

LC-MS/MS法测定氨氯地平血药浓度及其片剂的生物等效性研究

张丽娜*, 刘曼, 杨漫, 杜爱华, 张娅楠, 张丹, 韩静, 王晓琳, 刘会臣[#](航天中心医院临床药理室, 北京100049)

中图分类号 R969.1;R972 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)10-0910-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.10.17

摘要 目的:建立测定人血浆中氨氯地平血药浓度的方法,并评价2种苯磺酸氨氯地平片的生物等效性。方法:人血浆样本经液-液萃取后,选用Zorbax SB-C₁₈ Narrow Bore色谱柱,以甲醇-10 mmol/L 乙酸铵(90:10, V/V)为流动相,流速为0.3 ml/min,选用API3200型三重四极杆串联质谱仪的多重反应监测(MRM)扫描方式进行监测,电喷雾电离(ESI)离子化源,正离子方式,选择监测离子反应分别为 m/z 409.2→ m/z 238.2(氨氯地平)和 m/z 256.2→ m/z 167.3(苯海拉明,内标)。24名健康受试者随机于2个周期交叉口服相同剂量的苯磺酸氨氯地平片受试制剂(国产)或参比制剂(进口),考察其生物等效性。结果:氨氯地平和苯海拉明的保留时间分别约为2.79、2.43 min;氨氯地平的药浓度在0.10~10.0 ng/ml范围内线性关系良好($r=0.9997$),定量下限为0.10 ng/ml,日内、日间RSD均<15%,相对偏差(RE)均在±15%范围以内,平均提取回收率为(84.7±5.5)%,平均基质效应因子为(76.5±8.4)%。以AUC_{0-120h}计,受试制剂相对于参比制剂的生物利用度为(105.8±20.9)%。结论:该方法快速、灵敏、专属性强、重现性好,适用于人血浆中氨氯地平的测定,可用于苯磺酸氨氯地平片的人体生物等效性研究;2种制剂生物等效。

关键词 氨氯地平;高效液相色谱串联质谱法;生物等效性

Determination of Amlodipine Concentration in Human Plasma by LC-MS/MS Method and Bioequivalence Study of Its Tablets

ZHANG Li-na, LIU Man, YANG Man, DU Ai-hua, ZHANG Ya-nan, ZHANG Dan, HAN Jing, WANG Xiao-lin, LIU Hui-chen(Department of Clinical Pharmacology, Aerospace Center Hospital, Beijing 100049, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop method for the determination of amlodipine in human plasma, and to evaluate bioequivalence of 2 kinds of Amlodipine besylate tables in healthy volunteers. METHODS: After liquid-liquid extraction, the samples were separated on Zorbax SB-C₁₈ Narrow Bore column with mobile phase consisted of methanol-10 mmol/L ammonium acetate (90:10, V/V) at the flow rate of 0.3 ml/min. Detection was carried out by electrospray positive ionization mass spectrometry in type API3200 multiple reaction monitoring (MRM) mode. The MRM transitions of m/z 409.2→ m/z 238.2 and m/z 256.2→ m/z 167.3 were used to quantify amlodipine and diphenhydramine (I.S.), respectively. The bioequivalence of test preparation and reference preparation of Amlodipine besylate tablets in 24 healthy volunteers after oral administration were investigated in a randomized, two-periods cross-over study. RESULTS: Amlodipine and I.S. were eluted at 2.79 min and 2.43 min, respectively. The linear range of amlodipine were 0.10-10.0 ng/ml ($r=0.9997$) with the lowest quantitation limit of 0.10 ng/ml. Intra-day and inter-day RSDs were both less than 15%; relative errors (RE) were within ±15%. The mean extraction recovery was (84.7±5.5)%, and the mean matrix effect factor was (76.5±8.4)%. The relative bioavailability of test preparation to reference preparation was (105.8±20.9)% according to AUC_{0-120h}. CONCLUSIONS: The method is rapid, sensitive, selective and reproducible, and it is suitable for the determination of amlodipine in human plasma and bioequivalence study of Amlodipine besylate tablets in healthy volunteers. Two preparations are bioequivalent.

KEY WORDS Amlodipine; LC-MS/MS; Bioequivalence

氨氯地平为二氢吡啶类钙离子拮抗药,可阻滞血管平滑肌和心肌细胞外Ca²⁺经细胞膜上的钙离子通道进入细胞内,具有松弛血管平滑肌、扩张外周小动脉和冠状动脉、减少总外周血管阻力的作用。氨氯地平起效和缓、作用时间长,具有很好的耐受性,与其他心血管药联用引起的副作用小,在临床广泛应用于高血压及心绞痛的治疗^[1-2]。由于氨氯地平血浆浓度仅为纳克级水平^[2],笔者根据其化学结构特性及相关文献^[3-5],建立

了高效液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)法测定人血浆中氨氯地平的浓度,评价受试制剂与参比制剂的生物等效性,为临床合理用药提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器

API3200型三重四极杆串联质谱仪,配有电喷雾离子化源(ESI)以及Analyst 1.4.2数据处理软件(美国Applied Biosystem Inc.); Prominence LC-20A超快速高效液相色谱系统,包括LC-20AD溶剂输送泵、SIL-20AHT自动进样器、CTO-20A柱温箱、CBM-20A系统控制器、DGU-20A3在线脱气机(日本Shimadzu Technologies Inc.); SC-3616台式低速离心机(科大创新股份有限公司中佳分公司); QB-600型高速振荡混合器(海门

* 药师。研究方向:药物分析。电话:010-59971773。E-mail: 516263805@qq.com

[#] 通信作者:主任药师,博士。研究方向:药动学与临床药理学、体内药物及代谢物分析。电话:010-59971772。E-mail: liu-huichen@163.com

市其林贝尔仪器制造有限公司);MTN-2800D氮吹浓缩装置(天津奥特赛恩斯仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

受试制剂:苯磺酸氨氯地平片(河北东风药业有限公司,规格:每片5 mg,批号:12033001,含量:100.5%);参比制剂:苯磺酸氨氯地平片(商品名:络活喜,辉瑞制药有限公司,规格:每片5 mg,批号:1105116,含量:99.5%);苯磺酸氨氯地平对照品(中国药品生物制品检定研究院,纯度:99.5%);内标:盐酸苯海拉明(中国药品生物制品检定研究院,纯度:99.9%);甲醇为色谱纯,水为超纯水(去离子水经KLZ艾柯纯水机纯化),其他试剂均为分析纯。空白人血浆由航天中心医院提供或来自于健康受试者。

2 方法与结果

2.1 色谱及质谱条件

预柱:Phenomenex C₁₈保护柱(4 mm×2.0 mm,5 μm);分析柱:Zorbax SB-C₁₈ Narrow Bore 色谱柱(150 mm×2.1 mm,5 μm);流动相:甲醇-10 mmol/L 乙酸铵(90:10, V/V);流速:0.3 ml/min;柱温:35 ℃;进样量:20 μl。

离子源:电喷雾电离(ESI)离子化源;离子喷射电压:5 200 V;温度:450 ℃;源内气体1(GS1,N₂)压力:30 psi;气体2(GS2,N₂)压力:40 psi;气帘气体(N₂)压力:20 psi;碰撞气(CAD,N₂)压力:3 psi;扫描方式:多反应监测(MRM);用于定量分析的离子反应分别为 m/z 409.2→ m/z 238.2(氨氯地平)和 m/z 256.2→ m/z 167.3(苯海拉明,内标);解簇电压(DP)分别为18、15 V,碰撞能量(CE)分别为11、20 eV;Q1、Q3分辨率均为UNIT。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品贮备液:准确称取苯磺酸氨氯地平对照品适量,以甲醇-水(3:1, V/V,以下简称“甲醇水溶液”)溶解配制含氨氯地平1.00 mg/ml的贮备液。

2.2.2 对照品血浆:分别取贮备液适量,用空白血浆稀释,配制成氨氯地平质量浓度为0.10、0.30、1.0、2.0、4.0、6.0、10.0 ng/ml的对照品血浆。

2.2.3 质控(QC)样本:分别取贮备液适量,用空白血浆稀释,配制成氨氯地平质量浓度为0.30、2.0、8.0 ng/ml的QC样本。

2.2.4 QC溶液:分别取贮备液适量,用甲醇水溶液稀释,配制成氨氯地平质量浓度为1.5、10.0、40.0 ng/ml的QC溶液。

2.2.5 内标溶液:准确称取盐酸苯海拉明对照品适量,用甲醇水溶液溶解配制含苯海拉明0.10 mg/ml的贮备液。取贮备液适量,甲醇水溶液稀释成2.5 ng/ml的内标溶液。

2.3 血浆样本处理

取血浆500 μl分别加入内标溶液50 μl、甲醇水溶液100 μl、0.2 mol/L 氢氧化钠溶液(NaOH)100 μl、正己烷-二氯甲烷-异丙醇(20:10:1, V/V/V)3 ml,涡流1 min,振荡12 min,3 500 r/min离心5 min,转移上清液,在40 ℃恒温浴下氮气吹干,残渣用甲醇水溶液150 μl复溶,涡流30 s,复溶后的溶液全部转移至进样瓶中进行LC-MS/MS分析。

2.4 方法验证

2.4.1 质谱分析:分别将氨氯地平溶液(500 ng/ml)和苯海拉明溶液(500 ng/ml),用蠕动泵以10 μl/min的恒定速度泵入MS/MS系统,进行碎片离子分析,相应的二级全扫描质谱图见图1。

2.4.2 选择性:分别取6个不同来源的空白血浆,以等体积的甲醇水溶液代替内标溶液,按“2.3”项下方法处理测定,氨氯地

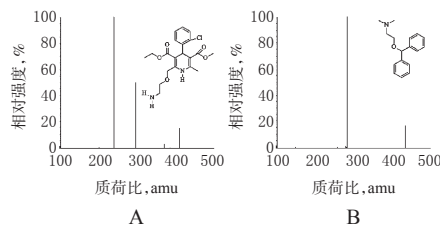


图1 [M+H]⁺的二级全扫描质谱图

A.氨氯地平;B.苯海拉明

Fig 1 Full-scan product ion spectra of [M+H]⁺

A. amlodipine; B. diphenhydramine

平和苯海拉明的保留时间分别为2.79 min和2.43 min,空白血浆中的内源性物质不干扰氨氯地平 and 苯海拉明的测定。其典型色谱图见图2。

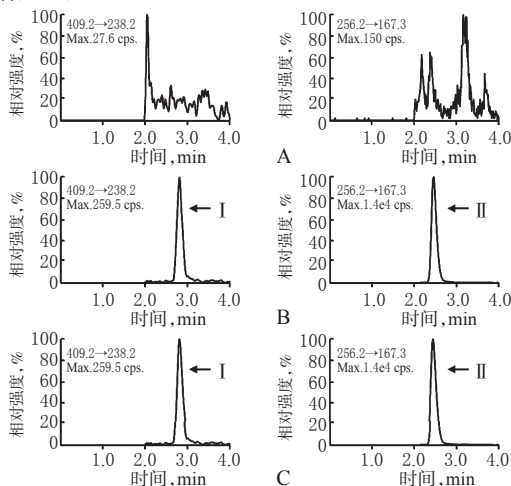


图2 典型色谱图

A.空白血浆;B.氨氯地平对照品血浆(0.100 ng/ml)+内标溶液;C.志愿者口服苯磺酸氨氯地平片(5 mg)后6 h的血浆样本+内标溶液; I.氨氯地平; II.苯海拉明

Fig 2 Typical chromatograms

A. blank plasma; B. plasma of amlodipine control (0.100 ng/ml)+I.S.; C. plasma sample from a healthy volunteer 6 h after oral administration of Amlodipine besylate tablet 5 mg+I.S.; I. amlodipine; II. diphenhydramine

2.4.3 基质效应:按“2.3”项下方法处理6个不同来源空白血浆,得到空白血浆基质后,再加入低、中、高3个质量浓度的QC溶液及内标溶液,处理后进样得到的峰面积除以相应浓度的QC溶液及内标溶液直接进样得到的峰面积,计算血浆中内源性物质对氨氯地平 and 苯海拉明的基质效应因子。结果血浆中内源性物质对低、中、高3个质量浓度血浆样本中氨氯地平的基质效应因子分别为(71.2±7.5)%、(73.3±6.1)%和(85.1±2.9)%,平均基质效应因子为(76.5±8.4)%;血浆中内源性物质对苯海拉明的基质效应因子为(64.4±2.6)%。

2.4.4 线性范围及定量下限(LLOQ):分别取对照品血浆500 μl,按“2.3”项下方法操作,以血浆中待测物浓度(x)为横坐标,待测物与内标物的峰面积比值(y)为纵坐标,用加权(W=1/X²)最小二乘法进行回归运算,求得的直线回归方程为y=0.207x-0.000 755(r=0.999 7)。结果表明,氨氯地平血药浓度在0.10~10.0 ng/ml线性范围内关系良好,定量下限为0.10 ng/ml。

2.4.5 准确度与精密度:分别取氨氯地平的QC样本,按“2.3”项下方法操作,每个浓度6个样本,连续测定3个分析批,根据相应分析批的标准曲线计算QC样本中待测物的浓度。结果日内、日间RSD均>15%,相对偏差(RE)均在±15%以内。准确度与精密度结果见表1。

表1 准确度及精密度试验结果(n=18)

Tab 1 Results of precision and accuracy tests(n=18)

质量浓度,ng/ml		精密度		RE, %
加入量	测定量	日内RSD, %	日间RSD, %	
0.30	0.317±0.028	8.1	12.6	5.7
2.0	2.00±0.13	6.4	5.7	0.0
8.0	7.75±0.38	4.3	8.3	-3.1

2.4.6 提取回收率:分别取氨氯地平的QC样本,按“2.3”项下方法操作,每个浓度6个样本,以其进样得到的峰面积除以空白血浆经处理后再加入低、中、高3个质量浓度的QC溶液及内标溶液后进样得到的峰面积,计算血浆中氨氯地平 and 苯海拉明的提取回收率。结果低、中、高3个质量浓度血浆样本中氨氯地平的提取回收率分别为(81.1±4.9)%、(86.0±5.2)%、(87.0±5.3)% ,平均提取回收率为(84.7±5.5)% ;血浆样本中苯海拉明的提取回收率为(88.9±3.5)%。

2.4.7 稳定性试验:分别取氨氯地平的QC样本,按“2.3”项下方法操作,每个质量浓度3个样本,考察血浆样本室温避光放置8h、经3次冻融、-80℃长期冰冻放置35d后及血浆样本经处理后于自动进样器中室温放置9h氨氯地平的稳定性。结果所有测定浓度与理论浓度的RE均在±15%以内,表明在血浆样本室温放置、反复冻融、长期冰冻放置过程中,以及处理后分析测定过程中,氨氯地平平均稳定,各种贮存条件不影响对样本的准确测定。

2.5 生物等效性试验

2.5.1 受试者选择:24名健康男性志愿者,平均年龄(23±2)岁,体质量(61.8±4.6)kg,身高(1.70±0.05)m,体质量指数(21.4±1.2)kg/m²。试验前进行病史询问和体格检查,血常规、尿常规、肝肾功能及心电图检查等均正常。受试者试验前2周及试验期间未服用任何药物,试验期间禁烟、酒或含咖啡因的饮料。受试者了解试验目的、方法、意义以及可能发生的不良反应后签署知情同意书。试验方案经航天中心医院伦理委员会审查批准。

2.5.2 给药方案与样本采集:采用单剂量口服、随机、开放、两周期、交叉设计方法进行苯磺酸氨氯地平片的人体生物等效性试验。在2个试验周期,24名受试者分别空腹口服受试制剂或参比制剂,剂量均为5mg。2个周期期间清洗期为14d。分别于给药前(0h)和给药后1、2、4、6、8、10、12、24、36、48、72、96、120h由上肢静脉采血5ml,置肝素化离心试管中,摇匀,2500r/min离心(4℃)5min分离血浆,并于-80℃冷冻保存,待测。

2.6 生物等效性评价

应用本方法测定受试者口服受试制剂和参比制剂后不同时间血浆中氨氯地平的浓度,计算其药动学参数及受试制剂的相对生物利用度,并进行生物等效性评价。

24名健康受试者口服受试制剂和参比制剂后平均药-时曲线见图3;主要药动学参数见表2。主要药动力参数 c_{max} 、 AUC_{0-120h} 、 $AUC_{0-\infty}$ 经对数转换后进行方差分析、双向单侧 t 检验和90%置信区间计算。受试制剂和参比制剂 AUC_{0-120h} 、 $AUC_{0-\infty}$ 几何均数比为103.9%、103.2%,其90%置信区间在80.0%~

125.0%范围内; c_{max} 几何均数比为108.0%,其90%置信区间在70.0%~143.0%范围内; t_{max} 采用配对Wilcoxon法检验,差异无统计学意义。结果表明,2种制剂具有生物等效性。

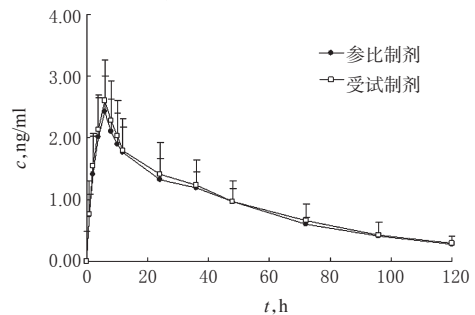


图3 24名受试者口服受试制剂或参比制剂后血浆中氨氯地平的药-时曲线

Fig 3 Mean plasma concentration-time profiles of amlodipine in 24 volunteers after oral administration of test preparation and reference preparation

表2 24名受试者口服受试制剂或参比制剂后的主要药动学参数

Tab 2 Main pharmacokinetic parameters in 24 healthy volunteer after oral administration of test preparation and reference preparation

参数	受试制剂	参比制剂
c_{max} ,ng/ml	2.67±0.64	2.47±0.61
t_{max} ,h	6.7±3.8	6.0±1.0
$t_{1/2}$,h	39.3±6.2	40.0±11.9
AUC_{0-120h} ,ng·h/ml	112.3±35.9	107.4±33.8
$AUC_{0-\infty}$,ng·h/ml	128.9±42.6	125.2±45.9

3 讨论

针对氨氯地平临床服用剂量小、血药浓度低的特点,本试验采用LC-MS/MS法测定人血浆中氨氯地平的浓度。由于氨氯地平对光不稳定^[6],试验中所有过程均在避光条件下进行,且血浆样本及溶液均避光保存。文献有报道以乙醚、乙酸乙酯作为萃取剂^[7-8],本试验以正己烷-二氯甲烷-异丙醇(20:10:1, V/V/V)为萃取剂,提取回收率高。血浆中氨氯地平在0.10~10.0 ng/ml范围内线性关系良好($r=0.9997$)。该方法快速、灵敏、专属性强、重现性好,适用于人血浆中氨氯地平的测定,并成功应用于苯磺酸氨氯地平片的人体生物等效性研究。氨氯地平的主要药动学参数 c_{max} 、 AUC_{0-120h} 、 $AUC_{0-\infty}$ 经对数转换后进行方差分析及双向单侧 t 检验处理, t_{max} 经配对Wilcoxon法检验,均符合生物等效性统计学要求,说明受试制剂与参比制剂具有生物等效性。

参考文献

- [1] 王站明,刘慧娟.氨氯地平的药理作用及临床应用评价[J].中外健康文摘,2012,9(20):198.
- [2] 梁超,程晓华,张红,等.LC-MS法评价2种苯磺酸氨氯地平片的人体生物等效性[J].第二军医大学学报,2007,28(3):299.
- [3] 杨晓燕,张力,柳强妮,等.国产苯磺酸氨氯地平片健康人生物等效性研究[J].中国新药杂志,2008,17(10):881.
- [4] 吕媛,崔洪,康子胜,等.苯磺酸氨氯地平片在健康人体的生物等效性[J].中国临床药理学杂志,2009,25(1):34.
- [5] 刘婷立,冯婉玉,李发美,等.HPLC-MS/MS法研究苯磺

LC-MS/MS法测定人血浆中苯海拉明血药浓度及其制剂的生物等效性研究

刘世军^{1*}, 曹若明², 崔 晞^{3#}, 孙克明¹, 刘宪勇¹, 张 敏¹, 郑慧敏¹(1. 武警山东总队医院药剂科, 济南 250014; 2. 济南市疾病预防控制中心, 济南 250012; 3. 山东大学公共卫生学院卫生检验研究所, 济南 250012)

中图分类号 R969.1; R976 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)10-0913-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.10.18

摘要 目的: 建立测定人血浆中苯海拉明血药浓度的方法, 并进行其生物等效性研究。方法: 血样经处理后, 采用高效液相色谱串联质谱电喷雾(LC-MS/MS)法进行测定。色谱柱为 Intersil Hilic (150 mm×3.0 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水(10 mmol/L 乙酸铵)-甲酸(40:60:1, V/V/V); 电喷雾电离(ESI)离子源, 正离子模式, 多级反应监测(MRM)方式检测, 离子对分别为 m/z 256→167(苯海拉明)、 m/z 344→215(氯马斯汀, 内标)。结果: 苯海拉明血药浓度在 0.5~125 ng/ml 范围内线性关系良好($r=0.9965$); 日内、日间 RSD 均 < 8%, 方法回收率为 99.4%~103.4%, 提取回收率为 71.9%~75.3%。受试者口服氨麻苯美片受试制剂与参比制剂后苯海拉明的主要药动学参数分别为: $t_{1/2}$ (9.892±1.615)、(10.745±3.227)h, t_{max} (2.00±0.81)、(1.78±0.55)h, c_{max} (90.4±20.6)、(103.0±30.1)h, AUC_{0-36h} (806.293±211.453)、(827.856±223.996)h。结论: 本方法灵敏、准确, 适用于苯海拉明血药浓度测定及其生物利用度研究; 2种制剂生物等效。

关键词 苯海拉明; 高效液相色谱串联质谱电喷雾法; 生物等效性; 药动学

Determination of Diphenhydramine in Human Plasma by LC-MS/MS and Bioequivalence Study of Its Preparation

LIU Shi-jun¹, CAO Ruo-ming², CUI Xi³, SUN Ke-ming¹, LIU Xian-yong¹, ZHANG Min¹, ZHENG Hui-min¹ (1. Dept. of Pharmacy, Shandong Corps Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, Jinan 250014, China; 2. Jinan Center for Disease Control and Prevention, Jinan 250012, China; 3. Institute of Chemistry and Bacterial Detection, College of Public Health, Shandong University, Jinan 250012, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop a method for the determination of diphenhydramine in human plasma, and to study bioequivalence of its preparation in healthy volunteers. METHODS: After blood sample processing, LC-MS/MS method was used. The determination was performed on Inertsil Hilic column (150 mm×3.0 mm, 5 μm) with mobile phase consisted of acetonitrile-water (10 mmol/L ammonium acetate)-formic acid (40:60:1, V/V/V). ESI was applied and operated in positive ion mode: m/z 256→167 for diphenhydramine and m/z 344→215 for clemastine (IS) under multiple reaction monitoring (MRM) mode. RESULTS: The linear ranges of diphenhydramine were 0.5-125 ng/ml ($r=0.9965$); RSDs of intra-day and inter-day were less than 8%, and method recoveries were 99.4%-103.4% and extraction recoveries were 71.9%-75.3%. Main pharmacokinetic parameters of test preparation and reference preparation after oral administration were as follows: $t_{1/2}$ were (9.892±1.615) h and (10.745±3.227)h; t_{max} were (2.00±0.81) h and (1.78±0.55)h; c_{max} were (90.4±20.6)h and (103.0±30.1)h; AUC_{0-36h} were (806.293±211.453)h and (827.856±223.996)h. CONCLUSIONS: The method is sensitive and accurate, which is suitable for the determination of plasma concentration and bioequivalence study of diphenhydramine. Two preparations are bioequivalent.

KEY WORDS Diphenhydramine; LC-MS/MS; Bioequivalence; Pharmacokinetics

苯海拉明(Diphenhydramine)为抗组胺药, 具有抗组织胺H₁受体的作用, 对中枢神经有较强的抑制作用, 亦有阿托品样作用, 适用于皮肤黏膜的过敏性疾病, 如荨麻疹、枯草热、过敏性鼻炎等, 还可用于预防晕船、晕车、晕飞机等晕动病。本试验拟建立灵敏、准确的高效液相色谱串联质谱电喷雾(LC-MS/MS)法测定苯海拉明在人血浆中的血药浓度, 对其在人体内的药动学特性及其生物等效性进行研究。

1 材料

1.1 仪器

API 4000 型串联四级杆质谱仪, 配有电喷雾离子源(ESI)及Analyst 1.4.2 数据处理系统(美国 Applied Biosystem Sciex 公司); 1100 高效液相色谱仪, 包括 G1312A 紫外检测器、G1312A 四元梯度泵、G1313A 自动进样器、G1316A 柱温箱(美国 Agilent 公司); AG135 电子天平(瑞士梅特勒-托利多仪器上

酸氨氯地平在健康志愿者体内药代动力学及生物等效性[J]. 中国医科大学学报, 2008, 37(4): 515.

[6] Zou QG, Zhan Y, Ge ZX, et al. Liquid chromatography-mass spectrometry method for the determination of amlo-

* 主任药师。研究方向: 临床药学。电话: 0531-83197332。E-mail: lsj60j@126.com

通信作者: 教授, 博士研究导师。研究方向: 微量元素与健康。电话: 0531-88382554。E-mail: cuixi@sdu.edu.cn

dipine in human plasma and its application in a bioequivalence study[J]. *Arzneimittel Forschung*, 2009, 59(8): 383.

[7] 马涛, 张志涛, 王清清, 等. 苯磺酸氨氯地平片人体生物等效性研究[J]. 蚌埠医学院学报, 2008, 33(3): 344.

[8] 郝光涛, 白少柏, 曲恒燕, 等. 苯磺酸氨氯地平片人体相对生物利用度和生物等效性研究[J]. *中南药学*, 2011, 9(8): 600.

(收稿日期: 2012-08-17 修回日期: 2012-12-02)