

DEVELOPMENT OF A METHOD FOR SIMULTANEOUS QUANTIFICATION OF TWO ALKALOIDS IN HUMAN BLOOD SAMPLES BY LIQUID CHROMATOGRAPHY - TANDEM MASS SPECTROMETRY

CHINH VIET NGUYEN¹, ✉, KHANH DANG DUC¹, CHI HOANG THI QUE¹
MAI NGUYEN THI XAO¹, DUYEN MINH LE², DAI HUY DANG³

¹Institute of Military Forensic Medicine

²National Institute of Drug Quality Control

³Journal of Military Pharmacology-medicine

✉Corresponding author: nguyenvietchinh0301@gmail.com

Received November 9th, 2025

Accepted December 8th, 2025

Abstract: This study developed a method for the simultaneous qualitative and quantitative analysis of two alkaloids, including strychnine and brucine, in poisoning or post-mortem human blood samples using liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS). This method is developed based on current FDA guidelines. **Results:** Isotopes Warfarin-d5 was used as an internal standard. The procedure for samples treatment was simple, with the value of recovery being higher than 85% and repeatability being lower than 15.0%. The experimental results showed that the limit of detection (LOD) of strychnine and brucine were 0.25 ng/mL and 0.15 ng/mL. The linearity of the method was in the range of 1 ng/mL to 250 ng/mL with a correlation coefficient (R) from 0.9997 to 0.9998.

Keywords: strychnine, brucine, alkaloid, human blood samples, LC-MS/MS.

XÂY DỰNG QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG THỜI HAI ALKALOID ĐỘC TRONG MÁU NGƯỜI BẰNG SẮC KÝ LỎNG GHÉP NỐI HAI LẦN KHỐI PHỔ

NGUYỄN VIỆT CHÍNH¹, ✉, ĐẶNG ĐỨC KHANH¹, HOÀNG THỊ QUẾ CHI¹
NGUYỄN THỊ XAO MAI¹, LÊ MINH DUYÊN², ĐẶNG HUY ĐẠP³

¹Viện Pháp y Quân đội

²Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương

³Tạp chí Y học Quân sự

✉Tác giả liên hệ: nguyenvietchinh0301@gmail.com

Nhận bài ngày 09 tháng 11 năm 2025

Chấp nhận đăng ngày 08 tháng 12 năm 2025

Tóm tắt: Nghiên cứu phát triển một phương pháp định tính và định lượng đồng thời 02 alkaloid độc có nguồn gốc từ cây Mã tiền (*Strychnos nux vomica* L.) trong mẫu máu người bị ngộ độc hoặc tử vong liên quan đến Strychnin và Brucin bằng kỹ thuật sắc ký lỏng khối phổ (LC/MS-MS). Phương pháp được thẩm định theo hướng dẫn hiện hành của FDA. **Kết quả:** Phương pháp sử dụng Warfarin-d₅ làm nội chuẩn. Quy trình xử lý mẫu đơn giản, độ thu hồi của các chất lớn hơn 85% và độ lệch chuẩn tương đối dưới 15,0%. Kết quả nghiên cứu cho thấy giới hạn phát hiện (LOD) của Strychnin và Brucin lần lượt là 0,25 ng/mL và 0,15 ng/mL. Khoảng tuyến tính khảo sát các chất có hàm lượng từ 1 ng/mL đến 250 ng/mL với hệ số tương quan tuyến tính (R) từ 0,9997 đến 0,9998.

Từ khóa: strychnin, brucin, alkaloid, mẫu máu người, LC-MS/MS.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Strychnin, Brucin thuộc nhóm alkaloid có độc tính cao được nghiên cứu và chiết xuất từ cây Mã tiền (*Strychnos nux vomica* L.). Mã tiền phân bố phổ biến ở khu vực châu Á như Ấn Độ, bán đảo Malaysia, Campuchia, Lào và Việt Nam. Tại Việt Nam, Mã tiền được tìm thấy từ Khánh Hòa đến Tây Ninh [1]. Ngộ độc và tử vong liên quan đến strychnin và brucin có nhiều nguyên nhân khác nhau, có thể do uống nhầm rượu xoa bóp ngâm hạt Mã tiền, do ngộ độc thuốc diệt chuột có thành phần là strychnin hoặc sử dụng quá liều một số loại thuốc điều trị có chứa hoạt chất strychnin... Do đó, việc xác định được nguyên nhân gây ngộ độc và tử vong là thực sự cần thiết.

Hiện nay, sắc ký lỏng kết hợp với detector khối phổ nối tiếp 2 lần (LC-MS/MS) được xem là thiết bị phân tích hiện đại, với nhiều điểm ưu việt như có độ nhạy, độ ổn định, độ chính xác cao và thao tác xử lý đơn giản giúp phân tích nhanh các alkaloid độc trong máu vừa tiết kiệm thời gian, cũng như chi phí [3 - 5]. Nghiên cứu xây dựng một quy trình phân tích đồng thời strychnin, brucin chính xác trong mẫu máu sử dụng thiết bị LC-MS/MS, kết hợp với kỹ thuật chiết lỏng - lỏng (LLE) giúp xử lý mẫu nhanh, đơn giản. Phương pháp xây dựng có ý nghĩa thực tiễn cao, giúp xác định nhanh chóng, chính xác nguyên nhân ngộ độc và phục vụ công tác giám định pháp y tại Việt Nam.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Thiết bị, dụng cụ, hóa chất, chất chuẩn

2.1.1. Thiết bị, dụng cụ

Hệ thống sắc ký lỏng kết nối detector 2 lần khối phổ (LC-MS/MS 8045) của hãng Shimadzu; cân phân tích Sartorius (độ chính xác 10^{-4} g); bể rung siêu âm Elmasonic S100; máy ly tâm Rotina 380, bộ làm khô mẫu bằng khí nitơ; micropipet các thể tích từ 2,0 – 1000,0 μ L; các dụng cụ thủy tinh có độ chính xác và các dụng cụ cần thiết khác trong phòng thí nghiệm.

Thiết bị và dụng cụ được hiệu chuẩn định kỳ theo quy định của ISO/IEC 17025 và GLP.

2.1.2. Hóa chất, chất chuẩn

Chất chuẩn: strychnin, brucin và warfarin- d_5 (IS) được mua từ hãng Cayman Chemicals có code lần lượt là 27221, 25432 nguyên trạng.

Dung môi, hóa chất: ethylacetat (EA); diethyl ether; chloroform; acetonitril (ACN); acid formic (HCOOH), NH_4OH 10%; nước deion.

2.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu: strychnin, brucin trong mẫu máu.

- Mẫu sử dụng nghiên cứu: Mẫu máu blank (6 mẫu) được lấy từ những mẫu giám định âm tính với chất nghiên cứu. 05 mẫu máu thực tế của các trường hợp ngộ độc hoặc tử vong liên quan đến strychnin, brucin.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu

* Điều kiện sắc ký lỏng

- Cột Leapsil-C18 ($2,1 \times 100$ mm, $2,7 \mu\text{m}$) của hãng Dikma.

- Pha động: Pha động: A: acid formic 0,1% trong nước deion; B: acid formic 0,1% trong acetonitril. Chạy chương trình gradient.

- Tốc độ dòng: 0,2 mL/phút

- Thể tích tiêm: 3 μL

* Điều kiện khối phổ

Sử dụng detector ghép nối 2 lần khối phổ Triple Quadrupole (MS/MS). Chế độ ion hóa đầu phun điện tử ESI. Các dung dịch chuẩn và nội chuẩn được phân tích ở chế độ full scan để xác định lựa chọn mảnh phân tử mẹ (precursor ion). Tiếp theo, chế độ production được sử dụng để xác định mảnh phân tử con. Các mảnh ion phân tử sau khảo sát được lựa chọn để phân tích theo chế độ MRM (Multiple Reaction Monitoring). Điều kiện khối phổ được tối ưu hóa bằng phần mềm Optimazation của thiết bị.

* Chuẩn bị dung dịch chuẩn và nội chuẩn

- Dung dịch chuẩn gốc nồng độ 10 $\mu\text{g/mL}$ trong methanol được pha từ chất chuẩn strychnin, brucin hàm lượng 99,33%.

- Dung dịch chuẩn nội gốc nồng độ 10 $\mu\text{g/mL}$ trong methanol được pha từ chất chuẩn warfarin- d_5 hàm lượng 99,83%.

- Các dung dịch chuẩn và chuẩn nội trung gian 2 $\mu\text{g/mL}$ trong methanol được pha loãng từ dung dịch chuẩn và chuẩn nội gốc 10 $\mu\text{g/mL}$ trong dung môi methanol.

* Xử lý mẫu phân tích

Lấy chính xác 1,0 mL máu vào ống nghiệm ly tâm 10 mL, thêm 25 μL dung dịch nội chuẩn warfarin- d_5 (nồng độ 2000 ng/mL). Sau đó, mẫu máu được kiềm hóa bằng 50 μL dung dịch NH_4OH 10%, lắc đều, để yên trong 20 phút. Thêm 2 mL dung dịch Chloroform và đem lắc trong 30 phút. Mẫu được ly tâm 6000 vòng/phút trong 5 phút. Hút 1,0 mL lớp dung môi và lọc qua màng 0,22 μm . Làm bay hơi dung môi dưới dòng khí nitơ ở 40°C . Hòa tan cần bằng 500 μL acetonitril, dịch thu được dùng để phân tích LC-MS/MS.

* Thẩm định phương pháp phân tích

Thẩm định phương pháp phân tích theo hướng dẫn của US-FDA gồm các chỉ tiêu: Độ thích hợp hệ thống, độ đặc hiệu, giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ), khoảng tuyến tính, độ đúng và độ lặp lại [2].

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Kết quả khảo sát điều kiện khối phổ MS/MS

Khảo sát tìm mảnh phân tử mẹ, mảnh con, chế độ ion hoá mẫu dựa vào chuẩn đơn chất strychnin, brucin

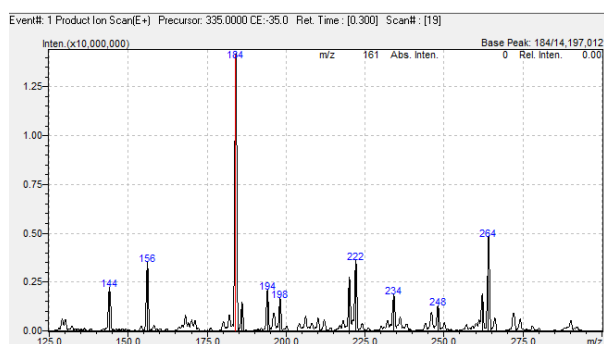
và warfarin-d₅ cùng nồng độ 10,000 ng/mL. Kết quả khảo sát được trình bày dưới Hình 1. Tiến hành tối ưu hóa để tìm điều kiện MS/MS bằng phần mềm Optimazation, kết quả điều kiện khối phổ được trình bày dưới Bảng 1.

Điều kiện khối phổ: Nhiệt độ interface, DL-desolvation line, desolvate hóa lần lượt là 300°C, 250°C, 526°C. Tốc độ khí phun sương, khí làm nóng, khí làm khô lần lượt là 3 mL/phút, 10 mL/phút, 10 mL/phút.

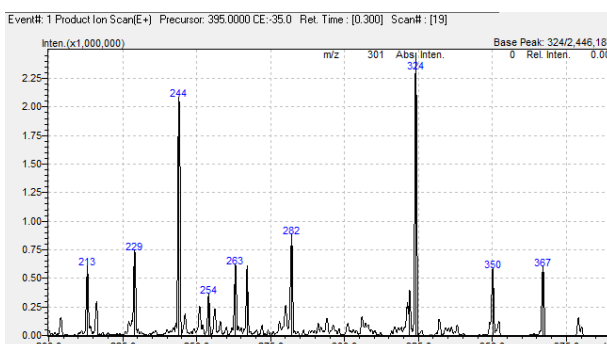
Bảng 1. Kết quả khảo sát điều kiện phân tích trên khối phổ

STT	Chất phân tích	Chế độ phân tích	Mảnh mẹ (m/z)	Mảnh con (m/z)	Q1 (V)	Collision Energy (CE) (eV)	Q3 (V)
1	Strychnin	Positive	335,0	184*	50	-11	-41
				264	50	-27	-34
				156	50	-15	-51
2	Brucin	Positive	395,0	324*	50	-26	-33
				244	50	-28	-25
				282	50	-18	-32
3	Warfarin-d ₅	Negative	312,0	117	50	14	35
				161*	50	10	20
				255	50	19	22

(* mảnh dùng để định lượng)



A



B

Hình 1. Mảnh con lựa chọn phân tích của Strychnin (A) và Brucin (B).

Nhận xét: Từ kết quả bảng 1 và các điều kiện khối phổ đã khảo sát được, nhận thấy điều kiện khối phổ hoàn toàn phù hợp với công thức phân tử chất phân tích tại chế độ $[M+H]^+$. Mỗi chất phân tích nghiên cứu lựa chọn 3 mảnh m/z ion con, trong đó 1 mảnh tín hiệu cao để định lượng và 2 mảnh tín hiệu thấp để định tính.

3.2. Kết quả khảo sát điều kiện sắc ký lỏng

Dụng dịch chuẩn hỗn hợp strychnin, brucin và warfarin-d₅ ở cùng nồng độ 100 ng/mL được sử dụng để khảo sát chương trình pha động trong nghiên cứu.

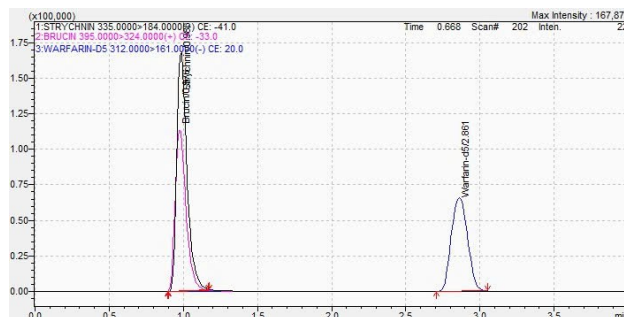
Pha động: A: acid formic 0,1% trong nước deion, B: acetonitril. Chạy chương trình gradient. Kết quả khảo sát

pha động được trình bày dưới Bảng 2. Sắc ký đồ của mẫu chuẩn hỗn hợp các chất phân tích và nội chuẩn được trình bày trong Hình 2.

Bảng 2. Chương trình gradient pha động

Thời gian (phút)	Tốc độ dòng (mL/phút)	A (%)	B (%)
0,01 - 1,00	0,2	40	60
1,01 – 2,50	0,25	30	70
2,51 - 4,00	0,2	40	60

Nhận xét: Chương trình gradient khảo sát pha động trong Bảng 2 cho kết quả pic chất nghiên cứu và nội chuẩn cân đối, thời gian lưu ổn định. Đối với các chất phân tích có thời gian lưu gần nhau, khi phân tích trên detector khối phổ có thể lựa chọn mảnh m/z theo chất nghiên cứu nên không bị ảnh hưởng nhiều.



Hình 2. Sắc ký đồ chuẩn hỗn hợp 2 chất phân tích và nội chuẩn warfarin- d_5

3.3. Khảo sát dung môi chiết

Kỹ thuật chiết lỏng-lỏng (LLE) được sử dụng để khảo sát điều kiện chiết mẫu. Các dung môi khảo sát bao gồm: ethylacetat, diethylete, chloroform tại 03 mức nồng độ 10 ng/mL, 150 ng/mL và 200 ng/mL. Tiến hành xử lý mẫu theo quy trình tại mục 2.2.2. Kết quả khảo sát dung môi chiết được trình bày trong Bảng 3.

Bảng 3. Khảo sát dung môi chiết mẫu

STT	Chất phân tích	Nồng độ thí nghiệm (ng/mL)	Độ thu hồi (%)					
			Ethyl acetat	RSD (%)	Chloroform	RSD (%)	Diethyl ete	RSD (%)
1	Strychnin	10	66,69	6,033	88,86	3,165	80,47	4,502
		150	70,73	3,418	92,21	1,138	84,12	2,898
		200	75,84	3,297	95,28	1,880	87,49	2,107
2	Brucin	10	70,43	4,470	86,46	4,077	81,78	5,115
		150	73,45	3,147	95,39	2,426	87,37	2,982
		200	81,09	2,061	97,02	2,012	92,94	1,815

Nhận xét: Từ kết quả Bảng 3 cho thấy, dung môi Chloroform cho lượng chất thu hồi sau chiết lớn nhất. Do vậy, nhóm nghiên cứu lựa chọn Chloroform làm dung môi chiết mẫu.

3.4. Thẩm định phương pháp

3.4.1. Độ thích hợp hệ thống LC-MS/MS

Tiến hành phân tích dung dịch chuẩn hỗn hợp 02 chất phân tích ở 03 mức nồng độ 2,5 ng/mL; 100 ng/mL và 250 ng/mL cho mỗi chất và nồng độ nội chuẩn ở mỗi mức đều là 50 ng/mL. Phân tích lặp lại 6 lần đối với mỗi mức nồng độ. Giá trị của độ lệch chuẩn tương đối (RSD) được thống kê thông qua tỷ lệ thời gian lưu tương đối và tỷ lệ diện tích pic của 02 chất phân tích với nội chuẩn warfarin- d_5 . Kết quả thí nghiệm khảo sát Độ thích hợp hệ thống được trình bày trong Bảng 4.

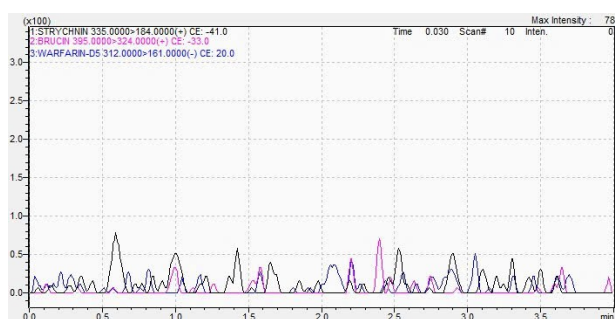
Bảng 4. Kết quả độ thích hợp hệ thống

STT	Chất phân tích	Độ thích hợp hệ thống LC-MS/MS					
		Tỷ lệ thời gian lưu (% RSD)			Tỷ lệ diện tích pic (% RSD)		
		2,5 (ng/mL)	100,0 (ng/mL)	250,0 (ng/mL)	2,5 (ng/mL)	100,0 (ng/mL)	250,0 (ng/mL)
1	Strychnin	0,227	0,201	0,243	4,089	1,433	1,453
2	Brucin	0,308	0,173	0,247	4,624	1,855	2,814

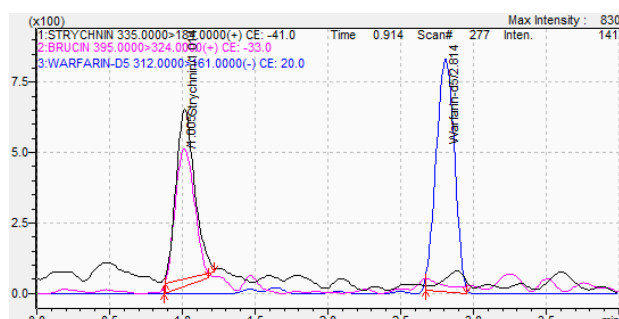
Nhận xét: Kết quả cho thấy độ lệch chuẩn tương đối (RSD) của tỷ lệ thời gian lưu trên nội chuẩn và tỷ lệ diện tích pic chất phân tích trên nội chuẩn có giá trị dưới 5,0%. Vì vậy, phương pháp đạt yêu cầu về độ thích hợp hệ thống.

3.4.2. Độ đặc hiệu

Tiến hành nghiên cứu trên 6 mẫu máu blank và 6 mẫu máu blank thêm chuẩn 02 chất phân tích và chuẩn nội warfarin-d5 ở nồng độ 1,0 ng/mL. Đánh giá sự xuất hiện tín hiệu các pic trên sắc ký đồ của 6 mẫu blank và 6 mẫu thêm chuẩn. Kết quả được trình bày trong Hình 3.



A



B

Hình 3. Sắc ký đồ mẫu máu blank (A). Sắc ký đồ mẫu máu blank thêm chuẩn ở nồng độ 1 ng/mL (B)

Nhận xét: Kết quả khảo sát độ đặc hiệu cho thấy. Trên sắc ký đồ của mẫu máu blank không thấy xuất hiện pic so với sắc ký đồ mẫu máu blank thêm chuẩn tại thời gian lưu chất phân tích và chất nội chuẩn. Vì vậy, phương pháp phân tích đặc hiệu với các chất nghiên cứu.

3.4.3. Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ)

Tiến hành pha loãng dung dịch chuẩn hỗn hợp có nồng độ 1,0 ng/mL sau đó đem phân tích theo điều kiện đã chọn để xác định giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) của chất phân tích. Kết quả LOD và LOQ được trình bày trong Bảng 5.

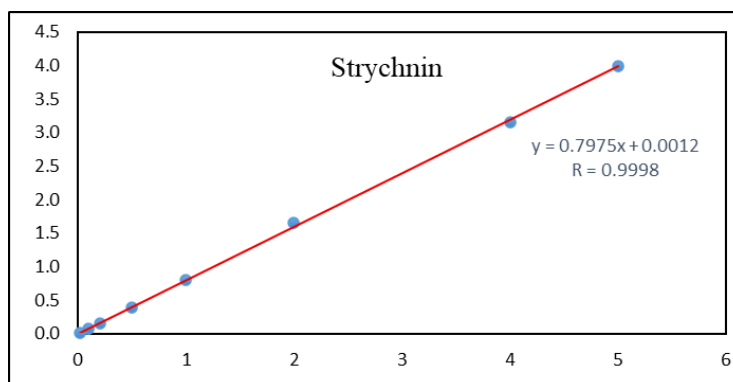
3.4.4. Đường chuẩn và khoảng tuyến tính

Khoảng tuyến tính được khảo sát trên các mẫu máu blank thêm chuẩn hỗn hợp 02 chất phân tích ở 08 nồng độ gồm 1; 5; 10; 25; 50; 100; 200; 250 ng/mL. Nồng độ của nội chuẩn trong các mẫu thêm chuẩn đều là 50 ng/mL. Tại mỗi nồng độ, thí nghiệm lặp lại 06 lần và lấy giá trị trung bình. Đường chuẩn được xây dựng thông qua mối quan hệ tuyến tính giữa tỷ lệ giữa nồng độ và tỷ lệ diện tích pic giữa chất phân tích so với nội chuẩn. Trong đó: Y là tỷ lệ diện tích giữa chất phân tích/IS. X là tỷ lệ nồng độ giữa chất phân tích/IS. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính được trình bày trong Bảng 5 và Hình 4 đại diện cho Đồ thị biểu diễn khoảng tuyến tính của Strychnin.

Bảng 5. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính, giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ).

STT	Chất phân tích	Phương trình hồi quy và hệ số tương quan tuyến tính (R)	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
1	Strychnin	$Y = 0,7975X + 0,0012$, $R = 0,9998$	0,25	0,83
2	Brucin	$Y = 0,5432X - 0,0015$, $R = 0,9997$	0,15	0,50

Nhận xét: Đường chuẩn xây dựng được giữa tỷ lệ diện tích pic của chất phân tích so với nội chuẩn và tỷ lệ nồng độ giữa phân tích so với nội chuẩn, có hệ số tương quan tuyến tính $R \geq 0,995$.



Hình 4. Đồ thị biểu diễn khoảng tuyến tính của Strychnin.

3.4.5. Độ đúng, độ lặp lại của quy trình phân tích mẫu

Độ đúng và độ lặp lại của phương pháp được đánh giá trên các mẫu máu blank thêm chuẩn hỗn hợp 02 chất phân tích ở 03 nồng độ khác nhau là 7,5 ng/mL; 125,0 ng/mL và 225,0 ng/mL, nồng độ nội chuẩn warfarin-d₅ tại mỗi mức đều là 50,0 ng/mL. Mỗi nồng độ chuẩn bị 6 mẫu. Mỗi mức nồng độ thêm chuẩn tiến hành thí nghiệm 06 lần lặp lại. Kết quả được trình bày trong Bảng 6.

Bảng 6. Kết quả khảo sát độ thu hồi và độ lặp lại của quy trình

STT	Chất phân tích	Độ thu hồi (%)			RSD (%)		
		7,5 (ng/mL)	125,0 (ng/mL)	225,0 (ng/mL)	7,5 (ng/mL)	125,0 (ng/mL)	225,0 (ng/mL)
1	Strychnin	88,56	92,74	95,46	4,249	3,541	1,690
2	Brucin	87,67	90,54	94,20	5,010	2,392	1,893

Nhận xét: Kết quả cho thấy độ đúng nằm trong khoảng 87,67 đến 95,46% với độ lệch chuẩn tương đối từ 1,690 đến 5,010%. Do vậy, phương pháp xây dựng đạt yêu cầu về độ đúng và độ lặp lại.

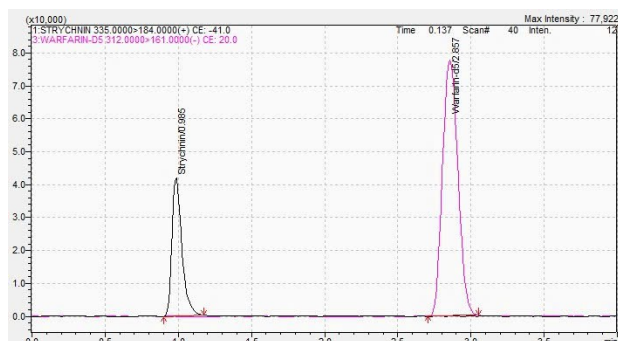
3.5. Kết quả phân tích mẫu thực tế

Áp dụng phương pháp đã nghiên cứu vào phân tích định tính và định lượng 05 mẫu máu của 05 trường hợp ngộ độc và tử vong liên quan đến strychnin và brucin. Mỗi mẫu được phân tích lặp lại 3 lần. Kết quả trung bình được trình bày trong Bảng 7. Sắc ký đồ đại diện cho mẫu dương tính được trình bày trong Hình 5, 6.

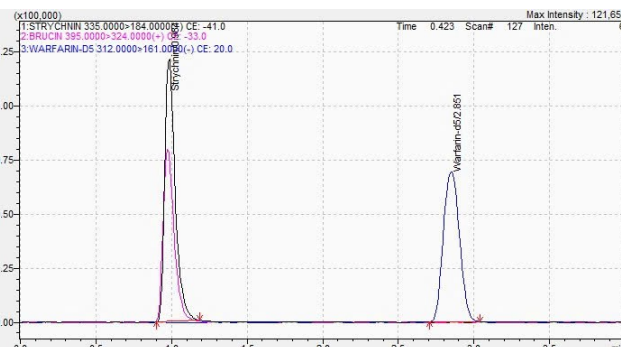
Bảng 7. Kết quả phân tích mẫu máu thực tế gửi giám định.

STT	Họ tên	Năm sinh	Nồng độ (ng/mL)	
			Strychnin	Brucin
1	Nguyễn Văn A	1964	108,68	
2	Tần A C	1972	58,31	23,18
3	Vừ A S	1949	129,29	
4	Nguyễn Hoàng A	1973	194,85	
5	Lê Thị M	1962	41,87	33,50

Từ kết quả phân tích cho thấy, trong 05 mẫu máu thực tế của những trường hợp ngộ độc, từ vong đem phân tích phát hiện 03 mẫu dương tính với strychnin, 02 mẫu dương tính đồng thời với strychnin và brucin. Nồng độ định lượng strychnin và brucin lần lượt trong khoảng 41,87 – 194,85 ng/mL và 23,18 – 33,50 ng/mL. Thời gian phân tích mẫu từ chuẩn bị mẫu, phân tích và đưa ra kết quả trong khoảng 60 phút. Đây là thời gian hợp lý để phân tích mẫu.



Hình 5. Sắc ký đồ mẫu máu thực tế dương tính với Strychnin.



Hình 6. Sắc ký đồ mẫu máu thực tế dương tính đồng thời với Strychnin và Brucin.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng phương pháp phân tích đồng thời 02 alkaloid độc trong mẫu máu là strychnin và brucin. Nghiên cứu sử dụng thiết bị phân tích là LC-MS/MS kết hợp với kỹ thuật chiết lỏng-lỏng (LLE) để xử lý mẫu. Phương pháp phân tích xây dựng đã khảo sát đầy đủ các chỉ tiêu, như độ ổn thích hợp hệ thống, độ đặc hiệu, khoảng tuyến tính, giới hạn phát hiện (LOD),

giới hạn định lượng (LOQ), độ thu hồi và độ lặp lại, có sử dụng chất nội chuẩn warfarin-d₅.

Ứng dụng phương pháp đã xây dựng để xác định nguyên nhân gây ngộ độc và tử vong của 05 trường hợp nghi ngờ liên quan đến strychnin và brucin. Kết quả cho thấy phương pháp phù hợp cho nghiên cứu xác định strychnin và brucin trong máu. Quy trình này có thể ứng dụng để xác định nguyên nhân ngộ độc và hiệu quả điều trị trong lâm sàng cũng như giám định pháp y.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi (2004), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản y học, pp.
2. US FDA, "Bioanalytical method validation", *Guidance for industry*. Rockville, MD: US Department of Health and Human Services Food and Drug Administration. 2018.
3. Chen Rui, Ning Ze, et al. (2019), "Simultaneous determination of 16 alkaloids in blood by ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with supported liquid extraction", *Journal of Chromatography B*, 1128, pp. 121789.
4. Qiu Peihong, Chen Xiaohong, et al. (2008), "Simultaneous determination of five toxic alkaloids in body fluids by high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry", *Journal of Chromatography B*, 875(2), pp. 471-477.
5. Zhang Liang, Yu Wenying (2022), "Pharmacological effects, pharmacokinetics, and strategies to reduce brucine toxicity", *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 32(1), pp. 39-49.