UPLC-MS/MS法同时测定不同基原藏黄堇中3种生物碱的含量Δ

黄　唤[1,2*]，易徐航[2]，邱　毅[3]，熊永昌[1]，王惠鹃[1]，蔡志男[1]，达娃卓玛[3]，袁金斌[1#]（1.江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室，南昌　330004；2.萍乡市食品药品检验所，江西 萍乡　337000；3.西藏自治区食品药品检验研究院，拉萨　850000）

中图分类号　R917；R931.5　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）07-0832-05
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.07.12

摘　要　目的　建立并应用同时测定不同基原藏黄堇中荷包牡丹碱、原阿片碱、黄连碱含量的方法，为该类药材的基原确定和质量控制提供参考依据。**方法**　采用超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用（UPLC-MS/MS）法：色谱柱为Agilent EC-C_{18}（100 mm×2.1 mm，2.7 μm），以乙腈-0.1%甲酸水溶液为流动相梯度洗脱，流速为0.2 mL/min，柱温为35 ℃。采用电喷雾离子源正离子模式检测，多反应监测扫描。**结果**　荷包牡丹碱、原阿片碱、黄连碱的进样质量浓度分别在5.88～117.60、53.70～1 074.00、4.85～97.00 ng/mL之间与各自峰面积成良好的线性关系（r分别为0.998 2、0.991 9、0.999 6）；定量限分别为2.35、1.07、1.46 ng/mL，检测限分别为1.17、0.54、0.49 ng/mL；精密度、稳定性（24 h）、重复性试验的RSD均未超过2.0%；平均加样回收率分别为97.41%、98.89%、105.44%（RSD均小于5.0%，n=6）。**结论**　所建立的方法选择性好、准确度高，适用紫堇属植物中荷包牡丹碱、原阿片碱和黄连碱的快速分析。3种生物碱总量在不同基原药材中的含量从高到低依次为金球黄堇、尖突黄堇、矮黄堇、尼泊尔黄堇和斑花黄堇，其中金球黄堇和尖突黄堇中的生物碱含量比较接近，但斑花黄堇和尼泊尔黄堇中未检测到荷包牡丹碱。

关键词　藏黄堇；超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用法；荷包牡丹碱；原阿片碱；黄连碱；含量测定

Content determination of 3 alkaloids in different origins of Tibetan *Corydalis pallida* by UPLC-MS/MS

HUANG Huan[1,2], YI Xuhang[2], QIU Yi[3], XIONG Yongchang[1], WANG Huijuan[1], CAI Zhinan[1], Dawa Zhuoma[3], YUAN Jinbin[1]（1. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine Approved by Ministry of Education, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 2. Pingxiang Institute for Food and Drug Control, Jiangxi Pingxiang 337000, China; 3. Xizang Institute for Food and Drug Control, Lhasa 850000, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To establish and apply a method for simultaneous determination of the contents of dicentrine, protopine and coptisine in Tibetan *Corydalis pallida* of different origins, and to provide reference for origin determination and quality control of the kind of medicinal materials. **METHODS** Ultra performance liquid chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry method was used. The determination was performed on Agilent EC-C_{18} column (100 mm×2.1 mm, 2.7 μm) with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% formic acid by gradient elution. The flow rate was 0.2 mL/min, and the column temperature was set at 35 ℃. MS detection was carried out by electrospray ionization in positive modes, multiple reaction monitoring mode was used for quantitative analysis. **RESULTS** The injection mass concentrations of dicentrine, protopine, coptisine ranged from 5.88 to 117.60, 53.70 to 1 074.00, and 4.85 to 97.00 ng/mL, respectively, showing a good linear relationship with their respective peak areas (r=0.998 2, 0.991 9, and 0.999 6, respectively). The limits of quantitation were 2.35, 1.07 and 1.46 ng/mL; the limits of detection were 1.17, 0.54, 0.49 ng/mL, respectively. RSDs of precision, stability (24 h) and repeatability tests were all lower than 2.0%. The average recovery rates were 97.41%, 98.89% and 105.44% (all RSDs<5.0%, n=6). **CONCLUSIONS** The established method has good selectivity and high accuracy, and is suitable for the rapid analysis of dicentrine, protopine and coptisine in *Corydalis*. The total contents of three alkaloids in different original medicinal materials are from high to low in order of *C. chrysosphaera*, *C. mucronifera*, *C. pygmaea*, *C. hendersonii* and *C. conspersa*. The alkaloid contents in *C. chrysosphaera* and *C. mucronifera* are relatively similar, but no dicentrine has been detected in *C. conspersa* and *C. hendersonii*.

KEYWORDS　Tibetan *Corydalis pallida*; ultra performance liquid chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry method; dicentrine; protopine; coptisine; content determination

Δ **基金项目** 江西省教育厅科学技术研究项目（No.GJJ190631）；江西中医药大学与西藏自治区食品药品检验研究院合作项目（No.XZSYJY-KY-2020-007）

＊ **第一作者** 主管中药师，硕士研究生。研究方向：中药学。E-mail：243348659@qq.com

通信作者 教授，博士生导师，博士。研究方向：中药物质基础与质量评价。电话：0791-87118658。E-mail：kings2008@163.com

黄堇为罂粟科紫堇属（*Corydalis*）草本植物，“藏黄堇”在本文中特指藏区（西藏、青海、四川与云南西部）黄堇。全球紫堇属植物共428种，我国有298种，其中西藏约94种，青海约26种[1]。根据文献考证与药材生境、性状分析，“丝哇”“日官孜玛”“热衮巴”等药材均曾作为藏

黄堇，用于清热解毒、止血镇痛、活血散瘀、祛风利气[1－5]。在临床与药材市场上，藏黄堇的“地域性”与“多基原”情况很突出，历版藏药典籍、各地方标准、部颁标准中关于藏黄堇的基原描述多不一致[2,6－7]。西藏以尖突黄堇、金球黄堇、尼泊尔黄堇和矮紫堇为主；青海以斑花黄堇为主；云南、四川以尼泊尔黄堇和尖突黄堇为主。紫堇属植物多含生物碱，包括异喹啉类、有机胺类、异吲哚类等，其中原阿片碱与原小檗碱等化合物在紫堇属植物中分布较广，并具有广泛的生物活性[8－9]。如原阿片碱，研究显示其对四氯化碳、硫代乙酰胺、对乙酰氨基酚所致的小鼠肝损伤有保护作用，可以显著降低谷丙转氨酶水平，减轻肝损伤程度[8]。不同基原、产地的药材间存在化学成分差异，导致药效作用也可能有所区别，因此有效区分不同基原、产地藏黄堇活性成分差异是其质量评价的关键环节。

藏药材的基础研究相对滞后，现有的藏药质量标准缺少完整的检查与含量测定项。有关藏黄堇的含量测定，笔者团队仅检索到斑花黄堇中异紫堇定、比枯枯灵和四氢巴马汀的高效液相色谱（high performance liquid chromatography，HPLC）分析，且未见测定结果[10]。笔者团队前期收集了27份藏黄堇样本，建立了其HPLC指纹图谱，发现荷包牡丹碱、原阿片碱和黄连碱为其特征性差异成分，继而尝试建立该3种生物碱的HPLC含量测定方法，但发现HPLC的分离度与检测灵敏度尚不能满足一些低含量样品的分析要求（论文待发表）。近年来，液相色谱与串联质谱联用技术已广泛应用于复杂样品的含量测定，实现了难分离、低含量组分的定量[11－13]。鉴于此，本研究采用超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用（ultra performance liquid chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry，UPLC-MS/MS）技术同时测定不同基原藏黄堇中荷包牡丹碱、原阿片碱和黄连碱3种生物碱的含量，以期为藏黄堇基原的确定和质量标准的制定提供一定的科学依据。

1　材料

1.1　主要仪器

1290/6460型UPLC-MS/MS仪购自美国Agilent公司；XSR105型十万分之一电子天平、ME-204型万分之一电子天平购自瑞士Mettler Toledo公司；KQ-100DE型数控超声波清洗器购自昆山市超声仪器有限公司。

1.2　主要药品与试剂

27批藏黄堇药材采集或购自西藏各地区，均经江西中医药大学中药资源与民族药研究中心慕泽芝、杜小浪2位副教授鉴定为真品（具体样品信息见表1），均备份保存于江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室。荷包牡丹碱对照品（批号PS2038-0025，含量99.96%）、原阿片碱对照品（批号PS011355，含量99.92%）均购自成都普思生物科技股份有限公司；黄连碱对照品（批号DST201105-003，含量≥98.00%）购自成都德思特生物技术有限公司；乙腈（色谱纯）购自美国Thermo Fisher Scientific公司；甲酸（色谱纯）购自天津市科密欧化学试剂有限公司；水为屈臣氏蒸馏水，其他试剂均为分析纯。

表1　27批藏黄堇药材样品信息

基原/藏文名	编号	采集或购买时间	产地或购买地
矮黄堇*C. pygmaea*/日官孜玛	A1	20210913	山南市乃东区雅拉香布雪山
金球黄堇*C. chrysosphaera*/车日丝哇	JQ1	20210913	拉萨市售商品药材
	JQ2	20210913	那曲市嘉黎县措多乡
	JQ3	20210913	林芝市
	JQ4	20210913	林芝市
	JQ5	20211018	山南市
尖突黄堇*C. mucronifera*/当日丝哇	JT1	20220117	那曲市安多县帮爱乡
	JT2	20220117	拉萨市墨竹工卡县尼玛江热乡仲达村
	JT3	20220117	那曲市安多县岗尼乡
	JT4	20220117	那曲市嘉黎县
	JT5	20220117	拉萨市墨竹工卡县门巴乡达珠村
	JT6	20220117	昌都市
	JT7	20220117	昌都市蓝宝石药材有限公司
	JT8	20220117	那曲市班戈县
	JT9	20220221	拉萨市售商品药材
	JT10	20220221	拉萨市售商品药材
	JT11	20220221	拉萨市售商品药材
	JT12	20220221	拉萨市售商品药材
	JT13	20220221	拉萨市售商品药材
	JT14	20220221	拉萨市售商品药材
	JT15	20220221	西藏藏医学院藏药有限公司
尼泊尔黄堇*C. hendersonii*/热衮巴	NBE1	20220225	那曲市
斑花黄堇*C. conspersa*/东日丝哇	BH1	20210913	索县藏医院
	BH2	20210913	西藏昌都日通藏医药研制中心藏药厂
	BH3	20210913	那曲市嘉黎县
	BH4	20220314	拉萨市售商品药材
	BH5	20220314	拉萨市售商品药材

2　方法与结果

2.1　溶液的配制

2.1.1　混合对照品溶液的制备　精密称取荷包牡丹碱对照品11.76 mg、原阿片碱对照品10.74 mg、黄连碱对照品9.70 mg，分别置于100 mL容量瓶中，加入甲醇溶解并稀释至刻度，即得含荷包牡丹碱117.60 μg/mL、原阿片碱107.40 μg/mL、黄连碱97.00 μg/mL的单一对照品储备液。分别精密移取荷包牡丹碱对照品储备液1 mL、原阿片碱对照品储备液10 mL、黄连碱对照品储备液1 mL，置于同一100 mL容量瓶中，加入0.1%甲酸水溶液稀释至刻度，即得混合对照品溶液。

2.1.2　供试品溶液的制备　取藏黄堇粉末（过3号筛）约0.5 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入60%甲醇50 mL，密塞，称定质量，浸泡15 min后超声（功率100 W，频率40 kHz）处理30 min，放冷，再称定质量，用60%甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过；取续滤液1 mL置于100 mL容量瓶中，用0.1%甲酸水溶液稀释至刻度，即得供试品溶液。

2.2　色谱条件

选择Agilent EC-C_{18}色谱柱（100 mm×2.1 mm，2.7 μm）；流动相为乙腈（A）-0.1%甲酸水溶液（B），梯度洗脱（0～1 min，20%A；1～4 min，20%A→30%A；4～6 min，30%A；6～7 min，30%A→40%A；7～8 min，40%A→100%A）；流速为0.2 mL/min；柱温为35 ℃；进样量为5 μL。

2.3 质谱条件

离子源为电喷雾电离源（electrospray ionization，ESI），检测模式为正离子模式，扫描方式为多反应监测（multiple reaction monitoring，MRM）方式。用于定量分析的离子对：荷包牡丹碱质荷比（*m/z*）368.1→307.0，碰撞能量24 eV；原阿片碱 *m/z* 354.1→188.0，碰撞能量34 eV；黄连碱 *m/z* 320.0→204.0，碰撞能量60 eV。用于定性分析的离子对：荷包牡丹碱 *m/z* 368.1→276.8，碰撞能量26 eV；原阿片碱 *m/z* 354.1→148.9，碰撞能量32 eV；黄连碱 *m/z* 320.0→175.8，碰撞能量68 eV。传输电压：荷包牡丹碱110 V，原阿片碱120 V，黄连碱140 V。混合对照品和藏黄堇样品的MRM图谱见图1，离子相对丰度比见图2。

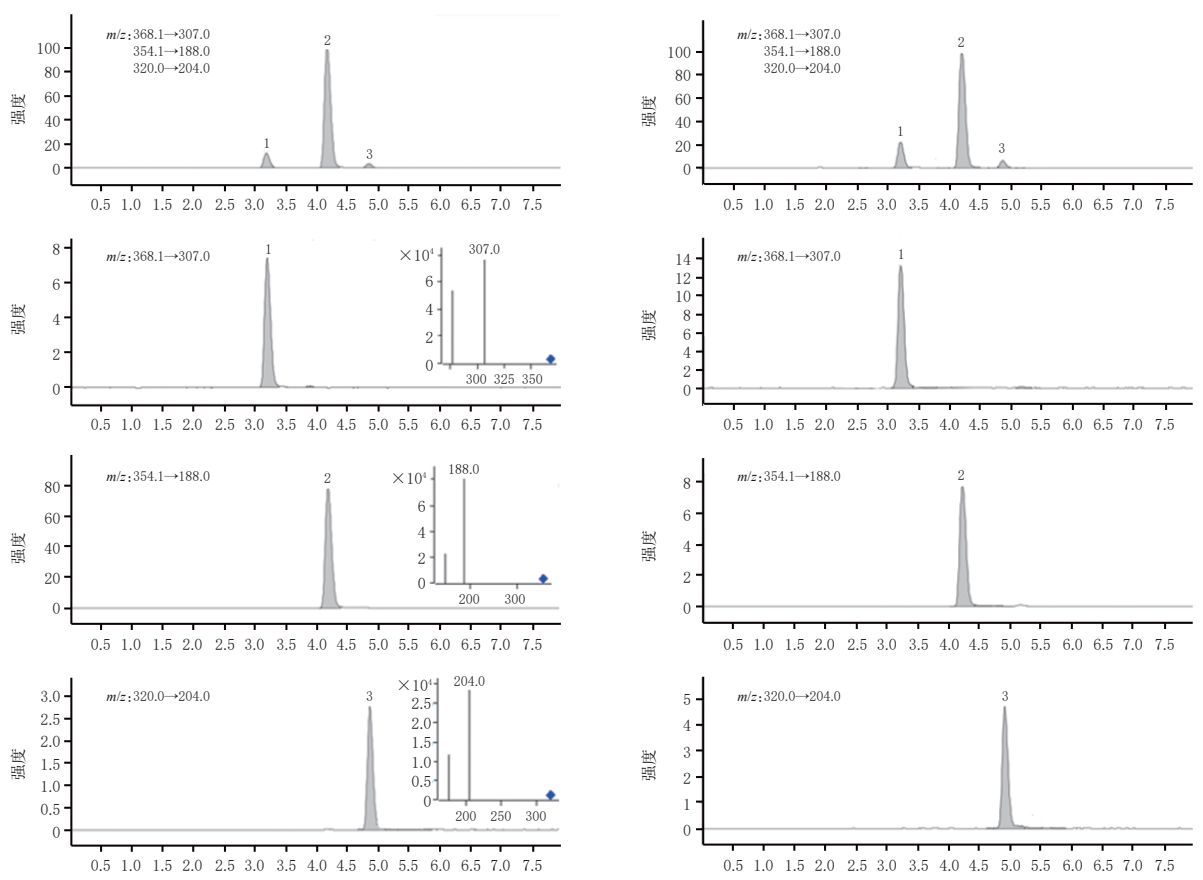
2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 精密移取上述混合对照品溶液，加0.1%甲酸水溶液逐级稀释得系列标准溶液，质量浓度分别为荷包牡丹碱5.88、11.76、23.52、47.04、58.80、94.08、117.60 ng/mL，原阿片碱53.70、107.40、214.80、429.60、537.00、859.20、1 074.00 ng/mL，黄连碱4.85、9.70、19.40、38.80、48.50、77.60、97.00 ng/mL。按“2.2”“2.3”项下色谱和质谱条件进行测定，以对照品的进样质量浓度（ng/mL）为横坐标（*X*）、峰面积为纵坐标（*Y*）绘制标准曲线，可得荷包牡丹碱的线性回归方程为 $Y=333X-1\,000$（$r=0.998\,2$）；原阿片碱的线性回归方程为 $Y=357X-32\,115$（$r=0.991\,9$）；黄连碱的线性回归方程为 $Y=150X-183$（$r=0.999\,6$）。结果显示，荷包牡丹碱、原阿片碱、黄连碱的进样质量浓度分别在5.88～117.60、53.70～1 074.00、4.85～97.00 ng/mL之间与各自峰面积成良好的线性关系。

2.4.2 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液（荷包牡丹碱58.80 ng/mL、原阿片碱537.00 ng/mL、黄连碱48.50 ng/mL）5 μL，按“2.2”“2.3”项下色谱和质谱条件连续进样6针，测定峰面积。结果显示，荷包牡丹碱、原阿片碱、黄连碱峰面积的RSD分别为1.8%、1.5%、1.9%（*n*均为6），表明仪器精密度良好。

2.4.3 稳定性试验 取同一份藏黄堇供试品溶液（编号JQ1），分别于制备后0、2、4、8、12、24 h精密吸取5 μL进样，按“2.2”“2.3”项下色谱和质谱条件测定峰面积。结果显示，荷包牡丹碱、原阿片碱、黄连碱峰面积的RSD分别为1.8%、1.8%、1.9%（*n*均为6），表明藏黄堇供试品溶液在室温下24 h内稳定。

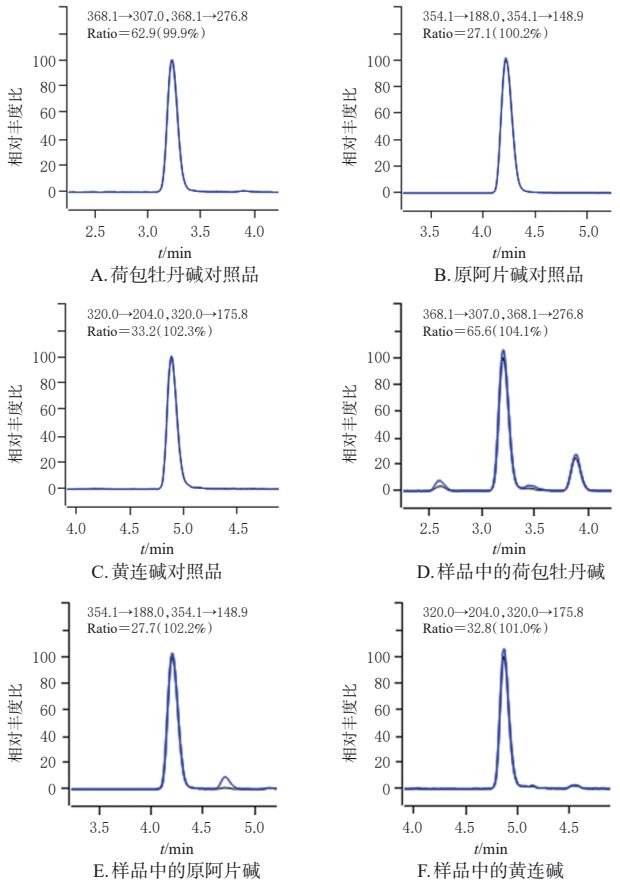
2.4.4 重复性试验 取同一批（编号JQ1）藏黄堇样品6份，分别按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.2”“2.3”项下色谱和质谱条件进样测定，采用外标法计算样



A.混合对照品的MRM图谱及各生物碱的二级质谱图　　B.藏黄堇样品的MRM图谱

1：荷包牡丹碱；2：原阿片碱；3：黄连碱

图1 混合对照品和藏黄堇样品的MRM图谱



A. 荷包牡丹碱对照品　B. 原阿片碱对照品　C. 黄连碱对照品　D. 样品中的荷包牡丹碱　E. 样品中的原阿片碱　F. 样品中的黄连碱

图2　混合对照品与样品的离子相对丰度比

品中3种生物碱的含量。结果显示，荷包牡丹碱、原阿片碱、黄连碱含量的RSD分别为1.8%、1.9%、2.0%（n均为6），表明该方法重复性良好。

2.4.5　加样回收率试验　取已知含量的藏黄堇（编号JQ1）粉末6份，每份0.25 g，精密称定，再分别精密吸取荷包牡丹碱对照品溶液（117.60 μg/mL）1.5 mL、原阿片碱对照品溶液（107.40 μg/mL）5 mL、黄连碱对照品溶液（97.00 μg/mL）0.25 mL，置具塞锥形瓶中，挥干甲醇，然后按“2.1.2”项下方法制备藏黄堇加样回收样品溶液，按“2.2”“2.3”项下色谱和质谱条件进样测定，计算加样回收率。结果显示，荷包牡丹碱、原阿片碱、黄连碱的平均加样回收率分别为97.41%、98.89%、105.44%，RSD分别为3.2%、3.8%、4.8%（n均为6），表明该方法准确度良好。

2.4.6　检测限与定量限　分别取荷包牡丹碱、原阿片碱、黄连碱对照品储备液加0.1%甲酸水溶液逐级稀释后按“2.2”“2.3”项下色谱和质谱条件进样测定，以信噪比3∶1的对照品溶液质量浓度为检测限，以信噪比10∶1的对照品溶液质量浓度为定量限。结果显示，荷包牡丹碱的检测限为1.17 ng/mL，定量限为2.35 ng/mL；原阿片碱的检测限为0.54 ng/mL，定量限为1.07 ng/mL；黄连碱的检测限为0.49 ng/mL，定量限为1.46 ng/mL。

2.5　样品测定

取不同基原的27批藏黄堇药材，每批次平行3份，分别按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液。分别精密吸取“2.4.1”项下系列标准溶液与上述供试品溶液各5 μL，按“2.2”“2.3”项下色谱和质谱条件进样测定，采用外标法计算样品中3种生物碱的含量，结果见表2。由表2可知，金球黄堇、尖突黄堇中荷包牡丹碱的平均含量分别为328.8、465.8 μg/g，原阿片碱的平均含量分别为2 360、1 683 μg/g，黄连碱的平均含量分别为115.9、175.5 μg/g；斑花黄堇未检测到荷包牡丹碱（含量低于检测限），原阿片碱的平均含量为827 μg/g，黄连碱的平均含量为17.0 μg/g；矮黄堇中荷包牡丹碱的平均含量为23.7 μg/g，原阿片碱的平均含量为807 μg/g，黄连碱的平均含量为282.5 μg/g；尼泊尔黄堇未检测到荷包牡丹碱（含量低于检测限），原阿片碱的平均含量为954 μg/g，黄连碱的平均含量为106.6 μg/g。

表2　27批藏黄堇样品中3种生物碱的含量测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

编号	荷包牡丹碱		原阿片碱		黄连碱	
	含量/(μg/g)	RSD/%	含量/(μg/g)	RSD/%	含量/(μg/g)	RSD/%
A1	23.7±1.7	7.3	807±12	1.4	282.5±10.7	3.8
JQ1	735.1±14.1	1.9	1 914±28	1.5	84.5±5.7	6.7
JQ2	835.6±7.1	0.8	3 418±11	0.3	173.0±9.9	5.7
JQ3	23.6±1.7	7.2	379±16	4.1	116.2±7.1	6.1
JQ4	16.9±1.3	7.6	388±15	3.7	120.2±6.9	5.8
JQ5	32.7±2.6	7.8	5 701±4	0.1	85.6±5.1	5.9
JT1	1 012.3±5.7	0.6	2 918±54	1.8	65.5±5.0	7.6
JT2	177.9±9.2	5.2	786±17	2.2	123.0±6.7	5.4
JT3	1 010.7±18.4	1.8	1 353±27	2.1	91.0±5.4	5.9
JT4	711.3±11.4	1.6	2 946±8	0.3	155.4±8.5	5.5
JT5	257.9±12.6	4.9	882±16	1.8	283.1±13.1	4.6
JT6	607.2±7.4	1.2	1 765±13	0.7	421.2±9.6	2.3
JT7	515.9±9.9	1.9	1 916±4	0.2	408.6±10.5	2.6
JT8	390.3±11.3	2.9	1 775±13	0.7	251.8±12.2	4.8
JT9	318.5±10.0	3.2	1 440±26	1.8	137.4±7.4	5.4
JT10	315.4±9.2	2.9	1 246±17	1.4	112.0±7.3	6.5
JT11	304.8±10.1	3.3	1 418±24	1.7	115.0±6.8	5.9
JT12	335.2±10.2	3.1	1 144±22	1.9	109.9±6.9	6.3
JT13	294.8±11.1	3.8	1 489±23	1.5	126.8±7.6	6.0
JT14	734.9±17.4	2.3	2 737±27	1.0	212.9±9.6	4.5
JT15	–	–	1 432±23	1.6	19.1±1.3	6.6
NBE1	–	–	954±12	1.3	106.6±6.9	6.4
BH1	–	–	691±16	2.2	35.6±2.3	6.4
BH2	–	–	1 772±31	1.8	24.8±1.8	7.1
BH3	–	–	976±23	2.3	21.1±1.5	7.3
BH4	–	–	343±10	2.8	3.7±0.3	8.0
BH5	–	–	354±10	2.9	–	–

–：未检出

3　讨论

3.1　实验条件的优化

碱性化合物很容易加合质子，带正电荷，适合用ESI正离子模式检测[12-14]。本文的3个目标分析物均为生物碱，预实验结果验证了ESI正离子模式下的信噪比显著高于ESI负离子模式下的信噪比。由于酸性系统容易加合质子，更适合ESI正离子模式，故本研究考察了甲醇-0.05%甲酸水溶液、甲醇-0.1%甲酸水溶液、乙腈-0.05%甲酸水溶液、乙腈-0.1%甲酸水溶液等多种流动相体系，最终确定以乙腈-0.1%甲酸水溶液为流动相进行梯度洗脱，所得色谱图峰形对称、分离效果好、基线平稳。

3.2 母-子离子对的优化

在上述优化条件下，一级质谱图中3种生物碱的分子离子峰均为基峰，因此定性、定量分析的母离子均选择分子离子峰。在15～80 eV范围内改变碰撞能量，观察荷包牡丹碱（母离子 *m/z* 368.1）的串联质谱图，发现 *m/z* 307.0的碎片离子比较稳定，多为基峰，因此确定其定量的母-子离子对为 *m/z* 368.1→307.0，在该条件下检测的灵敏度最高。同理，获得原阿片碱和黄连碱的MRM离子对分别为 *m/z* 354.1→188.0、*m/z* 320.0→204.0。

在相同实验条件下进行液相色谱-质谱分析时，如果某色谱峰的保留时间与对照品一致，并且在扣除背景后的质谱或串联质谱图中所选择的离子均出现，则基本可以确定该色谱峰的归属。但在复杂基质中，假阳性鉴定结果时有发生。为进一步提高定性分析的准确度，液相色谱与串联质谱联用技术提供了基于MRM定性离子对丰度比的限定标准：＞50%，允许±20%的偏差；＞20%～50%，允许±25%的偏差；10%～20%，允许±30%的偏差；＜10%，允许±50%的偏差[10]。如图2所示，以荷包牡丹碱为例，质量浓度为58.80 ng/mL的荷包牡丹碱对照品溶液中MRM离子对（*m/z* 368.1→307.0、*m/z* 368.1→276.8）的相对丰度比为62.9，偏差为0.1%，样品中为65.6，偏差为4.1%，远小于20%的限定值，表明定性结果可靠，样品中该峰为荷包牡丹碱。同理，本文选定的另外2种生物碱的定性分析离子对也符合限定要求，从而提高了色谱峰鉴定的准确度。

3.3 3种生物碱在藏黄堇中的分布

藏黄堇药材均需野外采集，药材收集是研究瓶颈。迄今为止，仅有少数文献基于有限的样品批次报告了斑花黄堇中生物碱的含量[11]，尚未见其他藏黄堇品种及其化合物的含量测定文献。本研究发现，上述3种生物碱在金球黄堇、尖突黄堇和矮黄堇中均有分布，但斑花黄堇和尼泊尔黄堇中未检测到荷包牡丹碱。3种生物碱总量在不同基原药材中的含量从高到低依次为金球黄堇、尖突黄堇、矮黄堇、尼泊尔黄堇和斑花黄堇，其中金球黄堇和尖突黄堇中的生物碱含量比较接近。由于矮黄堇和尼泊尔黄堇分别只收集到1批，数据缺乏代表性，仅作参考。荷包牡丹碱是不同黄堇品种间的显著性差异化合物，基于现有样品的分析，荷包牡丹碱含量的高低可用于区分斑花黄堇与其他黄堇（表2）。斑花黄堇中除了未检测到荷包牡丹碱外，另2种生物碱的含量也低于其他品种，表明斑花黄堇与其他品种的化学差异较大，这与笔者团队前期的指纹图谱研究结果一致。需要指出的是，斑花黄堇是青海产黄堇的主流品种，尚不能仅以上述3种生物碱的含量高低来评价其质量优劣。由于藏区特殊的生长环境，高原植物多含有丰富的黄酮和多酚类成分。因此，除了生物碱，黄酮、多酚类化合物可能也与藏黄堇的药用功效有关。

受地理环境、自然资源、医药文化、研究条件等限制，藏黄堇的基础研究十分薄弱。笔者团队的前期调研结果显示，藏黄堇药材的基原界定不清晰，生长地域差异性大，市场流通混乱，临床使用不规范。因此，有必要加大藏黄堇的资源调查和品种整理力度，从化学、药理层次梳理其品种属性，进而界定其基原，提升其质量评价、资源保护与开发水平。

综上所述，本文所建立的UPLC-MS/MS分析方法选择性好、准确度高，适用于紫堇属植物中荷包牡丹碱、原阿片碱和黄连碱的快速分析。3种生物碱总量在不同基原药材中的含量从高到低依次为金球黄堇、尖突黄堇、矮黄堇、尼泊尔黄堇和斑花黄堇，其中金球黄堇和尖突黄堇中的生物碱含量比较接近，但斑花黄堇和尼泊尔黄堇中未检测到荷包牡丹碱。

参考文献

[1] 李惠敏，李凤超，张艺，等. 紫堇属药用植物品种及标准整理研究[J]. 中国中药杂志，2022，47(8)：2257-2265.

[2] 卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准：藏药：第一册[M]. 北京：人民卫生出版社，1995：115.

[3] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志：第六卷第一分册[M]. 北京：科学出版社，1999：360.

[4] 吴江，马如媛，林鹏程. 斑花黄堇质量标准研究[J]. 中成药，2022，44(9)：2971-2974.

[5] 苏丹丹，刘玉萍，张雨，等. 青藏高原特有植物尼泊尔黄堇研究现状及其种质资源保护[J]. 农业与技术，2021，41(7)：1-3.

[6] 西藏卫生局. 藏药标准：第一、二分册合编本[M]. 西宁：青海人民出版社，1979：97.

[7] 嘎务. 藏药晶镜本草：修订本[M]. 北京：民族出版社，1995：1-6.

[8] 魏怀玲，刘耕陶. 紫堇灵、乙酰紫堇灵及原鸦片碱对小鼠实验性肝损伤的保护作用[J]. 药学学报，1997，32(5)：331-336.

[9] 尚伟庆，陈月梅，高小力，等. 紫堇属藏药的化学与药理学研究进展[J]. 中国中药杂志，2014，39(7)：1190-1198.

[10] 闵涛，刘少丹，辛国斌，等.8种常见药(毒)物LC-MS/MS定性分析的保留时间和离子丰度比[J]. 法医学杂志，2020，36(2)：216-222.

[11] 王志波，吴江，李成思，等. HPLC法同时测定藏药斑花黄堇中3种生物碱的含量[J]. 中华中医药杂志，2018，33(7)：3115-3117.

[12] QIAO R F，ZHOU L F，ZHONG M Y，et al. Spectrum-effect relationship between UHPLC-Q-TOF/MS fingerprint and promoting gastrointestinal motility activity of *Fructus aurantii* based on multivariate statistical analysis [J]. J Ethnopharmacol，2021，279：114366.

[13] 李健康，张敏，刘校妃，等. UPLC-MS/MS快速测定茯苓中去氢土莫酸和茯苓酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志，2017，23(4)：85-88.

[14] 易欢，彭芳，谢雨宸，等. HPLC-QqQ-MS法同时测定八味小檗皮胶囊中25种成分的含量[J]. 中国药房，2022，33(14)：1682-1687.

（收稿日期：2022-10-31　修回日期：2022-12-01）

（编辑：舒安琴）