谱分离油橄榄叶多酚类化合物过程中的影响

王玉^{1,2}, 全凯军¹, 段文达^{1,2}, 黄新异¹, 郭玫^{2*}, 邸多隆^{1,2*}

¹中国科学院兰州化学物理研究所 中国科学院西北特色植物资源化学重点实验室 甘肃天然药物重点实验室;

²甘肃中医药大学药学院, 兰州 730000

摘要:为探讨目标化合物极性和溶剂系统极性在 HSCCC 分离过程中的相关性, 本文以油橄榄叶中的 2 种主要有效成分-橄榄苦苷和木犀草素-7'-O-β-D-葡萄糖苷为目标化合物, 系统考察正己烷-乙酸乙酯-甲醇-水系统 [(1:19:1:19, v/v)、(1:9:1:9, v/v)、(1:9:2:8, v/v)、(1:9:3:7, v/v)、(1:6:1:6, v/v)、(1:5:1:5, v/v)] 不同比例组成的两相溶剂系统对目标化合物分离的影响。结果表明: 橄榄苦苷、木犀草素-7'-O-β-D-葡萄糖苷随着溶剂系统的极性的减小, 其分离效果呈现先增强后减弱的趋势, 在最佳的分离条件下, 分离制备所得橄榄苦苷、木犀草素-7'-O-β-D-葡萄糖苷的纯度按照 HPLC 归一化法检测, 分别为 87.8% 和 77.5%。本实验结果为 HSCCC 溶剂系统快速筛选及提高 HSCCC 在复杂体系中分离制备目标化合物的效率提供技术支持。

关键词:溶剂系统; 极性; 油橄榄叶; 高速逆流色谱; 分离

中图分类号: Q94-3; R284

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2019)3-0496-06

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2019.3.020

The influence of the solvent system polarity for the isolation of polyphenols of *Olive* leaves by high-speed counter-current chromatography

WANG Yu^{1,2}, QUAN Kai-jun¹, DUAN Wen-da^{1,2}, HUANG Xin-yi¹, GUO Mei^{2*}, DI Duo-long^{1,2*}

¹Key Laboratory of Chemistry of Northwestern Plant Resources and Key Laboratory for Natural Medicine of Gansu Province, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of

Sciences; ²Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Department of Pharmacy, Lanzhou 730000, China

Abstract: To explore the correlation between the polarity of target compounds and the polarity of solvent systems in the process of HSCCC isolation, we systematically investigated the effect of two-phase solvent system composed of different proportions HEMW [(1:19:1:19, v/v), (1:9:1:9, v/v), (1:9:2:8, v/v), (1:9:3:7, v/v), (1:6:1:6, v/v), (1:5:1:5, v/v)] on separation of the target compounds which were the main active material Oleuropein and Luteolin-7-O-β-D-glucoside in *Olive* leaves. The results showed that separation effect of two compounds increased at first and then decreased with the decreasing of the polarity solvent systems. Under the optimal conditions of separation, the purities of Oleuropein and Luteolin-7-O-β-D-glucoside were determined with area normalization method and were 87.8% and 77.5%, respectively. The experimental results provided the technical support for rapid screening of HSCCC solvent system and improving the efficiency of separation and preparation in the complex samples of natural products.

Key words: solvent system; polarity; *Olive* leaves; HSCCC; separation

高速逆流色谱 (High-speed counter-current chromatography, HSCCC) 自 20 世纪 80 年代初由美国科

学家 Ito 博士研究开发以来, 已经被广泛用于天然产物分离纯化领域, 成为了一种新型而又高效的分离纯化技术。与传统柱色谱、制备液相色谱相比, HSCCC 具有分离效率高、过程简单、样品不易被吸附等优势^[1]。在整个 HSCCC 分离过程中溶剂系统的筛选和优化是至关重要的, 在构建 HSCCC 分离方

收稿日期: 2018-02-28 接受日期: 2018-11-07

基金项目: 国家自然科学基金青年基金 (21505144); 中国科学院青年创新促进会 (2016369); 中国科学院个性化药物先导科技专项 (XDA12050303)

* 通信作者 Tel: 86-931-4968248; E-mail: didl@licp.cas.cn; guomeig@.com

法的过程中,溶剂系统的筛选和优化占整个分离过程的40%~90%^[2]。目前,溶剂系统选择的方法主要是通过查阅大量相关文献并参照已知溶剂系统,根据要分离化合物的基本理化性质寻找同类型化合物的分离实例。以此为依据,结合被分离的目标化合物调整实例中溶剂体系的极性并进行HSCCC分离。另外,还可以通过测定分配系数对溶剂系统进行筛选,如高效液相色谱法(HPLC)法测定溶质在上、下两相中的分配情况。具体方法是将样品溶解在等体积的所选溶剂系统的上下相混合体系中,然后通过HPLC测定其在其中一相(固定相)峰面积(A1);接着测定样品在另一相(流动相)中的峰面积(A2),最后通过分配系数计算公式: $K = A1/A2$,算得K值。这也是筛选溶剂系统最常用的一种方法。因此,发展高效的HSCCC溶剂系统筛选与优化方法,是提高HSCCC分离效率的关键因素之一,也是近年来该技术领域研究热点之一。目前,HSCCC溶剂系统通常由不同种类的非极性溶剂和极性溶剂组成的两相或三相溶剂体系,在HSCCC分离中,最常用的溶剂系统是Ito建立的一套溶剂体系,该溶剂体系由正己烷-乙酸乙酯-甲醇-正丁醇-水按不同的体积比组成^[3]。Oka等设计了由正己烷、乙酸乙酯、正丁醇、甲醇和水组成的溶剂体系。该溶剂体系覆盖的极性范围较宽,从非极性的正己烷/甲醇/水(2:1:1, v/v/v)到极性的正丁醇-水(1:1, v/v),利用这一溶剂体系能够对多种样品实现分离^[4]。Foucault等将非极性溶剂体系正己烷/乙腈(1:1, v/v)和极性溶剂体系正丁醇/水(1:1, v/v)结合起来,配制成了7种溶剂体系—HBAW体系,这其中既有二元的、三元的也有四元的溶剂系统。HBAW体系对那些能够很好地溶解于正丁醇和乙腈(乙腈也可以用甲醇代替)中的样品非常适用^[5],刘言娟^[6]研究的液-液/固三相溶剂系统被用于分离天然产物分离。

油橄榄叶是木犀科木犀榄属(*Olea*)常绿乔木植物油橄榄(*Olea europaea* L.)的干燥叶,其主要化学成分是多酚、黄酮、有机酸、挥发油等化合物。研究表明油橄榄叶具有保护心肌、抗氧化、抗炎、抗癌以及神经保护等药理作用,其中橄榄苦苷和木犀草素-7'-O- β -D-葡萄糖苷(如图1)多酚类化合物是其有效成分^[7-9]。

本文以油橄榄叶中的2种主要有效成分—橄榄苦苷和木犀草素-7'-O- β -D-葡萄糖苷为目标化合物

(化学结构见图1),通过系统考察正己烷-乙酸乙酯-甲醇-水系统不同比例组成的两相溶剂系统对目标化合物分离的影响,探讨目标化合物极性和溶剂系统极性在HSCCC分离过程中的相关性,旨在为HSCCC溶剂系统快速筛选、提高HSCCC在复杂体系中分离制备目标化合物的效率提供技术支持。

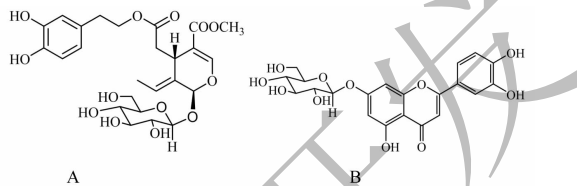


图1 两种目标化合物的化学结构

Fig. 1 The chemical structures of two target compounds

注:A代表橄榄苦苷;B代表木犀草素-7'-O- β -D-葡萄糖苷

Note: A indicated Oleuropein; B indicated Luteolin-7-O- β -D-glucoside

1 实验方法

1.1 仪器、试剂与材料

TBE-300B型高速逆流色谱仪(上海同田生物技术股份有限公司,中国),包括TBD-2000 UV检测器和TBP-1002型恒压恒流泵(上海同田生物技术股份有限公司,中国)。Agilent 1200液相色谱仪(Agilent Technologies,美国),包括:G1312A恒流泵, G1315B检测器, G1328B手动进样器和Agilent Chemstation software工作站;Sinochrom ODS-BP液相色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m);KQ-250DE型数控超声清洗机(昆山超声仪器有限公司,中国);BT224S型万分之一电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司,中国)。

实验用正己烷、乙酸乙酯、甲醇(天津市富宇精细化工有限公司,中国;分析纯),所用水为蒸馏水。乙腈为色谱纯(江苏汉邦科技有限公司,中国);乙酸为色谱纯(利安隆博华医药化学有限公司,中国)。橄榄苦苷对照品(美国, Sigma公司,纯度:98.9%,批号:BCBN4404N)、木犀草素-7'-O- β -D-葡萄糖苷对照品(中国,四川省维克奇生物科技有限公司,纯度:98.0%,批号:wkq16052202)。

油橄榄叶采于甘肃省陇南市,经鉴定为木犀榄属植物油橄榄 *Olea europaea* L. 的叶,样本保存在西北特色植物资源化学重点实验室。

1.2 油橄榄叶提取物的制备

称取干燥的油橄榄叶250 g,加入9~10倍量的60%乙醇溶液,于75 $^{\circ}$ C加热回流提取2次,每次1

h, 滤过, 合并 2 次滤液, 滤液减压回收乙醇后, 烘干, 即得油橄榄叶提取物提取物, 备用。

1.3 HSCCC 分离

1.3.1 分配系数 K 的测定

溶剂系统的选择根据目标化合物在两相溶剂体系中的分配系数 K 值。具体过程如下: 称取油橄榄叶提取物 20 mg, 置于 10 mL 试管中, 加入平衡后的上、下相各 2 mL 振荡使其完全溶解、静置分层, 取上、下相各 0.5 mL 减压干燥, 待干燥后分别用 0.5 mL 甲醇溶解, 经 0.45 μ L 滤膜过滤并进行 HPLC 检测分析。上、下两相峰面积分别为 A_1 、 A_2 , $K = A_1/A_2$ 。

1.3.2 两相溶剂体系及样品溶液的制备

本实验所选择的溶剂系统为正己烷-乙酸乙酯-甲醇-水, 分别按不同比例配制 1000 mL 置于 1 L 分液漏斗中, 充分振荡使其混合均匀并于室温静置 24 h 且分层。待两相溶剂分层后分别取出上、下两相(上、下两相分别为固定相和流动相)并于 20 $^{\circ}$ C 超声脱气 20 min, 备用。

取油橄榄叶提取物样品 500 mg 加入流动相(下相)20 mL 使其完全溶解, 即得样品溶液。

1.3.3 HSCCC 分离

将固定相(上相)以 20 mL/min 的流速泵入高速逆流色谱仪的聚四氟乙烯螺旋管中, 待固定相(上相)充满螺旋管后, 开启高速逆流色谱仪, 调整转速为 950 rpm, 同时流动相(下相)以 1.5 mL/min 的流速泵入充满固定相后的螺旋管中, 待末端有流动相流出时, 即螺旋管中上下相已达到动态平衡。将 1.3.2 项下制备的样品溶液从进样阀中注入高速逆流色谱仪, 开启检测器并设置检测波长为 232 nm, 根据色谱图收集各馏分。各馏分按 1.3.4 项下色谱条件进行 HPLC 检测分析并采用面积归一化法计算纯度。

1.3.4 HPLC 条件

色谱条件参考文献^[9]: 色谱柱: Sinochrom ODS-AP 液相色谱柱 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m) 流动相: A 为 0.2% 的乙酸水溶液, 流动相 B 为乙腈。梯度洗脱: 0 ~ 25 min 18% ~ 31% (B); 25 ~ 35 min 31% (B); 35 ~ 45 min 31% ~ 50% (B); 进样量: 20 μ L; 流速: 1.0 mL \cdot min⁻¹; 温度: 25 $^{\circ}$ C; 检测波长: 232 nm。

2 结果和分析

2.1 两相溶剂对 2 种目标化合物分离过程影响的考察

2.1.1 分配系数 K 的测定

本研究根据两种目标化合物性质, 参考文献^[3]选择 HEMW 系统(正己烷-乙酸乙酯-甲醇-水), 考察正己烷-乙酸乙酯-甲醇-水系统 9 种不同比例组成的两相溶剂系统对目标化合物分离的影响。按照 1.3.1 项分配系数 K 的测定方法, 测定 2 种化合物在 9 种溶剂系统中的 K 值, 结果见表 1。

表 1 两种化合物在 9 种溶剂系统中的分配系数

Table 1 The K value of 2 compounds in solvent systems

溶剂系统 Solvent system (HEMW)	K 值 K values	
	化合物 1 Compound 1	化合物 2 Compound 2
1:19:1:19	0.95	1.31
1:9:1:9	0.74	0.92
1:9:2:8	0.68	0.88
1:9:3:7	0.65	0.83
1:6:1:6	0.55	0.78
1:5:1:5	0.51	0.75
2:8:1:9	0.28	0.37
2:8:2:8	0.23	0.35
2:8:3:7	0.11	0.14

2.1.2 不同溶剂系统对分离的影响考察

将 2.1.1 项经测定分配系数 K 后, 从 6 种 HEMW 溶剂系统中选择 K 值在 0.5 ~ 2 之间的 6 种溶剂系统, 继续在 HSCCC 上进行目标化合物分离结果的考察, 结果见图 2。按照 1.3.4 项下 HPLC 色谱条件对 6 种不同溶剂系统分离所得目标化合物进行分析。目标化合物橄榄苦苷(化合物 1)和木犀草素-7'- O - β -D-葡萄糖苷(化合物 2)的色谱图见图 3、4。图 2 可知, 随着溶剂系统 K 值的增大, 橄榄苦苷和木犀草素-7'- O - β -D-葡萄糖苷 2 种化合物在其两相溶剂系统(1:5:1:5, v/v)、(1:6:1:6, v/v)、(1:9:2:8, v/v)、(1:9:3:7, v/v)、(1:9:1:9, v/v)、(1:19:1:19, v/v)的亲水性和溶解性依次呈现先增强后减弱趋势, 但因溶剂系统(1:9:2:8, v/v)保留时间过短导致其分离度较差, 而在溶剂系统(1:9:3:7, v/v)中分配能力最佳且分离效果呈现最好。因此, 随着溶剂系统极性的增强, 分离效率呈现先增强后减弱的趋势。

由图 2 可知: 本实验溶剂系统采用 6 种 HEMW

溶剂系统[(1:19:1:19,v/v)、(1:9:1:9,v/v)、(1:9:2:8,v/v)、(1:9:3:7,v/v)、(1:6:1:6,v/v)、(1:5:1:5,v/v)]

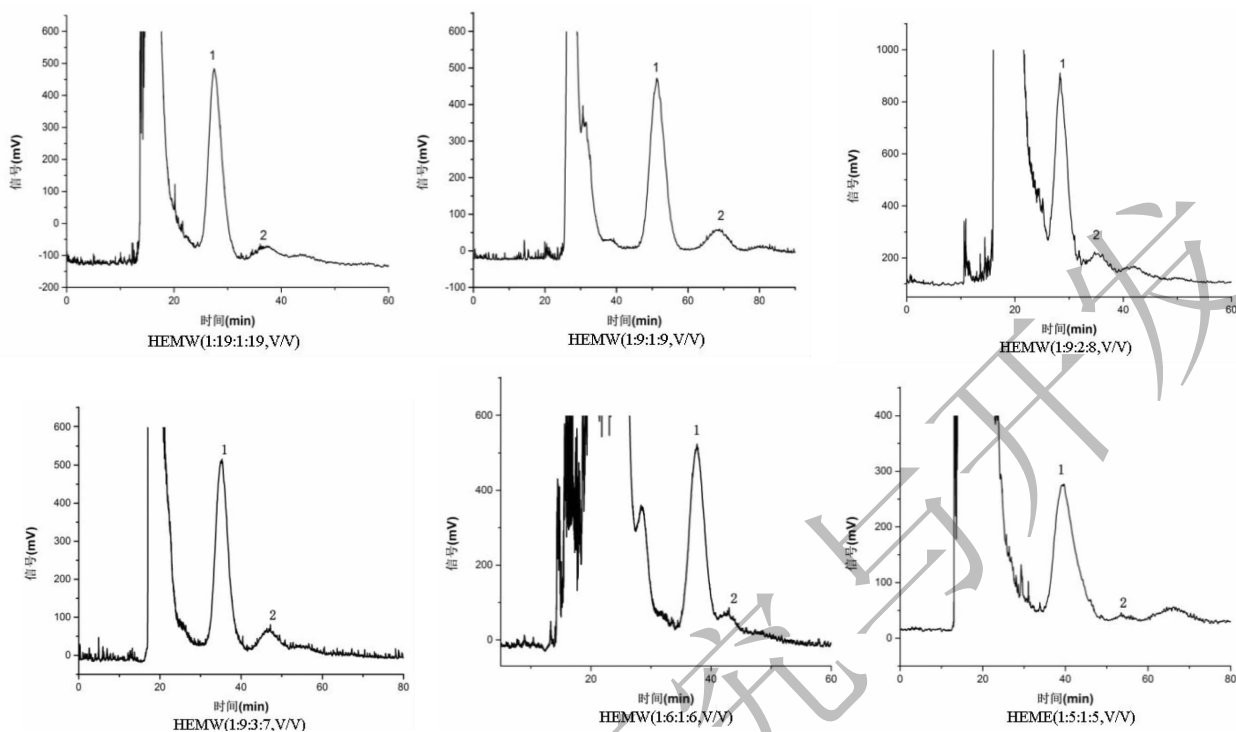


图2 6种不同溶剂系统分离橄榄苦苷、木犀草素-7'-O-β-D-葡萄糖苷的HSCCC图

Fig. 2 HSCCC chromatograms of *Olive leaves* in 6 solvent systems

注1-橄榄苦苷,2-木犀草素-7'-O-β-D-葡萄糖苷。

Note:1-Oleuropein;2-Luteolin-7'-O-β-D-glucoside.

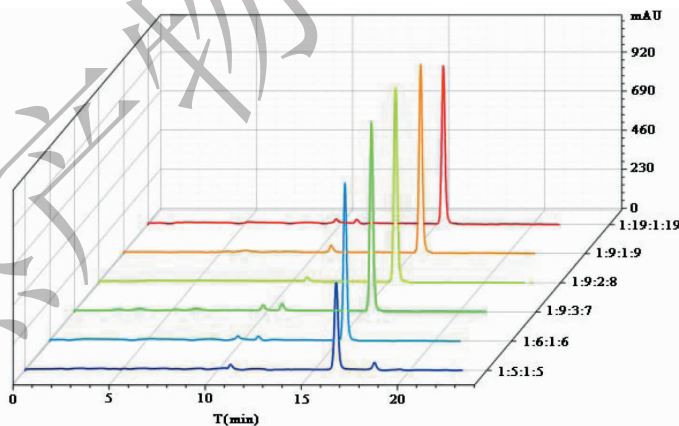


图3 化合物1在不同溶剂系统分离后的HPLC色谱图

Fig. 3 HPLC chromatogram of compound 1 in 6 solvent systems

1:5,v/v)],按照1.3.2项下所述方法对油橄榄叶提取物进行HSCCC分离并根据HSCCC图谱(如图2)进行分段接样。将收集所得各组分于60℃减压旋蒸干燥并对其进行HPLC检测分析(如图3、4)。

2.2 溶剂系统极性和目标化合物极性对分离结果的影响

2.2.1 溶剂系统和目标化合物的极性

为了探讨溶剂系统极性和目标化合物极性对分离结果的影响,利用Snyder^[10]混合溶剂极性计算方法,对2.1.2项下测定K值的9种溶剂系统极性利用以下公式进行计算: $P'_{混} = \varphi_a P'_a + \varphi_b P'_b$ (φ_a 、 φ_b 分别为A、B溶剂在混合溶剂中的体积分数; P'_a 、

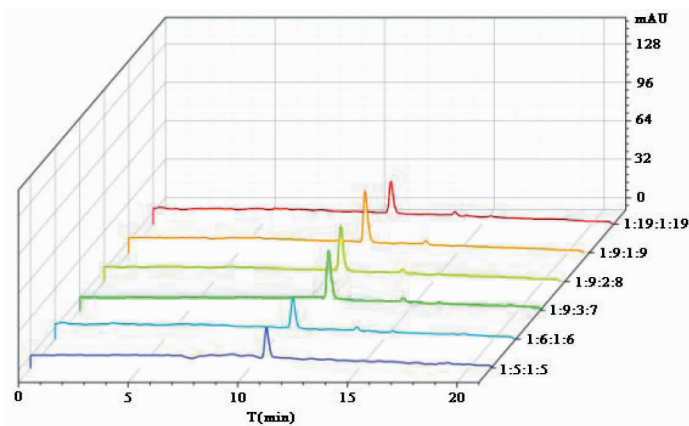


图4 化合物2在不同溶剂系统分离后的HPLC色谱图

Fig. 4 HPLC chromatogram of compound 2 in 6 solvent systems

P'_b 分别为 A、B 溶剂的极性参数), 计算结果见表 2。目标化合物的极性用油水分配系数 ($\log P$) 表达。 $\log P$ 值指某物质在正辛醇 (油) 和水中的分配系数比值的对数值。反映了物质在油水两相中的分配情况。 $\log P$ 值越大, 说明该物质越亲油, 反之, 则越亲

水, 即水溶性越好。通过 Hyperchem 软件, 计算橄榄苦苷和木犀草素-7'-O- β -D-葡萄糖苷的油水分系数 ($\log P$) 分别为 -2.23 和 -4.58, 表明橄榄苦苷的极性小于木犀草素-7'-O- β -D-葡萄糖苷的极性。

表 2 9 种溶剂系统的极性

Table 2 The polarity of 9 solvent system

溶剂系统 Solvent systems	1:19:1:19	1:9:1:9	1:9:2:8	1:9:3:7	1:6:1:6	1:5:1:5	2:8:1:9	2:8:2:8	2:8:3:7
极性 Polarity	7.06	6.83	6.57	6.52	6.34	6.28	6.20	6.16	6.10

2.2.2 溶剂系统和目标化合物的极性对 K 值的影响

以表 1、表 2 中的溶剂系统极性变化和相对应 K 值做图, 见图 5。

由于化合物 1 和 2 的 $\log P$ 值分别为 -2.23 和 -4.58, 表明两个化合物的亲水性较强。根据相似相溶原理, 化合物在于其亲水性相近的溶剂中溶解性最好。溶剂系统极性的增加使溶剂系统中上相和下相的极性同时增大, 化合物 1 和 2 在上相和下相的溶解性同时增大, 但是在上相中增大的速率大于下相中增大的速率, 因此 K 值随着溶剂系统极性的增加逐渐变大。溶剂系统极性的增加促进了化合物在上相中的分布, 有利于化合物的分离。同时从图 5 中还可以看出: 随着溶剂系统极性的增加, 化合物 2 K 值增加的趋势大于化合物 1 K 值增加的趋势, 表明亲水性越强的化合物 ($\log P$ 值越小), 溶剂系统极性变化对其 K 值的影响越明显, 因此溶剂系统同样的极性变化, 亲水性强的化合物在上相中分布增加的更多, 在一定极性范围内, 化合物亲水性越强, K 值随着溶剂系统极性增大而增加的趋势越大。

2.2.3 最佳溶剂系统的筛选

在 HSCCC 过程中最具挑战的工作是溶剂体系的筛选过程, 而选择一个最佳的溶剂体系主要是通

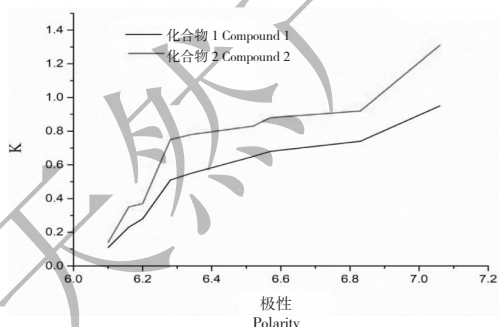


图 5 溶剂系统的极性 (Polarity) 与分配系数 (K) 之间的关系

Fig. 5 The relationship between polarity of the solvent system and partition coefficient K values

由图 5 的可以看出: 随着溶剂系统极性的增加, 化合物 1 和化合物 2 的 K 值呈现增加的趋势。这是由于 K 值是化合物在两相溶剂系统中的分配系数,

过测定样品在该溶剂体系中的分配系数 K 值来确定,合适的 K 值应该接近 1 并且理想的 K 值应该介于 0.5 ~ 2 之间^[11]。当 $K > 2.5$ 时,出峰时间过长,峰形变宽;当 $K < 0.5$ 时,出峰时间太快,组分之间的分离度较差。由表 1 可知:通过测定目标化合物在 9 种不同比例中的分配系数 K 值,在正己烷-乙酸乙酯-甲醇-水(2:8:1:9, v/v)、(2:8:2:8, v/v)、(2:8:3:7, v/v) 3 种溶剂体系中化合物 1、化合物 2 的 K 值均小于 0.5,这三种溶剂体系会导致两化合物分离时间太短,分离效果差,作为 HSCCC 的溶剂体系不合适。因此,实验采用正己烷-乙酸乙酯-甲醇-水溶剂比例分别为(1:19:1:19, v/v)、(1:9:1:9, v/v)、(1:9:2:8, v/v)、(1:9:3:7, v/v)、(1:6:1:6, v/v)、(1:5:1:5, v/v) 6 种溶剂系统在 HSCCC 上进行两种化合物分离考察。通过 K 值适宜的 6 种溶剂系统对 2 种化合物在 HSCCC 上的实际分离。由图 2 可知,溶剂系统(1:19:1:19, v/v)、(1:9:2:8, v/v)、(1:6:1:6, v/v) 和(1:5:1:5, v/v) 分离效果不理想,溶剂系统(1:9:1:9, v/v) 虽然分离效果较好,但其出峰时间太晚。综合考虑,溶剂系统(1:9:3:7, v/v; 化合物 1 和化合物 2 的保留时间分别为 35 min 和 47 min) 为最佳的溶剂系统。

2.3 化合物的分离制备

以 2.2.3 项筛选的最佳溶剂系统[HEMW(1:9:3:7, v/v)], 按照 1.3.2 项下制备溶剂体系及样品溶液,按照 1.3.3 项下 HSCCC 分离条件进行分离得到的化合物 1(橄榄苦苷)和化合物 2(木犀草素-7'- O - β -D-葡萄糖苷)。所得化合物 1 和化合物 2 按照 1.3.4 项下 HPLC 法进行分析,并用橄榄苦苷和木犀草素-7'- O - β -D-葡萄糖苷对照品溶液进行标定和归一化法纯度检测,结果含量分别为 87.8% 和 77.5%。

3 结论

本文以油橄榄叶中的 2 种主要有效成分-橄榄苦苷和木犀草素-7'- O - β -D-葡萄糖苷为目标化合物,通过考察溶剂系统和目标化合物极性对分离的影响,表明对于极性化合物而言,随着溶剂系统极性的增加,极性化合物的 K 值呈现增加的趋势。化合物极性越小, K 值增加的趋势越大。在筛选溶剂系统时,在满足适宜的 K 值前提下,分离效率(目标化合物的保留时间)也是需要考虑的重要因素之一。本文通过结合 K 值和分离效率,优选出从油橄榄叶中分离制备其中主要的有效成分橄榄苦苷和木犀草素-7'- O - β -D-葡萄糖苷最佳溶剂系统[正己烷-乙酸

乙酯-甲醇-水, 1:9:3:7, v/v)。在优化的 HSCCC 色谱条件下,分离制备所得橄榄苦苷和木犀草素-7'- O - β -D-葡萄糖苷含量分别为 87.8% 和 77.5%。本研究结果为 HSCCC 溶剂系统快速筛选、提高 HSCCC 在复杂体系中分离制备目标化合物的效率提供技术支持。

参考文献

- Li G, Zhang XL, Zhou HL, et al. Preparative separation of high purity arctigenin from arctii fructus by combining acid hydrolysis with HSCCC [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2016, 28: 1581-1584.
- Zhang TY, Wang X. High-speed counter-current chromatography(高速逆流色谱技术) [M]. Beijing: Chemical Industry Publishing House, 2001.
- Ito Y. Golden rules and pitfalls in selecting optimum conditions for high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2005, 1065: 145-168.
- Oka F, Oka H, Ito Y. Systematic search for suitable two-phase solvent systems for high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 1991, 538: 99-108.
- Camacho-Frias E, Foucault A. Solvent system in centrifugal partition chromatography. In: centrifugal partition chromatography [N]. New York: Marel Dekker Inc, 1996: 363.
- Liu YJ, Liu YF, Di DL, et al. Liquid - liquid/solid three-phase high-speed counter-current chromatography based on O-carboxymethyl chitosan-functionalized multi-walled carbon nanotubes as solvent additive [J]. RSC Adv, 2014, 4: 26231-26239.
- Wang BL, Wang YJ, Ding CB, et al. Antioxidant and antimicrobial activities of polysaccharide from *Olea europaea* L. leaf [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2016, 28: 1284-1288.
- Zhang J, Huang XY, Di DL, et al. Efficient method for the screening and identification of anti-diabetic components in the leaves of *Olea europaea* L. [J]. New J Chem, 2014, 1: 1-7.
- Wang XF, Li C, Di DL, et al. Efficient method for screening and identification of radical scavengers in the leaves of *Olea europaea* L. [J]. Biomed Chromatogr, 2011, 25: 373-378.
- Snyder LR. Classification of the solvent properties of common liquids [J]. J Chromatogr A, 1974, 92: 223-230.
- Chen XF, Huang XY, Di DL, et al. Application of high-speed countercurrent chromatography in separation and purification for alkaloids in natural products [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2011, 42: 1026-1032.