UPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS 法测定大鼠血浆中苍耳亭浓度及大鼠体内的药代动力学研究

曹 秀，张 蕾，李会婷，马祎旋，史天陆*

（中国科学技术大学附属第一医院（安徽省立医院）药学部，安徽合肥 230046）

摘要：建立了超高效液相色谱 - 四极杆 - 静电场轨道阱高分辨质谱（UPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS）法测定大鼠血浆中的苍耳亭浓度。大鼠血浆经三氯甲烷和乙酸乙酯（体积比 2∶1）沉淀蛋白后作为待测物。UPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS 法采用 Shim-pack GIST C_{18} 柱（2.1 mm×50 mm，2 μm）分离待测物，以含 0.1%甲酸和 0.1%甲酸铵的水溶液和甲醇为流动相，梯度洗脱，设置流速为 0.3 mL/min，柱温为 40 ℃，进样量为 10 μL，并采用电喷雾离子源，正离子、全扫描 - 选择离子监测模式检测。结果显示，苍耳亭血浆质量浓度的线性范围为 1 ～ 1 000 ng/mL，定量下限为 1 ng/mL。大鼠尾静脉注射给予 15.0 mg/kg 苍耳亭后，于不同时间点测定血药浓度，并采用 Phoenix WinNonlin 8.1 软件计算药动学参数。结果显示，苍耳亭的 $t_{1/2}$ 为（69.89±15.19）min、V_d 为（31.05±16.32）L、$AUC_{0\to\infty}$ 为（4.40±2.30）mg·min·mL^{-1}。该方法灵敏、快速、简单，适用于大鼠血浆样品中苍耳亭的浓度测定和药代动力学研究。

关键词：苍耳亭；抗肿瘤活性；超高效液相色谱 - 四极杆 - 静电场轨道阱高分辨质谱；药代动力学；大鼠；含量测定

中图分类号：R917；R965　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2026)07-817-06

引用：曹秀, 张蕾, 李会婷, 等. UPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS法测定大鼠血浆中苍耳亭浓度及大鼠体内的药代动力学研究[J]. 中国医药工业杂志, 2026, **57**(7): 817-822. DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2026.07.010

Determination and Pharmacokinetics of Xanthatin in Rat Plasma by UPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS

CAO Xiu, ZHANG Lei, LI Huiting, MA Yini, SHI Tianlu*

(*Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of USTC (Anhui Provincial Hospital), Hefei 230046*)

ABSTRACT: An ultra-high performance liquid chromatography coupled with Q-Exactive Orbitrap high-resolution mass spectrometry (UPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS) method was established for the determination of xanthatin concentration in rat plasma. The rat plasma was firstly admistrated with a mixture of chloroform and ethyl acetate (2∶1) for protein precipitation. The UPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS method used a Shim-pack GIST C_{18} column (2.1 mm×50 mm, 2 μm) to separate the plasma sample. The mobile phase consisted of water containing 0.1% of formic acid and 0.1% of ammonium formate and methanol in gradient elution mode, at a flow rate of 0.3 mL/min. The column temperature was 40 ℃ and the injection volume was 10 μL. The analysis was conducted using an electrospray ionization source in positive ion mode with full-scan and selected ion monitoring. The calibration curve showed good linearity over the concentration range of 1 – 1 000 ng/mL, and the LOQ was 1 ng/mL. After intravenous administration of 15.0 mg/kg xanthatin via the rat tail vein, the drug plasma concentration was measured at different time points. The pharmacokinetic parameters were calculated by Phoenix WinNonlin 8.1. The results showed that the $t_{1/2}$ was (69.89±15.19) min, the V_d was (31.05±16.32) L, and the $AUC_{0\to\infty}$ was (4.40±2.30) mg·min·mL^{-1}. This method is sensitive, rapid, simple, and suitable for the determination of xanthatin in rat plasma and for pharmacokinetic studies.

Key Words: xanthatin; antitumor activity; UPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS; pharmacokinetics; rat; concentration determination

苍耳子是菊科植物苍耳（*Xanthium sibiricum* Patr.）的干燥成熟带总苞的果实，性温而味辛、苦，主要用于散风寒，通鼻窍，祛风湿；主要活性成分包括挥发油类、倍半萜内酯类、苷类、酚酸类、甾体类等[1-2]。研究[3-5]显示，苍耳亭（xanthatin，**1**）在体内外具有促进多种细胞凋亡的效果，还具有抗炎、抗过敏等作用。**1**属于倍半萜内酯类，含有的*α*,*β*-不饱和羰基-*γ*内酯结构是其发挥药效作用的基本结构。

本课题组前期研究[6]表明，**1**在体内外展现出抗肝癌细胞作用。然而，目前关于**1**体内外含量测定方法的研究较少。前期研究曾参考文献[7]采用HPLC法测定生物样本中的**1**，但在检测限范围内，大鼠血浆中未检出**1**。推测原因是**1**的溶解度低，且可与含巯基的化合物发生反应[8]。为减少生物基质对**1**含量测定的干扰，参照文献[9]方法采用三重四极杆质谱仪测定大鼠血浆中的**1**，但未发现相应离子对，且未找到适合分析的离子对。因此，本研究尝试通过阻止**1**与血浆中的富电子化合物快速结合，增强**1**的血浆稳定性；同时采用选择性和分辨率更高的UPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS法[10]进行分析，以期为后续研究**1**的体内代谢途径提供分析手段。

1　仪器与试药

UltiMate 3000型超高效液相色谱系统和Q-Exactive Orbitrap型高分辨质谱（美国Thermo Fisher Science公司）；FA2004B型电子天平（上海精科天美科学仪器有限公司）；Milli-Q Integral型超纯水系统（密理博中国有限公司）。

1对照品（南京植翠生物科技有限公司，含量>98%，批号SZ201911108CET）；卡马西平（内标，中国食品药品检定研究院，含量>98%，批号100142-201706）；甲醇、三氯甲烷、乙酸乙酯、浓盐酸（浓度37%）、甲酸和甲酸铵均为色谱纯级，水为超纯水。

收稿日期：2025-11-09

基金项目：神经与肿瘤药物研发全国重点实验室开放课题面上项目（SKLSIM-F-2025146）、2023安徽省卫生健康科研项目（AHWJ2023A10141）

作者简介：曹　秀，硕士研究生，专业方向：药物代谢动力学。

通信作者：史天陆，主任药师，博士，从事肝癌靶向治疗与药物筛选的研究。

SD大鼠［雄性，体质量200～220 g，清洁级，由中国科学技术大学附属第一医院（安徽省立医院）实验动物中心提供，实验动物使用许可证号：SYXK（皖）2022-008］，在实验动物中心饲养，温度（23±2）℃，相对湿度（55±5）%，每天光照12 h，可自由饮水和进食；适应性饲养2周，试验前禁食12 h、不禁水。本次动物实验经中国科学技术大学附属第一医院（安徽省立医院）实验动物伦理委员会批准，伦理审批号为2023-N（A）-306。

2　方法与结果

2.1　色谱条件

色谱柱 Shim-pack GIST C_{18}柱（2.1 mm×50 mm，2 μm）；流动相A为含0.1%甲酸和0.1%甲酸铵的水溶液，B为甲醇，洗脱梯度（0—1 min，B 30%；1—3.3 min，B 95%；3.3—4.5 min，B 30%）；柱温40 ℃；流速0.30 mL/min；进样量10 μL。

2.2　质谱条件

离子源　电喷雾离子源；鞘气流速40 L/h；辅助气流速8 L/h；喷雾电压4 kV；毛细管温度320 ℃；辅助气温度200 ℃；归一化碎裂能量20、40、60 V；扫描模式　正离子，全扫描-选择离子监测（full scan-selected ion monitoring，Full-MS-SIM）；全扫描分辨率70 000；质量扫描范围　*m*/*z* 100～*m*/*z* 600。数据采集和分析均使用Xcalibur 4.1软件（美国Thermo Fisher Science公司）。

2.3　溶液配制

精密称取**1**对照品10 mg，用甲醇溶解并制成1 mg/mL的标准贮备液；精密量取适量，用甲醇稀释成质量浓度为10、50、100、200、500、1 000、2 000、5 000、10 000 ng/mL的系列标准溶液和2、100、800 ng/mL的低、中、高质量浓度质控溶液。

精密称取内标10 mg，置10 mL量瓶中，加甲醇溶解并定容，摇匀；用甲醇稀释成质量浓度为500 ng/mL的内标工作液，备用。

取**1**对照品适量，加入DMSO适量，混匀后加入泊洛沙姆溶液（用超纯水配制，30 mg/mL），再加入水振荡溶解，制成**1**质量浓度为3 mg/mL的溶液，供药代动力学试验用。

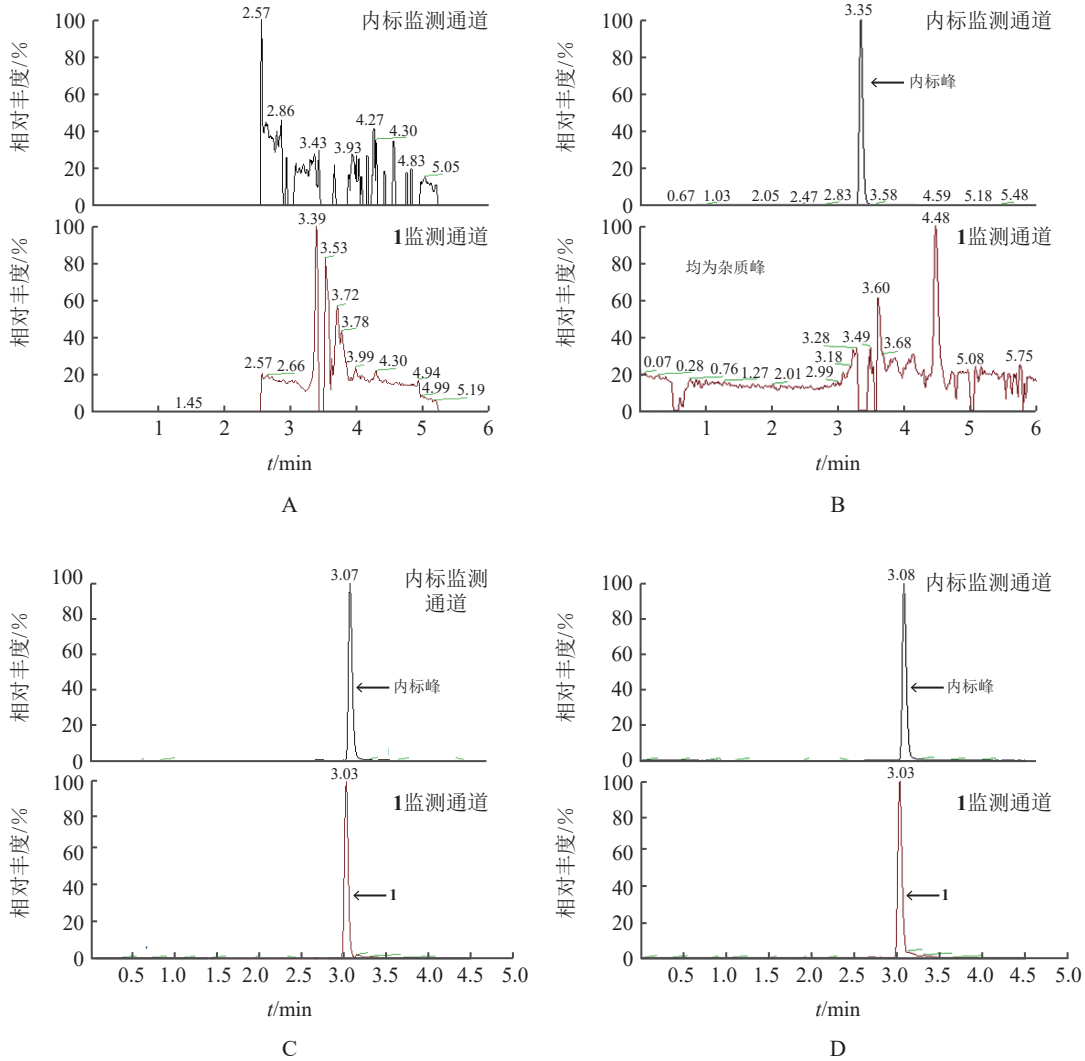
2.4 血浆样品预处理

取全血 450 μL 置 EDTA 抗凝管中，加入 3.5% 盐酸 19.5 μL 酸化，离心（1 291.5×*g*）5 min；取上清液 150 μL 置另一离心管中，加入内标工作液 15 μL，涡旋 1 min，加入饱和氯化钠溶液 20 μL，混合 2 min，再加入三氯甲烷和乙酸乙酯（体积比 2∶1）600 μL，涡旋 3 min，离心（1 431.0×*g*）5 min；将下层液体转移至另一干燥的一次性离心管中，于 37 ℃氮气吹干，残留物以 70% 甲醇 100 μL 溶解，涡旋 1 min，离心（12 879.4×*g*）10 min，取上清液 10 μL，按“**2.1**”及“**2.2**”项下色谱质谱条件进样分析。

2.5 方法学验证

2.5.1 专属性试验

取 6 只健康 SD 大鼠的全血，按“**2.4**”项下方法处理，得到酸化血浆。分别取空白酸化血浆、空白酸化血浆加内标工作液、空白酸化血浆加 **1** 对照品溶液（100 ng/mL）和内标工作液、大鼠给药 30 min 后血样（按“**2.4**”项下方法预处理），分别进样分析，获得提取离子流色谱图，结果如图 1 所示。正离子模式下，**1** 理论相对分子质量为 247.132 9，要求实



A—空白酸化血浆；B—空白酸化血浆加内标；C—空白酸化血浆加对照品和内标；D—给药 30 min 后大鼠血样加内标。

图 1 1 和内标的提取离子流色谱图

Fig.1 The Extracted Ion Chromatograms of **1** and the Internal Standard

测相对分子质量与理论值的误差不超过 5×10^{-6}，即限定 **1** 实测相对分子质量为 247.131 6 ～ 247.134 0。因此，**1** 的监测离子范围为 245.132 9 ～ 249.132 9；内标实测相对分子质量为 237.102 2，监测离子范围为 235.1022 ～ 239.102 2。在选择的色谱条件下，**1** 和内标分离较好，且内源性物质不干扰 **1** 的测定，提示该方法专属性良好。

2.5.2　线性试验和定量下限

取大鼠空白酸化血浆 150 μL，分别加入系列标准溶液 15 μL，制成相当于 **1** 质量浓度为 1、5、10、20、50、100、200、500、1 000 ng/mL 的模拟血浆样品，按“**2.4**”项下方法操作后进样测定。以 **1** 质量浓度（*c*）为横坐标，**1** 与内标物的峰面积比值（*Y*）为纵坐标，用加权最小二乘法进行回归运算。结果显示，**1** 血浆质量浓度在 1 ～ 1 000 ng/mL 范围内与 *Y* 线性关系良好，标准曲线方程为 $Y=0.027\ 6c+0.027\ 9$（$r=0.999\ 0$），定量下限为 1 ng/mL。

2.5.3　精密度和准确度试验

取大鼠空白酸化血浆 150 μL，按“**2.5.2**”项下方法配制成 **1** 质量浓度分别为 2、100 和 800 ng/mL 的质控血样，按“**2.4**”项下方法预处理，每个质量浓度平行制备 5 份，根据随行标准曲线计算质控样品中 **1** 的质量浓度。分别于同一日和连续 3 d 进样测定，计算得质控样品质量浓度的日内和日间 RSD 分别为 1.87%～ 3.60%和 2.03%～ 4.65%，准确度分别为 104.55%～ 111.00%和 104.31%～ 111.28%（表 1），所有结果均符合生物样品测定的相关要求。

2.5.4　提取回收率和基质效应试验

取“**2.5.3**”项下配制的低、中、高质量浓度质控血样，按“**2.4**”项下方法预处理，每个质量浓度平行制备 5 份，进样分析，得到 **1** 与内标峰的面积比 Y_A；取大鼠空白酸化血浆，按“**2.4**”项下方法预处理后取上清液，加入 **1** 系列标准溶液制成终质量浓度为 2、100 和 800 ng/mL 的血浆样品，每个质量浓度平行制备 5 份，分别进样测定，同法计算峰面积比 Y_B；用流动相配制 **1** 终质量浓度为 2、100 和 800 ng/mL 的对照品溶液，每个质量浓度平行制备 5 份，分别进样测定，同法计算峰面积比 Y_C。计算 **1** 的提取回收率（Y_A/Y_B）和基质效应（Y_B/Y_C）。结果如表 1 所示，低、中、高质量浓度溶液提取回收率的 RSD 为 8.35%～ 13.26%，结果符合生物样品分析方法要求。基质效应均值为 48.77%～ 58.50%，表明血浆基质对 **1** 测定会产生抑制效应，但 RSD 值均一，为 3.00%～ 5.48%，表明基质抑制作用较稳定，不影响实际检测。

2.5.5　稳定性试验

取“**2.5.3**”项下制备的质控血样，按“**2.4**”项下方法预处理，每个质量浓度平行制备 5 份，分别于室温避光放置 8 h、3 次冻融（取 －20 ℃冷冻 7 d 的样品，于 20 ℃融化 1 h，再于 －20 ℃冷冻 24 h，共冻融循环 3 次）后，测定样品中的 **1** 含量，计算 RSD 和 RE；另取低、中、高质控溶液，分别于 4 ℃放置 24 h，－20 ℃放置 30 d，测定溶液中的 **1** 含量，计算 RSD 和 RE。

质控血样和 **1** 质控溶液在不同条件下稳定性结果如表 2 所示。血浆于室温放置 8 h 或冻融 3 次后，**1** 的实测质量浓度 RSD 均不高于 7.89%。**1** 标准溶液在 4 ℃放置 24 h 和 －20 ℃放置 30 d，稳定性较好。

2.6　药代动力学研究

取 6 只健康雄性 SD 大鼠，以及“**2.3**”项下的 **1** 溶液，按 15.0 mg/kg 的剂量通过尾静脉注射给药，分别于给药前及给药后 2、5、10、15、30、60、120、240 和 360 min 时于眼底静脉丛取血 450 μL，置 EDTA 抗凝试管中，按“**2.4**”项下方法处理后进

表 1　精密度、准确度、回收率和基质效应的测定结果 /%（n=5）

Tab.1　Determination Results of Precision, Accuracy, Recovery and Matrix Effect/%（n=5）

质量浓度 /（ng·mL^{-1}）	日内		日间		提取回收率		基质效应	
	RSD	RE	RSD	RE	RSD	RE	RSD	RE
2	3.60	111.00	3.71	111.28	11.78	91.33	3.00	57.61
100	2.50	105.34	4.65	106.73	8.35	84.30	5.48	48.77
800	1.87	104.55	2.03	104.31	13.26	75.33	4.75	58.50

表 2 1 在大鼠血浆中的稳定性 /%（*n*=5）

Tab.2 Stability of **1** in Rat Plasma/%（*n*=5）

质量浓度 /(ng·mL^{-1})	质控血样				质控溶液			
	室温 8 h		3 次冻融		4 ℃，24 h		－20 ℃，30 d	
	RSD	RE	RSD	RE	RSD	RE	RSD	RE
2	6.25	102.33	6.74	101.94	2.33	103.49	4.28	104.65
100	5.29	104.70	7.89	107.17	3.00	101.94	3.59	100.27
800	6.13	104.85	7.20	104.57	3.38	102.37	0.9	95.26

样分析。采用 Phoenix WinNonlin 8.1 软件通过非房室模型计算药代动力学参数，结果如表 3 所示。平均血药浓度 - 时间曲线如图 2 所示。

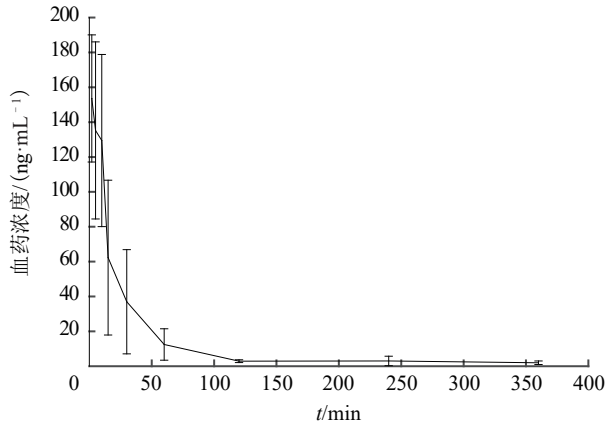


图 2 大鼠血浆中 1 的平均药 - 时曲线（*n*=6）

Fig.2 Mean Concentration-time Curve of **1** in Rat Plasma (*n*=6)

表 3 1 注射给药后在大鼠体内的药代动力学参数（$\bar{x}\pm s$，*n*=6）

Tab.3 Pharmacokinetic Parameters of **1** in Rats after Injection ($\bar{x}\pm s$, *n*=6)

参数	数值
c_{max}/(ng·mL^{-1})	153.50±36.50
$AUC_{0\to t}$/(mg·min·mL^{-1})	4.21±2.24
$AUC_{0\to\infty}$/(mg·min·mL^{-1})	4.40±2.30
$MRT_{0\to t}$/min	54.48±6.34
$MRT_{0\to t\infty}$/min	73.61±5.00
$t_{1/2}$/min	69.89±15.19
V_d/(L)	31.05±16.32
Cl/(mL·min^{-1})	343.64±187.99

3 讨论

3.1 分析条件优化

生物样本基质复杂，含量测定时内源性干扰多、检测浓度范围宽，需要灵敏度高、适用性广、选择性高、分析速度快的分析技术。三重四极杆质谱法灵敏度高、成本适中、方法成熟，但分辨率较低、易受干扰，对未知物几乎无法定性，数据回溯性差；而静电场轨道阱高分辨质谱的分辨率高，通过全扫描模式可采集所有离子信息，实现数据回溯分析[11-12]。预试验中曾分别采用 HPLC 法、三重四极杆质谱法进行检测，但均不能检出大鼠血浆中的 **1**。为降低生物基质的干扰，提高测量精度，本研究采用 UPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS 法进行分析。

色谱柱类型、柱温、流动相组成及流速等均会影响待测物的色谱峰形和检出效果。曾考察了 2 种不同规格 C_{18} 柱［Waters ACQUITY UPLC BEH C_{18} 柱（2.1 mm×50 mm，1.7 μm）和岛津 Shim-pack GIST C_{18} 柱（2.1 mm×50 mm，2.0 μm）］，结果显示后者在相同条件下的柱效更高，故选用。也曾尝试乙腈 - 水、甲醇 - 水等流动相组合。结果显示，在相同条件下，甲醇 - 水溶液体系的响应强度是乙腈 - 水体系的 4 倍，色谱峰形尖锐，待测物与杂质分离度良好。在水相中加入不同浓度的酸性化合物，可进一步增强待测物的离子响应、减少拖尾，最终选用甲醇 - 水（含 0.1％甲酸和 0.1％甲酸铵）作为流动相组分。试验中还观察到，降低流速和提高温度有助于提高待测物与杂质的分离度：流速为 0.3 mL/min、柱温为 40 ℃时分离效果较佳。本研究仅检测单一目标化合物，且使用 Full-MS-SIM 模式时，**1** 在正离子模式下的响应更灵敏。

3.2 样品前处理条件优化

前期预试验表明，离心取血浆的过程中无法阻断 **1** 的代谢，因此需寻求增强 **1** 在血浆中稳定性的方法。不饱和羰基和内酯结构具有活跃的亲电子性，

因此推测 **1** 在体内会与富电子化合物快速结合，从而影响其稳定性。文献[13-14]报道，溶液 pH 值会影响倍半萜内酯类化合物的稳定性和富电子化合物的电离情况，因此在样品前处理时加入适量酸性化合物可以增加 **1** 在血浆中的稳定性。而选择不同的酸，或改变酸的用量，**1** 含量的下降程度不同；经试验，全血用 3.5%盐酸按 23 ∶ 1 的体积比酸化，**1** 稳定性较高。

3.3 药代动力学特征分析

1 可与胃黏膜中生物分子的巯基发生迈克尔加成反应[8]，且其溶解性较差，故采用静脉注射方式给药。研究[9]提示，**1** 的体内代谢差异大，同一给药剂量下血药浓度差异可达 5 倍以上。为进一步了解 **1** 在体内的变化情况，按 15.0 mg/kg 的剂量尾静脉注射给予大鼠。结果显示，给药 0.5 h 内血药浓度快速下降，表观分布容积大，与文献[9]报道一致。但本研究所得的 AUC 较大，$t_{1/2}$ 较小［文献[9]：12 μg/g 给药组 AUC 为 (14.34±7.12) mg·h·mL^{-1}，$t_{1/2}$ 为 (108.58±32.82) min］，可能原因如下：① **1** 脂溶性强，测得的表观分布容积为 (31.05±16.32) L，远大于大鼠血浆体积，因此药物可能集中分布至某个或多个组织内；② **1** 半衰期短，入血后消除速度快；③ **1** 在体内发生了生物转化，个体差异较大[9]。

本课题组前期研究 **1** 的体内抗肝细胞癌活性时，对小鼠按 10、20、40 mg/kg 的剂量给药，均显示能抑制肿瘤生长。本试验选取大鼠为模型，按 2 种模型动物给药剂量的换算原则，选取中剂量（大鼠按 15.0 mg/kg 的剂量尾静脉注射）进行药代动力学研究。后续试验可考虑设置低、中、高给药剂量给药组，考察 **1** 在大鼠体内的药代动力学过程；也可考虑对 **1** 进行结构改造，增加 **1** 在血浆中的稳定性，同时借助现代技术，探索 **1** 的体内代谢变化，分析 **1** 的可能代谢物。

参考文献：

[1] 潘乐, 何源, 雷冬玉, 等. 新疆苍耳属入侵种相关化学成分与生物活性研究[J]. 药学研究, 2019, **38**(4): 233-236.

[2] 张灵敏, 李静波, 蔡纪堂, 等. 苍耳子化学成分及其对腺样体的影响[J]. 中成药, 2022, **44**(3): 807-811.

[3] Chen H, Zhu T, Huang X, *et al*. Xanthatin suppresses proliferation and tumorigenicity of glioma cells through autophagy inhibition via activation of the PI3K-Akt-mTOR pathway [J]. *Pharmacol Res Perspect*, 2023, **11**(1): e01041.

[4] Xu H, Yan Q, Huang X X, *et al*. Xanthatin: a promising natural product in combating disease [J]. *Eur J Pharmacol*, 2025, **1001**: 177772.

[5] Gürağaç Dereli F T, Ilhan M, Sobarzo-Sánchez E, *et al*. The investigation of the potential antidepressant-like activity of *Xanthium orientale* subsp. *italicum* (Moretti) Greuter in rodents [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, **258**: 112914.

[6] Shi T L, Zhang L, Cheng Q Y, *et al*. Xanthatin induces apoptosis by activating endoplasmic reticulum stress in hepatoma cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, **843**: 1-11.

[7] 曹秀, 韩静文, 吴妍, 等. 高效液相色谱法测定大鼠血浆中倍半萜内酯类化合物苍耳亭的浓度[J]. 中国医院用药评价与分析, 2020, **20**(12): 1417-1420.

[8] Vera M E, Mariani M L, Aguilera C, *et al*. Effect of a cytoprotective dose of dehydroleucodine, xanthatin, and 3-benzyloxymethyl-5*H*-furan-2-one on gastric mucosal lesions induced by mast cell activation [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(11): 5983.

[9] Yan C P, Li H, WU Y, *et al*. Determination of xanthatin by ultra high performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry: application to pharmacokinetic study of xanthatin in rat plasma [J]. *J Chromatogr B*, 2014, **947/948**: 57-61.

[10] Zhang V Y, Jackson T. 质谱技术在临床实验室的应用[J]. 检验医学, 2019, **34**(1): 1-7.

[11] 李元元, 王彩虹, 生宁, 等. 中药多成分药代动力学分析技术研究进展[J]. 质谱学报, 2023, **44**(1): 1-12.

[12] 张晓颖, 叶珍洁, 吴灵洁, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定5种抗逆转录病毒药物血药浓度[J]. 医药导报, 2024, **43**(2): 207-214.

[13] Cheng Y S, Linetsky M, Li H, *et al*. 4-Hydroxy-7-oxo-5-heptenoic acid lactone can induce mitochondrial dysfunction in retinal pigmented epithelial cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, **160**: 719-733.

[14] Zhuo Y, Chen H, Liu C, *et al*. Covalent modification of proteins by osthole reactive metabolites using proteomic approaches [J]. *Curr Drug Metab*, 2023, **24**(8): 611-620.