

• 研究论文 •

高效毛细管电泳-电喷雾飞行时间质谱联用分析黄连中的生物碱

陈军辉^{a,b} 赵恒强^a 李文龙^a 王小如^{*,a,c} 黎先春^a 杨黄浩^a^(a) 国家海洋局第一海洋研究所 青岛现代分析技术及中药标准化重点实验室 青岛 266061)^(b) 中国海洋大学化学化工学院 青岛 266003)^(c) 厦门大学化学化工学院化学系 现代分析科学教育部重点实验室 厦门 361005)

摘要 建立了高效毛细管电泳-电喷雾飞行时间质谱联用(HPCE-ESI-TOF/MS)快速定性分析黄连中生物碱类化合物的分析方法。使用未涂层石英毛细管,以 50 mmol/L 乙酸铵-0.5%甲醇溶液(用氨水调至 pH=7.2)作为运行缓冲液,分离电压为 25 kV;鞘液组成为 50%甲醇-49.5%水-0.5%乙酸,鞘液流速为 4 $\mu\text{L}/\text{min}$;质谱选用正离子模式,碰撞电压(Fragmentor)为 100 V。结果表明,通过各色谱峰紫外光谱和质谱测得精确分子量结果,结合文献,对黄连中 7 种生物碱进行了鉴定。表明本方法简便、快速,是黄连中生物碱类化合物快速分离、鉴别的有效方法。

关键词 高效毛细管电泳-电喷雾飞行时间质谱; 黄连; 生物碱类化合物

Analysis of Alkaloids in *Coptis chinensis* Franch by High Performance Capillary Electrophoresis-Electrospray Ionization Time of Flight Mass Spectrometry

CHEN, Jun-Hui^{a,b} ZHAO, Heng-Qiang^a LI, Wen-Long^aWANG, Xiao-Ru^{*,a,c} LEE, Frank Sen-Chun^a YANG, Huang-Hao^a^(a) Qingdao Key Laboratory of Analytical Technology Development and Standardization of Chinese Traditional Medicines, First Institute of Oceanography of State Oceanic Administration, Qingdao 266061)^(b) College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003)^(c) Department of Chemistry and the Key Laboratory of Analytical Science of the Ministry of Education, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005)

Abstract A new method for the analysis of alkaloids in *Coptis chinensis* Franch was established by high performance capillary electrophoresis-electrospray ionization time of flight mass spectrometry (HPCE-ESI-TOF/MS). The real samples were separated by an uncoated capillary. 50 mmol/L ammonium acetate containing 0.5% methanol (pH=7.2) was used as the running buffer, and separation voltage was 25 kV. A coaxial sheath flow interface was used as the CE-MS interface, and a 50% methanol-49.5% water-0.5% acetic acid mixture was used as the sheath liquid with a flow rate of 4 $\mu\text{L}/\text{min}$. The lens voltages in a positive ion mode with a collision induced dissociation (CID) voltage of 100 V were used for ESI-TOF/MS analysis. Seven alkaloids in *Coptis chinensis* Franch methanol extracts were separated and identified by CE-DAD and CE-ESI-TOF/MS. The coupling of HPCE separation with accurate mass measurement capability of ESI-TOF/MS provides an attractive tool for the identification of alkaloid compounds in *Coptis chinensis* Franch.

Keywords high performance capillary electrophoresis-electrospray ionization time of flight mass spec-

* E-mail: mt2elp@fio.org.cn; Tel.: 0532-88963253; Fax: 0532-88963253.

Received May 9, 2007; revised July 2, 2007; accepted August 10, 2007.

国家自然科学基金重点项目(No. 20235020)、青岛“2004 将才计划”(No. 04-3-JJ-11)和共建生物医药研发测试中心(No. LS-05-KJZX-76)资助项目。

trometry; *Coptis chinensis* Franch; alkaloid

黄连来源于毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch、三角叶黄连 *Coptis deltoidea* C. Y. Cheng et Hsiao、云南黄连 *Coptis teeta* Wal1. 的根茎。味苦、性寒，入心、肝、胃、大肠经，功能清热燥湿、泻火解毒。是一种很好的清热解毒消炎药，具有广谱抗生素的作用。常用于治疗湿热内蒸、痞满胀闷、烦躁呕逆、泄泻痢疾、消渴、暴发火眼、痈疽肿毒、中耳炎、急性扁桃体炎、百日咳、大叶性肺炎、流行性脑脊髓膜炎、胆囊炎等。

黄连主要含原小檗碱型生物碱，已经分离出来的生物碱有小檗碱、巴马汀、黄连碱、甲基黄连碱、药根碱、木兰花碱等，其中小檗碱含量最高，可达 10%。这些生物碱除木兰花碱为阿朴菲外，均为原小檗碱型生物碱，又都是季铵型生物碱，酸性成分有阿魏酸、绿原酸等^[1]。

目前，用于分析黄连中生物碱成分的方法主要有：高效液相色谱^[2-4]、高效液相色谱-质谱^[5,6]、薄层色谱^[7]、电喷雾质谱^[8,9]、高效毛细管电泳^[10,11]等。而采用毛细管电泳-电喷雾质谱联用技术研究黄连中生物碱类化合物的研究未见报道，仅 Chen 等^[12]采用毛细管电泳-电喷雾质谱对掺伪中成药中三种黄连生物碱(coptisine, berberine 和 palmatine)污染物进行了分析。近年来，由于毛细管电泳(CE)和质谱(MS)的快速发展以及 CE-MS 接口的日趋成熟，在天然产物研究领域 CE 和 CE-MS 应用越来越广泛^[13-17]。在国内从事 CE-MS 研究的科研工作者较少，大连化学物理研究所张玉奎院士做了大量研究工作^[18]，促进了我国 CE-MS 研究的发展。本研究首次利用高效毛细管电泳-电喷雾飞行时间质谱(HPCE-ESI-TOF/MS)联用技术，对黄连中生物碱类化合物进行了定性分析，通过二极管阵列(DAD)紫外光谱分析以及质谱分析并与数据库对照，对黄连中的 7 种生物碱进行鉴定，该方法简便、快速，对黄连药材的 HPCE 指纹图谱研究及黄连生物碱代谢研究具有重要意义。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

HP^{3D} 高效毛细管电泳仪(美国, Agilent), 配有二极管阵列检测器; G1969A 型电喷雾飞行时间质谱仪(美国, Agilent); G1607A 毛细管电泳-电喷雾飞行时间质谱同轴鞘流接口(美国, Agilent); 未涂层弹性石英毛细管柱两根(一、75 μm \times 50 cm 用于 CE-DAD 实验, 二、75 μm \times 85 cm 用于 CE-MS 联用实验); 鞘流使用 Agilent 1100 单元泵泵入, 配有 1 : 100 分流器(德国); 828 型 pH

测试仪(美国 Orion 公司), SK200LH 型超声波仪(上海科导超声仪器有限公司), R201 旋转蒸发仪(上海申生科技有限公司), AJ100 型电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司)。

乙酸铵、乙酸、氨水(均为优级纯), 氢氧化钠、甲醇(分析纯), 实验用水为 Milli-Q 超纯水, 所有试剂溶液及试样进入 HPCE 系统前均经过 0.2 μm 微孔滤膜过滤。

盐酸小檗碱对照品购自中国药品生物制品检定所, 本文所采用的黄连样品由青岛康泰中药材贸易商社提供。

1.2 标准溶液的配制

准确称取 4.0 mg 盐酸小檗碱对照品, 放入 10 mL 容量瓶中, 用 50 mmol/L 乙酸铵-0.5%甲醇溶液(用氨水调至 pH=7.2)溶解定容, 制成 0.4 mg/mL 的标准储备液。

1.3 样品溶液的制备

准确称取黄连粉末(过 40 目筛)1.0 g, 放入 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 30 mL 石油醚(60~90 $^{\circ}\text{C}$), 室温下超声提取 30 min, 弃去石油醚, 残渣用 50 mL 甲醇常温超声提取 30 min, 过滤, 重复提取 1 次, 合并滤液, 经旋转蒸发仪真空浓缩至干, 用 50 mmol/L 乙酸铵-0.5%甲醇溶液(用氨水调至 pH=7.2)溶解定容至 25 mL, 过 0.2 μm 滤膜后作为供试样品溶液。

1.4 毛细管电泳分离条件

75 μm \times 50 cm 未涂层熔融石英毛细管, 50 mmol/L 乙酸铵-0.5%甲醇溶液(用氨水调至 pH=7.2)为运行缓冲液, 分离电压 25 kV, 紫外检测波长 230 nm, 采用压力进样方式, 压力 5 kPa, 进样时间 1 s, 温度为 25 $^{\circ}\text{C}$ 。进样前, 依次用 1 mol/L NaOH, 超纯水和缓冲液冲洗毛细管各 10 min; 样品分析间隔用缓冲液平衡 5 min 即可, 分析过程中, 要及时更换缓冲液瓶中的缓冲溶液, 以保证两缓冲液瓶中缓冲液组分一致。

1.5 毛细管电泳-质谱联用分析条件

毛细管电泳分离条件基本同“1.4 节”所述, 毛细管柱换为 75 μm \times 85 cm 的长柱, 如果用 1 mol/L NaOH 冲洗毛细管, 则将喷雾针从质谱离子源中拔出。质谱分析采用电喷雾正离子模式, 毛细管电压: 4.0 kV, 喷雾气压: 10 psi, 干燥气流速: 9.0 L/min, 干燥气温度: 200 $^{\circ}\text{C}$, 裂解电压: 100 V, 锥孔电压: 60 V, 全扫描(Scan)质荷比 (m/z) 范围为 120~500; 鞘液组成: 50%甲醇-49.5%水-0.5%乙酸, 鞘液流速: 4 $\mu\text{L}/\text{min}$ 。

2 结果与讨论

2.1 毛细管电泳分离条件的选择

利用毛细管电泳-紫外检测器分析黄连及其制剂中生物碱的研究已有报道^[10], 但使用的是难挥发的磷酸盐为背景电解质且使用了大量的表面活性剂(SDS). 这种含非挥发性背景电解质和表面活性剂的缓冲溶液不适用于 CE-ESI-MS 分析. 本文改用易挥发性的醋酸铵-氨水溶液作为背景电解质, 考察了浓度、pH 及有机溶剂对分离的影响. 当以乙酸铵-乙酸缓冲体系进行电泳分离时, 由于 pH 值较低, 分离度较差; 采用乙酸铵-氨水体系进行实验, 发现 pH 7.0~7.5 的范围内分离度较高, 故本实验运行缓冲液的 pH 值调至 7.2. 在缓冲溶液中加入一定量的有机溶剂可提高分离能力, 并利于提高电喷雾离子化效率^[19], 本实验发现在缓冲液中加入 0.5% 的甲醇可以明显改善黄连中生物碱类化合物的分离度. 本研究还对缓冲液的浓度影响进行了考察, 结果表明, 50 和 25 mmol/L 的乙酸铵缓冲液均能使黄连中的生物碱类化合物达到良好分离, 但使用 25 mmol/L 的乙酸铵缓冲液时各化合物保留时间更长, 而当采用 15 mmol/L 的乙酸铵缓冲液时, 各峰的分离度下降. 故本文选定 50 mmol/L 的乙酸铵缓冲液作为运行液. 在选定的分离条件下, 小檗碱和黄连样品 CE-DAD (230 nm) 检测色谱如图 1 所示, 从图 1 可以看出在该条件下, 黄连中各生物碱成分分离良好; 另外, 对 CE-DAD (230 nm) 测定方法的重现性进行了考察, 同一供试品溶液重复进样 5 次, 测得小檗碱峰(2 号峰)的峰面积和保留时间, 分别计算其相对标准偏差(RSD), RSD 值分别为 3.82% 和 0.92%, 说明该方法的定量重复性、分离重复性良好, 可用于黄

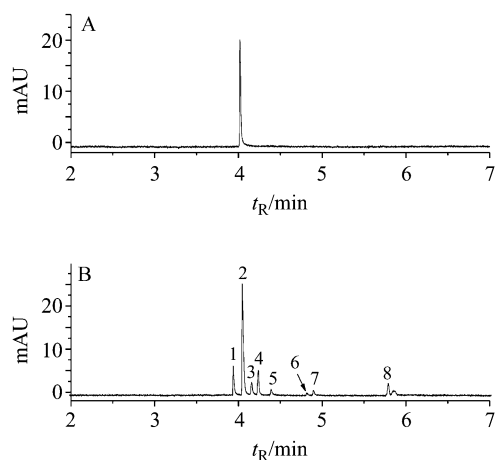


图 1 (A)小檗碱标准品和(B)黄连甲醇提取物毛细管电泳色谱图

Figure 1 HPCE-DAD (230 nm) electropherogram of berberine standard (A) and the methanol extract of *Coptis chinensis* Franch (B)

连中生物碱的定量测定.

2.2 质谱条件选择及方法的重复性

本实验以盐酸小檗碱对照品为研究对象, 采用电喷雾正离子模式, 进行质谱分析条件优化, 以获得最佳灵敏度. 分别对参比液的开启、喷雾气的压力(Nebulizer)、鞘液中乙酸的含量、鞘液的流速、干燥气的流速(Drying gas flow rate)和干燥气的温度(Gas temperature)对实验结果的影响进行了系统考察. 由于本实验使用的是 Agilent 公司的高分辨飞行时间质谱仪, 该质谱仪具有两个喷雾针, 其中之一是进行参比液校准液喷雾, 用于质谱质量轴的在线实时校正. 本实验对参比液开启与否进行了比较研究, 发现开启参比液喷雾之后, 小檗碱的质谱信号明显降低, 故在 CE-ESI-TOF/MS 实验的过程中需关闭参比液喷雾, 这可能是因为参比液喷雾之后和样品竞争电荷, 造成样品带电效率降低所致. 对不同喷雾气压力(10, 15, 20, 25, 30 psi)的影响进行了考察, 实验结果表明喷雾气压力的变化对质谱信号大小影响不大, 但是随着喷雾气压力的增大, 小檗碱的保留时间明显缩短, 还会导致毛细管电泳的分离效率下降, 这与 Huikko 等^[20]的研究结果一致. 鞘液中乙酸的含量和鞘液的流速对质谱信号均有一定的影响, 鞘液中乙酸的含量在 0.3%~1.0% (V/V) 的范围内质谱信号较好, 而流速在 3~7 $\mu\text{L}/\text{min}$ 时质谱的灵敏度较高. 干燥气的流速和温度对小檗碱的保留时间影响不明显, 但干燥气的流速对质谱信号影响较大, 干燥气流速 8.0~10.0 L/min 时质谱信号较好, 而干燥气的温度对小檗碱质谱信号影响不大, 在 100~350 $^{\circ}\text{C}$ 的范围内均能产生良好的质谱信号. 在选定的质谱条件下, 黄连样品 HPCE-ESI-TOF/MS 检测总离子流色谱图如图 2 所示, 从图 2 可以看出在该条件下, 黄连中各生物碱成分质谱信号良好.

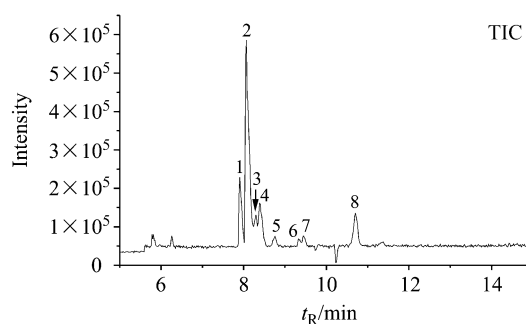


图 2 黄连甲醇提取物毛细管电泳-质谱分析总离子流色谱图
Figure 2 HPCE-ESI-TOF/MS total ion current chromatogram of the methanol extract of *Coptis chinensis* Franch

进行 CE-ESI-TOF/MS 联用实验所使用的毛细管和 CE-DAD 实验所使用的毛细管是不同的, 因为进行

CE-TOF/MS 联用实验时, 毛细管的出口端要从 CE 仪器内部引出, 引入 TOF/MS 离子源, 而毛细管电泳仪和 TOF/MS 仪之间有一定的距离, 所以进行 CE-ESI-TOF/MS 联用实验毛细管所需长度一般在 80 cm 以上. 采用本研究优化所得的最佳仪器参数, 对 CE-ESI-TOF/MS 方法的重现性进行了考察, 5 次连续重复进样(供试品溶液)结果表明, 前 3 次进样的各峰分离度、保留时间以及质谱信号重复性均令人满意, 第 4、5 次进样各峰的保留时间有所延长、分离度有所下降, 由于峰展宽, 质谱信号也有所下降, 但是只要更换新的运行缓冲液, 即可获得良好的实验结果, 说明进行 3 次 CE-ESI-TOF/MS 联用实验后需更换新的运行缓冲液. 另外, 本实验还对溶解样品的溶剂影响进行了研究, 结果发现使用运行缓冲液溶解样品方法的重现性最好, 如果使用甲醇溶解样品进行实验, 则会导致毛细管的电流不稳或电流丢失, 实验结果不能重现.

利用高效液相色谱对成分较为复杂的样品, 如天然产物、药物代谢物进行分析时, 其柱系统可能会受到不可修复的污染, 导致色谱柱柱效降低乃至损坏, 而毛细管的空心柱系统可以弥补高效液相色谱的这一缺陷; 毛细管电泳在进行复杂样品分析时, 由于进样量较少, 往往受检测器性能限制, CE-ESI-TOF/MS 方法不仅可以对复杂样品进行更高分离效率和更高灵敏度检测, 而且还能提供样品组分的定性信息, 为复杂样品的分离分析提供了一种新的技术手段. 本研究为下一步准备进行的黄连药材生物碱类化合物的生物代谢研究提供了方法学上的支持.

2.3 黄连中生物碱类化合物的鉴定

根据小檗碱对照品的保留时间和电喷雾飞行时间质谱信息来确认样品中色谱峰 2 为小檗碱. 图 1 中 1~7 号峰的紫外吸收光谱图和电喷雾飞行时间质谱图见图 3 A~G, 图 3 各峰紫外光谱图(右侧所列图谱)与 2 号峰小檗碱的紫外吸收光谱图相似, 故初步推断它们属于同一类化合物, 即黄连生物碱类化合物. 在高效毛细管电

泳-电喷雾飞行时间质谱联用实验中, 黄连中的生物碱类化合物主要是出现 $[M]^+$ 峰, 这与文献^[5,8,9]中采用 LC-ESI-MS 鉴定黄连中生物碱类化合物的研究结果一致, 在碰撞电压小于 200 V 的条件下, 几乎无碎片峰.

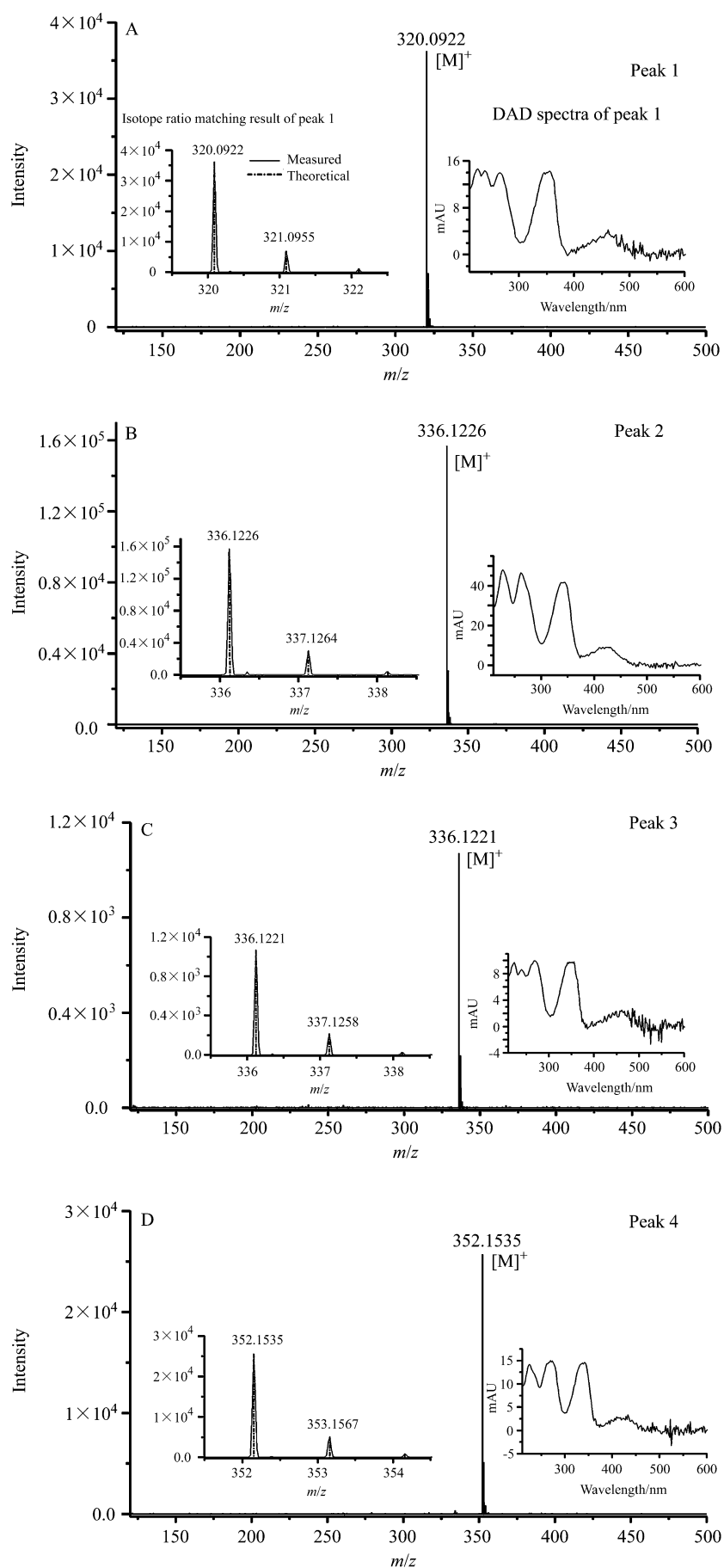
峰 1(图 3A)在 CE-ESI-TOF/MS 分析中只产生了 m/z 320.0922 $[M]^+$, 检索上海有机化学研究所化学专业数据库推断其为黄连碱(Coptisine); 峰 2(图 3B)在 CE-ESI-TOF/MS 分析中只产生 m/z 336.1226 $[M]^+$, 根据小檗碱对照品的保留时间和电喷雾飞行时间质谱信息确认其为小檗碱; 峰 3(图 3C)在 CE-ESI-TOF/MS 分析中也只产生 m/z 336.1221 $[M]^+$, 检索上海有机化学研究所化学专业数据库推测其为小檗碱的同分异构体表小檗碱(Epiberberine); 峰 4(图 3D)在 CE-ESI-TOF/MS 分析中只产生 m/z 352.1535 $[M]^+$, 检索上海有机化学研究所化学专业数据库推测其为巴马汀(Palmatine); 由于峰 5 和峰 7(图 3E 和 G)是同分异构体, 具有相同的分子式, 故在没有标准品的情况下, 无法区分这两个峰, 检索上海有机化学研究所化学专业数据库, 推断这两个峰为药根碱(Jatrorrhizine)和非洲防己碱(Columbamine); 峰 6(图 3F)在 CE-ESI-TOF/MS 分析中只产生 m/z 322.1067 $[M]^+$, 检索上海有机化学研究所化学专业数据库推断其为小檗红碱(Berberastine); 峰 8 为一未知化合物.

对图 2 中 7 个主要色谱峰进行 CE-ESI-TOF/MS 分析, 通过与文献和上海有机化学研究所化学专业数据库对照, 可以初步确定其中的 7 个峰(1~7 号峰)是已有文献报道的黄连生物碱类化合物, 保留时间(t_R)、质谱分析主要碎片峰、推测所得分子式、测定误差见表 1. 通过比较可以看出, 各化合物分子量的测定值与理论值相差很小, 误差均在百万分之三以内, 说明推测所得的分子式准确可信. 采用 Analyst QS 软件的同位素匹配功能, 对测得的各分子离子峰的同位素峰进行匹配, 匹配结果见图 3(左侧所列图谱), 从图 3A-G 左侧所列同位素匹配图谱可以看出, 本实验所鉴定的 7 个生物碱类化合物, 其理论上计算的同位素峰强度比、出峰位置与实验所实

表 1 黄连甲醇提取物 7 种生物碱 HPCE-ESI-TOF/MS 分析精确分子量测定结果

Table 1 HPCE-ESI-TOF/MS accurate mass measurements of 7 alkaloids in the methanol extract of *Coptis chinensis* Franch

Peak	Molecular formula	t_R /min	Selected ion	Experimental value m/z	Calculated m/z	Error/mDa
1	$C_{19}H_{14}NO_4$	7.91	$[M]^+$	320.0922	320.0917	0.4654
2	$C_{20}H_{18}NO_4$	8.06	$[M]^+$	336.1226	336.1230	-0.4347
3	$C_{20}H_{18}NO_4$	8.30	$[M]^+$	336.1221	336.1230	-0.9347
4	$C_{21}H_{22}NO_4$	8.39	$[M]^+$	352.1535	352.1543	-0.8348
5	$C_{20}H_{20}NO_4$	8.77	$[M]^+$	338.1380	338.1387	-0.6847
6	$C_{19}H_{16}NO_4$	9.33	$[M]^+$	322.1067	322.1074	-0.6846
7	$C_{20}H_{20}NO_4$	9.45	$[M]^+$	338.1385	338.1392	-0.7333



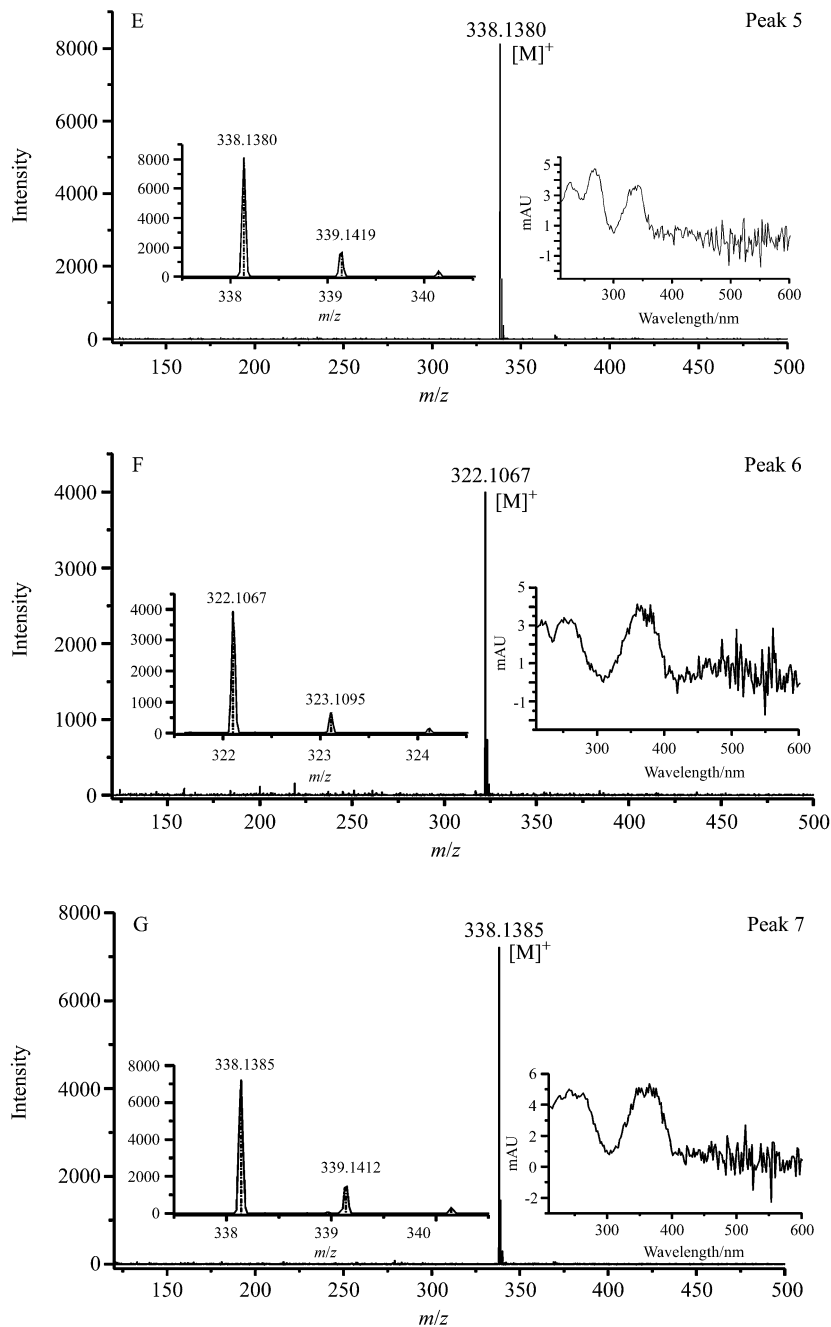


图3 黄连中7种生物碱的电喷雾飞行时间质谱图、同位素匹配结果及紫外光谱图: (A)黄连碱, (B)小檗碱, (C)表小檗碱, (D)巴马汀, (E)药根碱/非洲防己碱; (F)小檗红碱, (G)药根碱/非洲防己碱

Figure 3 Accurate TOF/MS spectra, isotope ratio matching result and UV spectra of 7 alkaloids in *Coptis chinensis* Franch: Coptisine (A); Berberine (B); Epiberberine (C); Palmatine (D); Jatrorrhizine/Columbamine (E); Berberastine (F); Jatrorrhizine/Columbamine (G)

际测得的结果吻合良好, 更进一步说明推测所得的分子式准确可信。

3 结论

高效毛细管电泳-电喷雾飞行时间质谱联用是快速分析鉴定黄连中生物碱类化合物的强有力工具, 通过采用高分辨质谱测定生物碱类化合物的精确分子量, 可以

准确推测出化合物的分子式, 结合二极管阵列检测技术采集的各色谱峰的紫外光谱图, 可以对黄连中的生物碱类化合物进行快速定性, 说明该方法在中草药生物碱类化合物鉴定研究中具有很强的适用性; 本工作有望为黄连生物碱类化合物的代谢研究提供一种新方法。

致谢 衷心感谢 Agilent 公司的王志明和史静伟工程师对本工作的大力支持和帮助。

References

- 1 Kuang, H.-X. *Chinese Medicine Chemistry*, China Press of Traditional Chinese Medicine, Beijing, **2000** (in Chinese). (匡海学, 中药化学, 中国中医药出版社, 北京, **2000**.)
- 2 Xu, Y.; Zhou, S.-W.; Tang, J.-L.; Chen, S. *Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae* **2007**, *29*, 179 (in Chinese). (徐颖, 周世文, 汤建林, 陈莎, 第三军医大学学报, **2007**, *29*, 179.)
- 3 Chu, C.-Y.; Sheu, S.-J. *J. Chromatogr. A* **1996**, *756*, 137.
- 4 Qu, H.-B.; Ma, Y.-H.; Yu, K.; Cheng, Y.-Y. *Chromatographia* **2007**, *65*, 713.
- 5 Chuang, W.-C.; Young, D.-S.; Liu, L.-K. *J. Chromatogr. A* **1996**, *755*, 19.
- 6 Ren, L.-L.; Xue, X.-Y.; Zhang, F.-F.; Liang, X.-M. *J. Sep. Sci.* **2007**, *30*, 833.
- 7 Ge, Z.-C.; Zhou, J.-M. *Chin. J. Anal. Chem.* **2004**, *32*, 99 (in Chinese). (戈早川, 周建明, 分析化学, **2004**, *32*, 99.)
- 8 Wang, D.-W.; Liu, Z.-Q.; Guo, M.-Q.; Liu, S.-Y. *J. Mass. Spectrom.* **2004**, *39*, 1356.
- 9 Wang, D.-W.; Liu, Z.-Q.; Guo, M.-Q.; Li, L.; Xing, J.-P.; Song, F.-R.; Liu, S.-Y. *Chin. J. Anal. Chem.* **2003**, *31*, 1101 (in Chinese). (王道武, 刘志强, 郭明全, 李丽, 邢俊鹏, 宋凤瑞, 刘淑莹, 分析化学, **2003**, *31*, 1101.)
- 10 Sun, S.-W.; Tseng, H.-M. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2005**, *37*, 39.
- 11 Gao, W.-H.; Lin, S.-Y.; Li, J.; Xi, K.-G.; Chen, X.-G.; Hu, Z.-D. *J. Sep. Sci.* **2005**, *28*, 92.
- 12 Chen, Y. R.; Wen, K. C.; Her, G. R. *J. Chromatogr. A* **2000**, *866*, 273.
- 13 Xiao, H.; Zou, H.-F.; Pan, C.-S.; Jiang, X.-G.; Le, X. C.; Yang, L. *Anal. Chim. Acta* **2006**, *580*, 194.
- 14 Fu, H.-J.; Huang, X.-D.; Jin, W.-H.; Zou, H.-F. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2003**, *14*, 96.
- 15 Yu, K.; Gong, Y.-F.; Lin, Z.-Y.; Cheng, Y.-Y. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2007**, *43*, 540.
- 16 Ye, S.; Wang, S.-F.; Qu, H.-B.; Cheng, Y.-Y. *Chin. J. Anal. Chem.* **2007**, *35*, 115 (in Chinese). (叶姝, 王书芳, 瞿海斌, 程翼宇, 分析化学, **2007**, *35*, 115.)
- 17 Zheng, G.-C.; Chen, H.; Chen, Z.-T.; Gan, T.-T.; Feng, B.; Xia, Z.-N. *Acta Chim. Sinica* **2006**, *64*, 2344 (in Chinese). (郑国灿, 陈华, 陈志涛, 甘婷婷, 冯波, 夏之宁, 化学学报, **2006**, *64*, 2344.)
- 18 Liang, Z.; Duan, J.-C.; Zhang, W.-B.; Zhang, Y.-K. *Chin. J. Chromatogr.* **2003**, *21*, 9 (in Chinese). (梁振, 段继诚, 张维冰, 张玉奎, 色谱, **2003**, *21*, 9.)
- 19 Liu, R.-M.; He, F.-Y.; Sun, A.-L. *Acta Pharm. Sin.* **2004**, *39*, 363 (in Chinese). (柳仁民, 何风云, 孙爱玲, 药学学报, **2004**, *39*, 363.)
- 20 Huikko, K.; Kotiaho, T.; Kostianen, R. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2002**, *16*, 1562.

(A0705094 PAN, B. F.; FAN, Y. Y.)