LC-MS/MS 测定人尿液中伪麻黄碱含量

莫霞[1,3]，尚德为[2]，倪晓佳[2]，张明[2]，温预关[2*]，程国华[1*](1.暨南大学药学院，广州 510632；2.广州市惠爱医院，广州 510520；3.广东省妇幼保健院，广州 510000)

摘要：目的 建立测定人尿液中伪麻黄碱药物浓度的方法。**方法** 采用 LC-MS/MS 进行测定。色谱柱：美国 Agilent Eclipse plus C_{18}(4.6 mm×100 mm，3.5 μm)；流动相：甲醇-水(3∶1，含 0.005 mol·L^{-1} 甲酸铵和 0.1%甲酸)；流速：0.5 mL·min^{-1}；柱温：40 ℃。质谱条件：电喷雾电离源(ESI)，正离子化，扫描方式为选择性离子监测，伪麻黄碱 *m/z* 166.2→148.1，内标对乙酰氨基酚 *m/z* 152.1→110.1。**结果** 尿液中伪麻黄碱浓度在 500~300 000 μg·L^{-1}(r^2=0.998)内呈良好的线性关系，其批内、批间精密度 RSD 分别≤4.41%与≤10.04%；伪麻黄碱和内标的提取回收率均>90%；尿液中伪麻黄碱的平均累积排泄率为 44.57%。**结论** 本研究建立的 LC-MS/MS 测定人尿液中伪麻黄碱的方法准确、简便、灵敏、重复性好，可用于临床研究中伪麻黄碱的尿药含量测定。

关键词：液相色谱-质谱法；伪麻黄碱；尿液

中图分类号：R917.101 **文献标志码：**B **文章编号：**1007-7693(2015)04-0467-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.04.020

Determination of Pseudoephedrine in Urine by LC-MS/MS

MO Xia[1,3], SHANG Dewei[2], NI Xiaojia[2], ZHANG Ming[2], WEN Yuguan[2*], CHENG Guohua[1*](*1.Pharmacy College of Jinan University, Guangzhou 510632, China; 2.Guangzhou Huiai Hospital, Guangzhou 510520, China; 3.Guangdong Women and Children's Hospital, Guangzhou 510000, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for determination of pseudoephedrine in urine samples of healthy volunteers. **METHODS** The pseudoephedrine was determined by LC-MS/MS. The separation was carried on an Agilent Eclipse plus C_{18}(4.6 mm×100 mm, 3.5 μm) colume with a mobile phase of methanol-0.005 mol·L^{-1} ammonium formate apueous solution with 0.1% formic acid (3∶1) at the flow rate of 0.5 mL·min^{-1}, The column formate temperature was set at 40 ℃. ESI source was applied and operated in positive ion mode. Quantitative determination was performed by using selective reaction monitoring (SRM) of *m/z* 166.2→148.1 for pseudoephedrine and *m/z* 152.1→110.1 for paracetamol used as internal standard. **RESULTS** Pseudoephedrine in urine samples showed good linearity in the range of 500–300 000 μg·L^{-1}(r^2=0.998). The intra-batch and inter-batch precisions(RSD) were ≤4.41% and ≤10.04%, respectively. The extraction recoveries of pseudoephedrine and internal standard were more than 90%. The average cumulative excretion of pseudoephedrine in urine was 44.57%. **CONCLUSION** The method that using LC-MS/MS to determine pseudoephedrine in urine is accurate, simple and sentitive, and it has a good reproducibility. This method can be applied to the clinical pharmacokinetic study and therapeutic drug monitoring of pseudoephedrine.

KEY WORDS: LC-MS/MS; pseudoephedrine; urine

伪麻黄碱可选择性收缩上呼吸道血管，消除鼻黏膜水肿，治疗感冒、过敏性鼻炎等症[1]。杨汉煜等[2]首次将 LC-MS/MS 用于测人血浆中伪麻黄碱的浓度，进而在人血浆中伪麻黄碱的分析测定中应用[3-8]。伪麻黄碱经人体代谢以原形经尿液排出，通过尿样检测伪麻黄碱可以避免抽血带来的痛苦。近年来，国内外已有通过 LC-MS/MS 来测定人尿液中麻黄碱的报道[9]；也有通过中空纤维液-液-液微萃取以及电晕放电离子迁移色谱的方法来分析人血浆和尿液中的伪麻黄碱[10]。也有通过 LC-MS/MS 测定人尿液中麻黄碱的报道，如 Geraldine Dowling 以氘代物作为内标物，建立 LC-MS/MS 测定人尿液中的麻黄碱的含量，此方法稳定性好[11]。本实验以对乙酰氨基酚为内标物，建立液相色谱-串联质谱法测定人尿液中伪麻黄碱的浓度，样品处理采用简单的蛋白沉淀法，其线

基金项目：广东省自然科学基金(8151037001000001)

作者简介：莫霞，女，硕士生 Tel: 15521338056 E-mail: 1015475763@qq.com *通信作者：程国华，男，教授，硕导 Tel: 13302203098 E-mail: ghcheng661203@126.com 温预关，男，硕士，硕导，主任药师 Tel: (020)81268052 E-mail: wenyuguande@163.com

性范围为 500~300 000 μg·L^{-1}，可确保测定人尿液中伪麻黄碱的准确度和可靠性，并将其成功的应用于临床试验药物的药动学样品分析中。

1 仪器与试药

1.1 仪器

1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent)，包括自动调配四元泵(G1310A)、自动脱气机(G1379B)、可调柱温箱(G1316A)、自动进样器(G1329A)；Agilent 6410 triple quad 液质联用仪；XW-80A 旋涡混合器(原上海医科大学仪器厂)；BP110S 电子分析天平(德国 Sartorius)；MIKRO12-24 高速离心机(德国 Hettich)；111 型真空干燥箱(德国 MMM-GROUP)。

1.2 药物及试剂

盐酸伪麻黄碱对照品(中国药品生物制品检定研究院，含量：99.9%，批号：171237-201208)；内标物盐酸对乙酰氨基酚(中国药品生物制品检定研究院，批号：100018-200408，供含量测定用)；愈酚伪麻氢可酮口服溶液(深圳致君制药有限公司，批号：20130401，规格：6 mg·mL^{-1})；甲醇(默克公司，色谱纯)；甲酸铵为质谱纯(美国 Sigma 公司)；醋酸乙酯(默克公司，色谱纯)；氢氧化钠(广州化学试剂厂，分析纯)；水为重蒸去离子水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱：美国 Agilent Eclipse plus C_{18} 柱(4.6 mm×100 mm，3.5 μm)；流动相：甲醇-水(75∶25，含 0.1%甲酸和 0.005 mol·L^{-1} 甲酸铵)；流速：0.5 mL·min^{-1}；柱温：40 ℃。

2.2 质谱条件

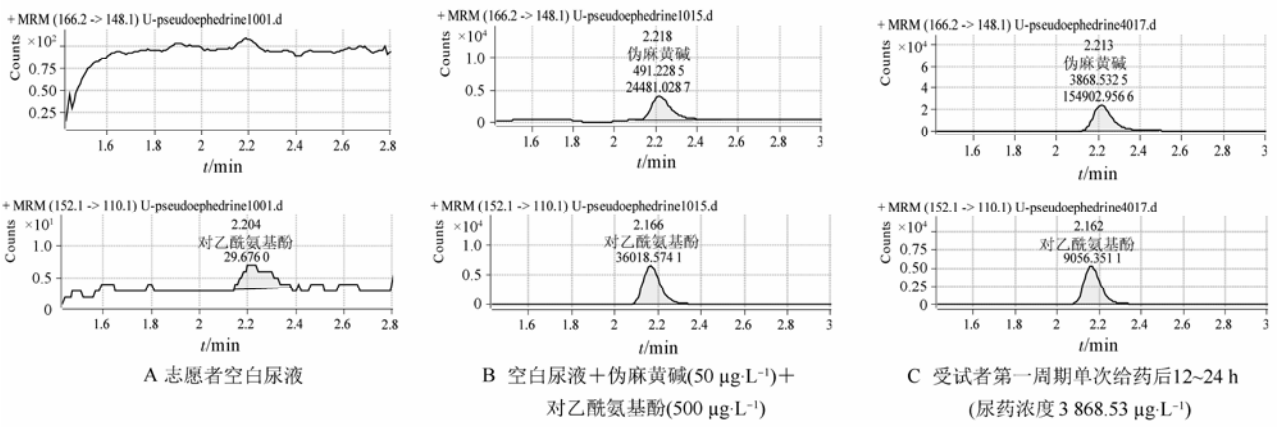
质谱条件：电喷雾离子源(ESI)，正离子化，毛细管电压：4 000 V，喷雾气压力：45 psi，雾化气流速：10 L·min^{-1}，干燥气体温度：350 ℃。离子检测方式为选择性离子监测，伪麻黄碱 *m/z* 166.2→148.1，碰撞能量 27 eV，裂解电压 165 V，电子倍增器为 100 V；内标对乙酰氨基酚 *m/z* 152.1→110.1，碰撞能量 15 eV，裂解电压 80 V，驻留时间均为 200 ms。

2.3 伪麻黄碱尿液样品处理

取含药尿液 25 μL 置 2 mL 的 EP 管中，加入空白尿液 750 μL 和 100 000 μg·L^{-1} 的内标对乙酰氨基酚溶液 10 μL，快速振荡 15 s，加入甲醇-水(75∶25，含 5 mmol·L^{-1} 甲酸铵)0.9 mL 密塞，旋涡振荡 1 min，15 000 r·min^{-1} 离心 10 min，吸取上清液 1 μL 进样。

2.4 方法专属性

分别取 6 名志愿者的空白尿液 100 μL 置 2 mL EP 管中，除不加内标外，按“2.3”项下方法操作，进样 1 μL，获得空白尿液样品的色谱图，见图 1A；将一定浓度的伪麻黄碱对照品溶液和对乙酰氨基酚内标溶液加入空白尿液中，同法操作获得相应的色谱图，见图 1B，伪麻黄碱、对乙酰氨基酚的出峰时间约为 2.2 min；取健康受试者给药后收集的尿液样品，同法操作得色谱图，见图 1C。结果表明，干扰组分的响应低于分析物定量下限响应的 20%，杂质峰面积应不大于内标峰面积的 5%，即空白尿液中内源性物质不干扰伪麻黄碱及内标对乙酰氨基酚的测定。



A 志愿者空白尿液　B 空白尿液＋伪麻黄碱(50 μg·L^{-1})＋对乙酰氨基酚(500 μg·L^{-1})　C 受试者第一周期单次给药后12~24 h (尿药浓度 3 868.53 μg·L^{-1})

图 1 HPLC-MS/MS 测定尿液中伪麻黄碱的典型色谱图

Fig. 1 HPLC-MS/MS chromatograms of pseudoephedrine in urine

2.5 标准曲线的制备

取 2 mL EP 管若干，分别加入浓度为 5 000、10 000，30 000，50 000，100 000，200 000，300 000 μg·L^{-1} 的伪麻黄碱对照品溶液和内标对乙酰氨基酚溶液 10 μL，挥干，再分别加入 0.1 mL 空白尿液，振荡 10 s，使尿液药物浓度分别相当于 500，1 000，3 000，5 000，10 000，20 000，30 000 μg·L^{-1}，其余按“2.3”项下方法处理。经 HPLC-MS/MS 分析，以伪麻黄碱峰面积与内标峰面积之比为纵坐标，以尿液中伪麻黄碱浓度与内标对乙酰氨基酚浓度之比为横坐标，权重系数为 $1/x^2$，尿液中伪麻黄碱浓度在 500~300 000 μg·L^{-1} 内呈良好的线性关系，线性方程为 y=12.882 3x+0.043 9，r^2=0.998(n=7)。

2.6 定量下限

尿液样品伪麻黄碱检测的定量下限为 500 μg·L^{-1}(S/N>5)，对 5 个浓度为 500 μg·L^{-1} 的含药尿液样品平行处理后进行 HPLC-MS/MS 分析，其方法准确度平均值为 103.08%，RSD 为 3.58%。

2.7 基质效应

取 15 管空白尿浆各 0.2 mL，分为 3 组，每组 5 管，除不加对照品系列溶液和内标外，按“2.3”项下方法处理后，于上清液中分别加入低、中、高浓度(1 000，5 000，20 000 μg·L^{-1})的伪麻黄碱和内标对乙酰氨基酚(100 000 μg·L^{-1})各 10 μL，振荡 10 s，16 000 r·min^{-1} 离心 10 min 后，取上清进样。以此种处理方法测得的伪麻黄碱和内标对乙酰氨基酚峰面积记为 A，空白试管中加入低、中、高浓度(1 000，5 000，20 000 μg·L^{-1})的伪麻黄碱和内标对乙酰氨基酚(100 000 μg·L^{-1})各 10 μL，挥干后加入 100 μL 去离子水和 900 μL 流动相，混匀 10 s，16 000 r·min^{-1} 离心 10 min 后，取上清进样后测得的峰面积记为 B，以 A/B×100%计算百分比。结果测得低、中、高浓度(1 000，5 000，20 000 μg·L^{-1})伪麻黄碱和内标对乙酰氨基酚(10 000 μg·L^{-1})的介质影响百分比分别为 93.82%，92.18%，92.16%和 77.00%。介质效应的 RSD<1.98%，数据表明，伪麻黄碱和内标基质效应对含量测定影响程度基本一致，可认为基质效应不影响药物的含量测定。

2.8 方法学的精密度与准确度

按“2.5”项下方法分别配制低、中、高浓度(1 000，5 000，20 000 μg·L^{-1})的伪麻黄碱尿样溶液各 15 份，分为 3 批，每批 5 份，并与每批的标准曲线同时进行，按“2.3”项下方法处理后取 1 μL 进样，计算质控样品的测得浓度，与配制浓度对照，求得本法的准确度和精密度。结果见表 1。

表 1 尿液中伪麻黄碱的准确度与批内、批间精密度(n=5, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Intra-day and inter-day accuracy and precision of pseudoephedrine in urine samples(n=5, $\bar{x} \pm s$)

伪麻黄碱尿样浓度/μg·L^{-1}	测得浓度/μg·L^{-1}	准确度/%	批内 RSD/%	批间 RSD/%
1 000	1 031.72±25.36	103.17	2.66	4.26
5 000	5 223.96±192.52	104.48	3.98	9.29
20 000	21 108.79±861.87	105.54	4.41	10.04

2.9 回收率考察

根据分析物提取回收率的含义：从生物样本基质中回收得到分析物质的响应值除以纯对照品产生的响应值，以从尿液中提取回收得到的伪麻黄碱和内标对乙酰氨基酚面积除以相应浓度的对照品溶液峰面积计算提取回收率，即 A/B(A：低、中、高浓度各 5 份，模拟尿液样品按“2.3”项下方法处理后进样所得峰面积；B：3 个浓度药物及内标溶媒样品各 10 μL 再加 100 μL 去离子水和 900 μL 流动相混匀后直接进样所得峰面积)。结果伪麻黄碱低、中、高浓度(1 000，5 000，20 000 μg·L^{-1})和内标对乙酰氨基酚的提取回收率分别为 90.90%、90.79%、94.47%和 90.66%，可见低、中、高 3 种浓度药物的提取回收率对测定的结果影响程度基本一致。

2.10 稳定性试验

2.10.1 伪麻黄碱尿液样品处理后进样前室温放置的稳定性试验　按“2.5”项下方法分别配制低、中、高浓度(1 000，5 000，20 000 μg·L^{-1})的尿液样品，每个浓度 6 份样品，分为 2 组，考察样品处理完成之后，样品进样之前用流动相复溶后分别在室温下避光放置 0 h 和 24 h 的稳定性。所有样品检测结果的 RSD 均<15%。结果见表 2。

2.10.2 伪麻黄碱尿液样品稳定性试验　按“2.5”项下方法分别配制低、中、高浓度(1 000，5 000，20 000 μg·L^{-1})的尿液样品，分为 7 组，每组各浓度 3 份样品，考察样品在室温避光放置 0 h 和 24 h，冻融 1 次、3 次以及–20 ℃冻存 1，10，20 d 的稳定性。所有样品检测结果的 RSD 在 3 种条件下均<15%，结果分别见表 3~5。

表 2 伪麻黄碱的室温放置稳定性试验结果(n=3, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Stability of the pseudophedrine under room temperature condition(n=3, $\bar{x} \pm s$)

加入浓度/μg·L^{-1}	室温放置 0 h		室温放置 24 h		总 RSD/%
	实测浓度/μg·L^{-1}	RSD/%	实测浓度/μg·L^{-1}	RSD/%	
1 000	1 046.17±24.56	2.35	1 069.92±11.66	1.09	2.04
5 000	5 229.08±56.03	1.07	5 180.78±17.33	0.33	0.88
20 000	20 933.06±440.53	2.10	20 578.25±83.17	0.40	1.66

表 3 尿液中伪麻黄碱室温避光放置的稳定性试验(n=3, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Stability of the pseudophedrine in urine under room temperature and avoid light conditions(n=3, $\bar{x} \pm s$)

加入浓度/μg·L^{-1}	室温放置 0 h		室温放置 24 h		总 RSD/%
	实测浓度/μg·L^{-1}	RSD/%	实测浓度/μg·L^{-1}	RSD/%	
1 000	1 064.03±6.22	0.58	1 042.21±13	1.25	1.43
5 000	5 200.46±18.43	0.35	5 164.74±62.97	1.22	0.89
20 000	20 605.23±313.94	1.52	20 514.85±184.25	0.90	1.15

表 4 尿液中伪麻黄碱–20 ℃冰箱避光冻存稳定性试验(n=3, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Stability of the pseudophedrine in urine under under –20 ℃ and avoid light conditions(n=3, $\bar{x} \pm s$)

加入浓度/μg·L^{-1}	冻存 1 d		冻存 10 d		冻存 20 d		总 RSD/%
	实测浓度/μg·L^{-1}	RSD/%	实测浓度/μg·L^{-1}	RSD/%	实测浓度/μg·L^{-1}	RSD/%	
1 000	1 064.23±13.36	1.26	977.04±41.39	4.24	1 043.76±6.11	0.59	4.39
5 000	5 127.65±20.48	0.40	4 835.22±59.94	1.24	5 083.42±36.23	0.71	2.82
20 000	20 944.83±124.81	0.60	19 702.26±200.3	1.02	20 106.51±70.8	0.35	2.78

表 5 尿液中伪麻黄碱的冻融稳定性试验(n=3, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 5 Stability of the pseudophedrine in urine under freeze thawing(n=3, $\bar{x} \pm s$)

加入浓度/μg·L^{-1}	冻融 1 次		冻融 3 次		总 RSD/%
	实测浓度/μg·L^{-1}	RSD/%	实测浓度/μg·L^{-1}	RSD/%	
1 000	1 053.28±23.56	2.24	1 092.79±14.86	1.36	2.06
5 000	5 231.51±37.5	0.72	5 413.91±60.33	1.11	2.06
20 000	20 635.27±143.7	0.70	21 250.03±779.44	3.67	2.88

2.11 临床应用

12 名健康成年受试者，单次口服伪麻黄碱药样溶液(愈酚伪麻氢可酮口服溶液)10 mL，收集给药前 0 h 及给药后 0~2 h、2~4 h、4~8 h、8~12 h、12~24 h 各时间段尿液，按“2.3”项下方法处理后对其进行检测，单次给药后 0~24 h 平均尿药排泄量伪麻黄碱为 26.95 mg，测得尿液中伪麻黄碱的平均累计排泄率为 44.57%。绘制平均累积排泄率-时间曲线，结果见图 2。

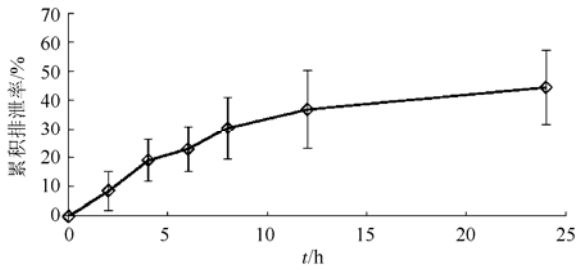


图 2 伪麻黄碱的平均累积排泄率-时间曲线图

Fig. 2 Mean accumulated excretion rate-time profiles of pseudophedrine in urin

3 讨论

本实验采用 LC-MS/MS 测定人尿液中伪麻黄碱的浓度，以 MRM 扫描(伪麻黄碱 m/z 166.2→148.1)方式进行定量分析。根据分子碎片的大小均匀程度摸索碰撞能量和裂解电压，最终确定碰撞能量 27 eV，裂解电压 165 V。12 名健康受试者口服含伪麻黄碱 6 mg·mL^{-1} 溶液，给药 10 mL 进行药动学研究。定量下限为 500 μg·L^{-1}，定量上限为 300 000 μg·L^{-1} 远远高于文献[3]中的上限。

本研究采用的内标对乙酰氨基酚与伪麻黄碱的分子结构相似，与被测物有相似检测器响应，稳定。采用蛋白沉淀法对样品进行处理，较简单，通过比较发现甲醇-水(3∶1，含 5 mmol·L^{-1} 甲酸铵)效果较好，基质效应较小。

本实验分析测试时间短，能缩短临床试验周期。

口服临床治疗剂量伪麻黄碱后，伪麻黄碱部分代谢为无活性代谢产物，55%~75%以原形从尿中排泄。本实验测得伪麻黄碱尿液中平均累计排泄率为 44.57%，低于药品说明书中平均累计排泄率的范围，推断可能主要由于 12 名健康成年受试者样本量不足，个体间的差异较大，同时由于受试药是复方制剂，药物之间存在相互影响。本研究建立了快速测定尿药中伪麻黄碱浓度的液相色谱-串联质谱法，该方法简单、便捷、结果可靠，可用于尿药中伪麻黄碱浓度的分析。

REFERENCES

[1] ZHONG M K, SHI X J, ZHANG J H, et al. Pharmacokinetics of pseudoephedrine sustained released tablet in health volunteers [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2001, 21(7): 395-397.

[2] YANG H Y, CHEN X Y, XU H Y, et al. Determination of pseudoephedrine in the human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Shenyang Pharm Univ(沈阳药科大学学报), 2001, 18(2): 116-118.

[3] LIU Y, ZHANG F C, JIANG Y. Determination of trace ephedrine and pseudoephedrine in urine sample by hollow fiber-liquid phase microextraction and HPLC [J]. J Instrum Anal(分析测试学报), 2012, 31(6): 725-729.

[4] HUANG F Y, LIU S J, LIU B G. Determination of pseudephedrine in human plasma by LC-MS/MS and its pharmacokinetics [J]. Cent South Pharm(中南药学), 2009, 7(11): 836-839.

[5] WANG L L, FANG Y, GE W H. Determination of pseudoephedrine hydrochloride in human plasma by LC-MS [J]. J China Pharm(中国药房), 2007, 18(32): 2510-2511.

[6] FANG J M, LI J H, ZHU Y G, et al. Simultaneous determination of fexofenadine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in human plasma by LC-MS/MS [J]. Guid China Med(中国医药指南), 2011, 9(16): 14-16.

[7] TAN F, JIANG X H, REN J, et al. Determination of pseudoephedrine hydrochloride in human plasma by LC-MS/MS [J]. West China J Pharm Sci(华西药学杂志), 2010, 25(1): 100-102.

[8] 孙峥, 龙项, 彭词艳, 等. 高效液相色谱-质谱联用法同时测定人血浆中对乙酰氨基酚伪麻黄碱和氯苯那敏的浓度[J]. 中国药物与临床, 2012, 12(12): 1596-1598.

[9] DEVENTER K, POZO O J, VAN EENOO P, et al. development and validation of an LC-MS/MS met-hod for the quantification of ephedrines in urine [J]. J Chromatogr B, 2009, 877(4): 369-374.

[10] MIRMAHDIEH S, KHAYAMIAN T, SARAJI M. Analysis of dextromethorphan and p-seudoephedrine in human plasma and urine sa-mples using hollow fiber-based liquid-liquid-liq-uid microextraction and corona discharge ionm-obility spectrometry [J]. Microchimica Acta, 2012, 2(176): 471-478.

[11] DOWLING G, REGAN L, TIERNEY J, et al. A hybrid liquid chromatography-mass spectrometry strategy in a forensic laboratory for opioid, cocaine and amphetamine classes in human urine using a hybrid linear ion trap-triple quadrupole mass spectrometer [J]. J Chromatogr A, 2010, 44(1217): 6857-6866.

收稿日期：2014-07-31

UPLC 测定钩吻素子的含量及其水溶液稳定性

叶丽香[a]，苏燕评[b]，曹大炫[a]，林菁[a,b]，俞昌喜[a,b*](福建医科大学，a.福建省新药安全性评价中心；b.药学院，福州 350108)

摘要：目的 建立超高效液相色谱法测定钩吻素子的含量，并考察其水溶液在室温条件下的稳定性。**方法** 采用 Agilent Extend-C_{18}(2.1 mm×100 mm，1.8 μm)色谱柱，以乙腈-0.2%正丁胺水溶液(30∶70)为流动相，流速 0.5 mL·min^{-1}，检测波长 256 nm，测定 3 个批次钩吻素子的含量，并考察钩吻素子水溶液在室温条件下稳定性。**结果** 钩吻素子分离度良好；在 10.19~112.2 μg·mL^{-1} 内线性关系良好(r=0.999 7)，定量限为 0.1 μg·mL^{-1}；平均回收率为 100.4%(RSD=0.45%，n=9)；3 个批次钩吻素子平均含量为 99.97%；钩吻素子水溶液室温条件下连续 7 d 稳定性良好。**结论** 该方法简单易行、专属性强，准确可靠，适用于钩吻素子含量测定，且本品水溶液稳定性良好。

关键词：钩吻素子；超高效液相色谱法；含量测定；稳定性

中图分类号：R917.101 **文献标志码：**B **文章编号：**1007-7693(2015)04-0471-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.04.021

Content Determination and Stability of Koumine by UPLC

YE Lixiang[a], SU Yanping[b], CAO Daxuan[a], LIN Jing[a,b],YU Changxi[a,b*](*Fujian Medical University, a.Fujian Center for Safety Evaluation of New Drug; b.College of Pharmacy, Fuzhou 350108, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a ultra high performance liquid chromatography(UPLC) method for determination of koumine and to study the stability of koumine solution at room temperature. **METHODS** The analysis was achieved by Agilent Extend-C_{18} chromatogram column(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm). The mobile phase composed of acetonitrile-0.2% butylamine

基金项目：福建省自然科学基金资助项目(2013J01374)；福建医科大学重大科研项目计划(09ZD009)

作者简介：叶丽香，女，硕士，助理研究员 Tel: (0591)22862587 E-mail: ylxdoudou2007@126.com *通信作者：俞昌喜，男，博士，教授，博导 Tel: (0591) 22862587 E-mail: changxiyu@mail.fjmu.edu.cn