

# 中药中运动员禁用 $\beta_2$ 激动剂去甲乌药碱的检测及阳性风险防控策略

邬伟魁<sup>1</sup>, 严倩茹<sup>1\*</sup>, 宋伟<sup>2</sup>(1.梅州市食品药品监督管理局, 广东 梅州 514000; 2.武汉大学人民医院药学部, 武汉 430060)

**摘要:** 去甲乌药碱(higenamine, HG)具有多种生物活性, 广泛存在于药用植物中, 具有较高的医用价值。由于HG具有 $\beta_2$ 受体激动作用, 近年世界反兴奋剂机构(World Anti-doping Agency, WADA)将其列为禁用物质。目前, 含HG中药及其检测方法研究缺乏系统的归纳总结。本文对中药中运动员禁用兴奋剂HG的检测方法进行系统分析, 旨在为中药中HG的检测及误用风险防控提供参考, 为含兴奋剂中药科学监管提供新思路。

**关键词:** 中药; 去甲乌药碱; 检测; 兴奋剂;  $\beta_2$ 激动剂; 阳性检测结果

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2023)01-0133-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2023.01.020

引用本文: 邬伟魁, 严倩茹, 宋伟. 中药中运动员禁用 $\beta_2$ 激动剂去甲乌药碱的检测及阳性风险防控策略[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(1): 133-138.

## Detection Methods of $\beta_2$ Agonists Higenamine, Doping in Sport in Traditional Chinese Medicine and the Adverse Analytical Finding Prevention Strategy

WU Weikui<sup>1</sup>, YAN Qianru<sup>1\*</sup>, SONG Wei<sup>2</sup>(1.Meizhou Institute for Food and Drug Control, Meizhou 514000, China; 2.Department of Pharmacy, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China)

**ABSTRACT:** Higenamine(HG) is a bioactive substance, which widely exists in medicinal plants, has high medical values. However, HG is banned by the World Anti-doping Agency(WADA) because of the  $\beta_2$  agonistic activity. At present, the research on traditional Chinese medicine(TCM) containing HG and related detection methods has not been systematically summarized. This paper summarized the detection methods of HG, doping in sport in TCM, hoping to provide a reference for the detection and misuse risk control of HG in TCM, and provide a new idea about the scientific supervision of TCM containing doping.

**KEYWORDS:** traditional Chinese medicine; higenamine; testing; doping;  $\beta_2$  agonists; adverse analytical finding

竞技体育竞争激烈, 运动员通过使用兴奋剂可促进体能恢复、增加肌肉力量及耐力, 获得一定的竞争优势。随着体育竞技的职业化、商业化发展, 部分运动员有违规使用兴奋剂的行为。但是, 兴奋剂的使用既影响运动员的身心健康, 又有违公平原则。出于医学与道德原因, 世界反兴奋剂机构(World Anti-doping Agency, WADA)、中国反兴奋剂中心(China Anti-doping Agency, CADA)禁止运动员在体育赛事中使用兴奋剂。WADA将禁用物质和方法列入《禁用清单》(Prohibited List, PL)<sup>[1]</sup>, 该清单每年更新1次, 引起了人们的高度重视。

1974年, 日本研究者从附子中分离得到去甲乌药碱(higenamine, HG)<sup>[2]</sup>, 初步证实HG具有心血管药理活性。天然产物中HG的含量较低, 1975年, 中国研究者合成HG, 逐渐开展药理、临床研究。HG具有丰富的药理活性, 在医药研究中备受

关注<sup>[3]</sup>。在现实生活中, HG具有两面性, 一方面HG具有明确药理作用, 医疗价值巨大; 另一方面, HG被WADA定为 $\beta_2$ 激动剂类禁用物质<sup>[4]</sup>。近年来人们发现HG广泛存在于多种食物、药用植物中, 运动员误用风险防控难度较大。因此, 加强含HG中药检测, 科学开展食源性HG误服风险识别研究, 强化HG阳性检测结果(adverse analytical finding, AAF)风险防控成为近年研究热点。中药中HG的检测技术丰富多样, 但有用信息碎片化, 未见相关综述报道。鉴于HG具有分布广泛性、低摄入量即可出现AAF的特点, 本文对HG的检测方法进行分析, 对AAF风险防控提出建议, 为含HG中药质量评价、违禁兴奋剂检测、相关政策制定提供参考依据。

### 1 HG的化学结构类型、活性及毒理研究

#### 1.1 化学结构类型

HG是一种白色结晶状物质, 溶于甲醇和水,

基金项目: 广东省药品监督管理局科技创新项目(2021TDB09)

作者简介: 邬伟魁, 男, 硕士, 副主任中药师 E-mail: weikuiwu@qq.com \*通信作者: 严倩茹, 女, 硕士, 副主任中药师 E-mail: 499476976@qq.com

CAS 号: 5843-65-2, 分子式:  $C_{16}H_{17}NO_3$ , 结构见图 1。HG 来源于苯丙氨酸及酪氨酸途径, 其基本骨架含有 1 个四氢异喹啉与苜基, 属于苜基四氢异喹啉生物碱。

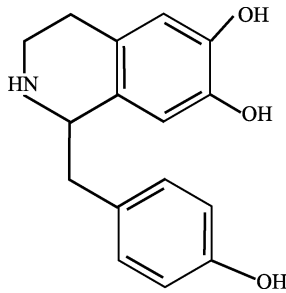


图 1 HG 的化学结构  
Fig. 1 Chemical structure of HG

### 1.2 活性

40 多年来, HG 在心血管方面的作用逐渐被报道。相关的新药研发成为热点, 2004 年, 盐酸去甲乌药碱注射液获得中国新药临床研究批件。目前, 研究者正在开展盐酸去甲乌药碱注射液用于核素心肌灌注显像诊断冠心病的 IIIb 期临床研究(登记号: CTR20202612)。近年来, HG 的  $\beta_2$  激动作用备受关注, 其机制<sup>[5]</sup>见图 2。此外, 人们还发现 HG 具有抗炎、抗肿瘤、抗氧化<sup>[6]</sup>等丰富的药理作用, 与其他药物联用可治疗慢性心衰<sup>[7]</sup>。HG 的主要药理作用及机制见表 1<sup>[8-18]</sup>。

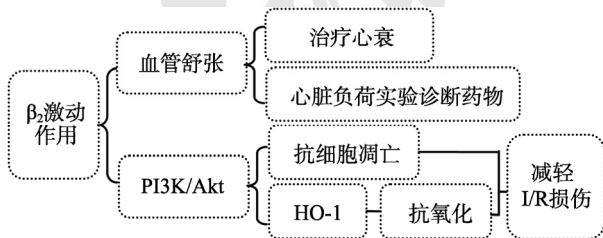


图 2 HG 的  $\beta_2$  激动作用及其机制  
PI3K: 磷脂酰肌醇 3 激酶; Akt: 蛋白激酶 B; HO-1: 血红素加氧酶-1; I/R: 缺血/再灌注。  
Fig. 2  $\beta_2$  activation of HG and its mechanism  
PI3K: phosphatidylinositol-3 kinase; Akt: protein kinase B; HO-1: heme oxygenase-1; I/R: ischemia/reperfusion.

### 1.3 毒理研究

HG 的小鼠半数致死量为  $(300 \pm 9) \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (腹腔注射)、 $(3.35 \pm 0.38) \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  (口服)、 $(58.9 \pm 2.26) \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  (静注)<sup>[19]</sup>。健康年轻男性口服 HG 的临床安全性评估表明<sup>[20]</sup>, 连续服用 8 周 ( $50 \text{mg} \cdot \text{d}^{-1}$ ) 后, 心率、血压、尿液分析、全血计数、肝脏酶活性等指标均无显著变化。

表 1 HG 的药理作用及机制

Tab. 1 Pharmacological action and mechanism of HG

作用	机制	文献
抗炎作用	通过 ROS 介导的 PI3K/Akt 通路抑制白细胞介素-1 $\beta$ 诱导的人体核细胞凋亡	[8]
抗炎作用	调节 NF- $\kappa$ B 和 Nrf2/HO-1 通路	[9]
减轻过敏性鼻炎	激活 Akt1 和抑制 EGFR/JAK2/c-JUN 通路	[10]
抗心肌纤维化	抑制 TGF- $\beta$ 1/Smad 通路	[11]
治疗心动过缓	作用于窦房结细胞, 控制心脏电生理, 而不诱导引起心律失常的异位活动	[12]
神经保护	调节 Akt 和 Nrf2/HO-1 通路保护神经细胞免受氧糖剥夺/复氧诱导的损伤	[13]
神经保护	改善认知障碍、A $\beta$ 负荷、凋亡, 调节 Akt/GSK3 $\beta$ 通路	[14]
抗氧化	清除自由基	[15]
调节新陈代谢	促进葡萄糖吸收和代谢	[16]
治疗 MLL 重型白血病	LSD1 抑制	[17]
抗肿瘤	抑制结肠癌皮下移植瘤生长, 诱导凋亡	[18]

注: ROS: 活性氧类; NF- $\kappa$ B: 核转录因子- $\kappa$ B; Nrf2/HO-1: 核因子 E2 相关因子 2/血红素加氧酶-1; EGFR/JAK2/c-JUN: 表皮生长因子受体/酪氨酸激酶 2/原癌基因; TGF- $\beta$ 1: 转化生长因子- $\beta$ 1; Akt/GSK3 $\beta$ : 蛋白激酶 B/糖原合酶激酶 3 $\beta$ ; LSD1: 赖氨酸特异性脱甲基酶 1。  
Note: ROS: reactive oxygen species; NF- $\kappa$ B: nuclear transcription factor- $\kappa$ B; Nrf2/HO-1: nuclear factor E2-related factor 2/heme oxygenase-1; EGFR/JAK2/c-JUN: epidermal growth factor receptor/janus kinase 2/c-JUN; TGF- $\beta$ 1: transforming growth factor- $\beta$ 1; Akt/GSK3 $\beta$ : protein kinase B/glycogen synthase kinase 3 $\beta$ ; LSD1: lysine-specific demethylase 1.

## 2 运动员禁用 HG 的情况

2016 年出现运动员 HG 阳性事件, 2017 年 HG 被列入 PL。24 种减肥或运动膳食补充剂测定发现, 部分产品检出 HG, 单次服用量摄入 HG 可高达  $62 \text{mg}$ <sup>[21]</sup>。莲子心含 HG, 6 名受试者连续 3 d 摄入莲子心(每次  $0.8 \text{g}$ , 每日 3 次), 其尿中 HG 浓度均超过 WADA 规定的限值<sup>[22]</sup>。某院含兴奋剂药品外包装或说明书标识统计发现, 20 种含 HG 中药, 仅 3 种标注了“运动员慎用”<sup>[23]</sup>。近年来, 中国运动员误服误用含 HG 食品、药品、营养剂的情况时有发生, 其中, 2016 年为 15 例, 2017 年为 1 例<sup>[24]</sup>。可见 HG 的存在较广泛, 运动员误服误用的可能性较大, 需加强含 HG 食品、药品标识管理, 加大运动员所涉物品检测, 加强检测方法研究。

## 3 含 HG 的中药在药典中收录情况

2016 年 11 月, CADA 发布《关于加强去甲乌药碱阳性风险防控有关事宜的通知》<sup>[25]</sup>, 列出《含去甲乌药碱药品、营养品和食品清单》, 要求加强对 HG 阳性的风险防控。通过文献检索发现, 中国药典<sup>[26]</sup>收录含 HG 的药材 9 种, 中成药品种较多, 见表 2。相关中成药多数只含有一种含 HG 药材,

表 2 中国药典中收录含 HG 的中药品种

Tab. 2 Chinese medicines containing HG in ChP

药材	中成药
附子	人参再造丸, 天麻丸, 乌梅丸, 再造丸, 阳和解凝膏, 附子理中丸/片, 附桂骨痛片/胶囊/颗粒, 抱龙丸, 固本统血颗粒, 定喘膏, 参附强心丸, 前列舒丸, 济生肾气丸, 桂附地黄丸/胶囊/口服液, 益肾灵颗粒, 通痹片/胶囊, 微达康口服液, 生白合剂(生白口服液)
川乌	小活络丸, 天和追风膏, 木瓜丸, 少林风湿跌打膏, 风湿骨痛胶囊/片, 风寒双离拐片, 庆余避瘟丹, 安阳精制膏, 阳和解凝膏, 伸筋活络丸, 阿魏化痞膏, 附桂骨痛片/胶囊/颗粒, 狗皮膏, 定喘膏, 药艾条, 骨友灵搽剂, 骨刺丸, 骨刺消痛片, 复方羊角片, 活血壮筋丸, 祛风舒筋丸, 通痹片/胶囊, 筋痛消酊, 麝香风湿胶囊, 麝香跌打风湿膏, 麝香镇痛膏
乌药	天和追风膏, 丹桂香颗粒, 抗宫炎片/胶囊, 国公酒, 按摩软膏, 柴胡舒肝丸, 调胃消滞丸, 草薢分清丸, 缩泉丸/胶囊, 胃疡宁丸
细辛	十一味参芪片/胶囊, 九味羌活颗粒, 川芎茶调片/丸(浓缩丸), 小儿咳喘颗粒, 小青龙合剂/颗粒, 天和追风膏, 云香祛风止痛酊, 丹桂香颗粒, 乌梅丸, 正天丸/胶囊, 再造丸, 庆余避瘟丹, 克痢痧胶囊, 利鼻片, 辛芩片, 齿痛消炎灵颗粒, 参芪十一味颗粒, 独活寄生合剂, 养血清脑丸/颗粒, 宽胸气雾剂, 通天口服液, 通关散, 寄生追风酒, 暑症片, 鼻炎片, 鼻炎灵片, 鼻渊舒口服液/胶囊, 镇脑宁胶囊, 醒脑再造胶囊
吴茱萸	化癥回生片, 丹桂香颗粒, 艾附暖宫丸, 左金丸/胶囊, 戊己丸, 四方胃片, 四神片, 加味左金丸, 加味香连丸, 华佗再造丸, 肠康片, 泻痢消胶囊, 草铃胃痛颗粒, 胃立康片, 复方黄连素片, 调经活血片/胶囊, 癣湿药水
莲子	启脾丸, 参苓白术丸/散, 调经促孕丸, 小儿扶脾颗粒
莲子心	女珍颗粒, 牛黄清心丸, 心速宁胶囊, 心脑静片
花椒	化癥回生片, 乌梅丸, 拨云退翳丸, 紫花烧伤软膏
青风藤	狗皮膏

但是, 部分品种含有 2 种含 HG 药材, 如通痹片/胶囊含附子和川乌, 狗皮膏含川乌和青风藤, 化癥回生片含吴茱萸和花椒, 风险更大, 应引起重视。可能含 HG 的中成药剂型较多, 包括丸、散、丹、片、胶囊、颗粒、口服液、合剂等内服剂型, 也包括软膏、贴膏等外用剂型。建议加强相关中药质量标准研究, 系统开展风险评估, 规范药品说明书风险提示。

#### 4 HG 的检测技术

运动员尿液样品中 HG 浓度  $\geq 10.0 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  即构成 AAF<sup>[27]</sup>。故人们越来越重视运动员相关食品、药品及其血液、尿样中 HG 的检测。HG 检测是一个复杂的过程, 包含提取、净化、定性及定量分析等程序, 近年来 HG 的检测方法渐被报道。HG 的分析研究具有重要意义, 有益于理解 HG 的药动学, 有利于含 HG 的食品、药物安全监管, 可助力含 HG 中药质量标准提高。

##### 4.1 样品前处理

近年来, 研究者针对中药中的 HG 建立了多种前处理方法, 主要包括液相萃取法(liquid-phase extraction, LPE)、固相萃取法(solid-phase extraction, SPE)和其他。

**4.1.1 LPE** LPE 是中药样品含量测定常用前处理方法, 操作简单, 但缺点是①有机溶剂用量大, 欠环保; ②HG 待测对象多样, 基质复杂, 有时无法最大程度去除杂质干扰, 并有效富集 HG。LPE 常导致目标物损失较严重, 对于微量目标物检测

是致命的弱点。

**4.1.2 SPE** SPE 通过适宜的固体材料吸附目标物, 达到与样品中干扰基质分离的目的。SPE 可根据不同样品选用不同材料, 最大的优点是基质效应较小, 已广泛用于中药中真菌毒素、农残等目标物的富集。SPE 的缺点是操作相对复杂。

**4.1.3 其他** HG 的提取、净化方法改进研究成为近年研究热点, 人们试图寻找一种操作简单又能强力去除基质干扰的方法, 一些新式前处理技术被用于 HG 检测。例如人们用快速样品提取法(QuEChERS<sup>[28]</sup>)、表面液滴萃取法<sup>[29]</sup>提取中药材、动物组织中的 HG, 较好地满足了后期仪器分析的要求。

##### 4.2 样品检测

近年全球许多商业、学术和监管机构都加大投入, 开发快速、灵敏、简便的兴奋剂检测方法。HG 的检测方法主要包括 3 类, ①免疫分析法: 酶联免疫吸附法(enzyme-linked immuno sorbent assay, ELISA)、侧流免疫层析法(lateral-flow immunochromatographic assay, LFIA); ②液相色谱法(liquid chromatography, LC), 通过与紫外光谱(ultraviolet spectra, UV)、荧光(fluorescence detector, FLD)、电化学(electrochemical detect, ECD)等相关检测器联用进行分析; ③色谱-质谱联用法: 气质联用色谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)、液质联用(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)等, 见表 3。

表 3 HG 检测方法

Tab. 3 Detection methods of HG

方法	检测对象	样品类别	检出限/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	文献
LC-UV	莲子心提取物	药材	7	[30]
LC-FLD	莲子心提取物	药材	5	[31]
LC-ECD	莲子	药材	2.1	[32]
LC-MS/MS	青风藤	药材	20.1	[33]
LC-MS/MS	荷叶提取物等保健品	药材	2	[34]
LC-MS/MS	川乌茎、叶	药材	1.79	[35]
LC-MS/MS	附子配方颗粒	配方颗粒	1.43	[36]
LC-MS/MS	细辛、花椒等	药材	0.6	[37]
LC-MS/MS	使用丁桂活络膏后的尿样	尿样	0.2	[38]
GC-MS	多基质中的 HG	血样、尿样、 药材、成药	1.52	[39]
ELISA	细辛等	药材	4.41	[40]
LFIA	细辛、吴茱萸等	药材	0.156	[41]

注：“/”为未报道。

Note: “/” is not reported.

**4.2.1 免疫分析法** ELISA 的检测成本低，在大批量样品快速筛查时具有较大的优势，但有一定的假阳性率，常需用 MS 加以确证。

**4.2.2 LC** LC 是中国药典收录药品最常用的定量方法。但是，UV、FLD 等灵敏度较低，较难满足 HG 含量低的中药和生物样品检测。随着兴奋剂检测的通量大幅增加，传统 LC 已不能满足现实需求。

**4.2.3 色谱质谱联用** MS 已成为兴奋剂检测领域的一项重要技术，LC 及 GC 与 MS 相结合已经得到广泛应用<sup>[42]</sup>。QQQ-MS/MS 灵敏度较高，但仪器价格昂贵，基质效应不易排除。为提高检测效率，需对多种兴奋剂同时筛查，而排除基质干扰也成为 QQQ-MS/MS 的一个难点。高通量检测时代，高分辨 MS 应运而生，应用较多者为飞行时间质谱和静电场轨道阱质谱，2 种方法在单次检测中皆可同时实现定性及定量分析，在兴奋剂高通量检测中极具潜力。飞行时间质谱具有采集速率快、分辨率高、可获得更丰富的离子信息等特点，被用于多种食源性兴奋剂的同步检测<sup>[43]</sup>。高分辨 MS 不但可以检测相关化合物，还可以提供这些物质的代谢物信息<sup>[44]</sup>。

在新的药物列入 PL 后，重新检测储存的阴性样本是一个重要的反兴奋剂手段，可对滥用兴奋剂起到威慑作用。然而，人力、物力、样本量有限，这项工作几乎不可能开展。通常，WADA 认证实验室采用 GC-MS、LC-MS 对所有尿液样本进行初始测试程序或小分子筛选，以符合 PL 规定的

分析需求。高分辨全扫描 Orbitrap 质谱数据可用于追溯性分析，有利于快速追溯处理既往的结果。如果最初数据是在全扫描高分辨率模式下获取的，则仅重新处理先前获取的高分辨全扫描 Orbitrap 质谱数据文件即可进行追溯性分析。有学者<sup>[45]</sup>对既往未禁用 HG 时期的阴性结果数据进行追溯检索，发现 AAF 案例，为反兴奋剂提供了新的手段。

样品检测以液相色谱及其联用技术为主，样品前处理的溶剂多为甲醇，色谱条件中流动相组成多为甲醇、乙腈配以一定浓度的磷酸、甲酸水溶液，实际检测时可通过优化流动相组成与配比，使 HG 与干扰物分离，必要时调节至特定酸性 pH 值。

## 5 HG 阳性风险防控的挑战与对策

既往报道主要集中在天然产物中 HG 的检测，对于动物、人体服用 HG 后的尿液、血样等生物样品检测较少<sup>[46]</sup>。HG 存在于多种食用、药用植物中，这些植物又被制成各种各样的食品、营养品、药品、化妆品，内服外用相关产品均可导致 AAF，给 HG 阳性风险防控带来巨大挑战。

需要运动员、运动队、医疗机构、药品生产企业、药品检验研究机构、反兴奋剂机构“六位一体”，筑牢反兴奋剂防线。(一)运动员应提高风险防范意识，充分认识食源性兴奋剂来源较广的现实<sup>[47]</sup>，坚持集体用餐、用药，避免私自使用成分不明的食品、药品。(二)运动队教练和队医应加强队员管理，强化反兴奋剂知识宣教，充分评估食源性兴奋剂摄入风险，强化预防控制措施。用近年国内外检出食源性兴奋剂误服的 AAF 案例教育警示运动员。(三)医疗机构在运动会期间应提供高质量药学服务，加强运动员个体化用药咨询指导。加强大型体育赛事期间医疗机构含兴奋剂药品的全流程管理<sup>[48]</sup>，加强运动员中药临床合理应用与药物警戒研究<sup>[49]</sup>。(四)药品生产企业对于兴奋剂的危害需有清晰的认识，对其所生产的药品需进行深入的研究，应完善含兴奋剂药品说明书，标注“运动员慎用”，明确提示风险。(五)药品检验研究机构应从两方面做好工作：①从 HG 是活性成分的角度，应加强质量控制研究，完善相关中药标准体系。中药中 HG 含量差异较大，35 批次青风藤<sup>[33]</sup>中 HG 的含量为 $(288\pm 181)\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ；29 批次附子配方颗粒<sup>[36]</sup>中 12 批未检出 HG，检出者含量参差。HG 作为潜在质量标志物之一，亟待回答相关药材如何进行质量控制、加工后量值传递规

律如何等问题。②从 HG 是运动员禁用物质的角度,需加强 HG 检测方法研究,降低含 HG 中药误用风险。药品检验机构、中药研究单位与反兴奋剂机构需建立长效沟通机制,构建信息共享平台。新发现含 HG 中药及时发函告知反兴奋剂机构,加强风险快速识别技术研究,提升风险应急管理能力。(六)天然产物中不断有新的化合物被分离、鉴定,如何及时、准确纳入新型兴奋剂成为 WADA 的工作难点。WADA 认证的兴奋剂检测实验室工作关键点是确保准确性,避免假阴性、假阳性结果。WADA 在更新 PL 后,应及时做好宣传、解释、执行工作。

## 6 结语

禁用药物检测的样本多为尿液、血液,基质复杂、干扰物种类多,对检测方法要求较高<sup>[50]</sup>。相信随着人们对含 HG 天然产物与工业产品认识的深化,对生物样品采集、提取、纯化新方法的改进,对快速、准确、灵敏分析新技术、新材料的深度开发,运动员 HG 相关 AAF 的案例将逐渐减少。

## REFERENCES

- [1] WADA. Prohibited List[R/OL]. [https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/2021list\\_en.pdf](https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/2021list_en.pdf).
- [2] KOSUGE T, YOKOTA M. Letter: Studies on cardiac principle of aconite root[J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 1976, 24(1): 176-178.
- [3] ZHANG N N, LIAN Z Q, PENG X Y, et al. Applications of higenamine in pharmacology and medicine[J]. *J Ethnopharmacol*, 2017(196): 242-252.
- [4] HUDZIK T J, PATEL M, BROWN A.  $\beta$ 2-adrenoceptor agonist activity of higenamine[J]. *Drug Test Anal*, 2021, 13(2): 261-267.
- [5] WANG Y H, LI C, JIANG S, et al. Advances in pharmacological effects of higenamine on cardiovascular system[J]. *Acta Pharm Sin(药学报)*, 2020, 55(3): 392-397.
- [6] XIE Y L, LI X C, CHEN J Y, et al. pH effect and chemical mechanisms of antioxidant higenamine[J]. *Molecules*, 2018, 23(9): 2176.
- [7] WEN J X, MA X, NIU M, et al. Metabolomics coupled with integrated approaches reveal the therapeutic effects of higenamine combined with [6]-gingerol on doxorubicin-induced chronic heart failure in rats[J]. *Chin Med*, 2020, 15(1): 120.
- [8] ZHU X J, LIU S C, CAO Z J, et al. Higenamine mitigates interleukin-1 $\beta$ -induced human nucleus pulposus cell apoptosis by ROS-mediated PI3K/Akt signaling[J]. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(11): 3889-3897.
- [9] YANG S W, CHU S F, AI Q D, et al. Anti-inflammatory effects of higenamine (Hig) on LPS-activated mouse microglia (BV<sub>2</sub>) through NF- $\kappa$ B and Nrf2/HO-1 signaling pathways[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020(85): 106629.
- [10] WEI X H, ZHANG B P, LIANG X, et al. Higenamine alleviates allergic rhinitis by activating AKT1 and suppressing the EGFR/JAK2/c-JUN signaling[J]. *Phytomedicine*, 2021(86): 153565.
- [11] ZHU J X, LING W, XUE C, et al. Higenamine attenuates cardiac fibroblast abstract and fibrosis via inhibition of TGF- $\beta$ 1/Smad signaling[J]. *Eur J Pharmacol*, 2021(900): 174013.
- [12] WANG Y H, GENG J, JIANG M, et al. The cardiac electrophysiology effects of higenamine in Guinea pig heart[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019(109): 2348-2356.
- [13] ZHANG Y, ZHANG J J, WU C T, et al. Higenamine protects neuronal cells from oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced injury[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(3): 3757-3764.
- [14] YANG X N, DU W L, ZHANG Y, et al. Neuroprotective effects of higenamine against the Alzheimer's disease via amelioration of cognitive impairment, A  $\beta$  burden, apoptosis and regulation of Akt/GSK3 $\beta$  signaling pathway[J]. *Dose Response*, 2020, 18(4): 1559325820972205.
- [15] ROMEO I, PARISE A, GALANO A, et al. The antioxidant capability of higenamine: Insights from theory[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 9(5): 358.
- [16] KATO E, KIMURA S, KAWABATA J. Ability of higenamine and related compounds to enhance glucose uptake in L6 cells[J]. *Bioorg Med Chem*, 2017, 25(24): 6412-6416.
- [17] FANG Y, YANG C, TENG D H, et al. Discovery of higenamine as a potent, selective and cellular active natural LSD1 inhibitor for MLL-rearranged leukemia therapy[J]. *Bioorg Chem*, 2021(109): 104723.
- [18] SONG L, JIA Q, ZHOU Y Y, et al. Analyze and verify the potential anti-tumor mechanism of higenamine in aconitum carmichaeli debx based on biological data-bases[J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med(南京中医药大学学报)*, 2020, 36(5): 655-660.
- [19] 周运鹏, 江京莉. 附子的研究 V. 附子的强心有效成分之一——去甲乌药碱的实验及临床研究概况[J]. *中药药理与临床*, 1992, 8(3): 43-46.
- [20] BLOOMER R J, SCHRIEFER J M, GUNNELS T A. Clinical safety assessment of oral higenamine supplementation in healthy, young men[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2015, 34(10): 935-945.
- [21] COHEN P A, TRAVIS J C, KEIZERS P H J, et al. The stimulant higenamine in weight loss and sports supplements[J]. *Clin Toxicol (Phila)*, 2019, 57(2): 125-130.
- [22] YEN C C, TUNG C W, CHANG C W, et al. Potential risk of higenamine misuse in sports: Evaluation of *Lotus plumule* extract products and a human study[J]. *Nutrients*, 2020, 12(2): 285.
- [23] LI F E, LI J, LIU D. Statistical analysis of "athletes use with caution" marks on the packaging or instructions of doping drugs in a hospital[J]. *China Pharm(中国药师)*, 2020, 23(5): 1066-1069.

- 934-937.
- [24] 徐起麟, 王聪, 王清, 等. 运动员如何防止误服用兴奋剂[J]. 科技资讯, 2019, 17(12): 161, 163.
- [25] HAN Y. Anti-doping in China: achievements, risks and countermeasures[J]. J Beijing Sport Univ(北京体育大学学报), 2020, 43(8): 11-31.
- [26] 中国药典. 一部[S]. 2020.
- [27] GRUCZA K, KWIATKOWSKA D, KOWALCZYK K, et al. Analysis for higenamine in urine by means of ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Interpretation of results[J]. Drug Test Anal, 2018, 10(6): 1017-1024.
- [28] WANG H, TANG Y Z, ZHAO X Y, et al. Determination of higenamine in Chinese herbal medicine, condiments, and topical medicine by QuEChERS combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chin J Chromatogr(色谱), 2019, 37(10): 1036-1041.
- [29] QIU Q, CAO J L, ZHANG Y N, et al. Research on establishing LESA-MS/MS method for simultaneous detection of active constituents in Zhenwu Decoction in rat tissues[J]. China J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2020, 35(3): 1476-1479.
- [30] HUI Z F, WANG Q G, WEI T X, et al. Determination of higenamine in *Nelumbo nucifera* extract by RP-HPLC[J]. Northwest Pharm J(西北药学杂志), 2014, 29(1): 14-16.
- [31] TIAN H F, YI T, JIN D R. Determination of higenamine in *Nelumbo nucifera* by HPLC with precolumn derivatization[J]. J Yanbian Univ: Nat Sci(延边大学学报: 自然科学版), 2012, 38(2): 150-153.
- [32] WANG Y, ZHANG Y, ZHANG P, et al. Determination of higenamine in lotus seed by ultra high performance liquid chromatography with electrochemical detection[J]. Chin J Anal Lab(分析实验室), 2020, 39(11): 1276-1280.
- [33] HUANG Y F, HE F, WANG C J, et al. Discovery of chemical markers for improving the quality and safety control of *Sinomenium acutum* stem by the simultaneous determination of multiple alkaloids using UHPLC-QQQ-MS/MS[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 14182.
- [34] SU Z L, YE S W, LI Z. Determination of higenamine in plant-derived health food by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. J Food Saf Qual(食品安全质量检测学报), 2020, 11(23): 8633-8637.
- [35] LI Y, HE Y N, HUANG H Z, et al. Dynamic changes of alkaloids in growth cycle in stems and leaves of *Aconitum Carmichaelii* by HPLC-MS/MS[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2019, 50(8): 1985-1991.
- [36] TANG J F, ZHANG S Q, WANG X Y, et al. Quality consistency evaluation of Fuzi formula granules using determination of multi-component contents by HPLC-MS/MS method[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2018, 43(9): 1871-1879.
- [37] YANG M, HE S R, ZHANG D, et al. Study on determination of higenamine in Chinese medicinal materials by LC-MS/MS[J]. China Meas Test Technol(中国测试), 2018, 44(3): 61-65.
- [38] WANG R, XIONG X P, YANG M, et al. A pharmacokinetics study of orally administered higenamine in rats using LC-MS/MS for doping control analysis[J]. Drug Test Anal, 2020, 12(4): 485-495.
- [39] FENG Y R, WANG B, LI G J, et al. Determination of higenamine in multi-matrix by gas chromatography-mass spectrometry combined with derivatization technology[J]. J Food Drug Anal, 2020, 28(1): 124-131.
- [40] NUNTAWONG P, TANAKA H, SAKAMOTO S, et al. ELISA for the detection of the prohibited doping agent higenamine[J]. Planta Med, 2020, 86(11): 760-766.
- [41] NUNTAWONG P, OCHI A, CHAINGAM J, et al. The colloidal gold nanoparticle-based lateral flow immunoassay for fast and simple detection of plant-derived doping agent, higenamine[J]. Drug Test Anal, 2021, 13(4): 762-769.
- [42] AKHUNOV S, ASHUROV K, AXMEDOV S, et al. Development of surface ionization mass spectrometry for detection of stimulants in human urine[J]. Eur J Mass Spectrom(Chichester), 2021, 27(1): 29-38.
- [43] MA J M, FAN S F, LI Q, et al. Determination of 30 foodborne stimulant drug residues in pork and beef using ultra-high performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time of flight mass spectrometry[J]. Food Sci(食品科学), 2021, 42(14): 276-285.
- [44] BELSEY S L, FLANAGAN R J. Analytical detection of novel stimulants by immunoassay and liquid chromatography-high resolution mass spectrometry: Case studies on ethylphenidate and mephedrone[J]. J Anal Toxicol, 2021, 45(5): 521-528.
- [45] LOMMEN A, ELARADI A, VONAPARTI A, et al. Ultra-fast retroactive processing of liquid chromatography high-resolution full-scan Orbitrap mass spectrometry data in anti-doping screening of human urine[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2019, 33(20): 1578-1588.
- [46] CHANG W C W, YEN C C, LIU W Y, et al. Blood-to-muscle distribution and urinary excretion of higenamine in rats[J]. Drug Test Anal, 2021, 13(10): 1776-1782.
- [47] YANG M, CHEN D, TU F Q, et al. Determination of higenamine in spices by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Mod Food Sci Technol(现代食品科技), 2020, 36(3): 275-280.
- [48] LI F E, LI J, LIU D. Whole process management of doping drugs in designated hospitals during large-scale sport games[J]. Herald Med(医药导报), 2021, 40(8): 1145-1147.
- [49] YANG P H, LIN Z J, ZHANG B. Pilot review of rational use of Chinese materia medica and pharmacovigilance in athlete population[J]. China J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2021, 36(3): 1366-1369.
- [50] SONG X X, BAI Y T, XIUREN G W, et al. Determination of theophylline residues in racehorse serum and urine by liquid-mass-isotope internal standard method[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2021, 38(11): 1332-1338.

收稿日期: 2021-12-17

(本文责编: 曹粤锋)