

# 高效液相色谱-串联质谱测定香辛料中的去甲乌药碱

杨明, 陈丹, 涂凤琴, 伊璠, 董秋花, 卢跃鹏, 杨永, 王煜红, 江小明

(武汉食品化妆品检验所, 湖北武汉 430012)

**摘要:** 建立了高效液相色谱-串联质谱 (HPLC-MS/MS) 快速测定香辛料中去甲乌药碱的分析方法。实验优化了样品前处理条件和色谱质谱条件。在优化条件下, 样品经体积比为 80% 甲醇-水提取, 纯水进行一定倍数的稀释, 以 Waters XBridge C18 (150 mm×2.1 mm, 5 μm) 色谱柱分离, 电喷雾正离子扫描, 多反应监测 (MRM) 模式检测, 基质匹配标准溶液外标法定量, 实现了香辛料中去甲乌药碱的精确定量分析。去甲乌药碱在 0.05~20.0 ng/mL 范围内线性关系良好, 相关系数为 0.9999, 方法检出限为 0.7 μg/kg, 定量限为 2.33 μg/kg, 在 3 个添加水平条件下八角平均回收率为 91.80%~99.97%, 相对标准偏差为 1.43%~2.35%。该方法简单、灵敏、准确性高、稳定性好, 适用于香辛料中去甲乌药碱的测定。

**关键词:** 高效液相色谱-串联质谱 (HPLC-MS/MS); 去甲乌药碱; 香辛料

文章编号: 1673-9078(2020)03-275-280

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.3.036

## Determination of Higenamine in Spices by High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

YANG Ming, CHEN Dan, TU Feng-qin, YI Jun, DONG Qiu-hua, LU Yue-peng, YANG Yong, WANG Yu-hong, JIANG Xiao-ming

(Wuhan Institute for Food and Cosmetic Control, Wuhan 430012, China)

**Abstract:** A rapid analytical method for determination of higenamine in spices had been developed by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) in this work. The sample pretreatment conditions and the HPLC-MS/MS conditions were optimized. The sample was extracted with 80% methanol water by volume, and then diluted with pure water for a certain number of times. The target compound was separated on a Waters XBridge C18 (150 mm×2.1 mm, 5 μm) column, and determined using electrospray ionization (ESI) source in positive mode with the multiple reaction monitoring (MRM) acquisition mode. It was quantified with the matrix-matched external standard method, which was performed to accurately quantify higenamine in spices. The results showed that this method exhibited a good linearity in the range of 0.05~20.0 ng/mL, with the correlation coefficients ( $r$ ) of 0.9999. The limit of detection (LOD,  $S/N=3$ ) were 0.7 μg/kg, and the limit of quantitation (LOQ,  $S/N=10$ ) were 2.33 μg/kg. At the three spiked levels, the average recoveries of star anise were in the range of 91.80%~99.97% with the relative standard deviations of 1.43%~2.35%. The method is simple, sensitive, accurate, stable and suitable for the rapid determination of higenamine in spices.

**Key words:** high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS); higenamine; spices

引文格式:

杨明,陈丹,涂凤琴,等.高效液相色谱-串联质谱测定香辛料中的去甲乌药碱[J].现代食品科技,2020,36(3): 275-280

YANG Ming, CHEN Dan, TU Feng-qin, et al. Determination of higenamine in spices by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(3): 275-280

兴奋剂的使用在现代体育赛事中时有发生, 严重

收稿日期: 2019-10-10

基金项目: 湖北省自然科学基金计划项目 (2018CFB340)、湖北省食品药品监督管理局科研项目 (201801020)、湖北省食品药品监督管理局科研项目 (201602009)

作者简介: 杨明 (1991-), 男, 工程师, 研究方向: 食品质量与安全

通讯作者: 江小明 (1970-), 女, 教授级高级工程师, 研究方向: 食品质量安全检验与研究

困扰和阻碍着竞技体育的健康发展。检测并杜绝食源性兴奋剂不仅是运动员日常管理服务的重要内容, 更是国内外大型体育赛事的重要战略任务。去甲乌药碱 (Higenamine, HG) 属于苜蓿基异喹啉类生物碱, 是一种天然生物碱, 能够刺激  $\beta$  受体, 能够抑制血小板聚集、血栓形成<sup>[1]</sup>、iNOS mRNA 的表达<sup>[2]</sup>和脂多糖 LPS 诱导一氧化氮产生<sup>[3]</sup>等, 对心血管产生正力、正时性作用<sup>[4]</sup>, 增加心输出量和心率<sup>[5,6]</sup>, 在临床上常被

用作强心剂、利尿剂、镇痛剂和降压剂等<sup>[7-13]</sup>, 会对运动员成绩造成影响。世界反兴奋剂机构 (World Anti-Doping Agency, WADA) 在《2019 年禁用清单国际标准》中已将 HG 明确列为  $\beta$ 2 激动剂类禁用物质。去甲乌药碱主要存在于南天竹、番荔枝、莲、花椒、胡椒、桂皮、八角等天然植物中<sup>[14-16]</sup>, 这些植物是中药材或者日常食用调味品的组成部分, 正因为这些天然食材中存在去甲乌药碱可能会导致运动员误食而出现兴奋剂事件, 因此, 必须提前避免运动员食用含去甲乌药碱的食材, 以杜绝食源性兴奋剂事件的发生。

日前, 国内外还未出台食品中去甲乌药碱的相关检测标准, 且关于测定去甲乌药碱的方法报道也较少, 目前的分析方法有 HPLC-UV (high performance liquid chromatography-ultraviolet) 法<sup>[17]</sup>、HPLC-FLD (high performance liquid chromatography-fluorescence spectrometry method) 法<sup>[18,19]</sup>、HPLC-ECD (high performance liquid chromatography-electrochemical method) 法<sup>[20]</sup>和 LC-MS(liquid chromatography-mass spectrometry)法等<sup>[21]</sup>。其中 HPLC-UV、HPLC-FLD 和 HPLC-ECD 三种方法操作复杂且灵敏度偏低, 不适用于含量较低的去甲乌药碱试样分析; LC-MS/MS 法因其具有灵敏度高、通用性强、选择性好和抗干扰能力强等特点已被广泛应用于运动员的血样、尿样<sup>[22]</sup>以及各类保健品<sup>[23]</sup>和食品的分析中。

该实验利用高效液相色谱-串联质谱 (HPLC-MS/MS) 的高选择性、高灵敏度和强抗干扰能力等特点, 在 MRM 多反应监测模式下, 建立了 HPLC-MS/MS 快速测定香辛料中去甲乌药碱的分析方法。该方法操作简便、灵敏度高、重现性好、分析速度快, 适用于香辛料的检测, 不仅能够筛选出适合运动员使用的食材, 而且也能够为我国体育赛事食品安全保障工作和相关标准的制修订提供有效的技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

去甲乌药碱标准品 (纯度 98.0%, First Standard 品牌标准品), 购于天津阿尔塔科技有限公司; 甲醇、乙腈 (色谱纯), 德国 Merck 公司; 甲酸 (色谱纯), 美国 Sigma-Aldrich 公司; 去离子水 (18.2 M $\Omega$ ·cm) 由 Milli-Q 超纯水系统制得。桂皮、八角、花椒、十三香、黑胡椒、白胡椒、孜然粉、香叶和干辣椒 9 种香辛料均从市场上随机抽取。

### 1.2 仪器与设备

SCIEX 6500 QTRAP 串联质谱仪(配有可用于电喷雾电离的 Turbo V 离子源), 美国 AB SCIEX 公司; LC 30A 液相色谱仪, 日本岛津公司; Allegra X-15R Centrifuge 离心机, 美国贝克曼库尔特公司; Vortex-Genie 2 涡旋振荡器, 美国 Scientific Industries 公司; PM5-2000TL 超声波清洗器, 普律玛仪器公司; Milli-Q 超纯水系统, 美国 Millipore 公司; 电子天平, 梅特勒-托利多仪器有限公司。

### 1.3 标准溶液配制

准确称取适量的去甲乌药碱标准品, 用甲醇溶解, 配制质量浓度约为 10  $\mu$ g/mL 的标准储备液, 于 -18  $^{\circ}$ C 保存。临用时, 移取适量的标准储备液用空白样品基质提取液配制系列浓度的基质匹配标准工作溶液, 现用现配。

### 1.4 样品前处理

称取试样 2.0 g (精确到 0.01 g) 于 50 mL 具塞塑料离心管中, 加 10 mL 体积比为 80% 甲醇-水, 涡旋混匀, 超声提取 30 min, 4000 r/min 离心 5 min, 取全部上清液于 50 mL 容量瓶中, 加纯水至刻度, 摇匀, 取溶液适量用 0.22  $\mu$ m 的微孔滤膜过膜, 滤液供 HPLC-MS/MS 测定。实验中所有样品均采用 3 个平行组。

### 1.5 仪器条件

#### 1.5.1 色谱条件

色谱柱: Waters XBridge C18 (150 mm $\times$ 2.1 mm, 3.0  $\mu$ m); 柱温: 40  $^{\circ}$ C; 进样量: 5  $\mu$ L; 流动相: A-0.1% 甲酸水; B-0.1% 甲酸甲醇; 流速: 0.5 mL/min; 梯度洗脱程序: 0~1.0 min, 3.0% B; 1.0~1.5 min, 3.0%~15.0% B; 1.5~5.0 min, 15.0%~70.0% B; 5.0~5.5 min, 70.0%~98.0% B; 5.5~7.5 min, 98% B; 7.5~7.6 min, 98%~3.0% B; 7.6~10.0 min, 3.0% B。

#### 1.5.2 质谱条件

电离源: ESI 正离子模式; 扫描方式: 多反应监测(MRM)模式; 电喷雾电压(IS): 5500 V; 雾化气(GS1): 60.0 psi; 气帘气压力(CUR): 35 psi; 碰撞气体(CAD): Medium; 辅助气流速(GS2): 50 psi; 离子源温度(TEM): 550  $^{\circ}$ C; 定量离子:  $m/z$  272.1 >  $m/z$  107.0, 去簇电压: 50 V, 碰撞能: 31 V; 定性离子:  $m/z$  272.1 >  $m/z$  255.1, 去簇电压: 50 V, 碰撞能: 20 V

## 2 结果与讨论

### 2.1 色谱条件的优化

该实验选择 Waters XBridge C18 (150 mm×2.1 mm, 3.0 μm)色谱柱对去甲乌药碱进行分离分析, 并比较了去甲乌药碱在乙腈-水与甲醇-水流动相体系中的色谱分离效果。结果表明, 目标化合物在甲醇-水流动相体系中分离效率较高。进一步考察流动相中添加不同含量的甲酸对分离效果的影响。结果表明目标化合物在 0.1%甲酸水-0.1%甲酸甲醇组成的流动相中分离效率高、峰形良好、保留时间稳定且质谱响应高。由于样品基质较为复杂, 为了减少复杂基质的干扰、减少对色谱柱以及检测器的损害, 该实验采用八角基质提取液加标 0.1 μg/mL 作为基质样品, 通过检测离子对  $m/z$  272.1> $m/z$  255.1、 $m/z$  272.1> $m/z$  107.0 的色谱分离情况来考察不同流动相梯度条件下基质对去甲乌药碱的干扰情况。结果表明, 从 3%B 直接提升至 98%B 的洗脱过程中, 会出现基质提取液中存在干扰峰且与目标物去甲乌药碱未完全分离, 影响结果的判定, 故将洗脱程序 3% B 提升至 98% B 分为由 3.0% B 提升至 15.0% B 0.5 min, 15% B 提升至 70% B 3.5 min, 70% 提升至 98% 0.5 min 三个阶段, 最终确定 1.5.1 中的梯度洗脱程序。因此, 该实验采用 0.1% 甲酸水和 0.1% 甲酸甲醇作为流动相, 目标化合物可实现良好分离, 峰形对称。去甲乌药碱在 MRM 模式下的色谱图见图 1 所示。

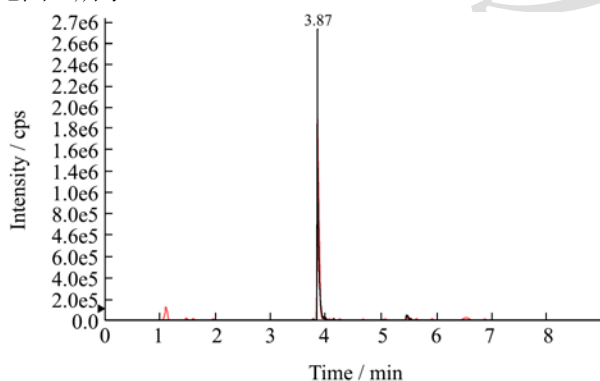


图 1 去甲乌药碱多反应监测 (MRM) 色谱图

Fig.1 Chromatographs of higenamine with MRM acquisition mode

## 2.2 质谱条件的优化

表 1 去甲乌药碱的母离子、子离子等重要质谱参数

Table 1 Precursor ions, products ions, and other important MS parameters of higenamine

分析物	母离子 ( $m/z$ )	子离子 ( $m/z$ )	去簇电压 /V	碰撞能 /V
去甲乌药碱	272.1	107.0*	50	31
	272.1	255.1	50	20

注: \*表示定量离子。

利用针泵进样将 1.0 μg/mL 的去甲乌药碱标准样品注入质谱仪中优化质谱参数。首先选择全扫描模式确定去甲乌药碱的母离子。结果表明去甲乌药碱在正离子 (ESI+) 扫描模式下的质谱响应较高, 且将  $m/z$  272.1 作为去甲乌药碱的母离子。根据二级质谱扫描获得二级碎片离子, 选取响应较高、干扰小的两个碎片离子  $m/z$  107.0 和  $m/z$  255.1 作为监测离子对,  $m/z$  272.1> $m/z$  107.0 为定量离子对,  $m/z$  272.1> $m/z$  255.1 为定性离子对, 并进一步优化每个离子对的最佳去簇电压 (DP)、碰撞能量 (CE) 等质谱参数 (相关参数见表 1 所示)。

## 2.3 提取方式的优化

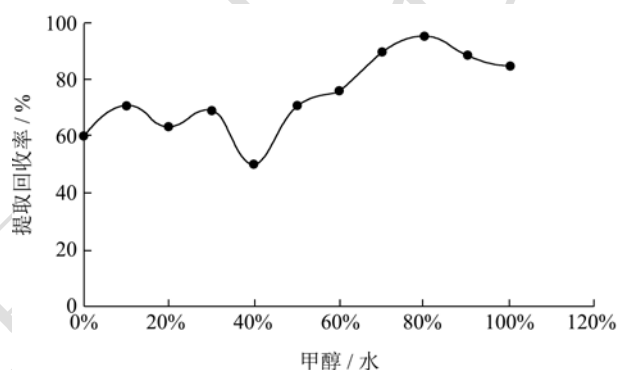


图 2 不同比例的甲醇水对提取回收率的影响

Fig.2 Effect of different proportions of methanol water on recovery rate of extraction

在优化样品提取条件阶段, 该实验以去甲乌药碱的提取回收率情况作为判断标准, 向空白样品中添加标准品去甲乌药碱 10 μg/kg 作为模拟样品进行考察。去甲乌药碱是植物中一种天然生物碱<sup>[24]</sup>, 其油水分配系数 (log  $P$ ) 为 2.32, 解离常数 ( $pK_a$ ) 为 9.72, 是一种较强极性的化合物, 故提取溶液应该采用极性溶剂。实验初期采用甲醇-水体系和乙腈-水体系作为提取剂, 并考察了这两种不同提取液对去甲乌药碱的提取效果, 结果发现甲醇-水溶液为提取溶液时的回收率均优于乙腈-水。同时进一步比较了不同体积比的甲醇-水溶液对去甲乌药碱的提取效率。结果如图 2 所示, 当提取溶剂中甲醇比例低于 60% 时, 提取效果差, 提取回收率均小于 80%; 且 40% 甲醇-水提取回收率最低, 提取回收率仅为 50%; 而当甲醇-水体积比例为 80% 时, 去甲乌药碱的提取回收率最高, 为提取回收率为 95%, 因此采用 80% 甲醇-水溶液作为提取溶剂。同时该实验也进一步考察了利用固相分散萃取技术来净化提取液, 结果发现 PSA、GCB、C18、Florisil 等固相吸附剂对去甲乌药碱有不同程度的吸附, 故不采用这些固相吸附剂作为净化手段, 因此本实验选择上

机测试前对样品进行稀释,以减少检测干扰和降低基质效应,确保结果的准确性。

### 2.4 其他条件的选择

采用空白样品中添加标准品及阳性样品花椒对提取前不浸泡、浸泡 0.5 h 以及浸泡 1 h 的提取效率进行了考察,其提取效率分别为 93.5%、92.6%和 94.1%,结果表明浸泡时间的长短对去甲乌药碱的提取没有影响,因此改实验的前处理过程不采用浸泡样品,而是直接提取样品。

采用空白样品中添加标准品及阳性样品花椒考察了超声时间 25、30、45 和 60 min 的提取效率,结果表明,超声时间对去甲乌药碱的提取没有明显影响,因此,该实验选择 30 min 作为超声提取时间。

### 2.5 基质效应

基质效应 (Matrix Effect, ME) 指目标分析物以外的其他组分对分析信号引起的增强或抑制现象,通常以基质标准曲线斜率与溶剂标准曲线斜率的比值来进行评价。若 ME 在 0.85~1.15 之间,基质效应可以忽略。反之,基质效应不可忽略<sup>[25]</sup>。该实验用不同空白基质提取液与纯溶剂分别配制系列浓度的混合标准工作溶液,通过比较标准曲线的斜率来评价基质效应。结果表明:以八角为例,八角基质对去甲乌药碱都存在较强的离子增强效应,ME 为 1.24,大于 1.15。因此,该实验采用基质匹配标准工作溶液作校准曲线来降低基质效应对测定结果的影响。

### 2.6 方法学考察

表 2 去甲乌药碱的线性范围、线性方程、检出限、定量限、加标回收率及相对标准偏差

Table 2 Linear ranges, regression equations, limits of detection, limits of quantification, recoveries and the relative standard deviations of higenamine

分析物	线性范围 (ng/mL)	线性方程	相关 系数	LOD (μg/kg)	LOQ (μg/kg)	低(1.0 μg/kg)		中(10.0 μg/kg)		高(50.0 μg/kg)	
						回收 率/%	RSD /%	回收 率/%	RSD /%	回收 率/%	RSD /%
去甲 乌药碱	0.05~20.0	$y=8.63 \times 10^4 x + 1.11 \times 10^3$	0.9999	0.7	2.33	91.80	1.43	99.97	1.44	95.69	2.35

### 2.7 实际样品测定

利用该实验建立的方法对市场上购买的 9 种香辛调味料样品进行检测,共检出 6 份阳性样品,如图 4 所示,其中花椒、桂皮、十三香、黑胡椒、白胡椒和香叶均有检出,检出含量分别为 1050 μg/kg、10 μg/kg、49.8 μg/kg、778.6 μg/kg、223 μg/kg 和 660 μg/kg,剩下 3 种香辛调味料均未检出。因此,香辛料中天然存

用空白基质提取液配制系列浓度的去甲乌药碱混合标准工作溶液,以峰面积(y)为纵坐标,质量浓度(x)为横坐标绘制基质标准工作曲线。结果表明,八角空白基质标准曲中去甲乌药碱浓度与对应的峰面积呈现良好的线性关系,线性相关系数 (r) 为 0.9999。以 3 倍信噪比 (S/N) 计算检出限 (LOD),以 10 倍信噪比 (S/N) 计算定量限 (LOQ),该方法去甲乌药碱检出限(S/N≥3)为 0.7 μg/kg,定量限(S/N≥10)为 2.33 μg/kg。选取阴性八角样品添加三个浓度水平的混合标准溶液,每个加标水平设置 6 个平行样,以考察方法的回收率和精密度。结果见表 2,以八角空白基质提取液配制系列标曲,外标法定量,得出平均回收率为 91.80%~99.97%,相对标准偏差为 1.43%~2.35%。根据 WADA 2019 年对尿液中去甲乌药碱的检测限量要求 (10 μg/L)<sup>[26]</sup>,方法回收率高、精密度高,完全满足香辛料中去甲乌药碱的监测要求。阳性样品中去甲乌药碱的提取离子流图如图 3 所示。

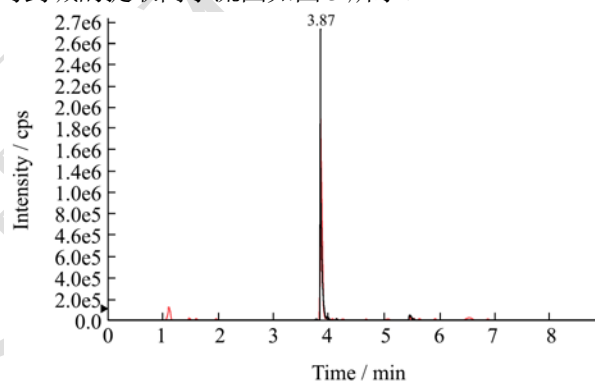


图 3 阳性样品中去甲乌药碱的提取离子流图

Fig.3 Extracted ion chromatograms of higenamine in positive sample

在的去甲乌药碱可能会造成运动员误服,应该引起重视,尽量避免食用含去甲乌药碱的食材。





注: a: 花椒 (1050  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) ; b: 桂皮 (10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) ; c: 黑胡椒 (778.6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) ; d: 白胡椒 (223  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) ; e: 香叶 (660  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) ; f: 十三香 (49.8  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 。

图 4 6 份阳性样品的检出情况

Fig.4 Detection of 6 positive samples

### 3 结论

该实验建立了 HPLC-MS/MS 快速测定香辛料中去甲乌药碱的分析方法。实验分别对样品前处理方法、色谱质谱条件进行了优化,采用多反应监测模式检测,空白基质匹配标准溶液外标法定量,能够同时完成香辛料中去甲乌药碱的定性和定量分析。该方法简单快速、灵敏可靠,为去甲乌药碱残留的测定节约了分析时间,可广泛应用于香辛料中去甲乌药碱的测定和快速批量筛查,为我国体育赛事食品安全保障工作和相关标准的制修订提供有效的技术支持。

### 参考文献

- [1] Mi K P, Kim J M, Jin J L, et al. Effects of higenamine and its 1-naphthyl analogs, YS-49 and YS-51, on platelet TXA2 synthesis and aggregation [J]. Thrombosis Research, 2007, 120(1): 81-86
- [2] Park J E, Kang Y J, Park M K, et al. Enantiomers of higenamine inhibit LPS-induced iNOS in a macrophage cell line and improve the survival of mice with experimental endotoxemia [J]. International Immunopharmacology, 2006, 6(2): 226-233
- [3] Lee Y S, Kang Y J, Kim H J, et al. Higenamine reduces apoptotic cell death by induction of heme oxygenase-1 in rat myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. Apoptosis, 2006, 11: 1091-1100
- [4] 张正,刘秀杰,陶忠华,等.去甲乌药碱对血液动力学的影响及耐受性与安全性[J].中华医学杂志,2002,82(2):352-355
- [5] Dunlop D, Shanks R G. Inhibition of the carotid sinus reflex by the chronic administration of propranolol [J]. British Journal of Pharmacology, 2012, 36(1): 132-143
- [6] Praman S, Mulvany M J, Williams D E, et al. Hypotensive and cardio-chronotropic constituents of *Tinospora crispa* and mechanisms of action on the cardiovascular system in anesthetized rats [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2012, 140(1): 166-178
- [7] Kosuge T, Yokota M., Nagasawa M. Studies on cardiac principle in aconite roots. I. isolation and structure determination of higenamine [J]. Yakugaku Zasshi Journal of the Pharmaceutical Society of Japan 1978, 98: 1370-1375
- [8] Feng S, Jiang J, Hu P, et al. A phase I study on pharmacokinetics and pharmacodynamics of higenamine in healthy Chinese subjects [J]. Acta Pharmacol Sin, 2012, 33: 1353-1358
- [9] 田海峰,衣涛,金东日.柱前衍生化高效液相色谱法测定莲子心中去甲乌药碱含量[J].延边大学学报(自然科学版), 2012,38(2):150-153
- [10] TIAN Hai-feng, YI Tao, JIN Dong-ri. Determination of higenamine in *Nelumbo nucifera* by HPLC with precolumn derivatization [J]. Journal of Yanbian University (Natural Science Edition), 2012, 38(2): 150-153
- [11] Zhang N, Lian Z, Peng X, et al. Applications of higenamine in pharmacology and medicine [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2017, 196: 242
- [12] 惠战锋,王前刚,魏谈笑,等.RP-HPLC 法测定莲子心提取物中去甲乌药碱的含量[J].西北药学杂志,2014,1:14-16
- [13] HUI Zhan-feng, WANG Qian-gang, WEI Tan-xiao, et al. Determination of higenamine in *Nelumbo nucifera* extract by RP-HPLC [J]. Northwest Pharmaceutical Journal, 2014, 1: 14-16
- [14] 韦震鸣,傅强,李志樑,等.去甲乌药碱对 2 型心肾综合征大鼠心肾的保护作用[J].实用医学杂志,2018,34(11):1830-1833
- [15] WEI Zhen-ming, FU Qiang, LI Zhi-liang, et al. Protective effects of higenamine on heart and kidney in rats with type 2 cardiorenal syndrome [J]. The Journal of Practical Medicine, 2018, 34(11): 1830-1833
- [16] 石晓路,武乾,崔海峰,等.去甲乌药碱与 6-姜酚配伍对心衰大鼠强心机制研究[J].中华中医药杂志,2016,2:420-423

- SHI Xiao-lu, WU Qian, CUI Hai-feng, et al. Cardiotoxic mechanism of compatibility of higenamine and 6-gingerol on heart failure rat [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2016, 2: 420-423
- [14] Calvert R, Vohra S, Ferguson M, et al. A beating heart cell model to predict cardiotoxicity: Effects of the dietary supplement ingredients higenamine, phenylethylamine, ephedrine and caffeine [J]. Food and Chemical Toxicology, 2015, 78: 207-213
- [15] Yun-Choi H S, Pyo M K, Park K M, et al. Antithrombotic Effects of YS-49 and YS-51-1-Naphthylmethyl analogs of higenamine [J]. Thrombosis Research, 2001, 104(4): 249-55
- [16] Tsukiyama M, Ueki T, Yasuda Y, et al.  $\beta_2$ -adrenoceptor-mediated tracheal relaxation induced by higenamine from *Nandina domestica* Thunberg [J]. Planta Medica, 2009, 75(13): 1393-1399
- [17] 陈宝玲,郑英丽,陆直,等.HPLC 法测定去甲乌药碱的含量 [J].中国新药杂志,2004,13(7):628-630
- CHEN Bao-lin, ZHENG Ying-li, LU Zhi, et al. HPLC determination of the content of higenamine [J]. Chinese Journal of New Drugs, 2004, 13(7): 628-630
- [18] 丁雅韵,谢孟峡.FMOC-OSU 作为液相色谱分离分析氨基酸的柱前衍生试剂研究[J].分析实验室,2001,20:138-139
- DING Ya-yun, XIE Meng-xia. Study on FMOC-OSU as a pre-column derivative reagent for the separation and analysis of amino acids by liquid chromatography [J]. Analytical Laboratory, 2001, 20: 138-139
- [19] Hong H, Lee Y I, Jin D. Determination of R-(+)-higenamine enantiomer in *Nelumbo nucifera* by high-performance liquid chromatography with a fluorescent chiral tagging reagent [J]. Microchemical Journal, 2010, 96(2): 374-379
- [20] Lo C F, Chen C M. Determination of higenamine in plasma and urine by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection [J]. J Chromatogr B, 1994, 655: 33-39
- [21] Feng S, Hu P, Jiang J. Determination of higenamine in human plasma and urine using liquid chromatography coupled to positive electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical & Life Sciences, 2011, 879(11): 763-768
- [22] Grucza K, Kwiatkowska D, Kowalczyk K, et al. Analysis for higenamine in urine by means of UHPLC/MS/MS: Interpretation of results [J]. Drug Testing and Analysis, 2017, 10(6): 1017-1024
- [23] Stajić A, Anđelković M, Dikić N, et al. Determination of higenamine in dietary supplements by UHPLC/MS/MS method [J]. Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis, 2017, 146: 48-52
- [24] Zhang N, Lian Z, Peng X, et al. Applications of higenamine in pharmacology and medicine [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2017, 196: 242-252
- [25] You X W, Peng W, Liu F M, et al. Simultaneous determination of five strobilurin fungicides and the metabolite BF-500-3 in cereals, fruits and vegetables [J]. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 2015, 95(11): 989-1000
- [26] Technical Document-TD2019MRPL: Minimum Required Performance Levels for Detection and Identification of Non-threshold Substances. WADA. <https://www.wada-ama.org/en/resources/science-medicine/td-2019mrpl-0.2019>

(上接第 126 页)

- [18] Tj T, Dm G. The peach: Botany, production and uses [M]. Elsevier: CABI Publishing, 2008
- [19] 王力荣,朱更瑞,方伟超.桃(*Prunus persica* L.)种质资源果实数量性状评价指标探讨[J].园艺学报,2005,1:1-5
- WANG Li-rong, ZHU Geng-rui, FANG Wei-chao. The evaluating criteria of some fruit quantitative characters of peach (*Prunus persica* L.) genetic resources [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2005, 1: 1-5