

高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨率质谱法快速检测大鼠血浆中6种附子生物碱^A

赛那^{1*}, 金蓉², 布仁^{1,3,4#}, 顾艳丽¹, 林英华¹, 雷雯朴¹, 孙耀¹(1.内蒙古医科大学药学院, 呼和浩特 010110; 2.内蒙古医科大学基础医学院, 呼和浩特 010110; 3.内蒙古自治区中蒙药重点实验室, 呼和浩特 010110; 4.内蒙古医科大学仪器测试中心, 呼和浩特 010110)

中图分类号 R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)06-0761-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.06.10

摘要 目的:建立高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨率质谱法快速测定大鼠血浆中的乌头碱、新乌头碱、次乌头碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱的方法。方法:血浆样品加入内标氢溴酸高乌头素,以甲醇沉淀蛋白进行预处理。采用高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨率质谱法进行样品测定,色谱柱为Sincochrom ODS-BP C₁₈,流动相为乙腈-1%甲酸水溶液(50:50, V/V),流速为0.6 mL/min,进样量为10 μL,柱温为25 ℃,自动进样器温度为4 ℃;质谱扫描模式为全离子监测模式,正离子采集,设定检测离子荷质比(*m/z*)分别为646.32(乌头碱)、632.30(新乌头碱)、616.31(次乌头碱)、604.31(苯甲酰乌头原碱)、590.29(苯甲酰新乌头原碱)、574.30(苯甲酰次乌头原碱)、585.31(内标)。取雄性Wistar大鼠6只,单剂量灌胃附子总生物碱提取物(4 mg/kg),分别于给药前(0 h)和给药后0.5、0.75、1.25、1.5、2、4、6、8、10、24 h时取血,测定血浆药物浓度并以PK-Solver V2.0软件计算药动学参数。结果:血浆中6种附子生物碱质量浓度均在0.1~10 μg/L范围内线性关系良好(*r*>0.992),定量限均为0.1 μg/L;平均提取回收率均大于75%,日内精密度、日间精密度、基质效应、稳定性试验的RSD均小于15%。大鼠血浆中6种附子生物碱的 t_{max} 均分别为1.2 h左右, $t_{1/2}$ 均分别为10 h左右,单酯型乌头原碱的 c_{max} 均分别高于双酯型乌头原碱。结论:本研究所建立的高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨率质谱法准确、灵敏、简便、快速,可用于6种附子生物碱的血药浓度监测。**关键词** 高效液相色谱法;四极杆/静电场轨道阱高分辨率质谱法;附子生物碱;血药浓度;大鼠

Rapid Determination of 6 Kinds of Aconite Alkaloids in Rat Plasma by HPLC-Quadrupole/Electrostatic Field Orbitrap High Resolution Mass Spectrometry

SAI Na¹, JIN Rong², BU Ren^{1,3,4}, GU Yaoli¹, LIN Yinghua¹, LEI Wenpu¹, SUN Yao¹(1. College of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China; 2. College of Basic Medicine, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China; 3. Inner Mongolia Autonomous Region Key Laboratory of Mongolian Medicine, Hohhot 010110, China; 4. Instrument Testing Center, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To establish HPLC-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry for rapid determination of aconitine, mesaconitine, hypaconitine, benzoyleaconitine, benzoylmesaconine and benzoylhypacoitine in rat plasma. **METHODS:** Internal standard lappaconitine was added into plasma sample, and methanol precipitated protein was used for pretreatment. HPLC-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry was adopted. HPLC condition was as follows as Sincochrom ODS-BP C₁₈ column, mobile phase consisted of acetonitrile-1% formic acid solution (50:50, V/V), the flow rate of 0.6 mL/min, sample size of 10 μL, column temperature of 25 ℃, automatic sampler temperature of 4 ℃. Mass spectrum scanning mode was full ion monitoring model, positive ion acquisition, mass charge ratios (*m/z*) of ion were 646.32(aconitine), 632.30(mesaconitine), 616.31(hypaconitine), 604.31(benzoyleaconitine), 590.29 (benzoylmesaconine), 574.30(benzoylhypacoitine), 585.31 (internal standard). Six male Wistar rats were collected and given single dose of total alkaloid extract of Aconitum carmichaeli (4 mg/kg) intragastrically. Blood samples were collected before medication (0 h) and 0.5, 0.75, 1.25, 1.5, 2, 4, 6, 8, 10, 24 h after medication. Plasma concentration was determined and pharmacokinetic parameters were calculated by using PK-Solver V2.0 software. **RESULTS:** The linear range of 6 kinds of aconitum alkaloids in plasma were 0.1-10 μg/L (*r*>0.992).

△基金项目:内蒙古自治区蒙医药协同创新培育中心研究项目(No.MYYXT201705);内蒙古医科大学实验室开放基金项目(No.2016ZNI16)

*讲师,硕士。研究方向:中蒙药新剂型及体内过程。电话:0471-6653159。E-mail:yxsaina@126.com

#通信作者:副教授。研究方向:中蒙药药效物质基础与质量控制。电话:0471-6653159。E-mail:121770243@qq.com

The limit of quantitation was 0.1 μg/L. Average recovery was higher than 75%, RSDs of intra-day and inter-day, matrix effects, stability test were all lower than 15%. The t_{max} of 6 kinds of aconite alkaloids were about 1.2 h; $t_{1/2}$ were about 10 h; c_{max} of monoestertype aconite alkaloids were higher than those of diester-type aconite alkaloids. **CONCLUSIONS:**

Established HPLC-quadrupole/electrostatic field orbitrap high resolution mass spectrometry is accurate, sensitive, simple and rapid, and can be used for plasma concentration monitoring of 6 kinds of aconitum alkaloids.

KEYWORDS HPLC; Quadrupole/electrostatic field orbitrap mass spectrometry; Aconitum alkaloids; Plasma concentration; Rats

附子为毛茛科乌头属植物乌头的子根,味辛、甘,性大热,有大毒,归心、脾、肾经,具有镇痛、抗炎、抗肿瘤、强心等药理作用^[1]。附子中含有乌头碱、新乌头碱、次乌头碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱等生物碱,此类生物碱具有较强的药理活性,同时也是附子的毒性成分^[2-3]。附子引起的毒性反应发病急、进展快,可导致严重的心律失常并发心肌损害等,从而威胁患者生命安全。因此,建立血浆中附子药理活性/毒性成分的检测方法,对快速诊断附子临床中毒具有重要意义。目前,关于液相色谱(LC)-质谱(MS)法同时测定生物样品中6种主要的附子生物碱的方法已有报道,但大多具有操作复杂、耗时长、成本高的缺点,不利于大批量生物样品分析。

四极杆/静电场轨道阱高分辨率质谱仪是近几年发展起来的一种新型的质谱分析仪器,具有定量分析能力强、分辨率高、分析速度快、抗干扰能力强、灵敏度高等特点,目前已被广泛用于中药安全控制、蛋白组学、代谢组学和药品研发中化合物结构鉴定^[4-5]。本研究建立了高效液相色谱(HPLC)-四极杆/静电场轨道阱高分辨率质谱法快速检测大鼠血浆中乌头碱、次乌头碱、新乌头碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱等6种附子生物碱含量的测定方法,为附子中毒的临床诊断及其药动学、毒动力学研究提供实验基础。

1 材料

1.1 仪器

Dionex UltiMate 3000 快速超高效液相色谱仪(含双三元梯度泵、自动进样器、在线脱气机、二极管阵列检测器、柱温箱、进样恒温箱)、Q Exactive 组合型四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱仪(含电喷雾离子源、Analyst QS2.0 数据处理系统)均为美国 Thermo-Fisher 公司产品;G-560E 液体快速混匀机(美国 Scientific Industries 公司);AB135-S 精密分析天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

乌头碱对照品(批号:110797-201108)、新乌头碱对照品(批号:110798-201307)、次乌头碱对照品(批号:110799-201107)、苯甲酰乌头原碱对照品(批号:111794-201303)、苯甲酰新乌头原碱对照品(批号:111795-201002)、苯甲酰次乌头原碱对照品(批号:111796-201303)均购自中国食品药品检定研究院(纯度:均大于98%);氢溴酸高乌甲素(内标,批号:20160407,上海源叶生物科技有限公司,纯度:>98%);附子总生物碱提取物(批号:20170104,赤峰艾克制药股份有限公司);肝素钠注射液(批号:20170604,天津

生化制药有限责任公司);乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

1.3 实验动物

健康雄性 Wistar 大鼠,体质量 270~320 g,内蒙古医科大学实验动物中心提供,生产许可证号:SCXK(蒙)2015-0001,使用许可证号:SYXK(蒙)2015-0001。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:SinoChrom ODS-BP C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-1% 甲酸水溶液(50:50, V/V);流速:0.6 mL/min;进样量:10 μL;柱温:25 °C;自动进样器温度:4 °C。

2.2 质谱条件

电喷雾离子源温度:350 °C;毛细管电压:2 kV;离子传输管温度:200 °C;鞘气:30 arb;辅助气:2 arb;扫描模式:全离子监测模式,正离子采集;一级质谱分辨率:70 000。设定检测离子质荷比(*m/z*):585.31(内标)、646.32(乌头碱)、632.30(新乌头碱)、616.31(次乌头碱)、604.31(苯甲酰乌头原碱)、590.29(苯甲酰新乌头原碱)、574.30(苯甲酰次乌头原碱)。上述各待测成分的质子化分子离子([M+H]⁺)图谱见图1。

2.3 血浆样品处理方法

取血浆 200 μL,加入 240 μg/L 的氢溴酸高乌甲素的甲醇溶液(内标溶液)20 μL,涡旋混匀 30 s 后,准确加入甲醇 1 mL 沉淀蛋白,涡旋 6 min,12 000 r/min(离心半径 9 cm,下同)离心 10 min;然后取上清液 700 μL 于尖底离心管中,37 °C 下氮气吹干,-20 °C 冷冻备用。测定前加入流动相 500 μL 涡旋 10 min 复溶,过针式微孔滤膜,弃去初滤液,取续滤液供液质联用仪分析。

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性试验 取 200 μL 空白血浆,除不加内标溶液外,其余按“2.3”项下方法操作,测得空白血浆的色谱图;另取 200 μL 空白血浆,加入“2.4.2”项下系列混合对照品溶液,配制系列标准血样后按“2.3”项下方法操作,测得含对照品血浆的色谱图;另取大鼠给药 1 h 后的含药血浆,按“2.3”项下方法操作,测得含药血浆的色谱图。结果显示,内标、乌头碱、新乌头碱、次乌头碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱的保留时间分别为 2.53、3.64、3.11、3.78、2.69、2.53、2.79 min,血浆内源性物质不干扰 6 种生物碱成分和内标的测定,专属性良好。色谱见图 2。

2.4.2 线性关系与定量限考察 精密称取乌头碱、新乌头碱、次乌头碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱对照品适量,以异丙醇-三氯甲烷^[6]

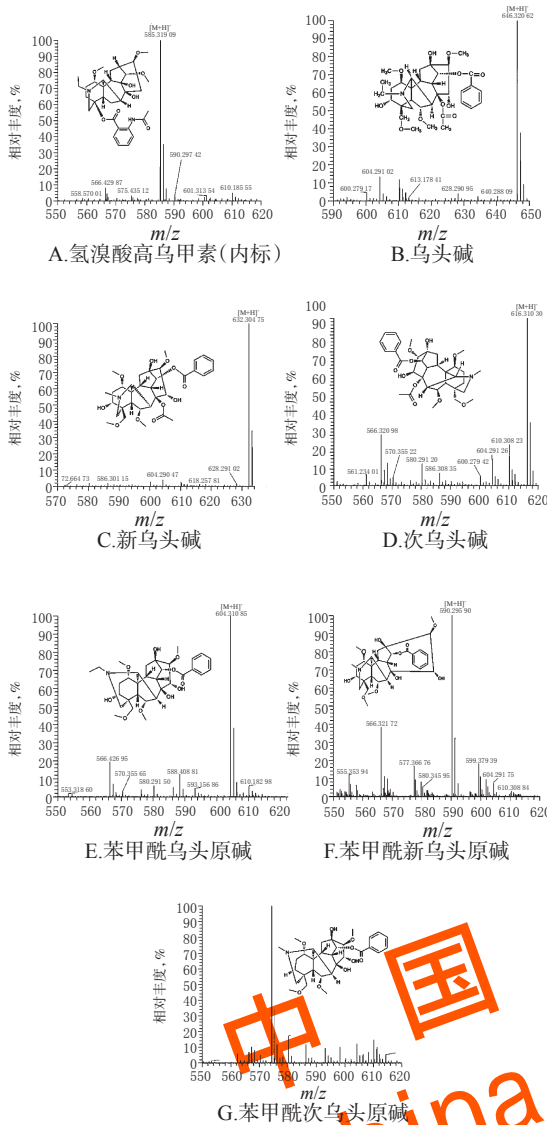


图1 [M+H]⁺图谱

Fig 1 [M+H]⁺ spectrum

(等体积比)制备质量浓度为1、2、5、10、20、40、60、100 μg/L的系列混合对照品溶液(6种生物碱质量浓度相同)。取空白血浆200 μL,分别加入上述系列混合对照品溶液20 μL,使血样中各生物碱的质量浓度均分别为0.1、0.2、0.5、1、2、4、6、10 μg/L,其余按“2.3”项下方法处理并测定。以各生物碱的血药浓度为横坐标(x)、其峰面积与内标峰面积的比值为纵坐标(y),按最小二乘法进行线性回归,得上述6种附子生物碱标准回归方程分别为 $y=0.1331x+0.0691$ ($r=0.9975$)、 $y=0.0890x+0.1971$ ($r=0.9921$)、 $y=0.1045x+0.0879$ ($r=0.9949$)、 $y=0.1642x+0.0620$ ($r=0.9936$)、 $y=0.0814x+0.0558$ ($r=0.9954$)、 $y=0.0788x+0.0130$ ($r=0.9948$);血药浓度线性范围均为0.1~10 μg/L,定量限均为0.1 μg/L。

2.4.3 准确度与精密度试验 精密称取乌头碱、新乌头碱、次乌头碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱对照品适量,以异丙醇-三氯甲烷(等体积比)制备质量浓度为1、2、10、75 μg/L的混合对照品溶

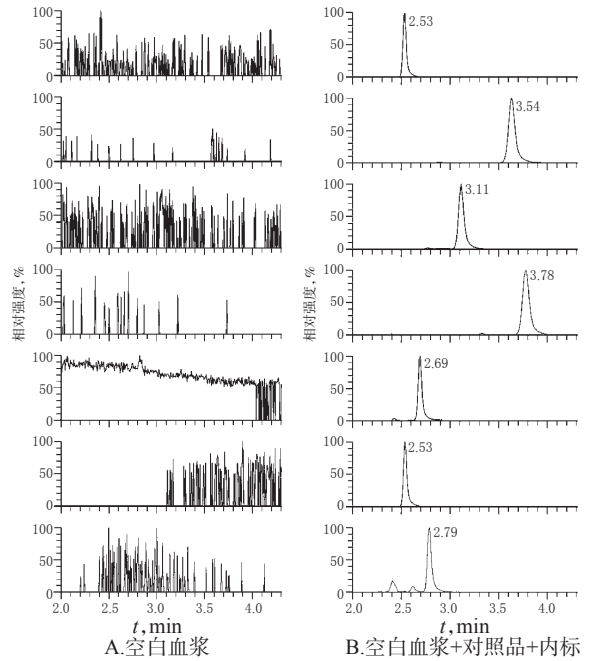


图2 大鼠血浆中6种附子生物碱的色谱图

Fig 2 Chromatogram of 6 kinds of aconitine alkaloids in rat plasma

液。取空白血浆200 μL,分别加入上述混合对照品溶液20 μL,使血样中各生物碱质量浓度均分别为0.1、0.2、1.0、7.5 μg/L,作为质控血浆样品,其余按“2.3”项下方法处理并测定,考察方法准确度与精密度。以测得量和加入量的差值与加入量的比值,考察准确度($n=5$);每个质量浓度血样采用5样本分析,考察日内精密度($n=5$);连续测定3 d,考察日间精密度($n=3$),结果见表1。

2.4.4 提取回收率试验 取空白血浆200 μL,除不加内标溶液外,其余按“2.3”项下方法操作至氮气吹干,然后向残渣中加入相应质量浓度的混合对照品溶液与内标

表1 准确度与精密度试验结果

Tab 1 Results of accuracy and precision tests

待测成分	加入量, $\mu\text{g/L}$	测得量, $\mu\text{g/L}$	准确度, %	精密度RSD, %	
				日内	日间
乌头碱	0.1	0.089	-10.6	5.2	9.6
	0.2	0.18	-8.9	4.9	6.6
	1.0	0.93	-6.5	2.4	2.4
	7.5	7.3	-3.0	3.7	3.2
新乌头碱	0.1	0.089	-10.8	4.8	4.2
	0.2	0.18	-9.2	5.0	5.8
	1.0	0.93	-6.6	2.7	2.6
	7.5	7.2	-3.4	3.6	3.7
次乌头碱	0.1	0.087	-12.2	6.2	6.0
	0.2	0.18	-9.3	4.9	4.4
	1.0	0.93	-6.9	2.8	2.5
	7.5	7.2	-3.5	3.0	3.3
苯甲酰乌头原碱	0.1	0.086	-13.3	6.1	6.4
	0.2	0.18	-8.8	7.1	5.2
	1.0	0.93	-6.6	2.6	2.7
	7.5	7.3	-3.1	2.9	3.2
苯甲酰新乌头原碱	0.1	0.088	-12.5	6.4	6.1
	0.2	0.18	-9.4	7.0	6.3
	1.0	0.93	-6.8	2.7	3.1
	7.5	7.2	-3.4	3.0	3.5
苯甲酰次乌头原碱	0.1	0.087	-12.7	5.5	3.9
	0.2	0.18	-7.8	6.6	6.1
	1.0	0.93	-6.2	2.7	2.8
	7.5	7.3	-2.9	3.2	3.3

溶液适量,氮气吹干、复溶后测得待测物浓度(记为 c_0);按“2.4.3”项下方法制备质量浓度分别为0.1、0.2、1、7.5 $\mu\text{g/L}$ 的质控血浆样品,依法测得待测物浓度(记为 c_2)。以 c_2 和 c_1 的比值计算提取回收率,每一质量浓度采用5样本分析。结果,6种附子生物碱的提取回收率均大于75%,RSD均小于10%($n=5$)。

2.4.5 基质效应考察 取空白血浆200 μL ,除不加内标溶液外,其余按“2.3”项下方法操作至氮气吹干,然后向残渣中分别加入1、10、100 $\mu\text{g/L}$ 的混合对照品溶液与内标溶液适量,氮气吹干、复溶后进样测定,每一质量浓度采用5个样本分析。测得待测物峰面积(A_1)与内标峰面积(B_1),计算 A_1 和 B_1 分别与相同浓度样品溶液(以流动相制备)直接进样后所得的待测生物碱峰面积(A_2)和内标峰面积(B_2)的百分比,考察基质效应。另取6只大鼠空白血浆,按“2.4.3”项下方法制备浓度为0.2 $\mu\text{g/L}$ 的质控血浆样品,采用5样本分析,计算待测成分血药浓度的RSD值,考察基质效应。结果显示,低、中、高质量浓度血浆样品的待测生物碱和内标物的峰面积百分比值均在80%~85%($n=5$),不同来源生物样品基质效应的RSD均小于15%($n=5$),表明样品基质效应对测定无明显干扰。

2.4.6 稳定性试验 按“2.4.3”项下方法制备质量浓度为0.1、7.5 $\mu\text{g/L}$ 的质控血浆样品,在室温下放置6 h、在-20~20 $^{\circ}\text{C}$ 反复冻融3次、在-20 $^{\circ}\text{C}$ 放置7 d后,依法测定;按“2.4.3”项下方法制备质量浓度为0.1、7.5 $\mu\text{g/L}$

的混合对照品溶液,于4 $^{\circ}\text{C}$ 放置5 d,同法制备质量浓度为0.1、7.5 $\mu\text{g/L}$ 的质控血浆样品,依法测定;将血浆样品处理完毕后,在4 $^{\circ}\text{C}$ 自动进样器中放置24 h,分别考察其稳定性。结果显示,血浆和对照品溶液中6种附子生物碱在不同存放条件下的浓度RSD均小于11%($n=5$),表明两者稳定性均较好。

2.5 药动学实验

取健康的雄性Wistar大鼠6只,实验前禁食不禁水12 h,单剂量灌胃附子总生物碱提取物(采用水混悬后,剂量为4 mg/kg)^[7]。大鼠给药2 h后自由饮水,4 h后进食。分别于给药前(0 h)和给药后0.5、0.75、1.25、1.5、2、4、6、8、10、24 h时从大鼠眼底静脉丛取血0.5 mL,置于肝素化的0.5 mL尖底离心管中,12 000 r/min离心10 min,得上层血浆。取血浆200 μL ,按“2.3”项下方法处理并依法测定血药浓度,绘制血药浓度-时间曲线,用PK-Solver V2.0软件^[8]处理计算药动学参数,结果见图3、表2。

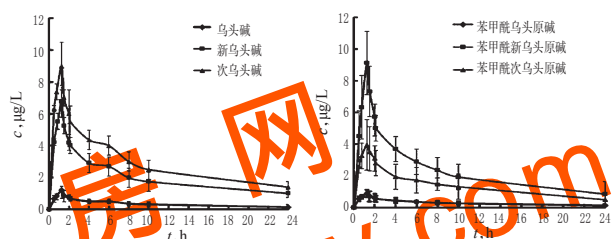


图3 6种附子生物碱的血药浓度-时间曲线

Fig 3 Plasma concentration-time curves of 6 kinds of aconite alkaloids

表2 6种附子生物碱在大鼠体内的药动学参数($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 2 Pharmacokinetic parameters of 6 aconitine alkaloids in rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

药动学参数	乌头碱	新乌头碱	次乌头碱	苯甲酰乌头原碱	苯甲酰新乌头原碱	苯甲酰次乌头原碱
$t_{1/2}$, h	10.2 \pm 2.3	12.5 \pm 1.9	11.2 \pm 1.5	12.5 \pm 1.8	11.3 \pm 1.5	9.9 \pm 1.6
t_{max} , h	1.2 \pm 0.3	1.2 \pm 0.3	1.2 \pm 0.2	1.2 \pm 0.3	1.2 \pm 0.2	1.2 \pm 0.3
c_{max} , $\mu\text{g/L}$	1.2 \pm 0.3	6.8 \pm 1.3	9.2 \pm 2.4	2.2 \pm 0.6	22.8 \pm 4.8	9.91 \pm 3.2
AUC_{0-24} , $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$	8.48 \pm 3.2	49.4 \pm 13.8	70.8 \pm 17.2	17.8 \pm 5.8	139.5 \pm 30.4	81.9 \pm 18.2
$\text{AUC}_{0-\infty}$, $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$	10.8 \pm 2.5	73.8 \pm 17.2	100.7 \pm 16.8	23.8 \pm 6.4	173.2 \pm 22.1	99.4 \pm 13.8

3 讨论

附子的临床疗效确切、作用可靠,被多种方剂所采用,但其毒性较大,临床应用易引起中毒^[9]。目前,附子中毒主要通过心电图和中毒症状来进行临床诊断,而随着分析技术的快速发展,可通过指标性成分的定量分析实现对附子中毒的精确判断^[10]。本文建立了HPLC-串联四极杆/静电场轨道阱高分辨率质谱法同时检测血浆中6种附子生物碱的浓度,具有分析速度快、专属性强、灵敏度高的优势。

目前,关于LC-MS法同时测定生物样品中6种附子生物碱的方法已有报道。肖日平等^[11]采用固相萃取法

处理血浆样品,应用LC-MS/MS法对比格犬血中附子生物碱进行定量分析,样品运行时间为6 min,但该方法前处理采用的固相萃取法成本较高。朱定姬等^[12]采用在线固相萃取结合LC-MS/MS法同时检测生物样品中的附子生物碱,样品运行时间为10 min,但该方法需要配备自动固相萃取装置,成本较高,操作复杂。策力木格等^[13]采用氨水-乙醚萃取血浆、异丙醇-三氯甲烷复溶后进样分析,样品分析时间为40 min,耗时较长,不利于大批量生物样品分析。本研究采用甲醇沉淀蛋白、乙腈-1%甲酸水溶液(流动相)复溶后进样分析,样品运行时间为4 min,方法前处理简便易行、样品运行时间短、成本较低,有利于大批量生物样品的分析。

本研究以乙腈-1%甲酸水溶液作为流动相,考察了水相的酸度(分别含有0.1%、0.5%、1%甲酸),发现1%甲酸水溶液作为水相时待测物峰形最好。其次,以甲醇作为蛋白沉淀剂,考察了甲醇沉淀蛋白直接进样和以流动相复溶后进样分析的差别,结果发现甲醇沉淀蛋白直接进样分析的峰形较差,出现了峰分裂的现象,而以甲醇吹干、流动相复溶后进样分析,待测物峰形较优。此外,本研究参考2015年版《中国药典》(一部)方法^[6],以异丙醇-三氯甲烷作为溶剂制备对照品溶液,样品吹干后,再以流动相复溶,可以避免因为溶剂变化导致的峰形变差。

本研究测定了附子中6种主要的生物碱在大鼠体内的药动学过程,考虑到不同的成分吸收分布的房室模型不同,笔者采用了统计矩法计算药动学参数,数据处理不依赖于房室模型的划分,可部分简化处理过程。根据药动学参数结果,6种附子生物碱的达峰时间均在1.2 h左右,说明各生物碱在体内吸收迅速,且吸收的速度基本一致; $t_{1/2}$ 均在10 h左右,说明其在体内代谢和排泄的速率基本一致。6种附子生物碱的峰浓度差距较大,其中毒性较小的单酯型乌头原碱的血药浓度均高于毒性较大的双酯型乌头碱,而乌头碱作为双酯型乌头碱中毒性最大者,其在6种附子生物碱中血药浓度最低,由此提示附子总生物碱毒性较小、安全性较好。

参考文献

[1] 吴克红,唐力英,王祝举,等. 附子的化学和生物活性研

究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(2): 212-220.

- [2] TONG P, WU C, WANG X, et al. Development and assessment of a complete-detoxication strategy for Fuzi (lateral root of *Aconitum carmichaeli*) and its application in rheumatoid arthritis therapy[J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 146(2): 562-571.
- [3] LIU XX, JIAN XX, CAI XF, et al. Cardioactive C19-diterpenoid alkaloids from the lateral roots of *Aconitum carmichaeli* "Fuzi" [J]. *Chem Pharm Bull*, 2012, 60(1): 144-149.
- [4] KANG C, LEE Y, LEE JE. Recent advances in mass spectrometry-based proteomics of gastric cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(37): 8283-8293.
- [5] 马天宇, 布仁, 俞腾飞, 等. UPLC/Q Exactive MS 检测家兔血浆中乌头碱、次乌头碱、新乌头碱血药浓度的方法研究[J]. 中药材, 2015, 38(9): 1886-1889.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 220.
- [7] 李燕, 彦培傲, 赵梦杰, 等. 附子总生物碱在阳虚便秘模型大鼠体内的整合药动学分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(1): 79-84.
- [8] 张勇, 周建平, 霍芙蓉. 基于Excel的药动学数据分析程序: PK Solver 1.0的编写和验证[J]. 数理医药学杂志, 2007, 20(1): 58-61.
- [9] 赵欢, 杨巧芳, 李梦茜. 附子毒性研究进展[J]. 河北中医, 2017, 39(5): 774-777.
- [10] 马悦, 赵乐凤, 吕子燕, 等. 高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱分析桑葚中黄酮类和多酚类物质[J]. 质谱学报, 2017, 38(1): 45-51.
- [11] 肖日平, 赖小平, 赵亚, 等. 附子6种生物碱在比格犬体内药动学研究[J]. 中药材, 2014, 37(2): 284-287.
- [12] 朱定姬, 卢敏萍, 黄克建, 等. 在线固相萃取结合液相色谱-线性离子阱多级质谱法同时检测生物样品中7种乌头类生物碱[J]. 色谱, 2016, 34(3): 249-257.
- [13] 策力木格, 聂颖兰, 梁慧, 等. 蒙药草乌及其炮制品的六种生物碱类成分血浆中含量测定[J]. 中国民族医药杂志, 2017, 23(1): 42-45.

(收稿日期: 2017-10-10 修回日期: 2018-01-26)

(编辑: 段思怡)

《中国药房》杂志——中文核心期刊, 欢迎投稿、订阅