

## · 药理与临床 ·

## 黑顺片血浆指纹图谱与抗心衰作用的谱效关系研究

吴环宇, 许妍妍\*, 卢志强, 李遇伯, 孙洋, 张艳军

天津中医药大学中药学院 天津市中药化学与分析重点实验室, 天津 300193

**摘要:** 目的 探讨 ig 黑顺片(附子炮制品)醇提物后大鼠血浆指纹图谱与药效指标(血压、心率)间的谱效关系,以阐明附子抗心衰作用的药效物质基础。方法 利用 UPLC-QTOF/MS 建立大鼠 ig 黑顺片醇提物的血浆指纹图谱,并连续监测心衰大鼠的血压和心率,再用偏最小二乘回归(PLSR)法对黑顺片入血成分指纹峰与药效指标进行相关性分析。结果 从黑顺片血浆指纹图谱中筛选出 13 个入血成分,通过 PLSR 分析发现次乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱和 3,13-脱氧苯甲酰乌头原碱的血浆药物浓度变化与心率或血压变化呈显著正相关性,且 VIP 值大于 1。结论 次乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱和 3,13-脱氧苯甲酰乌头原碱为黑顺片抗心衰作用的潜在药效物质。

**关键词:** 黑顺片; 附子; 血浆指纹图谱; 抗心衰; 谱效关系

中图分类号: R285.51 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)06-0861-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.06.014

## Spectrum-effect relationship between fingerprint in plasma of *Heishunpian* and its anti-heart failure effect

WU Huan-yu, XU Yan-yan, LU Zhi-qiang, LI Yu-bo, SUN Yang, ZHANG Yan-jun

Tianjin Key Laboratory of Chinese Chemistry and Analysis, College of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

**Abstract: Objective** To investigate the spectrum-effect relationship between the fingerprint in plasma of *Heishunpian* (black-processed pieces of *Aconit Lateralis Radix Praeparata*) and its pharmacodynamic parameters (blood pressure and heart rate) after ig administration to rats, and to elucidate its effective substances. **Methods** Ultra performance liquid chromatography with quadrupole and time-of-flight mass spectrometry (UPLC-QTOF/MS) was used for fingerprint profiling by analyzing plasma samples obtained after ig administration of the ethanol extract from *Heishunpian* to rats. Meanwhile, the blood pressure and heart rate of heart-failure rats were continuously monitored and recorded. The relationship between the absorbed fingerprint and pharmacodynamic parameters of *Heishunpian* was established by correlation analysis with partial least square regression (PLSR) method. **Results** A total of 13 alkaloids were detected in rat plasma, among which hypaconine, benzoylmesaconitine, benzoylhypaconitine, and 3,13-deoxybenzoylaconitine were found to be significantly and positively related to the pharmacodynamic data with VIP > 1. **Conclusion** Hypaconine, benzoylmesaconitine, benzoylhypaconitine, and 3,13-deoxybenzoylaconitine are potential effective substances with anti-heart failure effects of *Heishunpian*.

**Key words:** *Heishunpian*; *Aconit Lateralis Radix Praeparata*; fingerprint in plasma; anti-heart failure; spectrum-effect relationship

附子 *Aconiti Lateralis Radix Preparata* 为毛茛科 (Ranunculaceae) 乌头属 *Aconitum* L. 植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 子根的加工品<sup>[1]</sup>, 其中生物碱类成分为附子主要有效成分和毒性成分<sup>[2]</sup>。附子具有强心作用, 能够增强心肌收缩力<sup>[3]</sup>, 已有研究表明附子具有抗心衰作用<sup>[4-6]</sup>, 也发现了某些具

有强心作用的药效物质<sup>[2,7]</sup>, 但是中药的整体药效并非某个化学成分起作用, 而是药材内所含药效物质成分群的整体作用结果<sup>[8]</sup>。目前中药谱效关系学已经广泛用于中药的药效物质基础研究<sup>[9-15]</sup>, 但附子抗心衰作用的物质基础研究相对较少。

本实验以黑顺片(附子炮制品)为研究对象,

收稿日期: 2014-08-27

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(“973”计划)资助项目(2011CB505300, 2011CB505302); 天津市高等学校科技发展基金计划项目(20140208)

作者简介: 吴环宇(1988—), 男, 硕士研究生, 研究方向为药物分析和中药药理学。E-mail: wuwhy123@163.com

\*通信作者 许妍妍 Tel: (022)59596221 E-mail: candyxy@gmail.com

采用 UPLC-QTOF/MS 技术建立大鼠 ig 黑顺片醇提物后的血浆指纹图谱, 经偏最小二乘回归 (PLSR) 法分析入血成分指纹峰与药效指标 (血压、心率) 之间的相关性, 从而进行谱效关系研究, 探索血浆化学特征谱与药效随时间的变化规律, 筛选附子抗心衰药效物质成分群, 以期为阐释附子的强心作用以及建立质量评价体系提供实验依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

AX205 十万分之一天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司); 3-18K 冷冻干燥离心机 (美国 Sigma 公司); Waters Xevo G2 型超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱联用仪 (美国 Waters 公司); XW-80A 旋涡混合器 (江苏海门市麒麟医用仪器厂); HAC-I 自动浓缩氮吹仪 (天津市恒奥科技发展有限公司); HH-S<sub>8</sub> 数显恒温水浴锅 (金坛市盛蓝仪器制造有限公司); Sartorius BT 125D 电子天平 (北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

### 1.2 试药

黑顺片购自北京华邈中药工程技术开发中心 (批号 305231), 经天津中医药大学李天祥副教授鉴定为附子炮制品黑顺片。次乌头碱 (批号 110798-200805)、苯甲酰乌头原碱 (批号 110797-200405)、苯甲酰中乌头原碱 (批号 111796-201002)、苯甲酰次乌头原碱 (批号 11795-200901), 质量分数均  $\geq 98\%$ , 购自中国食品药品检定研究院; 乌头原碱 (批号 MUST-12051501)、脱氧乌头碱 (批号 T-043-130108)、尼奥林 (N-019-130626) 及高乌甲素 (批号 G-005-130728), 质量分数均  $\geq 98\%$ , 购自成都瑞芬思生物科技有限公司。乌拉坦 (美国 Sigma 公司); 乙腈 (色谱级)、甲醇 (色谱级, 美国 Fisher 公司); 纯净水 (杭州娃哈哈集团有限公司), 其余试剂均为分析纯。

### 1.3 动物

雄性 SD 大鼠, 体质量 (250 $\pm$ 40) g, 由军事医学科学院提供, 许可证号 SCXK-(军)2012-0004。在温度 20~22 °C, 相对湿度 45%~65%, 光照/黑暗 12 h/12 h 条件下饲养, 自由饮食、饮水, 适应性饲养 1 周后开始实验。

## 2 方法

### 2.1 色谱与质谱条件

**2.1.1 液相条件** 色谱柱为 Waters ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7  $\mu$ m); 流动

相为水 (含 0.1% 甲酸, A)-乙腈 (含 0.1% 甲酸, B); 按表 1 中程序进行梯度洗脱; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 40 °C; 进样量 10  $\mu$ L。

表 1 流动相梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution procedure of mobile phase

t/min	A/%	B/%
0	90	10
2.0	90	10
7.0	85	15
15.0	70	30
21.0	61	39
25.0	50	50
26.0	1	99
30.0	1	99
30.5	90	10
40.0	90	10

**2.1.2 质谱条件** 采用电喷雾离子源 (ESI) 正离子扫描模式, 质量扫描范围为  $m/z$  175~1 000, 毛细管电压 3 kV, 雾化气压力 241.32 kPa, 氮气作为干燥气体, 干燥气体积流量 800 L/h, 干燥气温度 350 °C, 锥孔电压 45 V, 校正离子为  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> 556.27 的亮氨酸-脑啡肽, 测定样品前采用混标调谐液校准质量轴。

### 2.2 溶液的制备

**2.2.1 内标溶液的制备** 精密称取高乌甲素 1.03 mg, 置于 1 mL 棕色量瓶中, 用乙腈溶解, 定容至刻度, 静置, 吸取高乌甲素溶液 (50  $\mu$ g/mL) 100  $\mu$ L, 加入到 100 mL 量瓶中, 用乙腈溶解, 定容至刻度, 即得质量浓度 50 ng/mL 的内标溶液, 4 °C 保存待用。

**2.2.2 乌拉坦溶液的制备** 称取乌拉坦晶体 10 g, 用生理盐水稀释定容至 50 mL, 配成质量浓度为 0.2 g/mL 的乌拉坦溶液。

**2.2.3 黑顺片药液的制备** 称取 85 g 黑顺片粉末, 置于 1 000 mL 圆底烧瓶中, 加入 10 倍量 70% 乙醇浸泡 30 min, 水浴加热 1 h (煮沸), 静置 10 min, 8 层纱布滤过; 残渣加入 8 倍量 70% 乙醇水浴加热 1 h, 静置 10 min, 8 层纱布滤过; 合并滤液, 60 °C 旋蒸浓缩至半流动状态, 得质量浓度 3.617 g/mL 的黑顺片醇提物浸膏。

### 2.3 动物实验

20 只健康雄性 SD 大鼠, 随机分为 2 组, 每组 10 只, 分别进行血样采集和药效指标测定, 给药前禁食 12 h, 自由饮水。

**2.3.1 血样采集** 取 10 只大鼠 ig 给予黑顺片醇提取物, 给药剂量为 36.17 g/kg, 给药体积 10 mL/kg, 分别于给药前和给药后 7、30、60、120 min 颈静脉插管取血约 0.8 mL, 置于肝素化 1.5 mL 炮弹管中, 13 000 r/min 离心取上清, -80 °C 保存待用。

**2.3.2 药效指标测定** 另取 10 只大鼠经 ip 戊巴比妥钠(质量浓度为 20 mg/mL, 给药体积为 10 mL/kg) 造成急性心衰模型, 按“血样采集”项方法 ig 给予黑顺片醇提取物, 用八导生理记录仪连续监测并记录大鼠心率及血压变化。

**2.4 样品前处理**

取血浆样品 400 μL, 加入内标溶液 50 μL, 加入 1 150 μL 乙腈, 涡旋混匀 3 min, 4 °C、13 000 r/min 离心 20 min, 取上清液于 40 °C 温和 N<sub>2</sub> 流吹干, 100 μL 甲醇-水(1:1) 复溶, 涡旋振荡 1 min 后, 4 °C、13 000 r/min 离心 5 min, 取 10 μL 上清液进样, 进行 UPLC-QTOF/MS 分析。

**2.5 数据处理**

通过 MasslynxV4.1 进行峰提取, 寻找潜在的化合物, 以入血成分的峰面积与内标的峰面积之比来表示化合物的相对量, 再通过 SIMCA-P 11.5 中的 PLSR 分析建立入血化合物与药效学指标心率和血压之间的相关性, 以显著正相关性且 VIP 值大于 1 筛选潜在的药效物质。

**3 结果**

**3.1 大鼠心率与血压的经时变化规律**

大鼠 ig 黑顺片醇提取物后心率与血压随时间的变化规律见图 1, 可见黑顺片醇提取物起效较快, 在给药后 15 min 内达到最强, 随后下降, 至 2 h 药效最弱。

**3.2 血浆指纹图谱的建立**

色谱与质谱联用技术最大限度地提取有用信息, 并进行数据的解析和特征信息的有效提取<sup>[16]</sup>, 经 UPLC-QTOF/MS 建立了黑顺片醇提取物的大鼠血

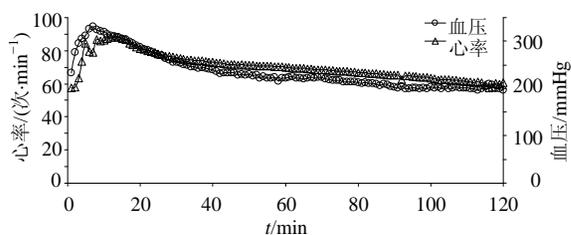


图 1 大鼠 ig 黑顺片醇提取物后心率与血压的经时变化规律  
Fig. 1 Change rule with time of heart rate and blood pressure of rats after ig administration of ethanol extract from Heishunpian

浆指纹图谱。通过 MasslynxV4.1 进行峰提取, 得到 13 个潜在的目标化合物, 见图 2。13 种成分经与对照品对比、MS/MS 质谱分析以及文献数据<sup>[17-21]</sup>对照, 鉴定结果见表 2。

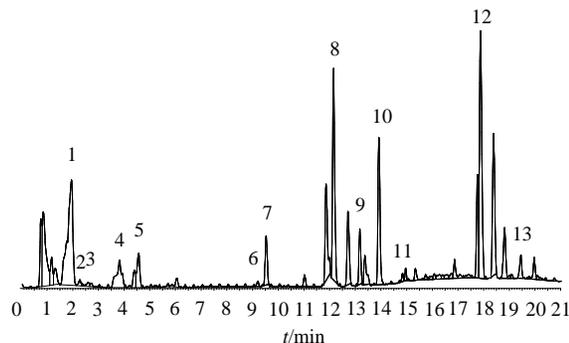


图 2 大鼠 ig 黑顺片醇提取物 30 min 后血浆样品的典型基峰强度色谱 (BPC) 图

Fig. 2 BPC of plasma sample of rats at 30 min after ig administration of ethanol extract from Heishunpian

表 2 大鼠血浆中 13 种生物碱成分的鉴别

Table 2 Identification of 13 absorbed alkaloids in rat plasma

峰号	t <sub>R</sub> /min	[M+H] <sup>+</sup> m/z	分子式	化合物名称
1	1.83	486.268 9	C <sub>24</sub> H <sub>39</sub> NO <sub>9</sub>	中乌头原碱
2	2.32	408.272 5	C <sub>23</sub> H <sub>37</sub> NO <sub>5</sub>	异塔拉定
3	2.62	500.287 4	C <sub>25</sub> H <sub>41</sub> NO <sub>9</sub>	乌头原碱
4	3.83	470.274 2	C <sub>24</sub> H <sub>39</sub> NO <sub>8</sub>	次乌头原碱
5	4.56	438.285 2	C <sub>24</sub> H <sub>39</sub> NO <sub>6</sub>	尼奥林
6	9.19	464.301 1	C <sub>26</sub> H <sub>41</sub> NO <sub>6</sub>	14-乙酰塔拉地萨敏
7	9.51	606.292 2	C <sub>31</sub> H <sub>43</sub> NO <sub>11</sub>	10-羟基苯甲酰中乌头原碱
8	12.14	590.296 3	C <sub>31</sub> H <sub>43</sub> NO <sub>10</sub>	苯甲酰中乌头原碱
9	13.16	604.311 9	C <sub>32</sub> H <sub>45</sub> NO <sub>10</sub>	苯甲酰乌头原碱
10	13.91	574.304 8	C <sub>31</sub> H <sub>43</sub> NO <sub>9</sub>	苯甲酰次乌头原碱
11	14.83	558.306 2	C <sub>31</sub> H <sub>44</sub> NO <sub>8</sub>	3,13-脱氧苯甲酰乌头原碱
12	17.74	616.310 7	C <sub>33</sub> H <sub>45</sub> NO <sub>10</sub>	次乌头碱
13	19.42	630.333 7	C <sub>34</sub> H <sub>48</sub> NO <sub>10</sub>	3-脱氧乌头碱

**3.3 PLSR 分析**

通过血浆指纹图谱筛选出 13 个特征峰, 这些特征峰与药效(血压和心率)之间的关系可看作一个多元线性回归分析问题。多元线性回归分析是研究在线性相关的条件下, 多个自变量(如指纹图谱中的色谱峰)对因变量(如药效指标)的数量变化关系<sup>[22]</sup>。采用 SIMCA-P 11.5 软件对这 13 个入血化合物的相对含量(X 变量)分别与心率/血压(Y 变量)进行 PLSR 分析。

**3.3.1 黑顺片醇提取物血浆指纹图谱与心率的相关性** 13 个入血化合物与心率变化的 PLSR 回归系数见图 3

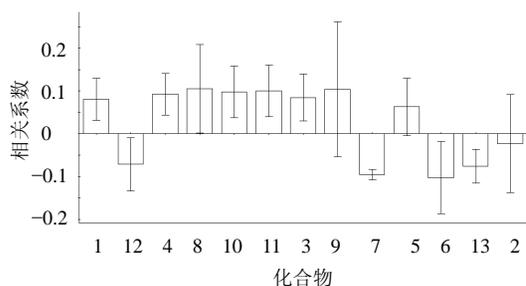


图 3 入血化合物与心率变化的 PLSR 回归系数图  
Fig. 3 PLSR coefficients of changes between heart rate and concentration of absorbed compounds

(化合物 1~13 分别对应表 2 中峰号 1~13), 相关性回归方程为:  $Y=2.0337+0.0807X_1-0.0225X_2+0.0849X_3+0.0926X_4+0.0628X_5-0.1025X_6-0.0955X_7+0.1051X_8+0.1037X_9+0.0978X_{10}+0.1006X_{11}-0.0710X_{12}-0.0760X_{13}$  ( $Y$  为心率,  $X_1\sim X_{13}$  分别为化合物 1~13 的相对含量)。

由图 3 可见, 中乌头原碱、尼奥林、乌头原碱、次乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰中乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱和 3,13-脱氧苯甲酰乌头原碱与心率呈正相关; 异塔拉定、14-乙酰塔拉地萨敏、10-羟基苯甲酰中乌头原碱、次乌头碱和 3-脱氧乌头碱与心率呈负相关。其中乌头原碱、中乌头原碱、次乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱和 3,13-脱氧苯甲酰乌头原碱与心率有显著的正相关性 ( $P<0.05$ ); 14-乙酰塔拉地萨敏、10-羟基苯甲酰中乌头胺、次乌头碱和 3-脱氧乌头碱与心率有显著的负相关性 ( $P<0.05$ )。

自变量在解释对因变量的贡献程度的大小时可以通过 VIP 的数值大小来决定, 一般认为 VIP 值大于 1, 即对模型有显著的贡献。通过 SIMCA 软件处理得到次乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、14-乙酰塔拉地萨敏、10-羟基苯甲酰中乌头原碱、苯甲酰中乌头原碱、苯甲酰乌头原碱和 3,13-脱氧苯甲酰乌头原碱的  $VIP>1$ , 对模型有显著的贡献 ( $P<0.05$ )。

**3.3.2 黑顺片醇提物血浆指纹图谱与血压的相关性**  
13 个入血化合物与血压变化的 PLSR 回归系数见图 4 (化合物 1~13 分别对应表 2 中峰号 1~13), 相关性回归方程为:  $Y=1.1288+0.0795X_1+0.0026X_2+0.0793X_3+0.0888X_4+0.0526X_5-0.0892X_6-0.1060X_7+0.0785X_8+0.0569X_9+0.0949X_{10}-0.0916X_{11}+0.1087X_{12}-0.1047X_{13}$  ( $Y$  为血压,

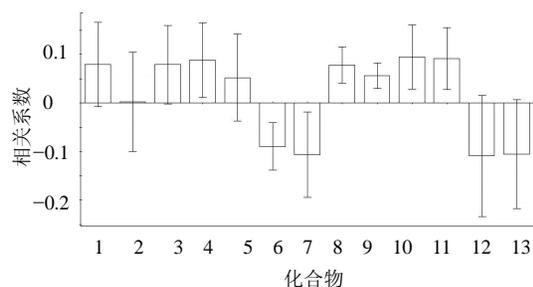


图 4 入血化合物与血压变化的 PLSR 回归系数图  
Fig. 4 PLSR coefficients of changes between blood pressure and concentration of absorbed compounds

$X_1\sim X_{13}$  分别为化合物 1~13 的相对含量)。

由图 4 可见, 中乌头原碱、乌头原碱、尼奥林、次乌头原碱、苯甲酰中乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱和 3,13-脱氧苯甲酰乌头原碱与血压呈正相关; 异塔拉定、14-乙酰塔拉地萨敏、10-羟基苯甲酰中乌头原碱、次乌头碱和 3-脱氧乌头碱与血压呈负相关。其中次乌头原碱、3,13-脱氧苯甲酰乌头原碱、苯甲酰乌头原碱、苯甲酰新乌头原碱和苯甲酰次乌头原碱与血压有显著的正相关性 ( $P<0.05$ ); 10-羟基苯甲酰中乌头原碱和 14-乙酰塔拉地萨敏与血压有显著的负相关性 ( $P<0.05$ )。通过 SIMCA 分析可得次乌头碱、14-乙酰塔拉地萨敏、3,13-脱氧苯甲酰乌头原碱、次乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱、3-脱氧乌头碱和 10-羟基苯甲酰中乌头原碱的  $VIP>1$ , 对模型有显著的贡献 ( $P<0.05$ )。

#### 4 讨论

附子的主要成分为  $C_{19}$ -乌头碱型二萜生物碱, 根据其结构特点, 可分为双酯型、单酯型、脂型和醇胺型二萜生物碱, 以往文献多报道双酯型生物碱为其活性成分, 同时毒性亦最大<sup>[23]</sup>, 在炮制过程中双酯型生物碱逐渐水解, 成为单酯型生物碱和醇胺型生物碱, 毒性大大降低<sup>[24]</sup>。本实验通过对附子炮制品黑顺片大鼠血浆指纹图谱与抗心衰作用进行谱效关系分析, 结果表明次乌头原碱、苯甲酰中乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱和 3,13-脱氧苯甲酰乌头原碱与心率或血压变化呈显著正相关性, 且对模型有显著贡献, 推测其为附子 (黑顺片) 抗心衰作用的潜在药效物质, 提示单酯型和醇胺型生物碱可作为黑顺片的质量评价指标。

中药药效物质基础是阐明中药作用奥秘的关键, 是中药质量评价的基础与核心。传统的药效物

质研究模式使得中药质量评价体系中化学成分与药效脱节,而谱效关系分析是中医药研究领域内全新的、处于学术前沿的中药现代化研究思路,它是建立在中药材指纹图谱的研究基础之上,建立其化学成分与药效之间的关联性<sup>[25]</sup>。目前谱效分析研究多关注中药材化学指纹图谱与药理活性的相关性,而中药多口服给药,大部分需要吸收入血后才能发挥药效作用<sup>[26]</sup>。因此本实验建立黑顺片的大鼠血浆指纹图谱,测定入血成分与药效指标的关联性,发现黑顺片抗心衰的潜在物质基础。受本实验所建立的分析方法的灵敏度限制,且预试验中模型动物在心衰状态下连续采血易引起死亡,本实验采用两组动物分别进行血样采集与药效指标测定,在后续研究中尚需进一步改进方法,以增加分析结果的可靠性。

#### 参考文献

- [1] 刘敏,张海,蔡亚梅,等. 附子总生物碱提取物中3个双酯型和3个单酯型乌头碱成分的含量测定[J]. 药学实践杂志, 2013, 31(3): 181-184.
- [2] 徐瞰海,赵洪峰,徐雅娟. 四川江油生附子强心成分的研究[J]. 中草药, 2004, 35(9): 964-9661.
- [3] Marchart K. Qualitative and quantitative analysis of Chinese medical herbs for the prevention and therapy of acute myocardial infarction and diabetes [D]. Vienna: University of Vienna, 2011.
- [4] 秦永刚,张建平. 不同蒸煮时间对附子强心作用及心脏毒性的影响[J]. 医学信息: 医学与计算机应用, 2002, 15(10): 618-618.
- [5] 李立纪,张风雷,吴荣祖,等. 附子和附片回阳救逆作用的比较研究[J]. 中药药理与临床, 2006, 21(6): 31-33.
- [6] 展海霞,彭成. 附子与干姜配伍对心衰大鼠血流动力学的影响[J]. 中药药理与临床, 2006, 22(1): 42-44.
- [7] Liu X X, Jian X X, Cai X F, et al. Cardioactive C<sub>19</sub>-diterpenoid alkaloids from the lateral roots of *Aconitum carmichaeli* "Fu Zi" [J]. *Chem Pharm Bull*, 2012, 60(1): 144-149.
- [8] 邓书鸿,聂磊. 中药谱效关系的分析方法及数据处理技术研究进展[J]. 中药材, 2011, 33(11): 1819-1823.
- [9] 陈华国,赵宏宾,赵超,等. 虎杖提取物 HPLC 指纹图谱归属分析及谱效关系初探[J]. 中国药房, 2010, 21(19): 1775-1776.
- [10] 仝立国,宋美卿,冯玛莉,等. 谱效关系分析蛇床子镇静催眠的活性物质[J]. 山西中医, 2011, 27(6): 52-53.
- [11] 顾英,冯怡,徐德生. 芍药甘草效应组分血清指纹图谱与药效的相关性研究[J]. 中成药, 2008, 30(1): 6-10.
- [12] 林立,刘晓秋. 泻白散 HPLC 谱效关系初探[J]. 中国现代中药, 2009, 11(8): 35-37.
- [13] 訾慧. 吴茱萸-当归药对配伍及谱效关系研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2009.
- [14] 张华锋,刘炯,张杰,等. 基于聚类分析和典型相关分析的北柴胡保肝作用谱效关系研究[J]. 中草药, 2013, 44(19): 2696-2702.
- [15] 杨英来,胡芳,刘小花,等. 当归补气活性部位的谱效关系研究[J]. 中草药, 2013, 44(23): 3346-3351.
- [16] 梁鑫森,徐青. 中药药效组分的指纹图谱分析思路与方法[J]. 中国天然药物, 2003, 1(1): 57-60.
- [17] 谭光国. 中药四逆汤化学物质组和代谢组学研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2012.
- [18] 许妍妍,程丽丽,李遇伯,等. RRLC-QTOF/MS 研究不同比例制川乌与瓜蒌配伍前后化学成分变化[J]. 中草药, 2013, 44(17): 2372-2379.
- [19] Zhang J, Huang Z H, Qiu X H, et al. Neutral fragment filtering for rapid identification of new diester-diterpenoid alkaloids in roots of *Aconitum carmichaeli* by ultra-high-pressure liquid chromatography coupled with linear ion trap-orbitrap mass spectrometry [J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e52352.
- [20] Hu R, Zhao J, Qi L W, et al. Structural characterization and identification of C<sub>19</sub>- and C<sub>20</sub>-diterpenoid alkaloids in roots of *Aconitum carmichaeli* by rapid-resolution liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2009, 23(11): 1619-1635.
- [21] Wu J, Hong B, Wang J, et al. The comparative research on constituents of *Radix Aconiti* and its processing by HPLC quadrupole TOF-MS [J]. *Biomed Chromatogr*, 2012, 26(11): 1301-1307.
- [22] Wold S, Sjostrom M, Eriksson L. PLS-regression: a basic tool of chemometrics [J]. *Chemometr Intell Lab Syst Lab Inf Manage*, 2001, 58(2): 109-130.
- [23] 李志勇,李彦文,孙建宁,等. 乌头类植物药三种双酯型生物碱研究进展[J]. 中央民族大学学报: 自然科学版, 2009, 18(2): 87-91.
- [24] 陈信义,李峨,侯丽,等. 乌头类生物碱研究进展与应用前景评述[J]. 中国中医药信息杂志, 2004, 11(10): 922-923.
- [25] 冯看,刘华钢,雷欣潮,等. 中药谱效学研究现状[J]. 中国中医药信息杂志, 2012, 19(6): 103-105.
- [26] 王喜军. 中药及中药复方的血清药物化学研究[J]. 世界科学技术—中药现代化, 2002, 4(2): 1-4.