超高效液相色谱-串联质谱法同时测定尿样中 4 种痕量的乌头类生物碱

张盼盼^{1,5}, 张福成², 王朝虹³, 蒋 晔^{1,5*}, 卢永江⁴

(1. 河北医科大学药学院, 河北 石家庄 050017; 2. 北京空军总医院, 北京 100142;

3. 最高人民检察院司法鉴定中心, 北京 100040; 4. 山东莒县中医院, 山东 莒县 276500;

5. 河北省法医学实验室, 河北 石家庄 050017)

摘要:建立了超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)结合中空纤维微萃取(HF-LPME)同时检测尿样中痕量的乌头碱、次乌头碱、新乌头碱和滇乌头碱等 4 种生物碱的方法。采用 HF-LPME 对尿样进行提取、纯化和富集,富集倍数达 102 ~ 301。同时采用电喷雾电离(ESI)、多反应监测(MRM)进行含量测定,显著提高了尿液中乌头类生物碱的检测灵敏度,4 种乌头类生物碱的定量限达到 0.01 ~ 0.1 ng/L,可大大延长中毒患者尿样中乌头类生物碱的检测时间窗。方法验证结果表明,尿液中乌头碱、新乌头碱和滇乌头碱在 0.01 ~ 10 ng/L、次乌头碱在 0.1 ~ 100 ng/L 范围内线性关系良好,提取回收率为 80.2% ~ 109%,相对标准偏差小于 4.6%。该方法适用于乌头类生物碱中毒案件的检测,为痕量乌头类生物碱分析提供了灵敏的分析方法。

关键词:中空纤维液相微萃取;超高效液相色谱-质谱;乌头碱;次乌头碱;新乌头碱;滇乌头碱;尿样

中图分类号:O658

文献标识码:A

文章编号:1000-8713(2013)03-0211-07

Simultaneous determination of four trace aconitum alkaloids in urine using ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry

ZHANG Panpan^{1,5}, ZHANG Fucheng², WANG Zhaohong³, JIANG Ye^{1,5*}, LU Yongjiang⁴

(1. School of Pharmacology, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China;

2. Air Force General Hospital, Beijing 100142, China;

3. Institute of Forensic Science of Supreme People's Procuratorate, Beijing 100040, China;

4. Ju County Hospital of Traditional Chinese Medicine, Ju County 276500, China;

5. Hebei Key Laboratory of Forensic Medicine, Shijiazhuang 050017, China)

Abstract: A rapid, specific and sensitive ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method was developed for the simultaneous determination of four trace alkaloids, including aconitine (AC), hypaconitine (HA), mesaconitine (MA) and yunaconitine (YA) in human urine samples. UPLC-MS-MS system coupled with an electrospray ionization (ESI) source was performed in multiple reaction monitoring (MRM) mode. The sample preparation was performed with hollow fiber microextraction (HF-LPME) prior to the analysis. The enrichment factors of the four alkaloids were 102 – 301. The separation was applied on a Waters ACQUITY UPLC BEH C18 column (50 mm × 2.1 mm, 1.7 μm) with a gradient elution of acetonitrile and 10 mmol/L NH₄HCO₃ as mobile phase. The retention times were less than 3 min. This method significantly improved the detection sensitivity, and the limits of quantitation were from 0.01 to 0.1 ng/L. The calibration curves were linear over the ranges of 0.01 – 10 ng/L for AC, MA and YA, 0.1 – 100 ng/L for HA in human urine samples, and the correlation coefficients were 0.998 1, 0.998 4, 0.999 5 and 0.998 6, respectively. The method was proved to be rapid and sensitive for aconitum alkaloid analysis in urine samples.

* 通讯联系人. Tel: (0311) 86266025, E-mail: jiangye@hebm. edu. cn.

基金项目: 河北省卫生厅科研基金项目(08056).

收稿日期: 2012-10-24

Key words: hollow fiber liquid-phase microextraction (HF-LPME); ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS); aconitine; hypaconitine; mesaconitine; yunaconitine; urine samples

乌头属植物是毛茛科中的一类重要植物,我国约有 200 种,其中 76 种可供药用^[1]。乌头属植物多具有祛风除湿、温经止痛之效,也可以用于风寒湿痹、关节疼痛、心腹冷痛、寒疝作痛、麻醉之痛等^[2],广泛应用于临床治疗中。该类中药的主要成分为双酯型生物碱,约占总重的 7%~10%,具有显著的生理活性;但同时也是毒性成分,其有效剂量和中毒剂量非常接近^[3]。此外,由于目前关于这类中药没有统一的炮制方法,并由于历史和地域原因,乌头属草药品种混乱,经常出现混用现象^[4],由此引发的中毒事件屡有发生。目前,对于乌头类生物碱中毒案例的鉴定多在中毒出现后 3~7 天或更长时间进行采样和检定^[5],但乌头类生物碱在体内样品中含量低且代谢迅速,这就导致法医毒物学鉴定及临床中毒检验的困难。因此,需要建立高灵敏度的检测方法对生物样品中的乌头类生物碱进行检测。

本文建立了超高效液相色谱-串联质谱联用 (UPLC-MS/MS) 方法,采用中空纤维液相微萃取 (HF-LPME) 方法对样品进行前处理,提高了检测灵敏度,大大延长了尿样中乌头类生物碱的检测周期,对尿样中痕量乌头类生物碱的检测更有优势。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

ACQUITY UPLC 超高效液相色谱仪, Xevo TQ-MS 串联四极杆质谱仪, Masslynx™ 工作站 (美国 Waters 公司)。Milli-Q 超纯水制造系统 (美国 Millipore 公司); DF-II 集热式控温磁力搅拌器 (金坊市富华仪器有限公司)。

乌头碱、次乌头碱、新乌头碱和滇乌头碱对照品由中国药品生物制品检定所提供,纯度均大于 99.5%;乙腈为色谱纯,水为去离子水,其他试剂均为分析纯。

聚芳醚砜中空纤维 (壁厚 0.2 mm, 截留相对分子质量为 10 000)。

空白尿液由健康志愿者提供。

1.2 样品前处理

将中空纤维用甲醇-水清洗、晾干,裁成 8 cm 的小段备用。将小段中空纤维浸泡于正辛醇中 12 h,使用时用装有 0.01 mol/L HCl 接收相的注射器将其中的正辛醇置换,并注满接收相。将两个医用注

射用针头穿过橡皮塞插入已处理好的中空纤维中,并将其置入装有转子和溶液的 10 mL 安瓿瓶中。试验装置如图 1 所示。

图 1 中空纤维液相微萃取装置示意图
Fig. 1 Schematic illustration of the HF-LPME unit

尿液静置,取上清液。精密量取 100 μL 对照品溶液至安瓿瓶中,加尿样稀释至 10 mL。在搅拌速度 800 r/min, 40 °C 条件下萃取 40 min,之后取出中空纤维,擦拭外壁,用空气将中空纤维内腔中的接收相吹出并收集,供 UPLC-MS/MS 分析。

1.3 色谱与质谱条件

ACQUITY UPLC BEH C18 色谱柱 (50 mm × 2.1 mm, 1.7 μm), 柱温 35 °C。流动相 A: 乙腈, 流动相 B: 10 mmol/L NH₄HCO₃ 溶液 (氨水调至 pH 10), 梯度洗脱程序见表 1。流速: 0.45 mL/min。进样量: 5 μL。

表 1 分析 4 种生物碱的梯度洗脱程序
Table 1 Gradient elution program for the analysis of the four alkaloids

Time/ min	Flow rate/ (mL/min)	φ(A)/ %	φ(B)/ %	Curve
0	0.45	30	70	
1	0.45	60	40	6
4	0.45	70	30	6
4.25	0.45	90	10	6
4.5	0.45	30	70	1
5	0.45	30	70	1

A: acetonitrile; B: 10 mmol/L NH₄HCO₃ solution (pH 10 adjusted by ammonia).

电喷雾离子源 (ESI), 正离子模式, 多反应监测模式 (MRM); 毛细管电压 3.5 kV, 去溶剂温度 500 °C, 去溶剂气流速 800 L/h; 被分析物的监测离子及驻留时间、锥孔电压、碰撞电压等参数见表 2。

表 2 乌头碱、次乌头碱、新乌头碱和滇乌头碱的质谱参数

Table 2 MS/MS parameters of aconitine, hypaconitine, mesaconitine and yunaconitine

Compound	Parent ion (<i>m/z</i>)	Daughter ion (<i>m/z</i>)	Dwell time/ s	Cone voltage/ V	Collision voltage/ V
Aconitine	646. 09	105. 00	0. 026	78	60
		568. 17 *	0. 026	78	32
Hypaconitine	616. 14	105. 00	0. 026	74	54
		556. 16 *	0. 026	74	30
Mesaconitine	632. 14	105. 00 *	0. 026	76	58
		572. 15	0. 026	76	32
Yunaconitine	660. 17	134. 96	0. 026	84	56
		600. 12 *	0. 026	84	32

* Quantitative ion.

2 结果和讨论

2.1 检测方法与提取方法的选择

目前,微量乌头类生物碱主要采用传统的液-液萃取结合高效液相色谱(LLE-HPLC)进行检测分

析^[6,7],但由于其灵敏度的限制,主要用于药物制剂或中成药中乌头类生物碱的含量检查。但生物样品中这些物质的含量更低,这就需要采用更高灵敏度的分析方法,通常可采用在传统的 LLE 样品前处理的基础上,配高灵敏度的检测器^[8-11],如文献^[10]利用质谱检测器可以检测死亡 7 d 后的大鼠血液和肝脏样品乌头类生物碱的含量;此外也可采用普通的高效液相色谱-紫外检测器(HPLC-UV)检测,样品前处理则采用具有强的富集能力的萃取方法^[12]来达到提高分析灵敏度之目的。若将具有较高富集能力的样品前处理方法联合高灵敏度的检测器,可以进一步提高方法的检测灵敏度,满足司法物证鉴定分析对痕量乌头类生物碱检测水平的要求。由表 3 可知,本文将 UPLC-MS/MS 与 HF-LPME 联合起来,大大提高了检测灵敏度,特别适用于尿样中痕量水平乌头类生物碱的检测,可以大大延长尿样中乌头类生物碱的检测周期,为司法鉴定提供依据。

表 3 乌头类生物碱分析方法的比较

Table 3 Comparison of the analytical methods for aconitum alkaloids

Method type	Method	Preparation	Sample	Analyte	LOD/ ($\mu\text{g/L}$)	Linear range/ ($\mu\text{g/L}$)	Retention time/min	
Common analytical method	HPLC ^[6,7]	extracted with diethyl ether	patent medicine ¹⁾	songorine	5×10^3	$1.0 \times 10^4 - 1.5 \times 10^5$	<30	
				mesaconitine	2×10^3	$1.0 \times 10^4 - 2.0 \times 10^5$		
				aconitine	3×10^3	$1.0 \times 10^4 - 3.0 \times 10^5$		
				hypaconitine	4×10^3	$1.0 \times 10^4 - 2.5 \times 10^5$		
			decoction pieces	aconitine	—	$9.6 \times 10^3 - 9.6 \times 10^4$	<5	
				hypaconitine	—	$2.4 \times 10^4 - 2.4 \times 10^5$		
High sensitivity analytical method	LC-MS/ MS ^[8-10]	extracted with diethyl ether	plasma	aconitine	0.25	0.50 - 40	<5	
				hypaconitine	0.1	0.25 - 25		
			urine	aconitine	0.25	0.50 - 40		
				hypaconitine	0.1	0.25 - 25		
			plasma	aconitine	0.03	0.03 - 5		
		extracted with chloro- form-diethyl ether (1: 4, v/v)	blood (liver)	aconitine	4.0	8.5 - 544.0	<30	
				hypaconitine	2.0	6.0 - 384.0		
				mesaconitine	2.0	8.0 - 384.0		
		RRLC-MS/ MS ^[11]	extracted with ethyl acetate-isopropanol (1:1, v/v)	processed products of aconitum ²⁾	aconitine	0.2	1.014 - 202.8	<30
					hypaconitine	0.4	1.072 - 214.4	
					mesaconitine	0.4	1.006 - 201.2	
HPLC ^[12]	HF-LPME	urine	aconitine	0.8	16.0 - 128	<15		
			hypaconitine	1.5	11.0 - 88			
			mesaconitine	0.7	8.1 - 64.8			
Proposed method	UPLC-MS/ MS	HF-LPME	urine	aconitine	3.0×10^{-6}	$1.0 \times 10^{-5} - 1.0 \times 10^{-2}$	<3	
				hypaconitine	3.0×10^{-5}	$1.0 \times 10^{-4} - 1.0 \times 10^{-1}$		
				mesaconitine	3.0×10^{-6}	$1.0 \times 10^{-5} - 1.0 \times 10^{-2}$		
				yunaconitine	3.0×10^{-6}	$1.0 \times 10^{-5} - 1.0 \times 10^{-2}$		

1) Wantong Jingu Tablets, Fuzi Lizhong Pills, Anshen Pills, Garidi Wuwei Pills. 2) Zhichuanwu, Zhicaowu, Baifupian, Heishunpian.

2.2 样品前处理方法的优化

2.2.1 给出相和接收相 pH 的优化

给出相和接收相的 pH 对萃取效率影响很大。

对于碱性药物,给出相应具有足够的碱性使得测组分去离子化,呈分子状态,降低其在样品溶液中的溶解度,才容易被中空纤维壁上有有机溶剂萃取;同时,

接收相应具有足够的酸性,使待测组分离子化,呈离子状态,以提高接收相(中空纤维内液)对有机相中萃取的待测组分的反萃取能力。

本实验考察了给出相 pH 值从 10 到 13 对萃取效率的影响,以及 pH 值从 1 到 3 对反萃取效率的影响。结果显示,当接收相 pH 为 2 时,给出相 pH 为 11 的萃取效率最高,这可能是由于当给出相的 pH 值由 10 到 11 逐渐增大,弱碱性的待测组分逐渐去离子化,呈分子状态,在样品溶液中的溶解度降低,样品溶液中的待测物逐渐进入中空纤维壁上的有机层中。当 pH 值大于 11 时,随着样品溶液碱性的逐渐增强,结构中含有的两个酯键逐渐水解,形成钠盐形式,所以离子化程度增强,水溶性增加,萃取效率降低(见图 2)。因此本实验最终选择给出相的 pH 值为 11。

图 2 给出相 pH 对 4 种生物碱峰面积的影响
Fig. 2 Influence of the donor phase pH on the peak areas of the four alkaloids

由文献^[13]所知,随着接收相 pH 值的降低,萃取效率逐渐增大,当 pH 值大于 3 时,4 种乌头类生物碱不能被反萃取至接收相中^[12],因此本实验考察了 pH 分别为 1、2、3 时对萃取效率的影响。结果表明,当接收相 pH 为 2 时的萃取效率最好,这可能是由于在中空纤维三相微萃取的过程中,只有接收相的 pH 能够使待测组分完全离子化,才能最大限度地使待测组分从有机相中反萃取至接收相的水溶液中。说明此时的 pH 已经使待测组分完全离子化了;pH 继续降低到 1 时,过高的酸性环境会影响中空纤维膜的稳定性,使萃取效率降低。因此本实验最终选择接收相的 pH 为 2。

2.2.2 搅拌速度的优化

加快搅拌或是振动速度可以增加待测物质的扩散系数,提高萃取效率,但是搅拌速度不易过高,否则会使中空纤维壁上的有机相不稳定,促进有机溶剂的挥发,造成有机溶剂损失,进而降低萃取效率。本实验考察了转速分别为 400、600、800、1 000 r/min 时对萃取效率的影响,结果显示,当搅拌速度

从 400 r/min 增加到 600 r/min 时萃取效率没有太大的变化,说明搅拌速度过低,加快传质作用不明显;当搅拌速度由 600 r/min 升至 800 r/min 时,随着搅拌速度的增加,萃取效率增加,表明此时随着搅拌速度的增加,待测组分的传质扩散增加,使萃取效率提高,800 r/min 时的萃取效率最大;但当搅拌速度继续增加至 1 000 r/min 时萃取效率明显下降(见图 3),这可能是由于搅拌速度过大,使有机相脱落所致。因此本实验最终选择搅拌速率为 800

图 3 搅拌速率对 4 种生物碱峰面积的影响
Fig. 3 Influence of stirring rate on the peak areas of the four alkaloids

2.2.3 萃取时间的优化

萃取实质上是动态的传质过程,延长萃取时间可以提高萃取效果,但并不是萃取时间越长越好;随着萃取时间的延长,中空纤维壁上的有机相会溶解、挥发,甚至脱落,以及中空纤维膜在长时间的搅拌过程中会有损坏,从而会影响萃取效果,使萃取效率降低^[14]。本实验考察了萃取时间分别为 20、40、50、60、80、100 min 时对萃取效率的变化。图 4 结果显示,萃取时间为 20~40 min 时萃取效率逐渐增加,40 min 时萃取效率最大;继续增加萃取时间,萃取效率变化不明显;当萃取时间增加大于 1 h 后,萃取效率开始下降,有可能是中空纤维壁上有有机溶剂逐渐溶解或者挥发所致。因此本实验最终选择 40 min 为最佳萃取时间。

图 4 萃取时间对 4 种生物碱峰面积的影响
Fig. 4 Influence of the extraction time on the peak areas of the four alkaloids

2.2.4 萃取温度的优化

温度是影响萃取效果的重要因素。温度升高可以增加分子间的运动,提高传质速率,使萃取效率增加,但对于中空纤维三相微萃取而言,有机溶剂是附着在中空纤维壁上,高温可以降低有机溶剂的黏性,随着温度的升高,可以加速有机溶剂的挥发,或者是有机溶剂脱落,使萃取效率降低。同时考虑到乌头碱对热不稳定,本实验考察了萃取温度分别为 20、40、50、60 ℃ 时对萃取效果的影响。图 5 结果显示,在萃取温度为 20~40 ℃ 时,待测物的峰面积随着萃取温度的升高而增大,当温度为 40 ℃,峰面积达到最大;温度继续升高,峰面积反而减小,这可能是由于温度过高,促使了有机溶剂的挥发,使得萃取效率降低。本实验最终选择 40 ℃ 为最适合的萃取温度。

2.2.5 富集倍数的考察

HF-LPME 最大的优点就是富集倍数 (enrichment factor, EF) 高,能够实现对样品中微量或者痕量组分的定量分析。 $EF = 100S_a/S_b$, 式中 S_a 是稀释 100 倍后分析物经 HF-LPME 富集后进样的峰

面积, S_b 为未经稀释直接进样时分析物的峰面积。本实验中,在优化的 HF-LPME 条件下,乌头碱、次乌头碱、新乌头碱和滇乌头碱的富集倍数分别为 102、137、301 和 119。

图 5 萃取温度对 4 种生物碱峰面积的影响
Fig. 5 Influence of temperature on the peak areas of the four alkaloids

2.3 系统适用性试验

在 1.3 节的条件下,4 种乌头类生物碱对照品溶液、空白尿样和服药 7 d 后尿样经 HF-LPME 萃取后的 UPLC-MS/MS 谱图见图 6。

图 6 (a) 混合对照品溶液 (1 μg/L)、(b) 空白尿样和 (c) 服药 7 d 后尿样经 HF-LPME 萃取后的 UPLC-MS/MS 谱图
Fig. 6 UPLC-MS/MS chromatograms of (a) a mixed standard solution of the four alkaloids (1 μg/L), (b) human blank urine, (c) urine of administering Fuzi Lizhong Pills 7 d later extracted by HF-LPME

2.4 线性关系的考察

精密吸取乌头碱、次乌头碱、新乌头碱和滇乌头碱对照品储备液一定量于 10 mL 容量瓶中,用乙腈稀释并定容,摇匀,制成 10 μg/L 的 4 种乌头碱的混合对照品溶液,逐级稀释,配制质量浓度分别为 1.0 × 10⁴、1.0 × 10³、500、100、50、10、5、1 ng/L 的系列对照品溶液。分别吸取 100 μL 上述系列对照品溶液至西林瓶中,加尿样稀释至 10 mL,配制质量浓度分别为 100、10、5、1、0.5、0.1、0.05、0.01 ng/L 样品。按 1.2 节的条件进行前处理,并按 1.3 节的条件进样测定,记录峰面积。按信噪比(S/N) = 10 计算,得到 4 种乌头碱的定量限(LOQ)。以峰面积 y 对质量浓度 x (ng/L) 进行线性回归,得到的线性方程、线性范围、相关系数见表 4。

表 4 尿液中 4 种生物碱的线性方程、线性范围、相关系数和定量限 ($S/N = 10$)

Table 4 Linear equations, linear ranges, correlation coefficients (r) and LOQ ($S/N = 10$) of the four alkaloids in urine

Compound	Linear equation	Linear range/(ng/L)	r	LOQ/(ng/L)
Aconitine	$y = 765.77x + 285.38$	0.01 – 10	0.9981	0.01
Hypaconitine	$y = 224.47x + 272.07$	0.1 – 100	0.9986	0.1
Mesaconitine	$y = 1569.20x + 269.41$	0.01 – 10	0.9984	0.01
Yunaconitine	$y = 3331.80x - 125.33$	0.01 – 10	0.9995	0.01

y : peak area; x : mass concentration, ng/L.

2.5 精密度试验

取高、中、低 3 种质量浓度的添加尿样,按 1.2 节的条件进行前处理,并按 1.3 节的条件平行测定 5 次,记录峰面积,由峰面积计算其精密度,结果见表 5。

表 5 尿样中 4 种生物碱测定的精密度和重复性及方法的基质效应和回收率 ($n = 5$)

Table 5 Precisions, repeatabilities, matrix effects and the recoveries of the four alkaloids spiked in a urine sample ($n = 5$)

Compound	Spiked/(ng/L)	Precision ¹⁾ /%	Repeatability ²⁾ /%	Relative recovery ³⁾ /%	Matrix effect ⁴⁾ /%	Recovery ⁵⁾ /%
Aconitine	0.1	1.7	3.5	92.20	94.91	86.07
	1	1.2	2.2	103	98.29	99.71
	5	1.1	3.1	104	98.14	99.44
Hypaconitine	0.1	4.2	3.7	87.40	95.95	83.96
	1	2.7	3.6	83.30	97.00	102.00
	5	2.1	4.2	95.50	98.94	97.66
Mesaconitine	0.1	4.6	4.2	90.60	94.94	114.90
	1	4.5	3.5	99.40	97.51	111.20
	5	4.2	3.9	109	97.27	95.52
Yunaconitine	0.1	3.8	4.1	74.30	94.08	89.01
	1	3.4	1.7	93.00	98.54	110.70
	5	2.7	1.8	108	97.40	93.50

1) precision: according to the RSD of the peak area; 2) repeatability: according to the RSD of S_2 ; 3) relative recovery = $C_1/C_0 \times 100\%$; 4) matrix effect = $S_3/S_1 \times 100\%$; 5) recovery = $S_2/S_3 \times 100\%$; C_1 : found concentration; C_0 : spiked concentration; S_1 : peak area of reference substance; S_2 : peak area of spiked with unextracted blank urine; S_3 : peak area of spiked with extracted blank urine.

2.6 基质效应及回收率试验

分别取高、中、低 3 种浓度的对照品溶液,按 1.2 节的条件进行前处理,并按 1.3 节的条件进行测定,记录峰面积 S_1 ;同时分别配制高、中、低 3 种浓度的添加尿样 15 份,每个浓度点平行添加 5 份,按 1.2 节条件进行前处理,并按 1.3 节的条件进行测定,测得相应的峰面积 S_2 ,由峰面积计算其重复性;收集空白尿样,经 1.2 节的条件进行前处理,用萃取液配制高、中、低 3 个浓度水平的溶液,按 1.3 节的条件进行测定,记录峰面积为 S_3 。以 S_2/S_3 计算提取回收率, S_3/S_1 计算基质效应,由峰面积 S_2 计算其质量浓度 C_1 ,与加入量 C_0 比较,即 C_1/C_0 计算相对回收率,结果见表 5。

2.7 样品测定

收集服用正常剂量附子理中丸 7 d 后的尿样,

按 1.2 节的条件进行前处理,并按 1.3 节的条件进行测定,尿样中乌头碱、次乌头碱和新乌头碱的质量浓度分别为 0.2、10.1 和 11.2 ng/L,表明此方法对尿样中痕量水平乌头类生物碱的检测具有很强的优势,能够大大延长用药后的有效检测时间窗,为涉及乌头类生物碱的案例提供了可追溯其用药历史的可行的方法。

3 结论

本文建立了尿样中乌头类生物碱快速、灵敏的 UPLC-MS/MS 分析方法,同时采用 HF-LPME 对样品进行萃取、纯化和富集,提高了检测灵敏度,大大延长了尿样中乌头类生物碱的检测周期,对检测尿样中痕量水平的乌头类生物碱更有优势,为生物碱中毒案件物证检测提供了灵敏的方法,尤其是那些

未及时取样且浓度极低的物证检品中痕量乌头类生物碱的检测。

参考文献:

- [1] Wang F P. Progress in Chemistry (王锋鹏. 化学进展), 2009, 21(1): 63
- [2] Li Y P, Tian S J, Wang G R. China Journal of Chinese Materia Medica (李娅萍, 田颂九, 王国荣. 中国中药杂志), 2001, 26(10): 659
- [3] Chen Y F, He W, Zhu F C. Chinese Journal of Chromatography (陈燕方, 何伟, 祝凤池. 色谱), 2002, 20(3): 253
- [4] Tong S L, Cui J C, Yuan J L. Shaanxi Journal of Traditional Chinese Medicine (佟姝丽, 崔九成, 袁菊丽. 陕西中医), 2007, 28(7): 900
- [5] Zhang H F, Sun Y, Zhang H G. China Pharmacy (张海丰, 孙莹, 张宏桂. 中国药房), 2007, 18(24): 1846
- [6] Liu L, Fan Z C, Zhang Z Q. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis (刘岚, 范智超, 张志琪. 药物分析杂志), 2010, 30(2): 236
- [7] Zheng H S, Feng N P. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis (郑杭生, 冯年平. 药物分析杂志), 2005, 25(1): 34
- [8] Qiu K, Wu H, Wang H Y. Chinese Pharmaceutical Journal (邱葵, 吴华, 王鹤尧. 中国药学杂志), 2010, 45(8): 633
- [9] Gao K, Xing J J. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy (高瞰, 邢俊家. 中国现代应用药理学), 2010, 27(8): 729
- [10] Wang H L, Dong L, Xu D F, et al. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine (王海龙, 董雷, 许大方, 等. 辽宁中医药大学学报), 2010, 12(1): 191
- [11] Cheng X L, Bai Z L, Xiao X Y, et al. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis (程显隆, 白宗利, 肖新月, 等. 药物分析杂志), 2010, 30(9): 1646
- [12] Yang Y, Chen J, Shi Y P. J Chromatogr B, 2010, 878: 2811
- [13] Yang X L, Luo M B, Tang Y P, et al. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis (杨新磊, 罗明标, 唐毓萍, 等. 药物分析), 2007, 27(12): 1998
- [14] Dai X B, Li H Y. Journal of Instrumental Analysis (代喜斌, 李海燕. 分析测试学报), 2010, 29(10): 1025