

# 不同产地紫堇属植物生物碱类成分的研究

桂正杰<sup>1</sup>, 申 凯<sup>2</sup>, 黄明浩<sup>1</sup>, 李光伟<sup>1</sup>, 黄泰奇<sup>1</sup>, 金卫华<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>武汉东湖学院生命科学与化学学院, 武汉 430212; <sup>2</sup>苏州凯祥生物科技有限公司, 苏州 215600

**摘要:** 为了比较不同产地紫堇属植物的生物碱类成分差异, 并探究地锦苗中的生物碱类成分, 本文采用高效液相色谱法(HPLC)、酸性染料比色法比较不同产地紫堇属植物的原阿片碱和总生物碱含量差异, 并采用超高效液相色谱串联四级杆飞行时间质谱法(UPLC-Q-TOF-MS)分析鉴定地锦苗中生物碱类成分。结果显示, 不同产地紫堇属植物的原阿片碱和总生物碱含量差异不明显; 通过比对相关文献和质谱数据, 确定了UPLC-Q-TOF-MS检测结果中的13种生物碱, 包括1个缩醛类丽春花定碱类、1个简单异喹啉类、2个普罗托品类、2个原小檗碱类、1个苯酞异喹啉类、4个苯菲啶类、1个四氢小檗碱类、1个阿朴啡类。上述检测结果可对紫堇属药用植物资源开发提供理论依据。

**关键词:** 紫堇属; 总生物碱; HPLC; UPLC-Q-TOF-MS

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2023)3-0410-10

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2023.3.007

## Alkaloid constituents in *Corydalis* from different habitats

GUI Zheng-jie<sup>1</sup>, SHEN Kai<sup>2</sup>, HUANG Ming-hao<sup>1</sup>, LI Guang-wei<sup>1</sup>, HUANG Tai-qi<sup>1</sup>, JIN Wei-hua<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>College of Life Science & Chemistry, Wuhan Donghu University, Wuhan 430212, China;

<sup>2</sup>Catch Bio-science & Technology Co., Ltd., Suzhou 215600, China

**Abstract:** To compare the alkaloid constituents of *Corydalis* from different habitats and explore the alkaloid constituents in *Corydalis shearerii* S. Moore., the HPLC and acid dye colorimetry were used to compare the contents of protopine and total alkaloids in *Corydalis* from different habitats. Alkaloid constituents in *Corydalis shearerii* S. Moore. were identified by ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight-mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS). The results showed that the contents of protopine and total alkaloids in *Corydalis* from different habitats were not significantly different. A total of 13 alkaloids were identified by UPLC-Q-TOF-MS through high-resolution mass spectrometry data and relevant literature, including one rhoeadine-type alkaloid, one simple isoquinoline-type alkaloid, two protopine-type alkaloids, two protoberberine-type alkaloids, one phthalide-type alkaloid, four benzo-phenanthridine-type alkaloids, one tetrahydroproto-berberine-type alkaloid, one aporphine-type alkaloid. The results can provide a theoretical datum for the development of medicinal plant resources of *Corydalis*.

**Key words:** *Corydalis*; total alkaloids; HPLC; UPLC-Q-TOF-MS

罂粟科 Papaveraceae 紫堇属 *Corydalis* 植物具有多种药用价值, 中医记载多将其用于清热解毒、除湿止痛<sup>[1]</sup>, 藏药、壮药中记载其具有治疗脉管炎、肠炎、五脏热症、高山多血症等疾病的作用。紫堇属植物的主要有效成分为异喹啉类生物碱, 此外还有有机胺类、异吲哚类及其他生物碱类, 其中原阿片碱类与原小檗碱类在紫堇属植物中分布较广, 且具有广泛的生物活性。除生物碱类成分外, 紫堇属植物中

还有黄酮类、三萜类、酚类化合物<sup>[2,3]</sup>。紫堇属中应用较广泛的两种植物是延胡索 (*Corydalis yanhusuo* W. T. Wang) 和伏生紫堇 (*Corydalis decumbens* (Thunb.) Pers.), 二者均具有行气止痛、活血散瘀、舒筋活络的功能, 如 Gao 等<sup>[4]</sup>的研究表明延胡索的镇痛相关活性物质主要集中在叔胺碱类组分。近年来还发现紫堇属所含生物碱具有许多其他活性, 如 Yao 等<sup>[5,6]</sup>发现来源于延胡索的四氢紫堇萨明具有改善 AD 小鼠认知记忆障碍的作用; 紫堇 (*Corydalis edulis* Maxim.) 提取所得的紫堇灵可以减轻四氯化碳诱导的急性肝损伤作用<sup>[7]</sup>。

地锦苗(*Corydalis shearerii* S. Moore)具有清热解毒、活血止痛等功效<sup>[8]</sup>,尚无文献报道其具体成分,且紫堇属植物种类繁多、成分复杂,而目前尚有多种紫堇属植物成分未知,对其药理作用研究大多集中于含量较高的延胡索乙素和原阿片碱<sup>[9]</sup>,故笔者采用 HPLC 法测定不同产地紫堇属植物中原阿片碱含量,酸性染料比色法测定总生物碱含量,并采用 UP-LC-Q-TOF-MS 法分析地锦苗地上部分生物碱类成

分,以期为紫堇属植物药材质量控制、地锦苗药材资源开发提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

实验所用紫堇属植物分别产自贵州、辽宁、陕西、河南、湖北,经武汉东湖学院金卫华讲师鉴定,样品信息详见表 1。

表 1 样品信息表

Table 1 Information of samples

编号 No.	物种 Species	产地 Producing area	采集时间 Harvest time
S1	地锦苗 <i>Corydalis shearerii</i> S. Moore	贵州	2022 年 3 月
S2	黄堇 <i>Corydalis pallida</i> (Thunb.) Pers.	辽宁	2022 年 4 月
S3	紫堇 <i>Corydalis edulis</i> Maxim.	陕西	2022 年 3 月
S4	紫堇 <i>Corydalis edulis</i> Maxim.	河南	2022 年 3 月
S5	紫堇 <i>Corydalis edulis</i> Maxim.	湖北	2022 年 4 月
S6	地锦苗 <i>Corydalis shearerii</i> S. Moore	贵州	2022 年 3 月
S7	地锦苗 <i>Corydalis shearerii</i> S. Moore	贵州	2022 年 3 月
S8	地锦苗 <i>Corydalis shearerii</i> S. Moore	贵州	2022 年 6 月

### 1.2 仪器与试剂

SP-1901UV 型紫外可见光度计(上海光谱仪器厂);LC-100 高效液相色谱仪(伍丰);1290 UPLC 串联 6530 Q-TOF-MS(安捷伦)。

原阿片碱标准品(成都植化纯生物,批号:PCS-210415);溴甲酚绿、甲醇、二氯甲烷、乙醇、乙酸、乙酸钠、氢氧化钠以及硫酸、盐酸、磷酸(国药集团化学试剂有限公司,纯度均为分析纯或色谱纯);乙腈、甲酸(色谱纯,Merck)。

### 1.3 总生物碱含量测定方法

#### 1.3.1 溶液配制

##### 1.3.1.1 缓冲液配制

取无水乙酸钠 0.15 g 及冰乙酸 5.6 mL 至 500 mL 量瓶中,摇匀,即得。

##### 1.3.1.2 溴甲酚绿溶液的制备

取溴甲酚绿 0.2 g,加 0.05 mol/L 氢氧化钠溶液 3.2 mL,加水定容至 200 mL。

##### 1.3.1.3 供试品溶液的制备

将“1.1”中 S1、S2、S3、S4、S5 样品粉碎过 50 目筛,取 5.00 g,加入 50 mL70% 乙醇超声提取三次,每次 1 h,浓缩提取液定容到 50 mL,即为样品液。

##### 1.3.1.4 对照品溶液的制备

称取原阿片碱标准品 18 mg,甲醇定容到 50

mL,即得 0.36 mg/mL 的原阿片碱对照品溶液。

#### 1.3.2 测定波长的验证

取 1.0 mL 甲醇,置于分液漏斗中,加入 5 mL 乙酸钠-乙酸缓冲液,再加入 2 mL 溴甲酚绿酸性染料溶液,摇匀,加入 5 mL 二氯甲烷萃取 5 次,合并二氯甲烷层浓缩定容到 10 mL 容量瓶中,再吸取 1 mL 定容到 5 mL 容量瓶中,作为空白对照。标准品与样品溶液处理同上,并在 350 ~ 550 nm 范围内进行全波长扫描<sup>[10]</sup>。

#### 1.3.3 标准曲线

精密吸取 1.0 mL“1.3.1.4”中对照品溶液,加入缓冲溶液 5.0 mL 及酸性染料溶液 2.0 mL,加二氯甲烷 5 mL 萃取 5 次,合并,蒸发二氯甲烷,定容到 10 mL,取该溶液 0.1、0.2、0.3、0.5、1、1.5 mL,定容到 5 mL,即浓度分别为 0.72、1.44、2.16、3.6、7.2、10.8  $\mu\text{g/mL}$ 。于 415 nm 波长下测定吸光值,绘制浓度-吸光值标准曲线。

#### 1.3.4 样品总生物碱含量测定

精密吸取 1.0 mL“1.3.1.3”中样品溶液,置于分液漏斗中,按“1.3.2”中操作方法比色测定,于 415 nm 波长下测定吸光值,按回归方程计算样品中总生物碱含量,每个样品重复操作测定三次,取测定结果均值为最终含量测定结果。

## 1.4 原阿片碱含量测定

### 1.4.1 色谱条件

参考文献<sup>[11]</sup>并稍微作调整。色谱柱: Welch Materials XB-C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸水溶液 25:75; 流速: 0.8 mL/min, 检测波长: 284 nm, 柱温: 35 °C, 进样量: 20 μL。

### 1.4.2 对照品溶液的制备

取 0.36 mg/mL 的原阿片碱 1 mL, 1% 盐酸-甲醇 (1:1) 定容到 5 mL, 从中取 0.2、0.4、0.6、0.8 mL 用 1% 盐酸-甲醇 (1:1) 定容至 5 mL, 即浓度分别为 2.88、5.76、8.64、11.52、72 μg/mL, 0.22 μm 滤膜过滤, 即得对照品溶液, 按“1.4.1”色谱条件进样, 由回归方程计算样品中原阿片碱含量。

### 1.4.3 样品中原阿片碱含量测定

取“1.3.1.3”中样品液 1 mL, 1% 盐酸-甲醇 (1:1) 定容到 5 mL, 0.22 μm 滤膜过滤, 用于进样, 每个样品重复进样三次, 取测定结果均值为最终含量测定结果。

## 1.5 UPLC-Q-TOF-MS 法探究地锦苗地上部分生物碱类成分

### 1.5.1 样品溶液的制备

取粉碎过 50 目筛的 S6 样品 2.22 g 到 13 mL 的 70% 乙醇, 超声提取 1 h, 从中取 1 mL, 加 70% 乙醇定容到 5 mL 容量瓶中, 过 0.22 μm 滤膜用于进样。

取粉碎过 50 目筛的 S7 样品 65.00 g, 加入 5 倍量 70% 乙醇超声提取三次, 每次 1h, 旋转蒸发回收乙醇, 残留物加 1% 盐酸超声提取, 过滤, 取滤液, 加氢氧化钠调节 pH 值至 11, 二氯甲烷萃取, 盐酸反萃取, 直到反萃取液盐酸加碘化铋钾试剂反应不明显为止, 再加氢氧化钠调节盐酸反萃取液 pH 值至 11, 二氯甲烷萃取, 合并二氯甲烷萃取液, 蒸发至干, 乙醇转移溶解残留物, 减重法称量, 最终得到总生物碱 40 mg, 刮取结晶皿中总生物碱, 得 11 mg 红色固体粉末, 加 70% 乙醇定容到 10 mL 容量瓶中, 过 0.22 μm 滤膜用于进样。

取粉碎过 50 目筛的 S8 样品 2.22 g 到 13 mL 的 70% 乙醇, 超声提取 1 h, 从中取 1 mL, 加 70% 乙醇定容到 5 mL 容量瓶中, 过 0.22 μm 滤膜用于进样。

### 1.5.2 UPLC-Q-TOF-MS 条件

#### 1.5.2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent Poroshell 120 (150 mm × 3.0 mm, 2.7 μm); 流动相: 乙腈 (A)-甲酸水溶液 (每 1

000 mL 水中含 1 mL 甲酸) (B), 梯度洗脱 (0 ~ 5 min, 90% A; 5 ~ 50 min 90% → 5% A; 50 ~ 55 min, 5% → 90% A; 55 ~ 60 min, 90% A); 流速: 0.4 mL/min; 检测波长: 210、254、280 nm; 柱温: 35 °C; 进样量: 2 μL

#### 1.5.2.2 质谱条件

ESI 离子源, 采用正离子检测模式, 干燥器温度: 300 °C, 干燥气体积流量: 8 L/min, 雾化器压力:  $3.5 \times 10^6$  Pa, 脱溶剂温度: 350 °C, 脱溶剂气体积流量: 11 L/min, 毛细管电压: 3 500 V, 锥孔电压: 500 V, 扫描范围  $m/z$ : 100 ~ 1 700, 二级裂解电压: 10 ~ 50 eV。

## 2 结果与分析

### 2.1 总生物碱含量测定部分

#### 2.1.1 测定波长的验证

原阿片碱与样品液均能与溴甲酚绿形成离子对, 且最大吸收峰波长都在均在 415 nm 波长处 (见图 1), 故选择 415 nm 为测定波长。

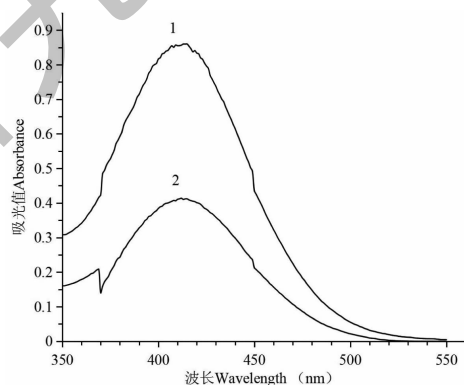


图 1 溴甲酚绿-生物碱离子对光谱扫描图

Fig. 1 Spectrogram of bromocresol green-alkaloid ion pairs  
注: 1: 原阿片碱; 2: 样品溶液。Note: 1: Protopine; 2: Sample.

#### 2.1.2 标准曲线

最终得到回归方程为  $y = 0.0892x + 0.0135$ ,  $r = 0.9998$ , 结果表明, 原阿片碱在 0.72 ~ 10.8 μg/mL 范围内与吸光度线性关系良好, 标准曲线如图 2。

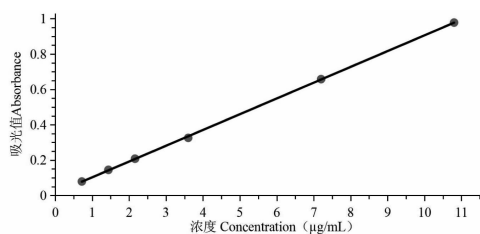


图 2 标准曲线

Fig. 2 Standard curve

### 2.1.3 样品总生物碱含量测定

S1 ~ S5 样品中总生物碱含量如表 2, 可知各样品总生物碱含量范围为 2.01 ~ 2.49 mg/g。

表 2 样品中总生物碱含量 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 2 Content of total alkaloids in samples ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

样品 Sample	总生物碱含量 Total alkaloid content (mg/g)
S1	2.01 ± 0.03
S2	2.21 ± 0.01
S3	2.30 ± 0.02
S4	2.11 ± 0.02
S5	2.49 ± 0.01

## 2.2 原阿片碱含量测定

### 2.2.1 液相色谱图

由图 3 可知, 原阿片碱与其他杂峰分离良好, 且保留时间为 14.42 min。

### 2.2.2 标准曲线和含量测定结果

回归方程:  $y = 2633.7x + 5081.8$   $r = 0.9997$ , 表明原阿片碱浓度在 2.88 ~ 72  $\mu\text{g/mL}$  范围内线性关系良好, S1 ~ S5 样品中原阿片碱含量如表 3, 可知各样品中原阿片碱含量范围为 1.202 ~ 1.911 mg/g。

## 2.3 UPLC-Q-TOF-MS 检测结果

基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术, 在色谱条件优化的前提下检测供试样品, 得到正离子模式下样品 S6、

S7、S8 的总离子色谱图 (total ion chromatogram, TIC), 如图 4 所示。

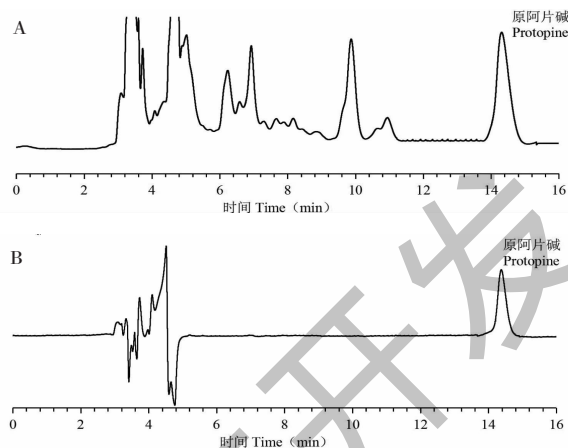


图 3 S1 样品 (A) 和原阿片碱对照品 (B) 的 HPLC 谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of S1 sample (A) and reference substance of protopine (B)

表 3 样品中原阿片碱含量 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 3 Content of protopine in samples ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

样品名称 Sample name	原阿片碱含量 Content of protopine (mg/g)
S1	1.911 ± 0.003
S2	1.907 ± 0.002
S3	1.202 ± 0.002
S4	1.397 ± 0.001
S5	1.906 ± 0.002

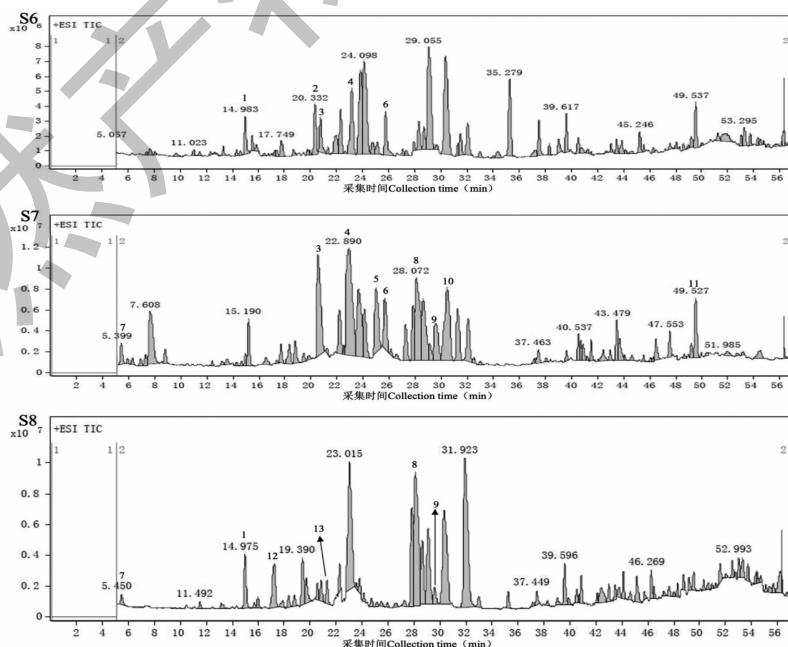


图 4 S6、S7、S8 样品正离子模式 TIC 图

Fig. 4 TIC of samples S6, S7, S8 under positive ion mode

### 2.3.1 样品中生物碱种类差异的分析

由表4可知,三个样品检出的生物碱种类存在差异,可能是由于所用材料地锦苗批次不同、采集地生境不同以及UPLC-Q-TOF-MS分析的预处理过程不同;此外,化合物1、13分子中存在酚羟基,化合物12分子中存在内酯环,三者可能在碱化-萃取过程中更易溶于水相而几乎不溶于二氯甲烷,这可能是导致样品S7未检出上述三者的原因。

此外,S8样品采集自与S6、S7不同地点,且样品S6、S7于2022年3月采集,采集时地上部分除茎

叶外,存在花、果实等结构;样品S8于2022年6月采集,采集时花已凋谢,仅剩果实,故推测可能是植株个体生长地点的差异和生长周期的差异共同导致了其成分的差异。

### 2.3.2 生物碱的分类鉴定

UPLC-Q-TOF-MS共鉴定出8类、13种生物碱,均通过比对文献、CA、上海有机化学研究所数据库中化合物质谱数据鉴定,各生物碱分子离子峰和碎片离子峰信息见表5,结构式见图5。

表4 S6、S7、S8样品中检出的生物碱

Table 4 Alkaloids detected in samples S6, S7, S8

序号 No.	化合物 Compound	样品名称 Sample name		
		S6	S7	S8
1	异紫堇定碱 Isocorydine	+		+
2	丽春花定碱 Rhoeadine	+		
3	四氢非洲防己碱 Tetrahydrocolumbamine	+	+	
4	原阿片碱 Protopine	+	+	
5	别隐品碱 Allocryptopine	+	+	
6	二氢小檗碱 Dihydroberberine	+	+	
7	6,7-二甲氧基喹啉或2,4-二甲氧基喹啉 6,7-Dimethoxyquinoline or 2,4-Dimethoxyquinoline		+	+
8	紫堇灵 Corynoline		+	+
9	血根碱 Sanguinarine		+	+
10	乙酰紫堇灵 Acetylcorynoline		+	
11	二氢血根碱 Dihydrosanguinarine		+	
12	比枯枯灵 Bicuculline			+
13	小檗红碱 Beberubine			+

注:“+”表示样品中检测到该化合物。

Note:“+”indicates that the compound is detected in the sample.

表5 UPLC-Q-TOF-MS鉴定的地锦苗生物碱成分

Table 5 Alkaloid compounds identified from *Corydalis sheareri* by UPLC-Q-TOF-MS

序号 No.	化合物 Compound	保留时间 $t_R$ (min)	实测值 Experimental value	理论值 Calculated value	误差 Error ( $\times 10^{-6}$ )	碎片离子 Fragmentation ( $m/z$ )	分子式 Molecular formula	文献 Ref.
1	异紫堇定碱 Isocorydine	14.672	342.165 9	342.163 0	8.5	297.112 2, 282.088 8, 265.085 9	$C_{20}H_{23}NO_4$	12
2	丽春花定碱 Rhoeadine	19.995	384.145 2	384.144 2	2.6	303.064 9, 291.064 8, 263.069 7	$C_{20}H_{23}NO_4$	13
3	四氢非洲防己碱 Tetrahydrocolumbamine	20.707	342.168 0	342.169 5	-4.4	294.116 4, 192.100 4, 151.074 8	$C_{20}H_{23}NO_4$	14
4	原阿片碱 Protopine	22.784	354.132 3	354.134 1	-5.1	275.068 9, 206.080 0, 189.077 5	$C_{20}H_{19}NO_5$	14
5	别隐品碱 Allocryptopine	24.964	370.165 0	370.164 5	1.4	290.092 5, 206.080 1, 188.070 1	$C_{21}H_{23}NO_5$	14
6	二氢小檗碱 Dihydroberberine	25.652	338.136 1	338.138 7	-7.7	322.105 8, 308.090 3, 294.110 9	$C_{20}H_{19}NO_4$	13
7	6,7-二甲氧基喹啉或 2,4-二甲氧基喹啉 6,7-Dimethoxyquinoline or 2,4-Dimethoxyquinoline	5.207	190.084 9	190.086 4	-7.9	175.060 9, 160.074 2, 147.064 6	$C_{11}H_{11}NO_2$	14
8	紫堇灵 Corynoline	28.050	368.146 1	368.149 8	-10.1	289.084 6, 261.089 6, 177.054 1	$C_{21}H_{21}NO_5$	12

续表 5 (Continued Tab. 5)

序号 No.	化合物 Compound	保留时间 $t_R$ (min)	实测值 Experimental value	理论值 Calculated value	误差 Error ( $\times 10^{-6}$ )	碎片离子 Fragmentation ( $m/z$ )	分子式 Molecular formula	文献 Ref.
9	血根碱 Sanguinarine	29.510	332.089 8	332.087 3	7.5	317.065 7, 304.094 2, 274.084 1	$C_{20}H_{14}NO_4$	15
10	乙酰紫堇灵 Acetylcorynoline	30.446	410.155 8	410.158 3	-6.1	350.136 5, 289.084 3, 261.089 0	$C_{23}H_{23}NO_6$	12
11	二氢血根碱 Dihydrosanguinarine	48.887	334.105 7	334.107 9	-6.6	318.074 0, 276.098 9, 261.076 5	$C_{20}H_{15}NO_4$	12
12	比枯枯灵 Bicuculline	16.785	368.109 8	368.113 4	-9.8	307.056 9, 277.046 6, 249.051 9	$C_{20}H_{17}NO_6$	14
13	小檗红碱 Beberubine	21.190	322.104 6	322.107 3	-8.4	307.079, 278.077 7, 250.082 9	$C_{19}H_{16}NO_4$	16

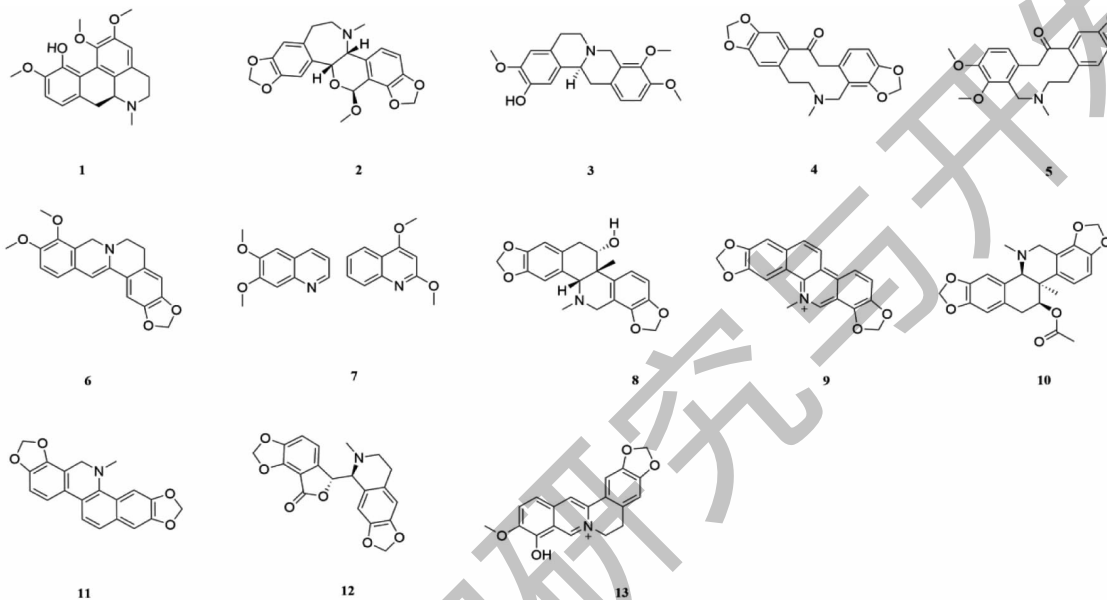


图 5 地锦苗生物碱化合物的结构

Fig. 5 Structures of alkaloids from *Corydalis shearerii*

## 2.3.2.1 缩醛类丽春花定碱类

此类生物碱有 **2**, 如图 6, 一级质谱中, 其分子离

子峰为  $m/z$  384.145 2 ( $[M + H]^+$ ), 缩醛羟基失去甲基取代基得  $m/z$  368.1380 的碎片离子峰; 二级

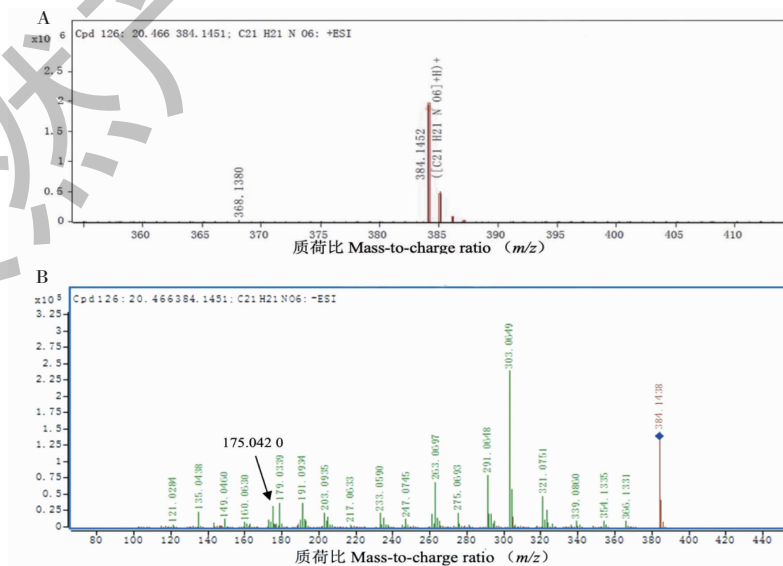


图 6 丽春花定碱一级质谱 (A)、二级质谱 (B)

Fig. 6 MS (A) and MS/MS (B) spectrum of rhoeadine

质谱中,  $m/z$  368.138 0 的碎片离子峰失去 2 个 H 形成  $m/z$  366.133 1 的碎片离子峰, 该碎片离子峰进一步

裂解可产生  $m/z$  191.093 4、175.042 0 的碎片离子峰 (裂解途径如图 7), 确定 **2** 为丽春花定碱<sup>[17,18]</sup>。

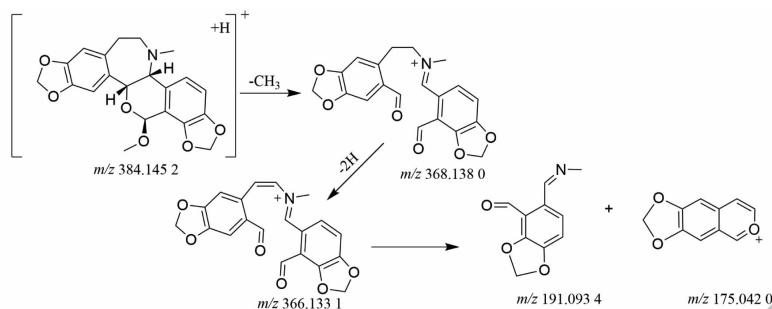


图 7 丽春花定碱的裂解途径

Fig. 7 Proposed fragmentation pathway of rhoeadine

### 2.3.2.2 简单异喹啉类

此类生物碱有 **7**, 在样品 S7、S8 的 DAD 图谱中保留时间分别为 4.968、5.207 min, 差异较大, 互为位置异构体, 其分子离子峰为  $m/z$  190.084 9, 均从母核上连续丢失  $-CH_3$ 、 $-CO$  和  $-OCH_2$ , 产生  $m/z$  175.060 9、147.064 6、117.056 7 的碎片离子, 确定 **7** 为 6,7-二甲氧基喹啉或 2,4-二甲氧基喹啉<sup>[14]</sup>。

### 2.3.2.3 普罗托品类

此类生物碱有 **4**、**5**, 以 **4** 为例 (见图 8), 其分子

离子峰为  $m/z$  354.132 3, 由于母核不存在大  $\pi$  共轭系统, 易发生断裂而失去 1 分子  $-H_2O$  而产生  $m/z$  336.121 0 的碎片离子, 此离子再失去 1 分子  $CO$  和 2 个 H 产生  $m/z$  306.106 1 的碎片离子; 其母核还可发生 RDA 裂解而产生  $m/z$  206.080 0、149.059 4、和 165.054 0 等丰度很高的碎片离子峰, 碎片离子  $m/z$  206.080 0 进一步失去 1 分子  $H_2O$  或 1 个 OH 产生  $m/z$  188.070 2 和  $m/z$  189.077 5 的碎片峰, 确定 **4** 为原阿片碱<sup>[14]</sup>。

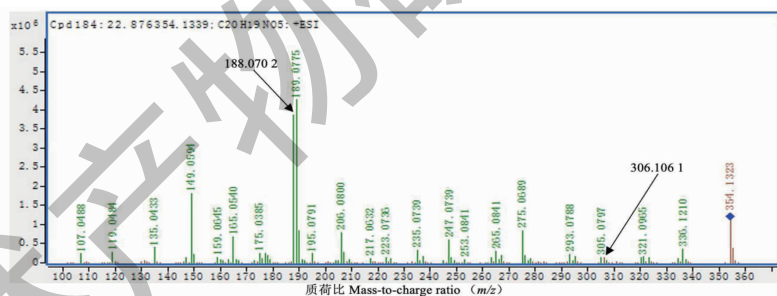


图 8 原阿片碱二级质谱

Fig. 8 MS/MS spectrum of protopine

### 2.3.2.4 原小檗碱类

此类生物碱有 **6**、**13**, 以 **13** 为例 (见图 9), 一级质谱中其分子离子峰为  $m/z$  322.104 6; 二级质谱中, 分子离子峰端位的  $-CH_3$  会脱落, 产生丰度比较高的  $m/z$  307.079 5 的  $[M-CH_3]^+$  碎片离子。另外, 1,3-二氧五元环的一侧苯环开裂, 丢失  $-CO$  碎片, 产生  $m/z$  292.056 6 的  $[M-CH_2-CO]^+$  碎片, 高能碰撞下继续失去  $-CH_2$  碎片, 最后产生  $m/z$  278.077 7 的  $[M-CH_2-CO-CH_2]^+$  碎片离子, 确定 **13** 为小檗红碱<sup>[16]</sup>。

### 2.3.2.5 苯酚异喹啉类

此类生物碱有 **12** (见图 10), 其分子离子峰为

$m/z$  368.109 8, 失去一分子  $-CH_3NH_2$  和  $-CH_2O$  产生  $m/z$  307.056 9 的碎片离子, 接着失去 1 分子  $CHO$  和  $CO$ , 产生  $m/z$  277.046 6 和  $m/z$  249.051 9 的特征碎片离子峰, 确定 **12** 为比枯枯灵<sup>[14]</sup>。

### 2.3.2.6 苯菲啶类

此类生物碱有 **8**、**9**、**10**、**11**, 以 **8** 为例 (见图 11), 其分子离子峰为 368.146 1, 首先失去一分子  $H_2O$  产生  $m/z$  350.135 8 的碎片离子, 再由二氧五元环脱去一分子  $-OHCH_2$  产生  $m/z$  319.094 1 的碎片离子, 脱去  $N$ -甲基产生  $m/z$  304.070 7 的碎片离子, 脱去甲基产生  $m/z$  289.084 6 的碎片离子, 脱去一分



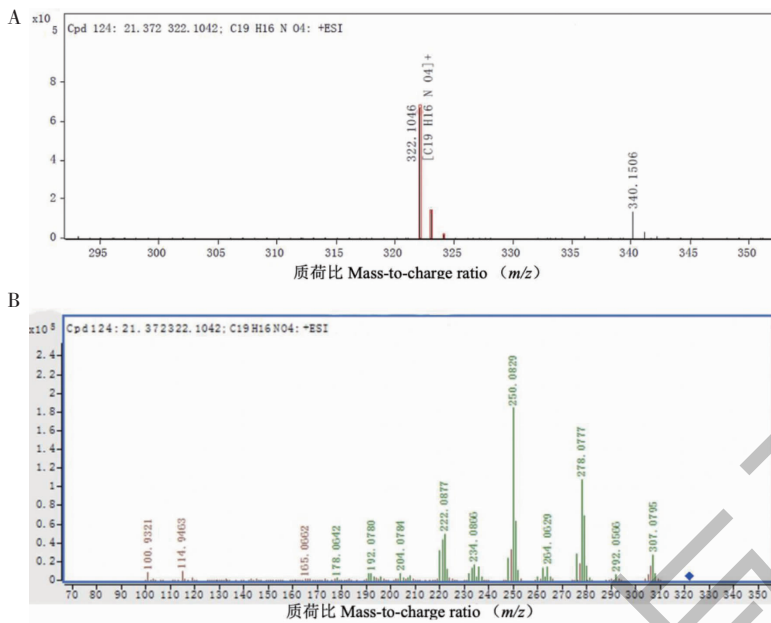


图9 小檗红碱一级质谱(A)、二级质谱(B)

Fig. 9 MS (A) and MS/MS(B) spectrum of beberubine

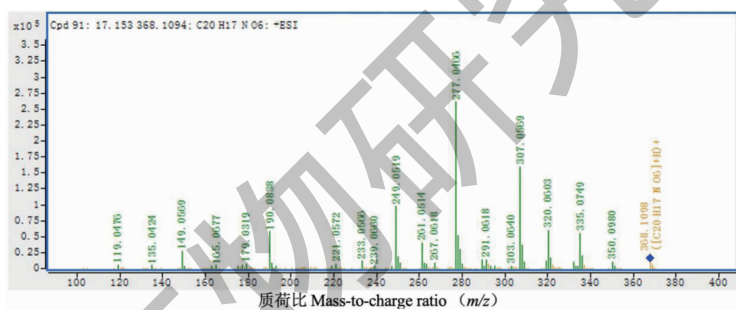


图10 比枯桔灵二级质谱

Fig. 10 MS/MS spectrum of bicuculline

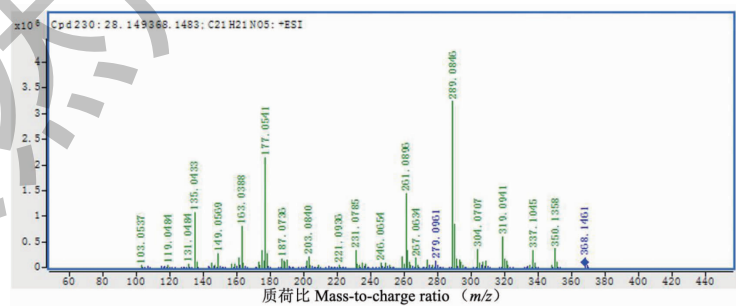


图11 紫堇灵二级质谱

Fig. 11 MS/MS spectrum of corynoline

子-OHCH<sub>2</sub> 产生  $m/z$  261.089 6 的碎片离子, 确定 **8** 为紫堇灵<sup>[12]</sup>。

### 2.3.2.7 四氢小檗碱类

此类生物碱有 **3** (见图 12), 其分子离子峰为  $m/z$

$m/z$  342.168 0, 其母核可发生 RDA 裂解而产生高丰度的含氮片段, 如  $m/z$  192.100 4、178.086 8、163.062 4、151.074 8 等, 确定 **3** 为四氢非洲防己碱<sup>[19]</sup>。



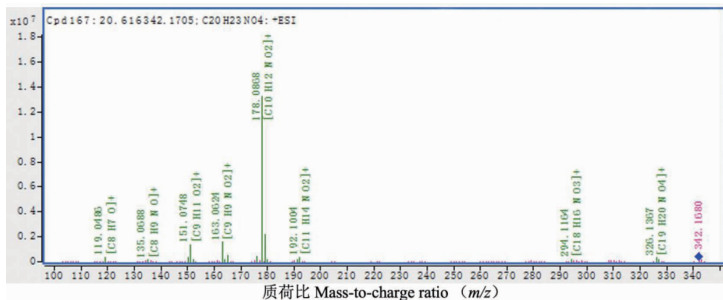


图 12 四氢非洲防己碱二级质谱

Fig. 12 MS/MS spectrum of tetrahydrocolumbamine

### 2.3.2.8 阿朴啡类

此类生物碱有 **1** (见图 13), 其分子离子峰为  $m/z$  342. 165 9, 由于此类生物碱容易中性丢失  $(\text{CH}_3)_2\text{NH}$  或  $\text{CH}_3\text{NH}_2$  取代基而产生  $[\text{M} + \text{H} - 45]^+$  或  $[\text{M} + \text{H} - 31]^+$  特征片段, 即  $m/z$  311. 131 4、

297. 108 5 的碎片离子, 而  $m/z$  297. 108 5 的碎片离子连续失去 1 分子甲基、羟基自由基和 CO 可产生  $m/z$  282. 085 7、265. 082 8、237. 088 3 的碎片离子, 确定 **1** 为异紫堇定碱<sup>[14]</sup>。

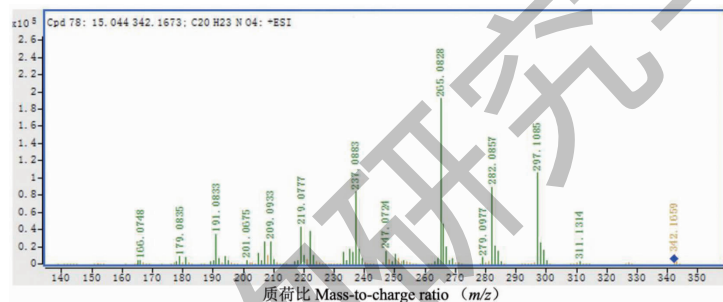


图 13 异紫堇定碱二级质谱

Fig. 13 MS/MS spectrum of isocorydine

## 3 结论

本文分析了来自五个不同产地的紫堇属植物地上部分的原阿片碱含量和总生物碱含量, 其中原阿片碱含量范围: 1. 202 ~ 1. 911 mg/g, 总生物碱含量范围: 2. 01 ~ 2. 49 mg/g, 此外, 本文从地锦苗地上部分共鉴定出 8 类生物碱, 其中缩醛类丽春花定碱类的 **2** 为首次从我国的紫堇属植物中发现, 此生物碱主要存在于罂粟属的罂粟和虞美人等植物中, 紫堇属植物中报道较少, 不丹的紫堇属植物皱波黄堇 (*Corydalis crispa*) 中曾发现该生物碱<sup>[20]</sup>。

目前, 紫堇属药用植物种类繁多, 不同文献记载的各药材品种名称、基原等存在较大的差异, “同物异名”“同名异物”等现象突出, 因此明确植物化学成分和有效成分含量, 进而完善药材的质量标准是有必要的<sup>[21]</sup>。原阿片碱及其类似结构生物碱已在紫堇属的 74 种植物中发现, 因此本文测定原阿片碱及总生物碱含量、采用 UPLC-Q-TOF-MS 法探究地锦

苗中生物碱类成分为紫堇属植物药材质量控制和开发利用提供理论依据。

## 参考文献

- 1 Yu HH, Gao C, Song WT, et al. Research advances on alkaloid compounds in *Corydalis* [J]. Anim Husb Feed Sci (畜牧与饲料科学), 2014, 35: 28-29.
- 2 Tian J, Zhang P, Lu YC, et al. The *Corydalis hendersonii* Hemsl.: a review of phytochemistry and bioactivities [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol (中药新药与临床药理), 2019, 30: 135-140.
- 3 Nan ZD, Han GT, Li XA, et al. Phenolic compounds with cytotoxic activity from *Corydalis impatiens* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2020, 32: 1164-1170.
- 4 Gao ZH, Wang CR, Guo XJ, et al. Efficient liquid chromatography separation of tertiary and quaternary alkaloids from *Rhizoma Corydalis* and antagonistic activity test [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2020, 32: 507-514.
- 5 Yao B, Hou B, Li WY, et al. Effects and mechanism of tetra-

- hydrocorysamine on apoptosis of AD cell model induced by  $A\beta_{25-35}$  [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2019, 31:49-54.
- 6 Yao B, Hou B, Li WY, et al. Effects and possible mechanisms of tetrahydrocorysamine on phosphorylation of Tau in AD cell model [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2019, 31:1246-1251.
  - 7 Feng PW, Han JC, Li DF, et al. Hepatoprotective effect of corynoline on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2017, 29:224-228.
  - 8 Lin MX, Han F, Zhang J, et al. Investigation on the resources of medicinal *Corydalis* in Nanchuan District of Chongqing [J]. China Pharm (中国药房), 2015, 26:1870-1872.
  - 9 Deng AP, Zhang Y, Zhou L, et al. Systematic review of the alkaloid constituents in several important medicinal plants of the genus *Corydalis* [J]. Phytochemistry, 2021, 183:112644.
  - 10 Wang DW, Li RZ, Li B, et al. Optimization of ultrasonic extraction of total alkaloids from *Corydalis impatiens* by response surface analysis [J]. Acta Agric Shanghai (上海农业学报), 2015, 31:96-100.
  - 11 Li WL, Zeng JG, Liu FB, et al. Contents determination of protopine, allocryptopine, sanguinarine and chelerythrine in fruit of *Macleaya cordata* with method of multi-assay depending on one determination [J]. J Hunan Univ Chin Med (湖南中医药大学学报), 2011, 31:25-28.
  - 12 Xiang Y, Li MZ, Xie YP, et al. LC-MS identification of chemical constituents and metabolites of *Corydalis bungeana* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2022, 53:1949-1963.
  - 13 Oh JH, Ha IJ, Lee MY, et al. Identification and metabolite profiling of alkaloids in aerial parts of *Papaver rhoeas* by liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. J Sep Sci, 2018, 41:2517-2527.
  - 14 Huang FF, Wang R, Chen Y, et al. Rapid identification of alkaloids in the rhizomes of *Corydalis decumbens* by molecular networking base on HPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. J Chin Mass Spectrom Soc (质谱学报), 2021, 42:228-240.
  - 15 Gu Y, Qian DW, Duan JA, et al. Establishment the UPLC specific chromatogram of *Chelidonium majus* L. and its alkaloids compositions analysis by QTOF-MS [J]. Chin J Pharm Anal (药物分析杂志), 2010, 30:780-786.
  - 16 Hao YM, Huo JH, Wang T, et al. Analysis of alkaloids and their fragmentation behavior of *Coptis* rootlet by UPLC-Q-TOF-MS [J]. Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药学), 2020, 37:2582-2586.
  - 17 Zhang YJ, Yu YF, Kang SW. Studies on the chemical constituents of capsule of wild poppy (*Papaver nudicaule*) [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 1997, 28:7-10.
  - 18 Dolejš L, Hanuš V. Mass spectrometry of rhoeadine type alkaloids [J]. Tetrahedron, 1967, 23:2997-3005.
  - 19 Chen YB, He J, Lu XX. Simultaneous and rapid determination of alkaloids in yanjishen capsules by UPLC-Q-TOF-MS [J]. Shaanxi J Tradit Chin Med (陕西中医), 2018, 39:131-134.
  - 20 Wangchuk P, Keller PA, Pyne SG, et al. Phytochemical and biological activity studies of the bhutanese medicinal plant *Corydalis crispera* [J]. Nat Prod Commun, 2012, 7:575-580.
  - 21 Li HM, Li FC, Zhang Y, et al. Varieties and standards of *Corydalis* medicinal plants [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2022, 47:2257-2265.

(上接第 409 页)

- 8 Wang ZS, Li L, Li ZY, et al. Effect of aldose reductase inhibitor on high glucose-induced transdifferentiation of HK-2 [J]. Chin J Pharmacol Toxicol (中国药理学与毒理学), 2011, 25:11-12.
- 9 Su JS, Qin FY, Zhang Y, et al. Compounds of *Codonopsis Radix* [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2018, 41:863-867.
- 10 Shao SY, Yang YN, Feng ZM, et al. An efficient method for determining the relative configuration of furofuran lignans by  $^1\text{H}$  NMR spectroscopy [J]. J Nat Prod, 2018, 81:1023-1028.
- 11 Yan XJ, Jiang YY, Wen J, et al. Tetrahydrofuran lignans in *Forsythia suspensa* and their spectral characteristics [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2020, 32:995-999.
- 12 Min BS, Na MK, Oh SR, et al. New furofuran and butyrolactone lignans with antioxidant activity from the stem bark of *Styrax japonica* [J]. J Nat Prod, 2004, 67:1980-1984.
- 13 Sugiyama M, Kikuchi M. Studies on the constituents of *Osmanthus* species. VII. structures of lignan glycosides from the leaves of *Osmanthus asiaticus* Nakai [J]. Chem Pharm Bull, 1991, 39:483-485.
- 14 Deyama T, Ikawa T, Nishibe S. The constituents of *Eucommia ulmoides* Oliv. II. isolation and structures of three new lignan glycosides [J]. Chem Pharm Bull, 1985, 33:3651.
- 15 Xing YF, He D, Wang Y, et al. Chemical constituents, biological functions and pharmacological effects for comprehensive utilization of *Eucommia ulmoides* Oliver [J]. Food Sci Hum Well, 2019, 8:177-188.
- 16 Do MH, Hur J, Choi J, et al. *Eucommia ulmoides* ameliorates glucotoxicity by suppressing advanced glycation end-products in diabetic mice kidney [J]. Nutrients, 2018, 10:265-278.
- 17 Jing X, Huang WH, Tang YJ, et al. *Eucommia ulmoides* Oliv. (Du-Zhong) lignans inhibit angiotensin II-stimulated proliferation by affecting P21, P27 and Bax expression in rat mesangial cells [J]. Evid-based Complement Altern Med, 2015, 2015:987973.