

## 延胡索中叔胺碱和季铵碱类组分的高效分离及镇痛活性鉴定

高振华<sup>1,3</sup>, 王超然<sup>2,3\*</sup>, 郭秀洁<sup>2,3</sup>, 王纪霞<sup>2,3</sup>, 郭志谋<sup>2,3</sup>, 王联芝<sup>1\*</sup><sup>1</sup>湖北民族大学,恩施 44500;<sup>2</sup>中国科学院大连化学物理研究所,大连 116023;<sup>3</sup>中科院大化所中国医药城生物医药创新研究院,泰州 225300

**摘要:**本文利用延胡索中叔胺碱和季铵碱两类生物碱的不同电荷性质,通过调节流动相的种类及 pH 值,提出了一种分离制备叔胺碱和季铵碱类组分的新方法。通过该方法得到的两类生物碱,含量分别达到了 84.0% 和 60.7%,可满足中药有效部位制剂开发的要求。对所制备的生物碱类组分进行了多巴胺 D2 受体细胞拮抗活性评价,结果表明延胡索多巴胺 D2 受体拮抗作用主要集中在叔胺碱组分中,验证了两类生物碱组分不同的药理活性,为延胡索生物碱化学成分研究及有效部位制剂开发提供了理论及实验依据。

**关键词:**延胡索;叔胺碱;季铵碱;聚类分离

中图分类号:O658

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)3-0507-09

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.3.021

## Efficient liquid chromatography separation of tertiary and quaternary alkaloids from *Rhizoma Corydalis* and antagonistic activity test

GAO Zhen-hua<sup>1,3</sup>, WANG Chao-ran<sup>2,3\*</sup>, GUO Xiu-jie<sup>2,3</sup>, WANG Ji-xia<sup>2,3</sup>, GUO Zhi-mou<sup>2,3</sup>, WANG Lian-zhi<sup>1\*</sup><sup>1</sup>Hubei Minzu University, Enshi 445000, China;<sup>2</sup>Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China;<sup>3</sup>DICP-CMC Innovation Institute of Medicine, Taizhou 225300, China

**Abstract:** In this paper, a new method for the separation and preparation of tertiary alkaloids and quaternary alkaloids from *Rhizoma Corydalis* was proposed by adjusting the type and pH value of mobile phase. The content of the two types of alkaloids obtained by this method reached 84.0% and 60.7% respectively, which could meet the requirements for the development of effective parts preparations of traditional Chinese medicine. The prepared alkaloids were evaluated for dopamine D2 receptor cell antagonism, the results showed that the antagonism of dopamine D2 receptor of *Rhizoma Corydalis* was mainly concentrated in the tertiary amines, which verified the different pharmacological activities of the two alkaloids, and provided the theoretical and experimental basis for the research of alkaloids and the development of effective part of *Corydalis*.

**Key words:** *Rhizoma Corydalis*; tertiary alkaloids; quaternary alkaloids; liquid chromatography separation

延胡索为罂粟科紫堇属植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎,别名元胡、延胡、玄胡索、元胡索等,是传统的“浙八味”之一<sup>[1,2]</sup>。作为一味应用历史悠久的活血、行气、止痛中药,其疗效一直为历代医家推崇,目前也仍广泛应用于治疗心律失常、气虚瘀滞、胸痹心痛、腕腹疼痛、产后瘀滞腹痛、跌打损伤等,是中药复方制剂中的常用药<sup>[3,4]</sup>。

现代研究表明,延胡索中主要活性成分为生物碱,其中以叔胺型的原小檗碱类和季铵型的小檗碱类含量最高,占比可分别达到 0.65% 和 0.3% 左右<sup>[5-7]</sup>。这两类成分骨架结构非常类似,但生物学效应大不相同。药理学研究表明,延胡索的镇痛、镇静、催眠和安定等作用主要与水溶性极差的叔胺型生物碱相关<sup>[8,9]</sup>,其中以乙素、丑素最强,甲素次之,虽然都比吗啡弱,但其作用受体为多巴胺受体,没有成瘾性缺陷,耐药性也优于吗啡。相比之下,延胡索中的季铵碱成分,在镇痛方面发现较少,但在抗心肌缺血、较少心肌耗氧等方面具有更显著的作用<sup>[10-12]</sup>。

收稿日期:2019-10-17 接受日期:2020-04-01

基金项目:地区科学基金项目(21262011)

\*通信作者 E-mail:wz1269@163.com, wangchaoran@castim.cn

延胡索中叔胺碱和季铵碱的不同作用靶点和功效,提示了分别以叔胺碱和季铵碱类组分开发活性部位制剂将使药效作用机制更加清晰,在治疗具体疾病时更有针对性,具有中药5类新药的开发前景,而目前对延胡索作用机制和制剂产品的研究仍以总碱为主<sup>[13,14]</sup>,成分较复杂,往往难以有效阐明疗效物质基础。也有部分研究工作采用树脂层析或酸碱萃取的方式,得到了延胡索叔胺碱或季铵碱的组分,但总体工艺稳定性较差,酸碱废液量大,难以符合现代的环保生产要求,得到的组分纯度也不高<sup>[15,16]</sup>。在前期分离纯化延胡索生物碱单体的过程中,我们也发现这两类成分在色谱填料上的色谱峰形和保留行为具有很大差异,将其采用 $C_{18}$  WCX实现类组分分离后,分别采用 $C_{18}$ 和 $C_{18}$  SCX来制备叔胺碱和季铵碱单体,可以使两类成分在不同的分离方法中获得良好的色谱峰形和载样量,从而降低纯化制备的难度<sup>[17]</sup>。因此,发展高效的延胡索生物碱类组分制备方法,不仅对延胡索类组分制剂的开发具有重要作用,对生物碱单体的制备,深入研究延胡索的组成成分也能带来很大的便利。

为克服使用 $C_{18}$  WCX填料进行类组分制备过程中载样量不易控制,填料比较小众不易产业化等缺点,本文采用普通 $C_{18}$ 填料,利用延胡索叔胺碱和季铵碱在不同pH值条件下电荷性质不同的特点,发展了一种更为简便易行的延胡索类组分高效制备方法,并对得到的两类组分进行了生物碱含量测定和多巴胺D2受体拮抗活性的验证,结果显示,两类成分在新方法中得到了有效分离,且类组分的生物碱含量以已知对照品计分别达到了84.0%和60.7%,符合有效部位中药制剂的开发要求,延胡索提取物的多巴胺D2受体拮抗活性也集中在了叔胺碱组分中,可为相应的类组分新药制剂开发奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器、试剂与材料

实验仪器:Alliance e2695 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司)包括自动进样器,2695 型分离单元,柱温箱系统,2996 型光电二极管阵列检测器和 Empower 色谱工作站。YJD20D-GL 十功能自动煎药机(北京东华原医疗设备有限责任公司)、LX-0400 型 20 L 旋转蒸发仪(上海申胜生物技术有限公司)、CeraMem0100-015 型 500 nm 陶瓷膜(厦门福美科技有限公司)、DAC-50 动态轴向压缩柱(江苏汉邦科技有限公司)、PUERLAB Chorus 实验室纯水机(英

国 ELGA 公司)、FLIPR Tetra 高通量实时荧光检测分析系统(美国 Molecular Devices 公司)、SCIENTZ-10N 冷冻干燥机(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

使用的色谱柱:Kromasil 100-5- $C_{18}$ 柱( $4.6 \times 150$  mm,  $5 \mu\text{m}$ , Kromasil, 瑞典); $C_{18}$ 柱( $4.6 \times 250$  mm,  $10 \mu\text{m}$ , 大连思谱, 大连)。

延胡索药材样品(产自浙江金华)。乙腈、乙醇、醋酸、醋酸铵均为分析纯(购自上海国药集团化学试剂有限公司)、多巴胺、氟哌啶醇(购自梯希爱上海仁成工业发展有限公司)、制备乙醇(购自上海星可高纯溶剂有限公司)。所使用的对照品(1:1,3-甲基去氢紫堇达明碱;2:去氢紫堇球碱;3:巴马汀;4:去氢紫堇碱;5:海罂粟碱;6:延胡索乙素;7:延胡索甲素。)均为实验室自制,HPLC 检测纯度为95%以上。制备实验所使用的 $C_{18}$ 填料购自大连思谱精工有限公司,粒径 $10 \mu\text{m}$ ,孔径 $10 \text{nm}$ 。固相萃取实验所使用的 $C_{18}$  CEX 填料购自大连思谱精工有限公司,粒径 $40 \mu\text{m}$ ,孔径 $10 \text{nm}$ 。

### 1.2 实验过程

#### 1.2.1 延胡索生物碱提取物制备

取延胡索干燥样品 500 g,放入十功能自动煎药机,第一次提取加入 70% 乙醇水溶液 5 L,提取温度  $80 \text{ }^\circ\text{C}$ ,沸腾后煎煮 60 min,第二次提取加入 70% 乙醇水溶液 5 L,温度  $80 \text{ }^\circ\text{C}$ ,沸腾后煎煮 40 min,合并两次提取液。用 20 L 旋转蒸发仪进行浓缩去除乙醇至 1.6 L 后,使用 500 nm 陶瓷膜进行澄清过滤,收集透过液,至循环端液体体积降低至 200 ~ 300 mL 后,加 0.8 L 纯化水进行洗滤,合并膜透过液,得到延胡索澄清透过液 1.80 L,旋蒸浓缩至 180 mL,取 2.0 mL 样品冻干得固体 0.245 g,测得其固含量为 122.5 g/L,总提物为 22.05 g。

#### 1.2.2 延胡索生物碱提取物样品分析和类组分制备方法开发

样品分析:Kromasil 100-5- $C_{18}$  ( $5 \mu\text{m}$ ,  $4.6 \times 150$  mm) 色谱柱,流动相 A 相为乙腈,B 相为 0.1% 磷酸(三乙胺调节 pH 值至 6.0)或 0.1 mol/L 醋酸铵(加醋酸调节 pH 值为 6.0、6.5、6.8),C 相为纯水,梯度洗脱条件:0 ~ 20 min,23% A;20 ~ 30 min,23% → 55% A;30 ~ 50 min,55% A;B 相固定 20%。检测波长 280 nm,流速 1 mL/min,进样量  $10 \mu\text{L}$ ,柱温  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

类组分制备方法开发: $C_{18}$  ( $10 \mu\text{m}$ ,  $4.6 \times 250$

mm) 色谱柱, 流动相 A 为乙醇, B 为 20 mmol 醋酸铵 (pH 值为 6.8), 梯度洗脱条件: 0~20 min, 23% A; 20~30 min, 23%←55% A; 30~50 min, 55% A。台阶等度洗脱条件: 0~30 min, 23% A; 30~30.1 min, 23%~55% A; 30.1~50 min, 55% A。检测波长 280 nm, 流速 0.6 mL/min, 进样量 10  $\mu$ L, 柱温 30  $^{\circ}$ C。

### 1.2.3 延胡索类组分制备

制备柱为 DAC-50 mm 动态轴向压缩柱, 填充  $C_{18}$  (10  $\mu$ m, 大连思谱, 大连) 填料 300 g, 流动相 A 为乙醇, B 为 20 mmol 醋酸铵 (pH 值为 6.8), 梯度洗脱条件: 0~30 min, 23% A; 30~30.1 min, 23%→55% A; 30.1~50 min, 55% A。检测波长 280 nm, 流速 70 mL/min。

### 1.2.4 延胡索类组分含量测定

对照品溶液的配制: 使用十万分之一天平, 准确称取延胡索乙素、延胡索甲素和海罂粟碱各 10 mg, 使用含 0.1% 甲酸的 50% 甲醇进行溶解, 配制一系列梯度的叔胺碱混合对照品溶液, 另称取去氢紫堇碱、巴马汀、去氢紫堇球碱、1,3-甲基去氢紫堇达明碱各 10 mg, 使用含 0.1% 甲酸的 50% 甲醇进行溶解, 配制一系列梯度的季铵碱混合对照品溶液。以混合对照品的浓度为横坐标、峰面积为纵坐标建立标准曲线。结果表明, 叔胺碱混合标准品在 3.2~2 000 mg/mL 范围内线性关系良好, 线性相关系数 ( $r^2$ ) 均大于 0.999 7, 季铵碱混合标准品在 40~1 000 mg/mL 范围内线性关系良好, 线性相关系数 ( $r^2$ ) 均大于 0.999 9。

延胡索类组分供试品制备: 称取类组分制备得到的叔胺碱和季铵碱类组分冻干粉末各 10 mg, 使用 50% 甲醇水溶液超声溶解后于 10 mL 容量瓶中定容, 配置成 1 mg/mL 的叔胺碱及季铵碱类组分供试品溶液。

### 1.2.5 镇痛活性测试实验条件

将延胡索提取物及类组分样品取样, 在表达多巴胺 D2 受体的细胞人胚肾 293T 细胞 (HEK293T) 上, 采用 FLIPR (Fluorometric Imaging Plate Reader, Molecular Device Corp) 进行活性筛选, 样品终浓度为 50  $\mu$ g/mL。以每孔 80 000 个细胞接种于用 poly-D-lysine 涂层的 96 孔细胞培养板中, 24 h 后除去培养基并于每孔中加入 100  $\mu$ L 荧光染料溶液 (calcium-6) 在 37  $^{\circ}$ C 下恒温 1 h 时, 除去染料溶液并于每孔加入 100  $\mu$ L 0.5% amaranth, 将待测样品用二甲亚砜 (DMSO) 溶解后置于 96 孔板中, 采用 FLIPR

进行自动加样与细胞培养板中孵育 10 min 后在 520 和 488 nm 波长下进行荧光检测从而对细胞内的  $Ca^{2+}$  浓度进行监测。

## 2 结果与讨论

### 2.1 延胡索提取物样品分析

参考文献方法<sup>[18,19]</sup>, 我们首先以乙腈和磷酸三乙胺缓冲盐 (pH 6.0) 为流动相对延胡索提取物进行了分析。结果如图 2a 所示, 延胡索主要生物碱成分都得到了较好的分离, 20 min 以后峰色谱峰峰形良好, 但 5~20 min 区域的色谱峰均较拖尾。通过 DAD 检测器的色谱峰紫外光谱图分析可知 (如图 3 所示), 峰 1~6 均具有季铵型小檗碱类生物碱的特征吸收, 而峰 8~12 均为叔胺型原小檗碱类生物碱的特征吸收, 峰 7 为海罂粟碱为阿朴啡类生物碱的特征吸收。通过与实验室前期自制的标品对比, 2、3、4、6 号峰分别为 1,3-甲基去氢紫堇达明碱、去氢紫堇球碱、巴马汀、去氢紫堇碱 (均为季铵碱), 峰 9、12 分别为延胡索乙素、延胡索甲素, 峰 7 为海罂粟碱 (均为叔胺碱), 也证实两类成分在接近中性的流动相体系下, 色谱保留时间存在较大差异, 能够实现两类组分的良好分离。在该 pH 条件下, 碱性较弱的叔胺碱电离已经得到大部分抑制, 主要呈分子态, 保留较强, 色谱峰形也较好, 而季铵碱永久带电荷, 呈离子状态, 因而保留总体弱于叔胺碱。

磷酸三乙胺不易挥发, 且在后续工业生产中无法用膜分离回收套用, 为便于后续的液质联用分析和工业化制备应用, 我们尝试用中性的醋酸铵代替磷酸三乙胺。如图 2b 所示, 0.1 mol/L 醋酸铵 (pH 6.8) 条件下, 叔胺碱与季铵碱同样可以实现良好的分离, 且具有镇痛活性的海罂粟碱与叔胺碱更为接近, 可将其归入叔胺碱类组分。但海罂粟碱与 8 号峰的保留过于接近, 不利于含量分析, 经 pH 微调, 发现 pH 为 6.5 时, 7 号峰海罂粟碱能与周边峰得到更好的分离, 故选择 pH6.5 为分析条件, 而在类组分制备时可选择 pH6.8。

### 2.2 延胡索类组分制备方法开发与组分制备

在传统方法中, 常使用大孔吸附树脂对延胡索生物碱成分纯化分离, 但是大孔吸附树脂对溶剂需求量大, 样品分离过程缓慢, 且大孔吸附树脂再生复杂, 不适合大量样品的分离制备<sup>[20]</sup>。制备色谱通常使用 10  $\mu$ m 以上的填料, 且优先使用甲醇、乙醇等易于纳滤回收且价格相对低廉的有机溶剂, 以节约溶剂的使用成本。本实验采用了 10  $\mu$ m 的  $C_{18}$  填

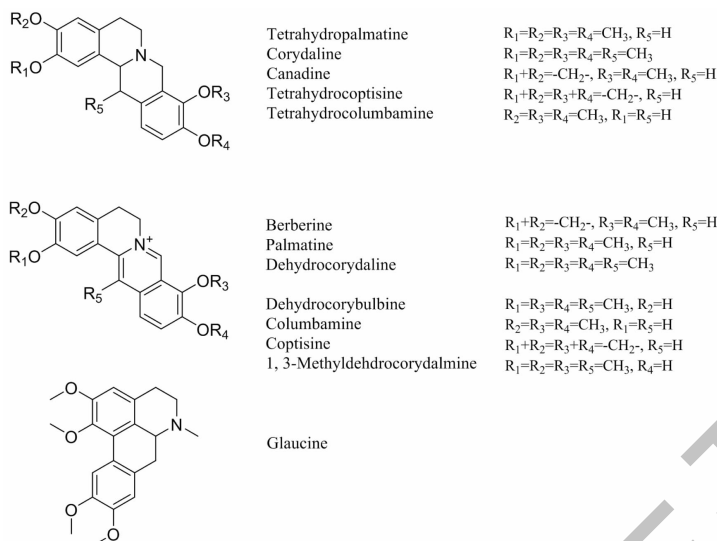


图1 延胡索中主要的叔胺碱和季铵碱

Fig. 1 Structures of main tertiary and quaternary alkaloids in Rhizoma Corydalis

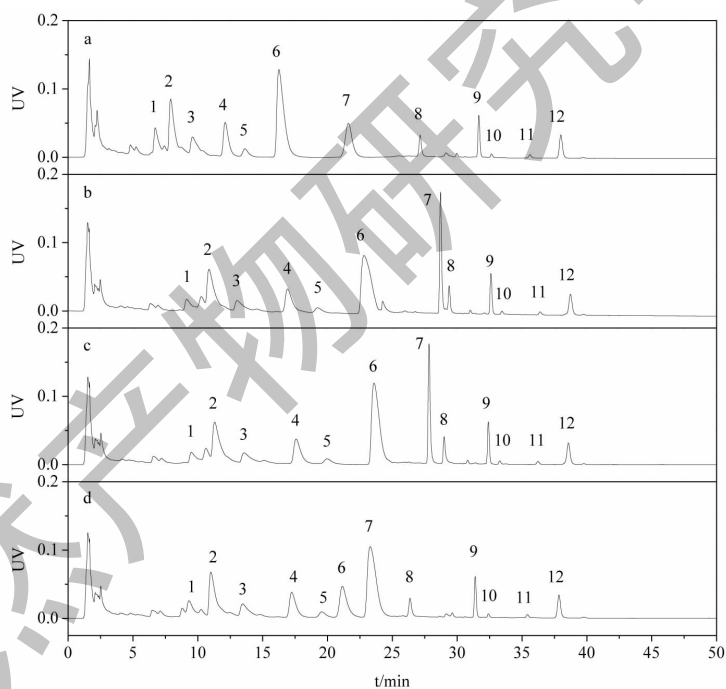


图2 延胡索提取物在不同缓冲盐条件下的分离谱图

Fig. 2 Separation chromatogram of Rhizoma Corydalis extracts with different buffer salt

注:流动相添加剂:(a)0.1%磷酸三乙胺;(b~d)0.1 mol/L醋酸铵,pH值分别为6.8,6.5,6.0。洗脱梯度(a):0~20 min,23% A;20~30 min,23%→55% A;30~50 min,55% A;洗脱梯度(b~d):0~20 min,23% A;20~30 min,23%→55% A;30~50 min,55% A,缓冲盐相固定20%。色谱峰:叔胺碱:7.海罂粟碱;9.延胡索乙素;12.延胡索甲素;季铵碱:2.1,3-甲基去氢紫堇达明碱;3.去氢紫堇球碱;4.巴马汀;6.去氢紫堇碱。Note:Additives:(a)0.1% triethylammonium phosphate;(b-d)0.1 mol/L ammonium acetate with pH at 6.8,6.5,6.0 respectively. gradient(a):0-20 min,23% A;20-30 min,23%→55% A;30-50 min,55% A. gradient(b-d):0-20 min,23% A;20-30 min,23%→55% A;30-50 min,55% A,buffer salt phase fixed at 20%. Peaks:Tertiary alkaloids:7. Glaucine;9. Tetrahydropalmatine;12. Corydaline;Quaternary alkaloids:2. 1,3-Methyldehydrocorydalmine;3. Dehydrocorybulbine;4. Palmatine;6. Dehydrocorydaline.

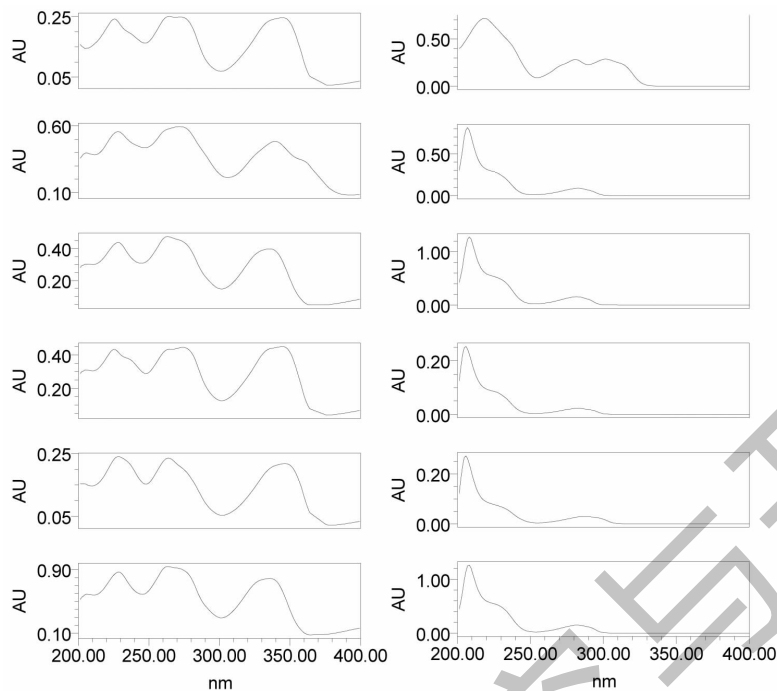


图3 延胡索提取物主要色谱峰的紫外吸收谱图

Fig. 3 Ultraviolet spectra of main chromatographic peaks of Corydalis extracts

料,先使用  $4.6 \times 250$  mm 的预装柱上进行溶剂和梯度方法考察。通过实验发现,在乙醇/醋酸铵 (pH 6.8) 体系下,采用相同的梯度条件,延胡索提取物中的季铵碱虽然峰形更为拖尾,但与叔胺碱的类分离由于叔胺碱的保留增强,类分离效果更优(如图 4a 所示),这也可能是制备填料与分析柱填料选择

性略有差异导致。为便于生产制备,将梯度条件简化为 23% 乙醇和 55% 乙醇两个台阶梯度,分别用于洗脱季铵碱和叔胺碱。考虑到图 4a 中 20 min 23% 的乙醇还不能把季铵洗脱完全,因此把季铵碱的洗脱时间延长到 30 min,结果如图 4b 所示,叔胺碱和季铵碱的分离度进一步扩大。

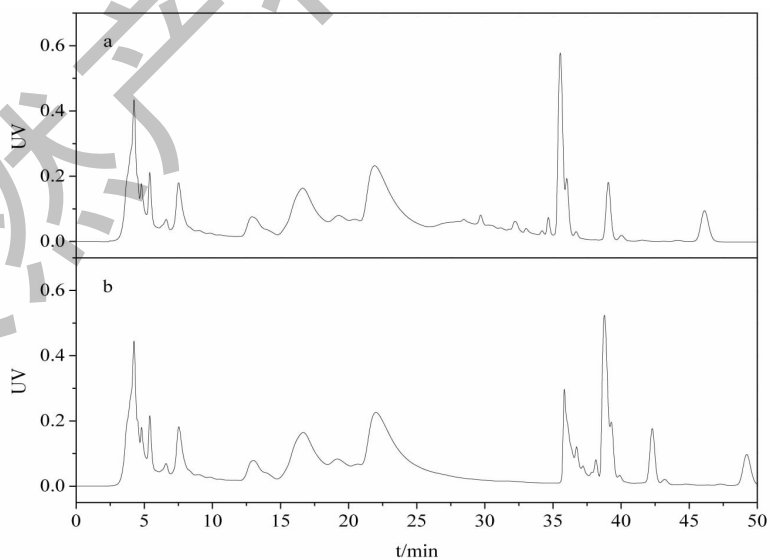


图4 乙醇/醋酸铵体系梯度及台阶等度色谱图

Fig. 4 Gradient and step equivalent chromatography of ethanol/ammonium acetate system

在选定的流动相条件下,将方法转移至装填有 300 g 相同  $C_{18}$  填料的 DAC-50 mm 制备柱上进行放

大。经简单摸索,样品上样量为 80 mL(含固体 9.8 g,相当于填料量 3.3%)时的制备谱图如图 5 所示:

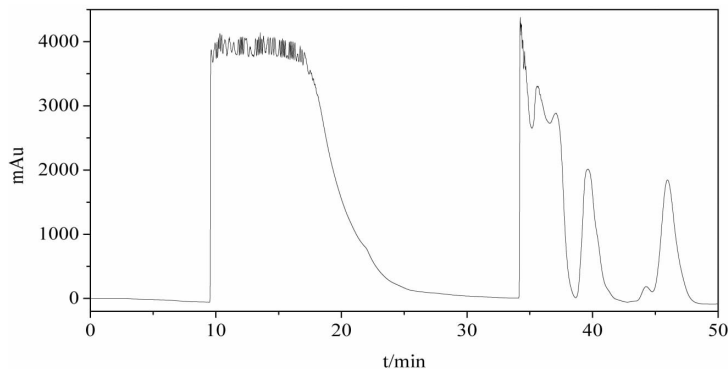


图 5 延胡索类组分制备液相色谱图

Fig. 5 Preparative chromatogram of Rhizoma Corydalis class separation

分别收集 10 ~ 20 min 和 34 ~ 50 min 的馏分,进行 HPLC 分析,分析结果如图 6 所示,可以看到两类组分实现了良好的分离,两类生物碱之间无成分交叉。从制备谱图和分析结果看,样品载样量还有比

较大的提升空间,但本次实验因为提取物样品量有限,上样量先增加到了填料量的 3.3%,在工业化生产过程中样品载样量可以继续增大,适用于大规模样品的生产制备。

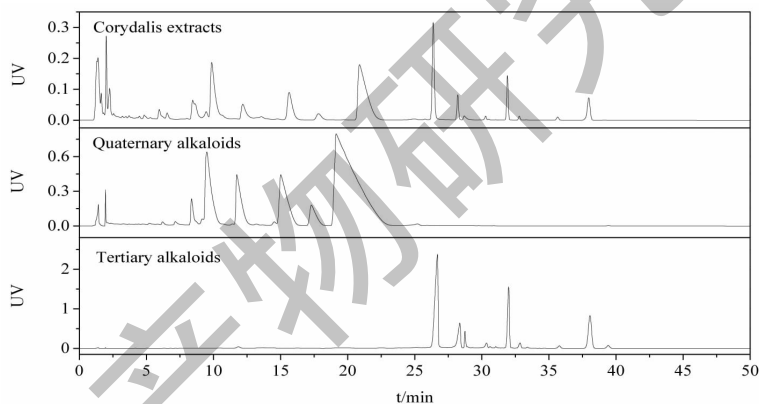


图 6 制备馏分分析色谱图

Fig. 6 Analytical chromatograms of preparative fractions

### 2.3 延胡索类组分的后处理与含量测定

上述制备方法制得的延胡索类组分含有醋酸铵缓冲盐,在工业生产中,可使用纳滤膜浓缩,实现溶剂回收套用,但本次小试的样品量较少,采用固相萃取(SPE)的方式进行同步脱盐和浓缩。实验使用一种耐纯水的亲水性反相填料  $C_{18}$  CEX 作为 SPE 固定相,将类组分制备所得馏分经旋蒸浓缩除去乙醇后,分别上样至两个活化平衡好的 20 g 装 SPE 柱,水洗 3 倍柱体积脱盐后,甲醇洗脱,旋蒸,冻干得到固体粉末,其中季铵碱固体粉末 0.68 g,叔胺碱固体粉末 1.00 g。

按前述分析方法,以实验室自制的 7 个已知成

分为对照品,建立标准曲线,对所制得的类组分进行含量测定。计算结果显示,在叔胺碱类组分中延胡索乙素含量 21.0%,延胡索甲素含量 21.0%,海罂粟碱含量 42.0%,以该 3 个主要已知叔胺碱计,叔胺型类组分的生物碱含量达 84.0%,而在季铵碱类组分中去氢紫堇碱含量 37.0%,巴马汀含量 7.7%,去氢紫堇球碱含量 5.5%,1,3-甲基去氢紫堇达明碱含量 10.5%,以这 4 种已知对照品计,该类组分种含已知成分的含量达 60.7%,两个类组分的已知成分含量总和均超过 50%,符合中药有效部位制剂的已知成分含量大于 50% 的要求。

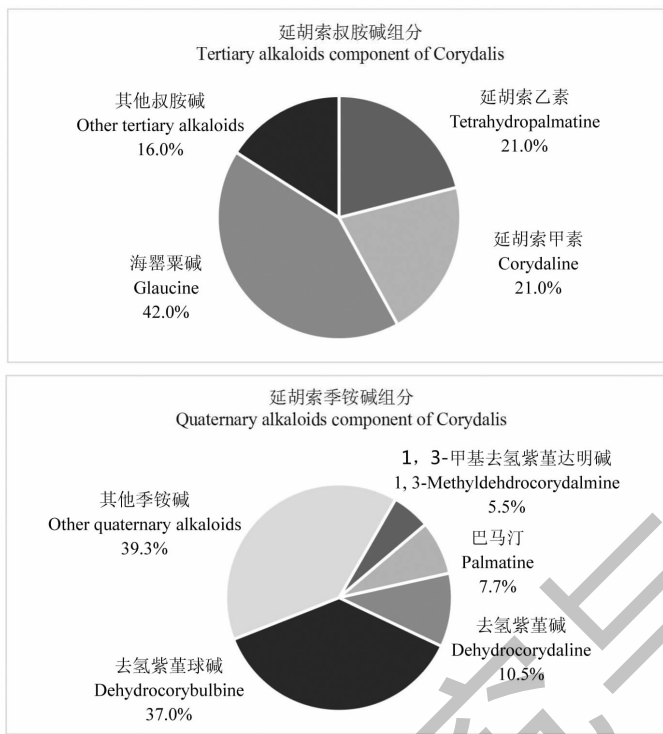


图 7 延胡索类组分含量测定

Fig. 7 Determination of class components in Rhizoma Corydalis

2.4 延胡索类组分化合物在 D2 受体上的拮抗作用测试

现代药理学研究表明,延胡索的镇痛、安定作用是通过多巴胺受体系统发挥作用的,尤其是对多巴胺 D2 受体的拮抗作用<sup>[21]</sup>。将制备的季铵碱和叔胺碱类组分与延胡索提取物在 Fliper 实验平台上进行

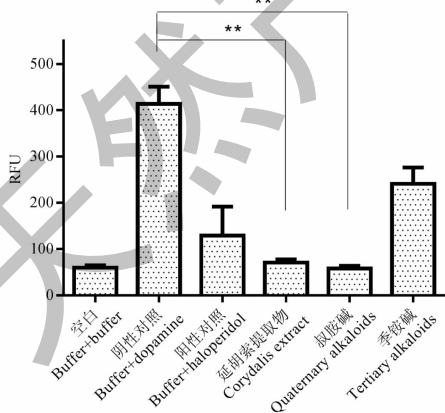


图 8 延胡索组分 D2 受体拮抗活性测试

Fig. 8 Antagonist activity of Rhizoma Corydalis fractions on D2 receptor

注:与阴性对照组(buffer + dopamine)比较, \*\* P < 0.01。Note: Compared with negative control group (buffer + dopamine), \*\* P

< 0.01.

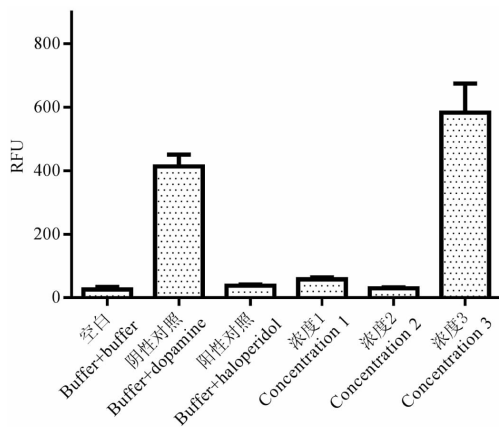


图 9 不同浓度叔胺碱拮抗活性

Fig. 9 Antagonistic activity of different concentrations of tertiary alkaloid

注:浓度 1-3 分别为 50.00、1.85、0.07 μg/mL。Note: Concentration 1-3 were 50.00, 1.85, 0.07 μg/mL, respectively.

了多巴胺 D2 拮抗作用的活性对比,结果如图 8 所示,延胡索提取物对多巴胺 D2 受体有显著拮抗作用,其作用强度与阴性对照组(dopamine)相比具有显著性差异,且大于阳性对照氟哌啶醇(haloperidol),制备成类组分后,季铵碱类组分的拮抗活性较

弱,而叔胺碱的活性强于提取物,这也证明了两类组分在药理活性上的差异。叔胺碱组分在不同浓度下都具有拮抗活性,如图9所示,对叔胺碱样品进行稀释并测定其拮抗活性,结果发现浓度降低至1.85  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,叔胺碱组分达到最低抑制浓度,拮抗活性明显,继续降低浓度直至0.07  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,拮抗活性明显降低,证明了叔胺碱组分的拮抗活性具有剂量依赖性,这些结果为更有治疗针对性的有效部位制剂开发提供了科学依据。

### 3 结论

延胡索中叔胺碱和季铵碱两类生物碱在电离状态下保留接近难以区分,但随着流动相pH值升高,叔胺碱的电离更易受到抑制,保留时间显著增强,能与季铵碱组分实现有效分离,从而开发了一种简便的类组分分离方法。通过分离制备得到了两类成分区分明晰、含量较高,且具有不同药理活性的生物碱类组分,通过多巴胺D2受体的拮抗活性测试,也进一步证实延胡索的镇痛相关活性物质主要集中在叔胺碱类组分。这些结果为延胡索生物碱化学成分研究和具有针对性治疗作用的有效部位制剂开发奠定了实验和理论基础。

### 参考文献

- 1 Chinese pharmacopoeia commission. Pharmacopoeia of the people's republic of China: Vol I (中华人民共和国药典:第一部)[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 139.
- 2 Sun JF, Wang SL, Li H, et al. Research and prospect of eight famous herbal drugs in Zhejiang and related health food China[J]. Modern Med(中国当代医药), 2017, 24(32): 13-16.
- 3 Yang B, Ji HY, Zheng DY, et al. The processing technology and pharmacological effects of Chinese medicine Rhizaoma Corydalis[J]. J Pharm Pract(药学实践杂志), 2017, 35: 112-115.
- 4 Wu XS, Xu J, Zhang XM, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of Yuanhu Zhitong Prescription[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2015, 46: 1081-1094.
- 5 Xu H. Content determination of 5 kinds of alkaloids in Corydalis yanhusuo from different regions by HPLC[J]. Chin J Pharm Anal, 2015, 08: 1403-1407.
- 6 Wu HW, Katharina Waldbauer, Tang LY, et al. Influence of vinegar and wine processing on the alkaloid content and composition of the traditional Chinese medicine Corydalis Rhizo-

- ma(Yanhusuo)[J]. molecules, 2014, 19: 11487-11504.
- 7 Li YH, Yang P, Kong WJ, et al. Berberine analogues as a novel class of the low-density-lipoprotein receptor up-regulators: synthesis, structure-activity relationships, and cholesterol-lowering efficacy[J]. J Med Chem, 2009, 52: 492-501.
- 8 Feng ZL, Zhao ZD, Liu JX. Research progress on chemical components and pharmacological effects of *Corydalis yanhusuo*[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2018, 30: 1999-2008.
- 9 Liao ZG, Liang XL, Zhu JY, et al. Correlation between synergistic action of Radix *Angelica dahurica* extracts on analgesic effects of corydalis alkaloid and plasma concentration of dl-THP[J]. J Ethnopharmacol, 2010, 129: 115-120.
- 10 Wu HL, Li L, Ling HH. *Corydalis yanhusuo* Rhizoma extract reduces infarct size and improves heart function during myocardial ischemia/reperfusion by inhibiting apoptosis in rats[J]. Phytother Res, 2010, 20: 448-453.
- 11 Li QY, Guan HY, Wang XM, et al. Fingerprint-efficacy study of the quaternary alkaloids in *Corydalis yanhusuo*[J]. J Ethnopharmacol, 2017, 207: 108-117.
- 12 Huang QH, Zhou FJ, Xu X, et al. Virtual screening of material basis of *Corydalis* Rhizoma for treating myocardial ischemia based on molecular docking technology[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2019, 50: 2355-2361.
- 13 Kadota S, Sun XM, Basnet P, et al. Effects of alkaloids from *Rhizoma Corydalis decumbens* on contraction and electrophysiology of cardiac myocytes[J]. Phytother Res, 1996, 10(1): 18-22.
- 14 Wang X, Geng YL, Li FW, et al. Large-scale separation of alkaloids from *Corydalis decumbens* by pH-zone-refining counter-current chromatography[J]. J Chromatogr A, 2006, 1115: 267-270.
- 15 Tong SQ, Yan JZ, Lou JZ. Preparative isolation and purification of alkaloids from *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang by high speed counter-current chromatography[J]. J Liq Chromatogr R T, 2005, 28: 2979-2989.
- 16 Chen WN, Yue XK, Yang HY, et al. Comparison of the contents of alkaloids in *Rhizoma corydalis* extractive in acid and alkali aqueous solution[J]. Pract Pharm Clin Remed, 2017, 20: 207-211.
- 17 Guo XJ, Gao ZH, Wang JX, et al. Purification of tertiary and quaternary alkaloids from *Rhizoma Corydalis* using reversed-phase/weak cation-exchange mixed-mode class separation combined with preparative  $\text{C}_{18}$  and silica based strong cation-exchange chromatography[J]. J Chromatogr B, 2019, 15: 1126-1131.