

多元曲线分辨-交替最小二乘法应用于延胡索药材指纹图谱中重叠峰分辨及延胡索乙素的含量测定

贾泽慧^a 王春涛^a 李 华^{b*}

(^a太原师范学院化学系 太原 030031; ^b西北大学分析科学研究所/中药现代化研究中心 西安 710069)

摘 要 采用光谱相关色谱法对延胡索药材指纹图谱中的有效组分延胡索乙素峰进行确认;利用多元曲线分辨-交替最小二乘法(MCR-ALS)对延胡索乙素重叠峰簇进行解析,得到延胡索乙素的真实色谱峰,其光谱还原率大于0.999,并对其进行准确定量,该方法可作为指纹图谱的辅助方法,为中药的真伪鉴定和质量客观评价提供可靠依据;最后讨论了药材的炮制对延胡索乙素含量的影响。

关键词 延胡索药材,中药指纹图谱,光谱相关色谱,多元曲线分辨-交替最小二乘法

中图分类号:O657.3

文献标识码:A

文章编号:1000-0518(2013)03-0329-06

DOI:10.3724/SP.J.1095.2013.20174

中药延胡索为罂粟科植物延胡索(*Corydalis yanhusuo* W. T. Wang)的干燥块茎,主要产于浙江东阳、磐安和陕西、湖南、湖北等地。延胡索中含多种生物碱,其中以原阿片碱和延胡索乙素等为主要活性成分,药理作用表现为镇痛、催眠、抗溃疡、抑制胃酸分泌、降低冠脉阻力及增加血流量等^[1-2]。目前对延胡索药材中有效组分的定量测定多采用高效液相色谱法^[3-4]。但中药区别于化学合成药,其药效是依靠所含的多种成分协同发挥作用,只测量某一种或几种有效组分显然不能满足质量评价的要求。中药指纹图谱技术的出现可以解决这一问题,它是一种综合的、可量化的色谱鉴定手段,强调整体性和模糊性,可将同一味药材由于产地、采摘部位、采收季节、炮制方法、提取手段或制备工艺的不同所导致的药效化学成分差异^[5]体现出来,借以鉴别中药真伪,评价原药材、半成品和成品的质量均一性和稳定性^[6]。

高效液相色谱(HPLC)或气相色谱(GC)等仪器用来进行指纹图谱研究具有很多优势。如谢彩娟等^[7-8]采用高效液相色谱-二极管阵列检测器(HPLC-DAD)对来自不同产地的炮制、未炮制干货及鲜品延胡索药材进行研究后建立其相应的指纹图谱,并对其进行质量评价。但由于中药成份复杂,其中性质相似的组分保留时间较为接近,往往导致指纹图谱中色谱峰产生重叠,这就给色谱峰的识别和有效组分的定量带来较大的困难。化学计量学多元校正与多元分辨方法可以为黑色分析体系的定性定量解析提供全新思路,如复杂色谱峰体系峰纯度检验、组分数确定及重叠峰中色谱流出曲线和纯光谱的获得等。

本文以液相色谱实验条件下获得的15组延胡索药材指纹图谱为研究对象,对指纹图谱中的延胡索乙素峰簇确定其组分数,若存在谱峰的重叠,利用多元曲线分辨-交替最小二乘(MCR-ALS)方法进行解析,以期获得延胡索乙素的真实色谱峰,实现对延胡索乙素的准确定量;对比MCR-ALS分辨前后获得的延胡索乙素的含量图,讨论了药材炮制对延胡索乙素含量及光谱相关系数的影响。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

1525型高效液相色谱仪(美国Waters公司),2996型光电二极管阵列检测器,Empower色谱工作站,色谱柱为Phenomenex Luna C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相B为甲醇,A为磷酸盐缓冲溶液(磷酸二氢钾-磷酸氢二钾,pH=7.68),流速1.0 mL/min,柱温30℃,检测波长240~330 nm,运行时间

2012-04-27 收稿,2012-06-26 修回

国家自然科学基金(20975081)、山西省自然科学基金(2011011007-2)资助项目

通讯联系人:李华,教授;Tel:029-88302635;Fax:029-88303527;E-mail:huali@nwnu.edu.cn;研究方向:生物分析化学和功能体系的化学信息学、过程分析及中药现代化

为 75 min,进样量 5 μL。ACQ-600 型超生波发生器(陕西翔达超声技术工程部),SCQ-250 型超声波清洗器(上海电波超声公司),501 型超级恒温器(上海试验仪器厂有限公司),RE-52A 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),HZ-D(Ⅲ)型循环水式真空泵(巩义市予华仪器厂),Aquelix 5 型纯水机(美国 MILLIPORE 公司)。

延胡索乙素对照品和延胡索对照药材(d15)购于中国药品生物制品检定所,各种延胡索药材样品产地见表 1(其中,未炮制干货是指经产地加工后存放的药材;鲜品是指从地里直接采挖出来后,经温水洗净,60 ℃烘干处理的药材;炮制品是指经产地加工后再醋制加工的药材切片)。实验用甲醇为色谱纯(美国 Fisher scientific 公司);水为超纯水;其它试剂为分析纯,均购于西安化学试剂厂。

表 1 不同产地延胡索药材
Table 1 *Corydalis yanhusuo* from different source

Sample No.	Origin	Notes
d1	Dongding, Dengzhou, Henan	Uncooked dry herb
d2	Dongyang medicine market, Zhejiang	Uncooked dry herb
d3	Panan, Zhejiang	Uncooked dry herb
d4	Chenggu, Shaanxi	Uncooked dry herb
d5	GAP base in Chenggu, Shaanxi	Fresh herb
d6	Qianxiang, Dongyang, Zhejiang	Fresh herb
d7	Jinyunhu, Zhejiang	Fresh herb
d8	Dongding, Dengzhou, Henan	Fresh herb
d9	Tianhetang drugstore, Shandong	Fresh herb
d10	Yonghetang drugstore, Hunan	Cooked herb
d11	Fengyuan drugstore, Anhui	Cooked herb
d12	Haozhou, Anhui	Cooked herb
d13	Fengfutang drugstore(1), Jiangsu	Cooked herb
d14	Fengfutang drugstore(2), Jiangsu	Cooked herb
d15	National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products	Reference herb

1.2 样品溶液的制备

精确称取延胡索乙素对照品,用甲醇溶解,制得浓度为 0.26 g/L 的延胡索乙素对照品溶液。取各延胡索药材粉末 0.5 g,精密称定,置具塞三角瓶中,加入氯仿-甲醇 2 种有机溶液共 25 mL,放置过夜,加 0.6 mL 氨水($V(\text{氯仿}):V(\text{甲醇}):V(\text{氨水})=5:1:0.15$),放入 40 ℃的水浴中超声 40 min,取出后抽滤,滤液蒸干,残渣加 5 mL 甲醇溶解,经 0.45 μm 滤膜滤过,即得延胡索药材供试品溶液。

1.3 实验原理

1.3.1 MCR-ALS 方法 假设每次实验从 HPLC-DAD 中得到的色谱/光谱响应数据矩阵为 $D(m \times n)$,其中每一行 m 代表某一时间点的光谱矢量,每一列 n 代表某一工作波长的浓度矢量。 D 可表示为:

$$D = CS^T + E$$

(1)

式中, C 与 S 分别为真实浓度分布矩阵和真实纯物质光谱矩阵,上角标 T 表示矩阵 S 的转置, E 为误差矩阵。曲线分辨的目的就是要得到有物理意义的 C 与 S 。

MCR-ALS 对单一数据矩阵 D (二维数据)的解析能为体系中存在的组分提供色谱和光谱信息,但是对于重叠程度严重的体系,有时不能给出合理的信息,这类数据矩阵可能为缺秩矩阵。多个数据矩阵(三维数据)同时分析的情形能较好的解决这一问题^[9-10]。

所谓的多个矩阵同时分析即将每一个单个矩阵采用时间方向扩展的形式,如将单个矩阵 D_1 、 D_2 和 D_3 (要求这些矩阵列数相等)上下叠加在一起,形成一个新的矩阵 D_{aug} (augmented matrix),如图 1 所示,此矩阵 D_{aug} 的行数为所有矩阵行数的和,列数则保持不变,在程序中以 $[D_1;D_2;D_3]$ 表示 D_{aug} 的组成。

多个矩阵的同时分析不仅可使缺秩矩阵满秩,还能解决重叠严重色谱峰组分定量难的问题。当混合物重叠峰数据矩阵与组成该混合物各组分的标准品数据矩阵同时进行分析时,即可达到对重叠峰中各组分定量的目的。

MCR-ALS 方法具体的计算步骤可归纳为:1)采用渐进因子分析(EFA)确定体系的因子数并得到

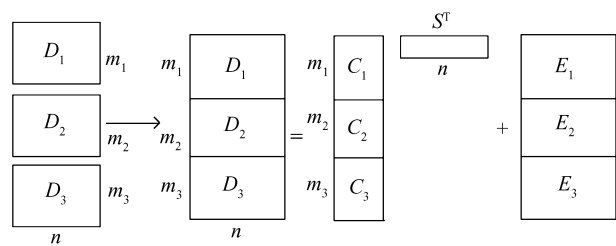


图1 D_{aug} 的组成及其分解过程

Fig. 1 Formation and resolution of the augmented matrix

ALS迭代的初始值;2)进行ALS迭代优化,迭代过程中加入一系列限制条件,如非负和单峰等;3)ALS迭代收敛后,可得到重叠峰经分辨后各组分的色谱流出曲线图和光谱图;4)光谱分辨结果即光谱还原率可用相似度值 R 来衡量:

$$R = \cos\alpha = \frac{V_{\text{known}} \cdot V_{\text{cal}}}{\|V_{\text{known}}\| \cdot \|V_{\text{cal}}\|}$$

(2)

式中, $\|V_{\text{known}}\|$ 代表真实光谱向量的模, $\|V_{\text{cal}}\|$ 为分辨所得光谱向量的模;5)组分的定量可通过式(3)进行计算:

$$I_{\text{mix}} = (J_{\text{mix}}/J_{\text{std}})I_{\text{std}}$$

(3)

式中, I_{mix} 和 I_{std} 分别为待分析物与相应标准品的浓度, J_{mix} 和 J_{std} 分别为其对应的面积响应值。

1.3.2 光谱相关系数 通常,对于任意2种物质的纯光谱 S_i 和 S_j ,其光谱相关系数 $S(i, j)$ 可由下式计算:

$$S(i, j) = \frac{V_i \cdot V_j}{\|V_i\| \cdot \|V_j\|}$$

(4)

式中, $\|V_i\|$ 代表组分 i 光谱向量的模, $\|V_j\|$ 为组分 j 光谱向量的模, S 值越大,表示组分 i 的光谱 S_i 与组分 j 的光谱 S_j 越相似。当 $S = 1$ 时,2个组分就是相同的化学物质,实际上由于噪声和量测误差的存在, S 最大值不可能等于1,只能接近于1。

1.4 数据矩阵

每个样品经HPLC-DAD实验后可得到一组数据矩阵 D ,依据表1中所列,共得到15组不同的数据矩阵(即15个延胡索药材指纹图谱)。图2A、2B和2C分别为延胡索对照药材、江苏丰富堂药店(1)和陕西城固的延胡索药材在289 nm时的指纹图谱。

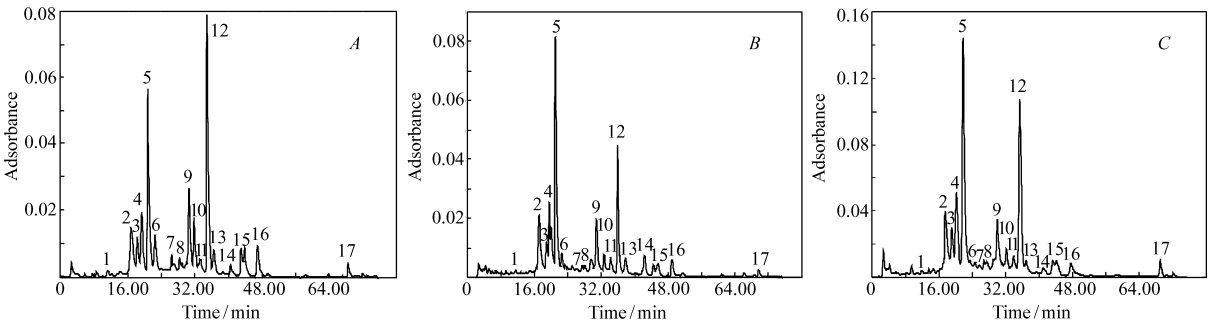


图2 延胡索药材指纹图谱(289 nm)

Fig. 2 The fingerprint of *Corydalis yanhusuo*(289 nm)

A. reference herb; B. the herb of Fengfutang in Jiangsu(1); C. the herb of Chenggu in Shannxi

2 结果与讨论

多数情况下,即使同一样品的化学成分在同种类型的色谱柱上保留时间不可能完全相同,但洗脱顺序应基本不变。观察15批来自不同产地的炮制和未炮制延胡索样品指纹图谱,总结出延胡索药材指纹

图谱中的典型峰有 17 个(图 2)。根据相同化学物质具有相同光谱的特性,将已知的延胡索乙素的对照品光谱对每一个指纹图谱中不同流出时间点的光谱进行相关计算,得到一个类似色谱的光谱相关系数曲线^[11],通过光谱相关系数 S 的大小,可正确估计不同药材中相同组分的色谱流出峰,从而确定 13 号峰为延胡索乙素的色谱峰。表 2 列出了在不同延胡索药材中确定延胡索乙素峰的光谱相关系数 S 值。

表 2 延胡索乙素的光谱相关系数、光谱还原率、奇异值分解结果和定量结果
Table 2 S , R , singular values and resolved concentration of *Corydalis yanhusuo*

Sample No.	S	R	Singular values						Resolved concentration/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
d1	0.994 36	0.999 80	2.377 9	0.517 31	0.028 451	0.004 872 7	0.003 871 7	0.000 953 64	0.099
d2	0.998 10	0.999 78	1.536 3	0.683 61	0.021 838	0.004 691 2	0.003 123 1	0.001 202 9	0.14
d3	0.994 63	0.999 97	2.180 6	0.481 61	0.035 595	0.005 663 5	0.002 831 1	0.001 081 8	0.11
d4	0.996 90	0.999 55	2.294 6	0.751 49	0.024 742	0.005 706 8	0.004 263 2	0.001 271 4	0.17
d5	0.996 90	0.999 55	2.319 6	0.750 39	0.027 364	0.006 547 2	0.004 907 4	0.001 580 1	0.17
d6	0.991 98	0.999 87	2.415 1	0.365 25	0.031 853	0.004 360 5	0.001 472 2	0.000 529 78	0.082
d7	0.996 60	0.999 75	2.640 1	0.632 11	0.033 779	0.007 750 2	0.004 458 7	0.001 155 8	0.14
d8	0.995 69	0.999 86	2.783 2	0.522 24	0.028 163	0.006 855 2	0.003 737 8	0.000 821 47	0.12
d9	0.994 69	0.999 88	2.765 7	0.583 41	0.035 182	0.007 547 6	0.003 673 6	0.001 179 2	0.12
d10	0.989 52	0.999 92	1.150 9	0.387 32	0.017 879	0.005 346 2	0.002 830 6	0.001 507 1	0.084
d11	0.988 11	0.999 94	1.670 1	0.368 81	0.044 197	0.007 020 7	0.002 642 8	0.000 921 67	0.074
d12	0.989 92	0.999 84	1.327 3	0.331 59	0.039 468	0.004 548 2	0.001 779 6	0.000 751 37	0.074
d13	0.969 25	0.999 74	1.335 9	0.480 37	0.064 204	0.015 795	0.003 837 5	0.002 009 9	0.085
d14	0.969 93	0.999 74	1.098 8	0.399 21	0.051 627	0.011 342	0.005 099 9	0.001 779 9	0.068
d15	0.998 22	0.999 66	3.577 1	0.753 29	0.029 316	0.007 946 7	0.005 555 6	0.000 714 51	0.18

从图 2 中可以看出,对于延胡索乙素的 13 号峰来说,它并没有达到基线分离,那么按照传统方法判断的“单峰”很可能不是单峰而是几种物质组成的重叠峰。如果以这种“单峰”的峰面积直接与对照药材中相应的峰面积相比得到的相对值来评价药材中某一组分含量的多少,往往会存在偏差。

本文以不同延胡索药材中的有效组分延胡索乙素为主要研究对象,但由于 12 号峰与 13 号峰没有完全达到基线分离,如果只选取 13 号峰作为分辨对象时,可能会丢失部分有效信息,对定量结果造成误差,因此,选取 12 号和 13 号峰簇作为一个分辨对象,对这 15 组延胡索乙素的重叠峰簇进行峰纯度及组分数的确定,并对可能存在的重叠峰利用 MCR-ALS 进行分辨,最终对延胡索乙素准确定量。

2.1 秩分析

表 2 给出了不同延胡索药材中延胡索乙素峰簇的数据矩阵经奇异值分解的前 6 个特征值,黑体所代表的数字即为高于噪音水平的组分特征值,黑体特征值的个数对应于色谱峰簇数据矩阵的因子数(或秩)。从表 2 的结果可以看出,在延胡索药材指纹图谱的梯度洗脱条件下,得到的延胡索乙素的色谱峰簇并不是两个纯粹的单峰,而是三组分或者四组分重叠峰。

2.2 延胡索乙素的光谱还原率和定量结果

将 15 组延胡索乙素的重叠峰簇数据矩阵分别与延胡索乙素对照品矩阵等形成扩展矩阵后进行 MCR-ALS 分辨,可得到色谱峰簇中相应的色谱流出曲线和光谱图。表 2 列出了不同延胡索药材中延胡索乙素经分辨后的光谱还原率 R 。将 R 值与延胡索乙素“单峰”的光谱相关系数 S 进行比较,其值更接近于 1,分辨结果令人满意。

图 3 给出了 15 组延胡索药材中延胡索乙素重叠峰簇经 MCR-ALS 分辨后的色谱流出曲线图。从图 3 可以得到两点:1)选取的 15 组延胡索乙素重叠峰簇中均含有不同浓度的未知组分 X;2)来自江苏丰富堂的两组延胡索乙素重叠峰簇除含有未知组分 X 以外,还含有另外一种未知组分 Y,且其峰的保留时间与延胡索乙素的保留时间几乎相同。由此可见,如果直接以延胡索药材指纹图谱中延胡索乙素的“单峰”峰面积与对照药材中相应的峰面积相比值来评价有效组分延胡索乙素含量的多少,进而再来评价药材质量的好坏,是不合理的。表 2 给出了 15 组延胡索乙素重叠峰簇经 MCR-ALS 分辨后延胡索乙素准确的定量结果。

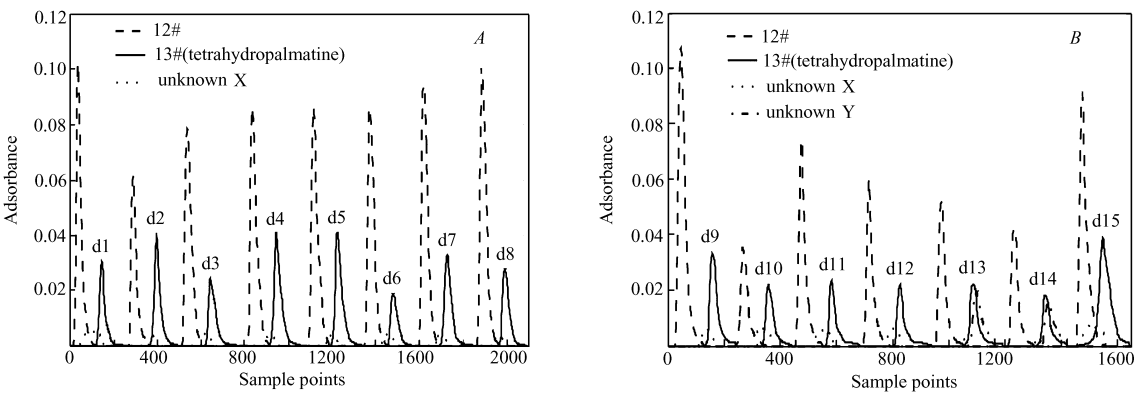


图 3 15 组延胡索乙素重叠峰簇经 MCR-ALS 分辨的色谱流出曲线图
Fig.3 MCR-ALS result of the resolution of 15 tetrahydropalmatine overlapped peaks
A. 8 uncooked herbs; B. 6 cooked herbs and reference herb

2.3 药材炮制后对延胡索乙素峰光谱相关系数的影响

表 2 列出了在不同延胡索药材中确定延胡索乙素峰的光谱相关系数,其中,d1 ~ d8 为未经炮制的延胡索药材,d9 ~ d14 为经过炮制的延胡索药材,对比它们的光谱相关系数可以发现,样品经炮制后,会导致延胡索乙素峰的光谱相关系数下降。这主要是由于延胡索药材的炮制是用醋或者酒以炒、煮或者焖的形式完成,而在这一过程中延胡索药材的活性生物碱会与醋酸或酒结合生成盐或其它化合物。延胡索乙素是其中的一种活性成分,会与醋酸或酒结合生成相应的盐或其它物质^[4],从而导致延胡索乙素峰的光谱相关系数下降。

但这一结果仅说明延胡索药材经炮制后,一部分延胡索乙素会转变成相应的盐或其它物质,使延胡索乙素的含量降低,并不表示经炮制后延胡索乙素的药效也会减低,关于炮制对其药效的影响有待进一步研究。

3 结 论

利用光谱相关色谱法,对 HPLC-DAD 获得的 15 组延胡索药材的指纹图谱进行了分析,确定了药材中的有效组分为延胡索乙素,并对其峰纯度进行鉴定,发现经过炮制的药材峰纯度较低;利用 MCR-ALS 对延胡索乙素重叠峰簇进行分辨,获得延胡索乙素峰簇的真实峰形,实现对延胡索乙素的准确定量。这种方法可以有效地消除通过指纹图谱的直观峰面积确定药材质量的弊端。MCR-ALS 可以作为中药指纹图谱的一种辅助方法,为中药的真伪鉴定和质量的客观评价提供可靠依据;最后,对炮制与未炮制的延胡索药材进行比较,发现炮制的过程会使延胡索乙素的含量降低,但这并不表示经炮制后延胡索乙素的药效也会减低,关于炮制对其药效的影响有待进一步研究,希望能探索出更好的保存延胡索药材的方法。

参 考 文 献

[1] HE Kai,GAO Jianli,ZHAO Guangshui. Advances in Studies on Chemistry, Pharmacology, and Quality Control of *Corydalis Yanhusuo*[J]. *Chinese Trad Herb Drugs*,2007,**38**(12):1909-1912(in Chinese).
贺凯,高建莉,赵光树. 延胡索化学成分、药理作用及质量控制研究进展[J]. *中草药*,2007,**38**(12):1909-1912.
[2] WANG Xiaoling,ZHENG Zhen,HONG Zhanying,et al. Advancements on Chemical Components and Quality Control of *Rhizoma Corydalis*[J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*,2011,**22**(1):227-229(in Chinese).
王晓玲,郑振,洪战英,等. 中药延胡索的化学成分与质量控制研究进展[J]. *时珍国医国药*,2011,**22**(1):227-229.
[3] XIE Caijuan,ZHANG Zhiqi,ZHANG Fuqiang,et al. RP-HPLC Simultaneous Determination of Tetrahydropalmatine and Protopine in *Rhizoma Corydalis*[J]. *J Shaanxi Normal Univ(Nat Sci Ed)*,2005,**31**(1):82-85(in Chinese).
谢彩娟,张志琪,张富强,等. RP-HPLC 法同时测定延胡索药材中延胡索乙素和原阿片碱[J]. *陕西师范大学学报(自然版)*,2005,**33**(1):82-85.
[4] CHENG Xu,LU Tulin,ZHANG Xianhong. Determination of Tetrahydropalmatine of Different Processed Products of *Rhizoma*

- Corydalis* by HPLC[J]. *Chinese Trad Pat Med*, 2003, **25**(9):726-727 (in Chinese).
- 陈旭, 陆兔林, 张先洪. HPLC 测定延胡索不同炮制品中延胡索乙素含量[J]. *中成药*, 2003, **25**(9):726-727.
- [5] LUO Guoan, WANG Yiming, RAO Yi. Progress of Modernization in Chinese Traditional Medicine and Patent Medicine[J]. *Chinese Trad Pat Med*, 2000, **22**(1):71-79 (in Chinese).
- 罗国安, 王义明, 饶毅. 中药中成药现代化进程[J]. *中成药*, 2000, **22**(1):71-79.
- [6] XIE Peishan. Study and Application of Chromatographic Fingerprinting Quality Control Mode on Chinese Herbal Medication [J]. *World Sci Technol/Mod Trad Chinese Med*, 2001, **3**(6):28-32 (in Chinese).
- 谢培山. 中药色谱指纹图谱质量控制模式的研究和应用[J]. *世界科学技术—中药现代化*, 2001, **3**(6):28-32.
- [7] XIE Caijuan, ZHANG Zhiqi. HPLC Fingerprint of *Corydalis Yanhusuo*[J]. *Chinese J Pharm Anal*, 2004, **24**(supp):87-89 (in Chinese).
- 谢彩娟, 张志琪. 延胡索药材的 HPLC 指纹图谱[J]. *药物分析杂志*, 2004, **24**(增刊):87-89.
- [8] ZHOU Yuehua, CAO Liu, LI Yingchun, *et al.* Fingerprint of *Rhizoma Corydalis* and Processed *Corydalis* [J]. *Tianjin Pharm*, 2010, **22**(6):22-27 (in Chinese).
- 周乐华, 曹柳, 李迎春, 等. 延胡索鲜品及炮制品的指纹图谱研究[J]. *天津药学*, 2010, **22**(6):22-27.
- [9] JIA Zehui, ZHANG Fang, LI Hua. Simultaneous Determination of Camptothecin and Its Derivants Using MCR-ALS with HPLC-DAD[J]. *Comput Appl Chem*, 2008, **25**(2):141-144 (in Chinese).
- 贾泽慧, 张方, 李华. MCR-ALS 与 HPLC-DAD 相结合同时测定喜树碱及其衍生物[J]. *计算机与应用化学*, 2008, **25**(2):141-144.
- [10] WANG Kang, JIA Zehui, ZHANG Zhiqi, *et al.* Peak Shift Correction Used in Resolution of Overlapped HPLC Signals of Traditional Chinese Medicine by Three-way PARAFAC Model [J]. *Chem J Chinese Univ*, 2009, **30**(2):268-273 (in Chinese).
- 王康, 贾泽慧, 张志琪, 等. 谱峰漂移校正技术结合三维平行因子分析方法用于分辨中药重叠高效液相色谱信号[J]. *高等学校化学学报*, 2009, **30**(2):268-273.
- [11] WANG Yali, LIANG Yizeng, HU Yun, *et al.* Comparison Studies of Constituents Between Dangguibuxuetang and Its Single Medicines via Hyphenated Chromatography and Multicomponent Spectral Correlative Chromatography[J]. *Chem J Chinese Univ*, 2006, **27**(2):222-226 (in Chinese).
- 王亚丽, 梁逸曾, 胡芸, 等. 联用色谱及多组分光谱相关色谱用于当归补血汤与单味药成分的比较研究[J]. *高等学校化学学报*, 2006, **27**(2):222-226.

The Applications of Multivariate Curve Resolution-alternating Least Squares in Resolving Overlapped Spectra of *Corydalis yanhusuo* Fingerprint and the Content Detection of Tetrahydropalmatine

JIA Zehui^a, WANG Chuntao^a, LI Hua^{b*}

(^aDepartment of Chemistry, Taiyuan Normal College, Taiyuan 030031, China;

^bInstitute of Analytical Science/Research Center for Modernization of Chinese Herbal Medicines, Northwest University, Xi'an 710069, China)

Abstract Spectral correlative chromatography was used to identify the peak of tetrahydropalmatine in *Corydalis yanhusuo* fingerprint. Moreover, multivariate curve resolution-alternating least squares (MCR-ALS) was used to resolve the overlapping peaks of tetrahydropalmatine and restore its true peak shape. More than 99.9% spectrum could be recovered and accurately quantitative results were obtained. The method can be used as an auxillary fingerprinting method to provide a reliable basis for the authenticity and quality assessment of Chinese medicines. The effect of the herbs-cooking on the content of tetrahydropalmatine was also discussed.

Keywords *Corydalis yanhusuo*, fingerprint of traditional Chinese medicine fingerprint, spectral correlative chromatography, multivariate curve resolution-alternating least squares