

蛇胆药材及其成方制剂质量控制方法研究

陈晓颢^{1,2}, 张洁³, 范叶琴³, 陈家春³, 魏锋⁴, 马双成⁴, 聂晶^{1,2*} (1. 湖北省药品监督检验研究院, 武汉 430075; 2. 湖北省药品质量检测与控制工程技术研究中心, 武汉 430075; 3. 华中科技大学同济药学院, 武汉 430030; 4. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要:目的 对蛇胆及其他动物胆中胆汁酸成分进行研究, 建立蛇胆药材及其成方制剂的质量控制方法。方法 以乙腈-甲醇及 10 mmol · L⁻¹ 乙酸铵为流动相体系进行梯度洗脱, 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 采用液相色谱质谱联用技术对蛇胆及其他动物胆中胆汁酸成分进行定性鉴别及定量分析, 通过胆汁酸的成分分析结果对蛇胆药材及其成方制剂中蛇胆的检查及含量测定方法进行优化, 建立适合的质量控制方法。结果 建立的检查方法专属性强, 含量测定方法适宜, 牛磺胆酸钠在 0.302 ~ 9.053 μg 之间线性关系良好, $r = 0.9993$, 重复性实验及准确度实验结果良好, RSD 均 < 3.0%, 适合蛇胆药材及其成方制剂的质量控制。结论 建立的质量控制方法能够安全、有效的保证蛇胆药材及其成方制剂的质量, 保证用药安全。

关键词: 蛇胆; 蛇胆成方制剂; 胆酸类成分; 掺伪检查; 含量测定

doi:10.11669/cpj.2019.17.003 中图分类号:R284 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2019)17-1380-07

Quality Analysis of Snake Bile and Its Preparations

CHEN Xiao-yong^{1,2}, ZHANG Jie³, FAN Ye-qin³, CHEN Jia-chun³, WEI Feng⁴, MA Shuang-cheng⁴, NIE Jing^{1,2*} (1. Hubei Institute for Drug Control, Wuhan 430075, China; 2. Hubei Engineering Research Center for Drug Quality Control, Wuhan 430075, China; 3. Tongji School of Pharmacy, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China; 4. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the bile acid components in snake bile and other animal bile, and establish the quality control method of the snake bile and its preparations. **METHODS** Acetonitrile-methanol and 10 mmol · L⁻¹ ammonium acetate was used as mobile phase system and 18 alkyl silane bonded silica gel was used as filling agent. Liquid chromatography-mass spectrometry was used to qualitatively identify and quantitatively analyze the bile acid components in snake bile and other animal bile, and the adulteration control and content determination method of bile acid in snake bile and its preparations were optimized to establish a suitable quality control method of snake bile and its preparations. **RESULTS** The examination method was highly specialized and suitable for the quality control of snake bile and its preparations. The linear relationship of sodium taurocholate between 0.302 - 9.053 μg is good, $r = 0.9993$, the repeatability test and accuracy test results are good, and the RSD is smaller than 3.0%. **CONCLUSION** The established quality control method can guarantee the quality and safety of snake bile and its preparations.

KEY WORDS: snake bile; snake bile preparation; bile acid; adulteration control; content determination

蛇胆是名贵的常用中药,始载于《名医别录》, 记载了蝮蛇胆与蝮蛇胆两种,具有清热解毒、化痰镇痉之功效,主要用于治疗风热咳喘、痰热惊厥。此后历代本草均有记载,至明代,《本草纲目》又增收了鳞蛇胆,但古代入药均为单一品种蛇胆。目前,蛇胆多于成方制剂中入药,为多种蛇的混合胆,各成方制剂中均以蛇胆汁为原料。

《中国药典》2015 年版^[1]正文中还未收载蛇胆的质量标准,仅在附录中指出蛇胆汁来源“为眼镜

蛇科、游蛇科或蝮科动物多种蛇的胆汁。”其他部分省地方药材标准有收载,但其名称、来源及质量控制指标和项目各不相同。

市场上以蛇胆汁为原料的中成药种类繁多,包括蛇胆川贝液(软胶囊、胶囊、散)、牛黄蛇胆川贝液(散、胶囊、滴丸)、蛇胆陈皮口服液(散、片、胶囊)等 30 多个品种。中药蛇胆来源复杂,市场上不同动物蛇胆混合入药,甚至常见以猪、羊、牛等动物胆汁冒充蛇胆汁,其质量不仅受动物种属的影响,还与产

基金项目:国家十二五“重大新药创制”专项资助(2014ZX09304307-002);国家自然科学基金面上项目资助(81274025)

作者简介:陈晓颢,女,硕士,副主任药师 研究方向:中药质量标准及药物新剂型研究 * 通讯作者:聂晶,女,主任药师 研究方向:中药质量标准及风险评估研究 Tel:(027)87705232 E-mail:niejingwh@sina.com

地、捕捉季节、甚至处死时饥饿程度相关,蛇胆药材标准滞后于其制剂标准,市场混乱,质量难以保证。因此,对蛇胆药材及其成方制剂的质量控制研究就显得尤为重要。

蛇胆中的胆汁酸为其主要功效成分,主要为牛磺胆酸(TCA),此外还包括牛磺鹅去氧胆酸(TCD-CA)、牛磺去氧胆酸(TDCA),牛磺麟胆酸、甘氨酸(GCA)及胆酸(CA)等,分为游离型胆酸及结合型胆酸两大类。游离型胆汁是由胆固醇在动物体内,经肝脏的各种酶代谢而成的。游离型胆酸再通过酰胺键与甘氨酸或牛磺酸结合形成甘氨酸型结合胆汁酸或牛磺型结合胆汁酸^[2]。研究发现,不同动物的胆汁酸组成存在明显差异,其中猪、牛、羊胆的胆汁酸成分比较接近,均属于大型胆,且牛、羊胆中均含有TCA,存在混用可能。本实验通过对蛇胆及其他动物胆汁中胆酸类成分深入研究,从检查和含量两个方面对蛇胆及其成分制剂质量进行控制,保障人民用药安全。

1 材料

1.1 仪器

DIONEX Ultimate 3000 高效液相色谱仪(赛默飞世尔科技公司,美国),Alltech 2000ES 蒸发光散射检测器(ELSD)(奥泰科技有限公司,美国);Waters G2 Q-ToF 液质联用仪(沃特世科技有限公司,美国);AB Sciex 4500 Q-trap 液质联用仪(爱博才思分析仪器贸易有限公司,美国);Waters BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm); SHISEIDO CAPCELL CORE C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 50 mm, 2.7 μm); Shim-pack XR-ODS II 色谱柱(2.1 mm × 75 mm, 2.2 μm); SHISEIDO CAPCELL PAK C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), Agilent ZORBAX Extend C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), Phenomenex Luna 5μ C₁₈ (2) 100A (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱; LC-350A 超声波仪(济宁市中区鲁超仪器厂); METTLER TOLEDO XP205 电子天平(梅特勒托利多国际有限公司,瑞士)。

1.2 试药

蛇胆汁对照药材(批号 120938-201106);牛磺胆酸钠对照品(批号 110815-201510,含量 87.9%);牛磺鹅去氧胆酸钠对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110846-200506);牛磺去氧胆酸钠(Sigma-Alorich 公司, #SLBJ0883V); GCA(Sigma-Alorich 公司, #SLBH5157V);甘氨酸去氧胆酸(北京百灵威科

技术有限公司, LJ20036, GCDCA);甘氨酸去氧胆酸(北京百灵威科技有限公司, L660026, GDCA);CA 对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100078-200414);甘氨酸去氧胆酸(Toronto Research Chemicals 公司, G641390, GHDCA);乙腈、甲酸为色谱纯,水为一级纯化水,其余试剂均为分析纯。

1.3 样品

分别收集了 4 个产地、24 种蛇的共计 54 个蛇胆样品,样品涵盖 3 科常用药用蛇类 8 种,包括游蛇科的乌梢蛇、王锦蛇、黑眉锦蛇、灰鼠蛇、滑鼠蛇,眼镜蛇科的眼镜蛇、银环蛇,蝰科的五步蛇。所有原动物均由华中科技大学陈家春教授根据形态学特征进行鉴定,确定其学名,并拍照,活蛇取胆并收集原动物标本,保证鉴定无误。分别收集鸡胆 7 批,鸭胆 12 批,鱼胆 6 批,猪胆 5 批及牛、羊胆各 4 批,来源于屠宰场及集贸市场。所有蛇胆及其他动物胆均采用冷冻干燥法冻干后测定。220 批蛇胆川贝液样品及 90 批蛇胆陈皮制剂样品来源于 2015 ~ 2016 年国家评价性抽验。

2 方法与结果

2.1 蛇胆与其他动物胆的胆汁酸类成分分析

国内外学者对动物的胆汁酸成分进行了大量研究,乔雪等^[3]采用 LC/MS-MS 对牛黄、人工牛黄、牛胆、蛇胆、猪胆及熊胆中主要的胆汁酸进行了研究测定,结果表明,蛇胆中 97% 的胆汁酸成分为 TCA,牛胆中除含有 TCA 外,还含有大量的 GCA 及 GDCA,猪胆中含有 GHDCA^[3-6]。本课题组采用液相色谱质谱联用技术对蛇胆及其他动物胆中的胆汁酸类成分进行了研究。

2.1.1 蛇胆中的胆汁酸类成分 本课题组在前期工作中采用 UPLC-Q-TOF MS 分别对游蛇科、眼镜蛇科及蝰科的蛇胆中胆汁酸类成分进行了研究,在负离子检测模式下共检测出 15 种胆汁酸类成分,其中牛磺胆胆汁酸类有 13 个,另外 2 个分别为 GCA 及 CA。课题组还采用 UPLC-MS/MS 研究测定了蛇胆中各胆酸成分的含量,样品涵盖 3 个科(蝰科,眼镜蛇科和游蛇科)17 种动物蛇的 61 个蛇胆^[7]。3 个科代表性蛇胆的 15 种主要胆汁酸类成分见表 1,测定结果显示,蛇胆中主要为 TCA,另外还测定了 6 种牛磺型胆汁酸成分,蛇胆中 GCA 及 CA 的含量均较低,61 个蛇胆中 GCA 的平均含量为 0.006‰,含量中位数为 0.004‰,最高值为 0.06‰,部分蛇胆中还含有微量的 GCDCA 及 GDCA^[8]。

2.1.2 其他动物胆中胆酸类成分的测定 采用 UP-LC-Q-ToF MS 对鸡、鸭、鱼、牛、羊、猪等常见动物胆的胆汁酸成分进行分析, 研究表明, 鱼胆中主要含有固醇类的甾体, 部分鱼胆含有少量 TCA 及牛磺鹅去氧胆酸, 成分与其他 5 种胆汁差异较大, 其鱼胆中含有有毒的鲤醇硫酸酯钠(gallic alcohol sulfate sodi-

um), 不能药用^[9-10]。鸡胆和鸭胆化学成分较为相似, 主要含有 TCDCA、TCA、CDCA 等, 且 TCDCA 的含量远远高于 TCA 的含量; 羊胆和牛胆中主要含有 TCA, GCA, TCDCA, TDCA, GDCA, GCDCA 及 CA 等; 猪胆中主要含有 GHDCA, GDCA, GCDCA 及 TCDCA 等(图 1)。蛇胆与其他动物胆中胆汁酸类成分比较见表 2。

表 1 蛇胆中的胆汁酸类成分

Tab. 1 The bile acids identified from snake bile

Number	Retention time/min	Molecular formula	Name
1	29.11	C ₂₆ H ₄₆ NO ₁₀ S ₂	Taurocholic acid-12-sulfate
2	31.97	C ₂₆ H ₄₆ NO ₈ S	Tauro-3 α , 7 α , 9 α , 16 α -tetrahydroxy-5 β -cholenic acid
3	33.95	C ₂₆ H ₄₆ NO ₇ S	Tauro-3 β , 7 α , 12 α -trihydroxy-5 β -cholenic acid
4	34.65	C ₂₆ H ₄₆ NO ₉ S ₂	Taurodeoxycholic acid-12-sulfate
5	35.33	C ₂₆ H ₄₂ NO ₇ S	Tauro- $\Delta^{1,8-3\beta,7\beta,12\alpha}$ -trihydroxy-5 β -cholenic acid
6	35.87	C ₂₆ H ₄₄ NO ₇ S	Tauro-3 α , 12 α -dihydroxy-7-oxo-5 β -cholenic acid
7	37.12	C ₂₆ H ₄₆ NO ₇ S	Tauro-3 α , 7 α , 12 α -trihydroxy-5 α -cholenic acid
8	37.67	C ₂₆ H ₄₆ NO ₈ S	Tauro-3 α , 7 α , 12 α , 23R-tetrahydroxy-5 β -cholenic acid
9	38.31	C ₂₆ H ₄₆ NO ₈ S	Tauro-3 α , 12 α , 17R, 22R-tetrahydroxy-5 β -cholenic acid
10	39.68	C ₂₆ H ₄₄ NO ₈ S	Tauro-3 α , 7 α -dihydroxy-12-oxo-5 β -cholenic acid
11 ¹⁾	41.53	C ₂₆ H ₄₆ NO ₇ S	Taurocholic acid
12 ¹⁾	44.31	C ₂₆ H ₄₄ NO ₆	Glycocholic acid
13 ¹⁾	47.13	C ₂₆ H ₄₆ NO ₆ S	Taurochenodeoxycholic acid
14 ¹⁾	48.32	C ₂₆ H ₄₆ NO ₆ S	Taurodeoxycholic acid
15 ¹⁾	52.85	C ₂₄ H ₄₀ NO ₅	Cholic acid

注: ¹⁾ - 通过对照品比对后确证

Note: ¹⁾ - confirmed by comparison of reference materials

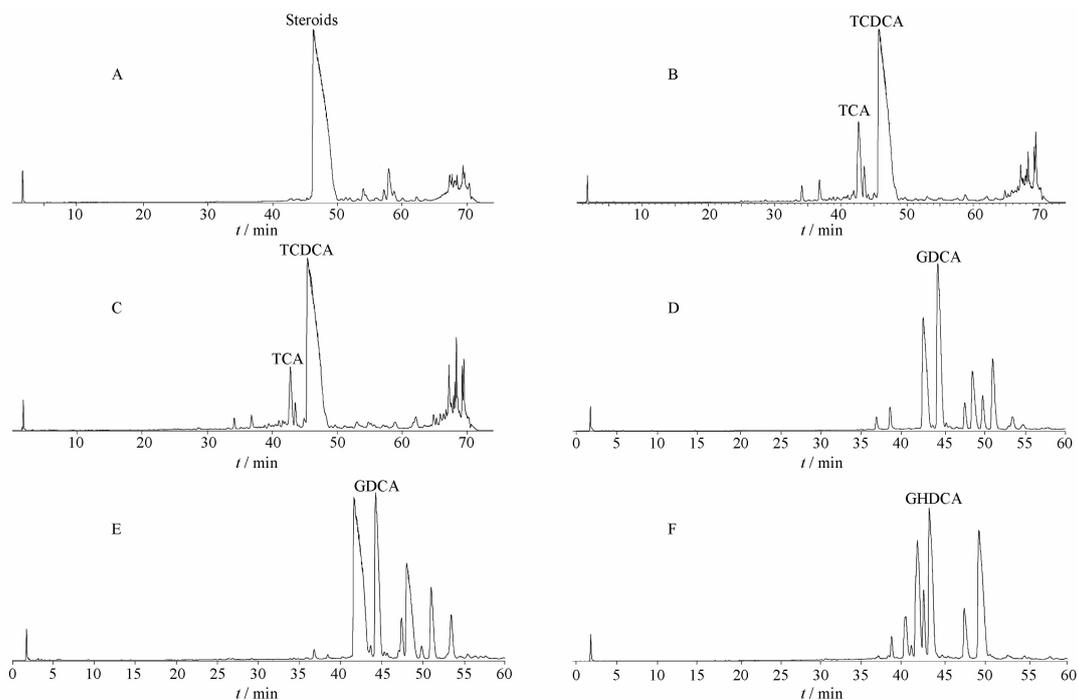


图 1 动物胆的胆汁酸总离子流图

A - 鱼胆; B - 鸡胆; C - 鸭胆; D - 牛胆; E - 羊胆; F - 猪胆

Fig. 1 Total ion chromatograms of the bile acids extracted from other animal bile

A - fish bile; B - chicken bile; C - duck bile; D - cow bile; E - sheep bile; F - pig bile

从成分分析及市场调研结果可知,蛇胆中较易掺杂的其他动物胆一般有牛、羊及猪胆。在此,本课题组采用 UPLC-MS/MS 测定了牛、羊及猪胆中的主要胆汁酸含量。结果表明,牛羊胆中 GCA 及 GCDCA 两种含量较高,其中 GCA 的含量为 2.11 ~ 13.53%, GDCA 的含量为 0.67 ~ 4.56%。猪胆中则主要含量 GHDCA, 含量为 7.09 ~ 14.0%(表 3,4)。

2.2 蛇胆及蛇胆成方制剂中猪、牛、羊胆的检测

2.2.1 蛇胆中猪、牛、羊胆的检查

前期研究结果表明,牛、羊胆中 TCA/GDCA 的比值为 1.14 ~ 29.26,而

蛇胆中 TCA 与 GDCA 的比值大于 6 156,与羊胆及牛胆中的比值相比,两者差异 200 倍以上,GHDCA 为猪胆汁中特有性成分,因此可通过控制 GDCA 的限量及 GHDCA 的检查来控制蛇胆的质量。

取约 4 mg 蛇胆干粉(相当于蛇胆汁 0.1 g),加甲醇溶解至 1 mL 即得。另取 GDCA、GHDCA 对照品适量,分别加甲醇制成质量浓度为 0.50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 对照品溶液。取对照品溶液与供试品溶液各 5 μL ,注入液相色谱-质谱联用仪,采用 MRM 模式检测,测定,即得(图 2)。

表 2 蛇胆与其他动物胆中胆汁酸成分的比较

Tab. 2 Comparison of bile acids in snake bile and other animal bile

Composition	Snake bile	Pig bile	Cow bile	Sheep bile	Chicken bile	Duck bile	Fish bile
TCA	++	+	+	+	+	+	+/-
TCDCA	+	+	+	+	+	+	+/-
TDCA	+	-	+	+	+	+	-
GHDCA	-	+	-	-	-	-	-
GCA	+	-	+	+	-	-	-
GCDCA	+/-	+	++	++	-	-	-
GDCA	+/-	+	++	++	-	-	-
CDCA	-	-	-	-	+	+	-
CA	+	+	-	+	-	-	-
Gallic alcohol sulfate sodium	-	-	-	-	-	-	+

注: + - 检出; - - 未检出; +/- - 部分检出; ++ - 明显检出

Note: + - detect; - - not detect; +/- - partial detect; ++ - obvious detect

表 3 牛、羊胆中各主要胆酸成分的含量(以干粉计). %

Tab. 3 The contents of bile acids in cow and sheep bile(calculated as dry power). %

Number	GDCA	TDCA	TCA	GCDCA	TCDCA	GCA	CA	Total
Sheep bile 1	2.08	4.66	11.11	0.18	0.61	5.13	0.69	24.44
Sheep bile 2	0.67	4.35	12.80	0.08	0.83	2.21	0.69	21.62
Sheep bile 3	1.77	5.50	13.17	0.17	0.82	3.90	0.67	25.97
Sheep bile 4	0.70	4.84	12.73	0.09	0.91	2.72	0.81	22.79
Cow bile 1	2.63	4.08	10.09	0.31	0.76	2.77	ND	20.63
Cow bile 2	0.90	2.14	6.30	0.17	0.43	2.11	ND	12.04
Cow bile 3	3.29	1.46	4.63	0.80	0.19	13.53	ND	23.89
Cow bile 4	4.56	2.65	8.74	0.56	0.22	12.51	ND	29.22

表 4 猪胆汁中各主要胆酸成分含量(以干粉计). %

Tab. 4 The contents of bile acids in pig bile(calculated as dry power). %

Number	GCDCA	TCDCA	GHDCA	THDCA	Total
Pig bile 1	9.63	2.14	14.00	1.96	25.75
Pig bile 2	8.62	1.41	10.45	1.65	20.46
Pig bile 3	7.52	1.44	13.30	1.84	22.26
Pig bile 4	10.39	2.07	11.06	2.02	23.50
Pig bile 5	7.52	2.20	7.09	1.69	18.50

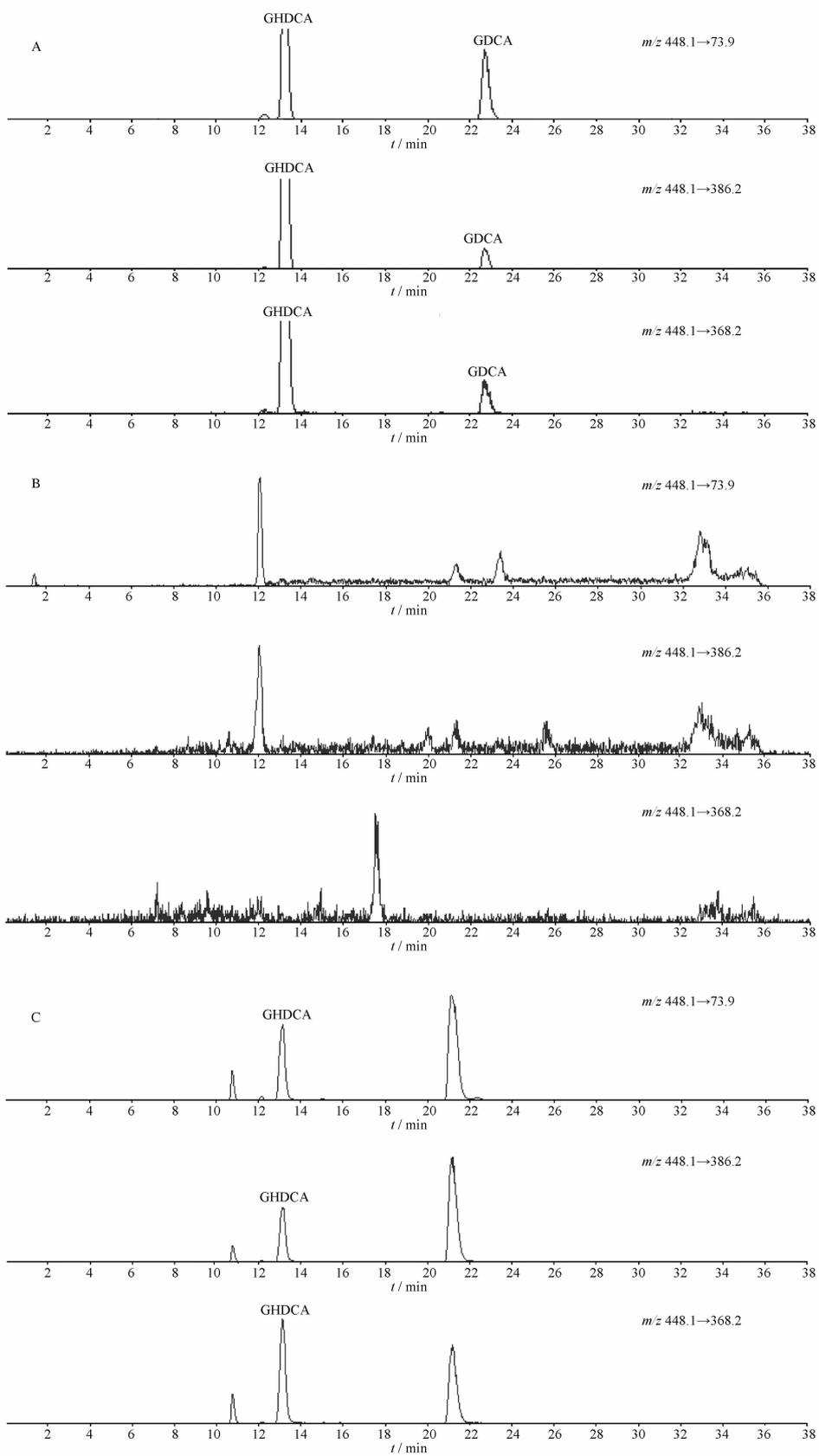


图2 蛇胆的液相质谱图

A - 混合对照品; B - 合格样品; C - 不合格样品

Fig. 2 Mass spectra of snake bile

A - mixed reference substances; B - qualified sample; C - unqualified samples

2.2.2 蛇胆成方制剂中猪、牛、羊胆的检查 根据蛇胆的取样量及蛇胆成分制剂中蛇胆汁的处方量,折算蛇胆成方制剂中样品的取样量及制备方法。

通过 2015~2016 年对蛇胆川贝液及蛇胆陈皮制剂开展国家评价性抽验探索性研究,最终确定供试品的制备方法为:取蛇胆成方制剂适量(相当于蛇胆汁 0.2 g),液体制剂采用 D101 大孔树脂柱纯化后浓缩至 2 mL,固体制剂则采用甲醇超声提取后浓缩至 2 mL。另取 GDCA、GHDCA 对照品适量,分别加甲醇制成质量浓度为 $0.50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 对照品溶液。取对照品溶液与供试品溶液各 $5 \mu\text{L}$,注入液相色谱-质谱联用仪,采用 MRM 模式检测,测定,即得(图 3)。

2.3 蛇胆及其成方制剂中蛇胆汁的含量测定

2.3.1 蛇胆中 TCA 的含量测定 色谱条件:以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(色谱柱长为 250 mm;内径为 4.6 mm);以乙腈为流动相 A,以 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸氢二钠溶液(用磷酸调节 pH 值至 3.0)为流动相 B,梯度洗脱,0~30 min:22% A→42% A,检测波长为 203 nm。进样量:10~20 μL 。

溶液的制备:对照品溶液的制备取牛磺胆酸钠对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含牛磺

胆酸钠 0.5 mg 的溶液,即得。供试品溶液的制备取本品,除去胆衣,取胆汁适量,加等重量酒浸液,混匀,精密称取 0.2 g,置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。方法学验证结果显示,牛磺胆酸钠在 $0.302 \sim 9.053 \mu\text{g}$ 之间,线性关系良好, $r=0.9993$,重复性实验及准确度实验结果良好,RSD 为 1.42% 和 2.10% (图 4)。

2.3.2 蛇胆成方制剂中 TCA 的含量测定 对于蛇胆成方制剂,应根据其处方工艺选择合理的检测方法,并根据蛇胆中 TCA 的含量合理地制定制剂中 TCA 的含量限度值。蛇胆川贝液的处方为蛇胆汁及平贝母两味药材,研究发现,平贝母中主要为皂苷类成分,在 UV 检测器下吸收较弱,对 TCA 的含量测定无干扰,故最终采用 UV 检测器对蛇胆川贝液中的 TCA 进行测定。蛇胆陈皮制剂的处方为蛇胆汁和陈皮两味药材,陈皮中含有大量的黄酮类成分,在 UV 检测器中响应很大,而蛇胆汁中的主要成分 TCA 钠为末端吸收,信号较小,故在 UV 检测器中陈皮干扰较大,不易分离,最终采用 ELSD 检测器进行检测,方法学验证结果显示阴性无干扰,精密密度、重复性及回收率实验结果良好,RSD 均 $< 2\%$ [11] (图 5)。

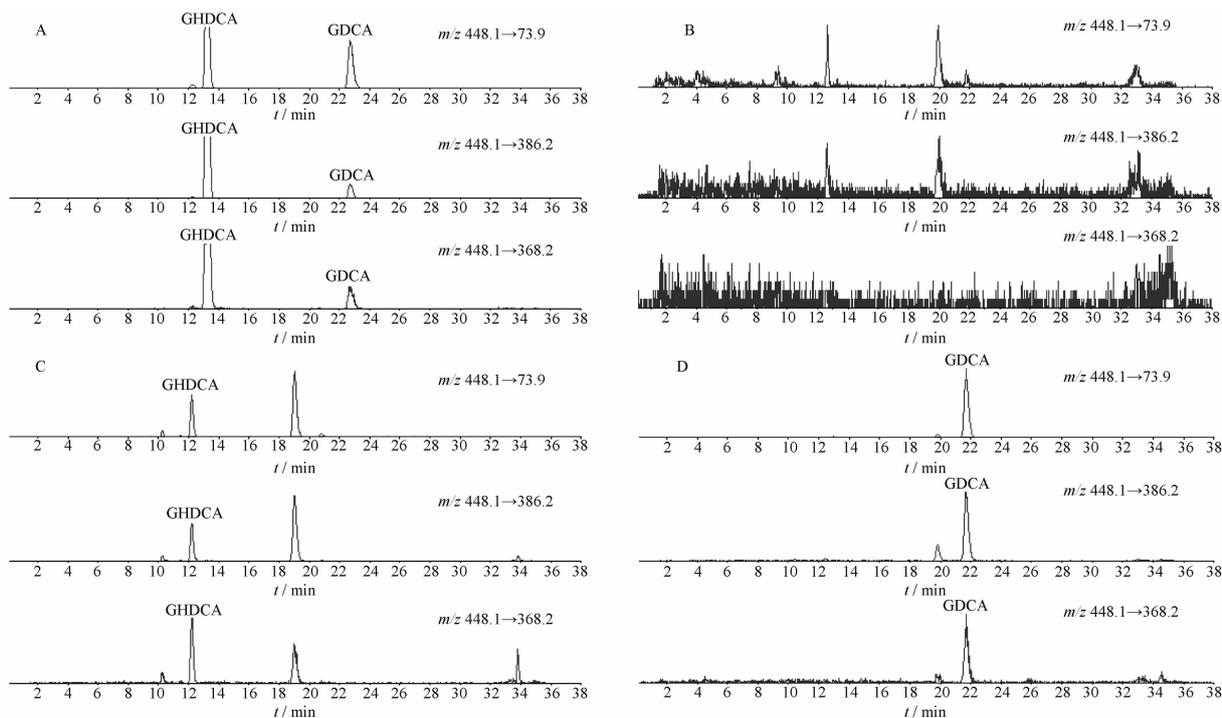


图 3 蛇胆陈皮制剂的液相质谱图

A - 混合对照品; B - 合格样品; C, D - 不合格样品

Fig. 3 Mass spectra of Shedan Chenpi preparation

A - mixed reference substances; B - qualified sample; C, D - unqualified samples

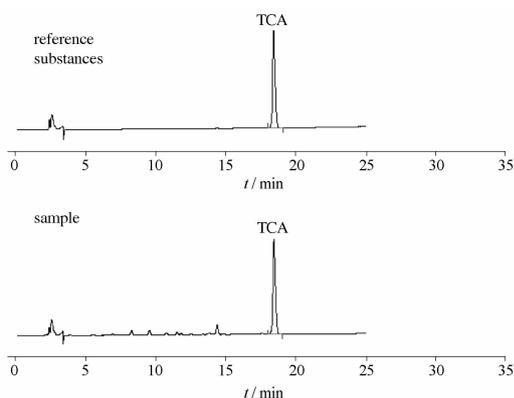


图4 蛇胆的液相色谱图

Fig. 4 Liquid chromatograms of snake bile

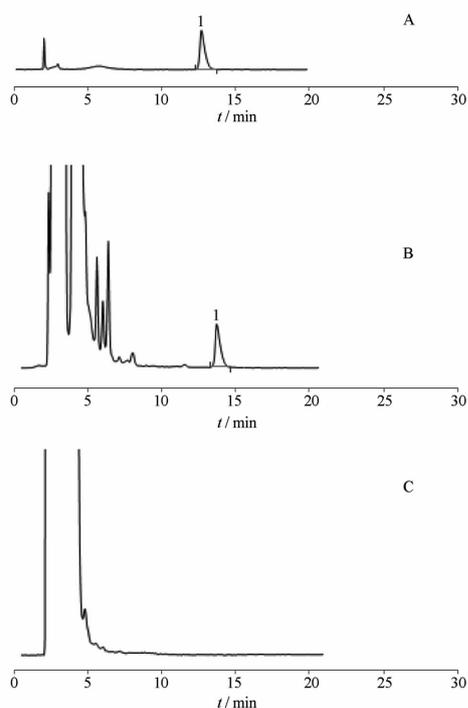


图5 蛇胆陈皮制剂的液相色谱图

A - 对照品; B - 样品; C - 阴性样品; 1 - 牛磺胆酸

Fig. 5 Liquid chromatograms of Shedan Chenpi preparation

A - reference substances; B - sample; C - negative control sample; 1 - TCA

3 讨论

本实验采用液相色谱质谱联用技术,对蛇胆及其他动物胆中的胆汁酸种类及含量进行了深入研究。通过成分研究发现蛇胆药材及成方制剂中的质量风险点,从而开展蛇胆药材及成方制剂的质量控制方法研究,探求从原料到制剂的整体质量控制研究方法。

通过研究,对于蛇胆药材及其成方制剂的质量

控制,增加了杂胆的检查,修订了 TCA 的含量测定方法。在实验中还发现,由于增加了猪、牛、羊胆的检查,某些蛇胆成方制剂中虽然 TCA 的含量很高,但存在异常的甘氨酸型胆酸,存在掺假嫌疑。所以,单纯的控制 TCA 的含量并不能有效地保证产品质量,通过增加检查项,可以有效地降低蛇胆掺杂风险。根据合格蛇胆药材中 TCA 的实测值,依据蛇胆成方制剂的处方、工艺,合理的拟定成方制剂中 TCA 的含量限度值,有利于提高蛇胆及其成方制剂的产品质量。

REFERENCES

- [1] *Ch. P* (2015). Vol I (中国药典 2015 年版. 一部) [S]. 2015.
- [2] LEI K, ZHANG C L, LIU Y N, *et al.* Research progress and application of metabolite profiling of bile acids [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2018, 53(2):92-97.
- [3] QIAO X, YE M, PAN D L, *et al.* Differentiation of various traditional Chinese medicines derived from animal bile and gallstone: simultaneous determination of bile acids by liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry [J]. *Chromatogr A*, 2011, 1218:107-117.
- [4] YERIGUI, WU X H, WANG X J, *et al.* Quantification of bile acids in traditional animal medicines and their preparations using ultra high-performance liquid chromatography-mass spectrometry in the multiple reaction monitoring mode [J]. *Anal Sci*, 2016, 32(5):499-503.
- [5] JOHN C, WERNER P, WORTHMANN A, *et al.* A liquid chromatography-tandem mass spectrometry-based method for the simultaneous determination of hydroxy sterols and bile acids [J]. *J Chromatogr A*, 2014, 1371(5):184-195.
- [6] ZHENG T J, SHI Y, ZHANG W J, *et al.* Research progress on quality control methods of snake bile and related preparations [J]. *Asia-Pacific Tradit Med* (亚太传统医药), 2016, 12(10):36-41.
- [7] ZHANG J, PENG J, NIE J, *et al.* Rapid identification of bile acids in snake bile using ultrahigh-performance liquid chromatography with electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. *Chromatogr B*, 2016, 1036:157-169.
- [8] ZHANG J, FAN Y Q, NIE J, *et al.* Simultaneous determination of nine kinds of dominating bile acids in various snake bile by ultrahigh-performance liquid chromatography with triple quadrupole linear iontrap mass spectrometry [J]. *Chromatogr B*, 2017, 1068-1069:245-252.
- [9] WU X D, QI W Y, DONG Y, *et al.* Study on anti-inflammatory activities of bile from *Channa argus* [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2017, 33(7):941-945.
- [10] SHI C Z, MAO Y F, FAN Q X. Studies on the toxic constituent in fish gallbladder [J]. *J Tongji Med Univ* (同济医科大学学报), 1992, 21(3):168-171.
- [11] ZHU W, ZHOU R, CHEN X Y, *et al.* Quality analysis and evaluation of snake bile in Shedan Chenpi preparation [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 2017, 37(18):1827-1830.

(收稿日期:2019-04-30)