

超高效液相色谱在药物分析中的应用*

郝桂明, 唐素芳

(天津市药品检验所, 天津 300070)

摘 要 超高效液相色谱 (UPLC) 是近年来发展的以超高速、超高分离度、超高灵敏度为特点的新型液相色谱技术。其应用于复杂体系快速分析所表现出的优势, 已引起了药物分析工作者的重视。本文对近年来超高效液相色谱在药物分析中的应用进行了综述。

关键词 超高效液相色谱, 液相色谱技术, 药物分析

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 100625687(2009) 0620064206

Applications of ultra performance liquid chromatography in pharmaceutical analysis

Hao Guiming Tang Sufang

(Tianjin Municipal Institute for Drug Control, Tianjin 300070)

ABSTRACT Ultra performance liquid chromatography (UPLC), a new separation technique in liquid chromatography with its feature of high speed, resolution and sensitivity, has attracted more attention of the pharmaceutical analysts. This present paper reviewed recent applications of UPLC in pharmaceutical analysis.

KEY WORDS UPLC, liquid chromatographic technique, pharmaceutical analysis

2004年3月, Waters公司率先推出了第一台商品化的超高效液相色谱系统 (acuity, UPLCTM)。超高效液相色谱 (ultra performance liquid chromatography, UPLC) 系指一种采用小颗粒填料色谱柱 (粒径小于 2 μm) 和超高压系统 (压力大于 10^5 kPa) 的新型液相色谱技术, 能显著改善色谱峰的分离度和检测灵敏度, 同时大大缩短分析周期, 因此特别适用于微量复杂混合物的分离和高通量研究。问世4年来, 超高效液相色谱质谱联用技术 (UPLC-MSⁿ) 发展很快, 现已成功应用于农药残留物检测、水质和环境监测、化妆品质量控制、药物及制剂的分析检测和质量控制、中药复杂组分分析及代谢组学等领域。现仅从 UPLC 的原理及优点出发, 综述 UPLC 及其联用技术在药物分析领域中的应用, 讨论目前 UPLC 存在的局限性, 并对其进一步应用进行展望。

1 UPLC 的原理及优点

1.1 UPLC 的原理 UPLC 的理论基础为范德米特 (Van Deemeter) 方程。HETP = $A\sqrt{d_p} + B/v + Cdv$ 式中: HETP 为理论塔板高度; A 为涡流扩散系数; d_p 为填料粒径; B 为分子径向扩散系数; C 为传质因子; v 为流动相线速度。由该方程可得出结论: 颗粒度越小柱效越高; 每个颗粒度尺寸有自己的最佳柱效的流速; 更小的颗粒度使最高柱效点向更高流速 (线速度) 方向移动, 而且有更宽的线速度范围。所以降低颗粒度不

但提高柱效, 同时也提高速度。但是, 应当看到在使用小颗粒的固定相时, 会使 Δp 大大增加, 使用更高的流速会受到固定相的机械强度和色谱仪系统耐压性能的限制。然而, 只要使用很小粒度的固定相, 并且只有在达到最佳线速度时, 其具有的高柱效和快速分离的特点, 才能显现出来。因此要实现超高效液相色谱分析, 除必须制备出装填粒度小于 2 μm 固定相的色谱柱外, 还必须提供高压溶剂输送单元、低死体积的色谱系统、快速的检测器、快速自动进样器和高速数据采集、控制系统等。上述几个单独领域最新成果的组合, 才促成超高效液相色谱的实现。

1.2 UPLC 的优点 基于 1.7 μm 小颗粒技术的 UPLC 与人们熟知的高效液相色谱 (HPLC) 技术, 具有相同的分离原理。不同的是, UPLC 不仅比 HPLC 具有更高的分离能力, 而且结束了人们多年不得不在速度和分离度之间取舍的历史。使用 UPLC 可以在很宽的线速度、流速和反压下进行高效的分离工作, 并获得优异的结果。

1.2.1 提高分离度 UPLC 发挥了 1.7 μm 颗粒提供柱效增高的全部优越性。尤其是 1.7 μm 颗粒提供的柱效比 5 μm 颗粒提高了 3 倍。因为分离度与粒度的平方根成反比, 1.7 μm 颗粒的分离度比 5 μm 颗粒提高了 70%。在梯度分离中也具有同样的优越性, 此时分离能力用峰容量衡量。

1.2.2 提高分析速度 由于 UPLC 系统采用 1.7 μm 颗粒, 柱长则可以比使用 5 μm 颗粒时缩短 3 倍而保持柱效不变, 而且使分离在高 3 倍的流速下进行, 结果使分离时间缩短而分离度保持不变。

1.2.3 提高检测灵敏度 浓缩样品和采用各种高灵敏度的检测器都能提高灵敏度, 而在 UPLC 中通过减小颗粒度, 使色谱峰变得更窄, 信噪比 (S/N) 增大, 灵敏度得到额外的提高。

1.2.4 提高质谱离子化效率减小基质效应 LC-MS 已经是液相色谱发展的主流, 能够充分发挥 LC 高分离度和 MS 高灵敏度的优势, UPLC 与 MS 的联用使这种优势更加明显: 一方面, UPLC 系统达到最佳线速度时, 其流动相流速一般在 0.25~0.50 mL/min 之间, 这与质谱能承受的流速更加匹配 (API 接口一般能承受 0.20 mL/min), 使离子化效率增加, 而新的 nano UPLC 的流量更可低至 200 nL/min, 可以不需分流而直接进入质谱; 另一方面, UPLC 的分离度比 HPLC 有很大提高, 其色谱峰扩展很小, 峰浓度很高, 这样不但有利于化合物的离子化, 同时有助于与基质杂质分离, 在一定程度上能降低基质效应, 从而使灵敏度和重现性得到提高。

2 UPLC 在药物分析领域的应用

2.1.1 化学药品的分析 Nguyen D T 等^[1]应用 UPLC 分离分析异烟肼、吡嗪酰胺和利福平, 采用 1.7 μm 粒径的色谱柱进行梯度洗脱。在柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$ 时, 3 种抗结核药物完全分离时间为 2 min, 而 USP 方法 (HPLC) 的分析时间为 15 min。将柱温提高为 90 $^{\circ}\text{C}$ 时, 分析时间则缩短为 1 min 内。

在针对药物合成的分析方面, UPLC 可实现随时快速准确检测合成过程中的中间体、副产物或降解产物等。Dongre 等^[2]将 UPLC 用于磷酸伯氨喹及其异构体和合成中间产物的分离及分析。

Jurgen Mensch 等^[3]建立了 UPLC-MS/MS 在药物透析力分析中高通量筛选方法。使用四极杆质谱单体化合物多反应检测 (MRM) 在正离子模式下检出各种化合物。已确证的化合物包括咖啡因等, 其线性范围均在 3.05~2555 nmol/L。此方法在缓冲液中检测限为 0.61~12 nmol/L 之间。利用 UPLC-MS/MS 样品处理量提高了 4 倍, 灵敏度显著增加。该方法能成功运用于早期药物筛选。

2.1.2 生化药品的分析 Boogers I 等^[4]分别利用 HPLC 和 UPLC 分析经柱前衍生化处理后的蛋白质水解物中氨基酸。结果表明, 两种方法的结果基本一致, 但 UPLC 的分析时间仅为 HPLC 的 40%。Muhammad Saeed 等^[5]利用 UPLC-MS/MS 分析经 1, 2-萘醌或

酶活化 1, 2-二羟基萘与 DNA 反应后生成腺嘌呤 N3 位与鸟嘌呤 N7 位的脱嘌呤内收体, 探讨了萘诱发肿瘤的机制。经 UPLC-MS/MS 检测, 发现邻醌通过与 DNA 发生 1, 4-米氏加成反应是萘与一些芳香族化合物弱致癌作用的普遍机理。

2.1.3 中药成分的分析 中药含有大量的生物碱, 通常为中药的活性成分, 研究这类成分具有重要意义。在采用 HPLC 法分析生物碱时, 由于固定相表面残余硅羟基的影响, 此类化合物色谱峰的保留行为会发生变化, 造成色谱峰严重展宽和拖尾, 因而在分析时常需要在流动相中加入添加剂, 如离子对试剂、有机胺类等, 用以屏蔽固定相表面残余硅羟基的作用, 但这些添加剂的加入往往会给 LC-MS 联用带来不便。Waters 公司合成了 1.7 μm 颗粒度的 Acquity UPLC 填料, 减少了固定相表面残余硅羟基, 因而在分析生物碱类样品时, 流动相中只加入酸抑制剂, 不需添加有机胺即可使其获得良好的分离。由于在流动相中避免了有机胺及盐的加入, 可以在一定程度上降低质谱噪音、减少对质谱的污染, 且使用的流速适合与质谱直接联用, 无需分流, 可以进一步提高检测灵敏度, 为中药分析提供良好的平台。

Dan M 等^[6]利用 UPLC-MS 研究了中药人参中的主要人参皂苷成分, 用 Waters Oasis (TM) HLB 固相萃取柱对样品进行提取, 采用 Waters Acquity BEH C_{18} 色谱柱, 以 0.05% 甲酸溶液-乙腈为流动相对 15 种人参皂苷进行梯度洗脱, 并对其进行定量分析。Chen X J 等^[7]利用 UPLC-MS 检测研究淫羊藿中的黄酮类物质, 采用 Acquity BEH C_{18} 色谱柱 (50 mm @2.1 mm, 1.7 μm), 以 50 mmol/L 冰醋酸溶液-乙腈进行梯度洗脱, 在 12 min 内对淫羊藿中的 15 种黄酮类物质进行分离, 并以淫羊藿 A、B、C 和淫羊藿苷为指标, 对 37 个样品进行了分类。Chen J 等^[8]采用 UPLC 和 HPLC 方法对丹参药材中丹酚酸 B 含量测定结果进行了对比, 两种方法的含量测定结果一致。UPLC 能够替代 HPLC 测定丹参药材中丹酚酸 B 含量, 既加快了分析速度, 达到了样品分析的高通量, 减少有机溶剂的使用, 又得到更高的分析灵敏度。Tang J 等^[9]利用 UPLC 快速测定血栓通注射液中 5 种皂苷成分的含量, 在 9.5 min 内使三七皂苷 R_1 及人参皂苷 R_g 、 R_e 、 R_b 、 R_d 达到良好分离, 在测定的浓度范围内线性良好 ($r = 0.9984$), 日间及日内精密度的 RSD 均小于 3%, 最低定量限和最低检出限可分别达到 0.5 ng 和 0.2 ng, 平均回收率均大于 95.0%。Zhou 等^[10]利用 UPLC 建立前列安通片中芍药苷含量的检测方法, 采用 Acquity BEH C_{18} 色谱柱 (50 mm @2.1 mm, 1.7 μm), 以乙腈-

水-醋酸为流动相,以 0.2 ml/min 进行洗脱,芍药苷的保留时间为 2.24 min。该方法快速、简单,分离度和灵敏度高,可用于对前列安通片中芍药苷的含量测定。Yang XL 等^[11]采用 UPLC 同时测定解郁丸中芍药苷和阿魏酸的含量。芍药苷、阿魏酸和其他组分在 4 min 内可完全分离,芍药苷在 18~180 mg/L 范围内呈良好的线性关系 ($r=0.9999$);阿魏酸在 2.18~21.8 mg/L 范围内呈良好的线性关系 ($r=0.9998$);方法的回收率、精密度、重现性均符合要求。

2.1.4 药物代谢动力学研究 药物代谢动力学涉及药物在肌体内吸收、分布、代谢和排泄过程的研究,包括药物及其在各种复杂基质(全血、血浆、尿、胆汁及生物组织)中代谢物的分离、结构鉴定以及痕量分析测定。肌体的体液系统中存在大量的保留时间相同、相对分子质量也相同的干扰组分;而目前药物研制日趋低剂量,使常规的分离检测技术难以满足复杂介质中痕量成分准确定量的要求。能否在复杂的体液系统中快速检测和鉴定出药物的代谢产物,依赖于高效的色谱分离和灵敏的高分辨质谱技术的联用。采用 UPLC-MS 联用技术进行药物代谢及药物动力学研究,体现了其高灵敏度和高专属性特点,而且能够同时测定样品中复方制剂的多组分浓度,实现样品高通量分析。

2.4.1 化学药品代谢产物的分析 Dasand B^[12]等建立了 UPLC-MS/MS 定量测定人血浆中喹那普利和喹那普利特的方法,采用 Acquity BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm @2.1 mm, 1.7 Lm),以赖诺普利为内标,喹那普利和喹那普利特线性范围分别为 5.010~500.374 ng/ml 和 10.012~1000 ng/ml 定量限分别为 5.010 ng/ml 和 10.012 ng/ml 日内和日间精密度的 RSD 均小于 10%,喹那普利、喹那普利特和赖诺普利的回收率分别为 85.8%、62.0% 和 61.3%,样品的分析时间仅需 3 min。Zhang SQ 等^[13]利用 UPLC-MS/MS 对人血浆中紫杉醇的衍生物 (NPD-103) 进行了定性和定量,流动相为甲醇-0.1% 甲酸 (75B:25),NPD-103 的回收率分别为 95.58% (1.0 mg/ml)、102.43% (5.0 mg/ml) 和 97.77% (10.0 mg/ml),线性范围为 0.1~20.0 mg/ml ($r=0.999$)。Ming DS 等^[14]建立了 UPLC-MS/MS 测定人血清中氯氮平和去甲可待因浓度的方法,采用 Acquity BEH C₁₈ 色谱柱 (50 mm @2.1 mm, 1.7 Lm),甲醇-水(含 0.2% 氨水)为流动相,流速为 0.40 ml/min。Yadav M 等^[15]利用 UPLC-MS/MS 同时测定人血浆中洛匹那韦和利托那韦的浓度,并对 36 位健康印度人的生物等效性进行了研究。利托那韦和洛匹那韦的线性范围分别为 2.9~1452 ng/ml 和 29.6~14379 ng/ml 平均回收率分别为 97.9% 和 96.0%。

Bhaves D 等^[16]利用 UPLC-MS 测定人血浆中非诺贝酸含量,以甲芬那酸为内标,线性范围为 0.05~7.129 mg/ml 定量限为 0.05 mg/ml 日内和日间精密度均小于 9.3%,非诺贝酸和甲芬那酸的提取回收率分别为 66.7% 和 52.0%,样品分析时间仅为 1.8 min。Berg T 等^[17]建立 UPLC-MS/MS 测定尿中阿片类和可卡因含量,采用阳离子交换固相色谱柱对样品进行提取,以 5 mmol/L 碳酸氢铵溶液 (pH 10.2)-甲醇为流动相,对吗啡、可待因、6-乙酰基吗啡、吗啡、羟氢可待酮、乙基吗啡、可待因和苯甲酰爱康宁等成分进行了梯度洗脱。Licea-Perez H 等^[18]利用 UPLC-MS/MS 同时测定人血清中的睾酮和 5 α -二氢睾酮,取血清 300 L 经甲基叔丁醚液液提取后,加入 2.3-吡啶二羧酸衍生化提高检测灵敏度,供试品溶液经固相萃取柱净化后进样,睾酮和 5 α -二氢睾酮的检测浓度分别为 0.2~40 ng/ml 和 0.01~2 ng/ml 方法灵敏度高,专属性强,适用于睾酮的药动力学研究。Cai S 等^[19]利用 UPLC-MS/MS 测定人血浆中米格列奈含量,以那格列奈为内标,血浆经乙醚提取后进样,经 Acquity BEH C₁₈ 色谱柱 (50 mm @2.1 mm, 1.7 Lm) 色谱柱分离,流动相为甲醇-10 mmol/L 醋酸铵 (65B:35),流速为 0.25 ml/min,线性范围为 1.080~5400 ng/ml 最低检出量为 1.080 ng/ml。Hu X L 等^[20]建立了 UPLC-MS/MS 定量测定健康人血浆中阿托伐他汀浓度及药物代谢动力学研究,血浆样品经磷酸酸化后,采用叔丁基甲醚提取,内标法(以格列齐特为内标)定量,并用于 24 名健康男性志愿者单剂量口服 10 mg 阿托伐他汀钙片的药动力学研究。该方法快速、灵敏、可靠,适用于阿托伐他汀钙临床应用监控和药代动力学的研究。Hemes L2 cea-P 等^[21]利用 UPLC-MS/MS 结合带液液萃取及衍生化的半自动样品处理技术,同时检测人血浆中口服避孕药中乙炔基雌二醇 (EE) 与左炔诺孕酮 (LN),其浓度范围分别为 0.01~2 ng/ml 与 0.1~20 ng/ml 该方法将 6 min 的检测时间缩短到 2.7 min 所需的血液用量也从 500 L 减至 300 L 能成功用于药物代谢动力学研究。Yunsheng H 等^[22]比较了各种快速液相色谱与质谱串联技术,同时检测大鼠血浆中低剂量 (ng/ml) 克拉屈滨和克罗拉滨含量的方法。得出结论为 UPLC-MS/MS 较 HPLC-MS/MS 方法,具有更高的灵敏度、更好的分离度、更快的速度、更高的经济价值及可靠性,同时也能避免母离子抑制效益。

2.4.2 生化药品代谢产物的分析 Wang 等^[23]利用 UPLC-MS 同时定量检测大鼠肝微粒体中 7 种单羟基睾酮代谢产物 (16A-, 2A-, 7A-, 6A-, 2A-, 6A-, 16A- 羟基睾酮),该方法可用于检测生物基质中睾酮

羟化酶的活性。Hioki Kawanishi等^[24]利用 UPLC-MS分析 C₃H₇/H₂NCrj小鼠毛发中组胺(HA)及其代谢产物,探讨毛发周期与寿命的影响因素。该方法分析小鼠中组胺与其代谢产物如 1-甲基组胺(MHA)等。手性荧光化试剂 DBD-F 标记 HA, DBD-PZ 标记代谢产物,利用该方法将衍生物分离分析。该方法具有良好的线性范围,组胺与其代谢产物的检测限分别为 0.21, 1.0, 0.17 和 0.11 pmol。小鼠毛干与毛根的组胺及代谢物浓度均被检出。该方法也能运用于毛发中其他各种化合物的分析研究。Gan Feng W 等^[25]运用 UPLC-MS/MS 测定猴血浆中的 SCH 503034 非对映异构体。在 APCI 选择性反应检测正离子模式下,检测 SCH 503034 非对映异构体。线性范围均在 1~2 500 ng/mL。批间平均偏差与相对标准偏差(RSD)分别为 1.2%~3.6%与 2.8%~10%。批内平均偏差与相对标准偏差(RSD)分别为 1.3%~5.9%与 2.3%~7.8%。异构体回收率在 2.5, 50 和 1 000 ng/mL 水平时,分别为 87.2%~90.0%、89.1%~90.4%和 92.3%~94.3%。定量限为 1 ng/mL。该方法具有更高的分析通量、灵敏度及分离度,不仅能用于猴血浆检测,还能检测小鼠、狗及人血浆样本。

2.4.3 中药代谢产物的分析 随着天然药化、中药药理、中药分析等相关学科的发展,中药药物代谢动力学逐渐成为现代中药学科研究的重要内容之一。由于中药组分复杂,有效成分多样化且含量低,UPLC具有高分离度、高灵敏度等优点,近年来越来越多的研究者采用 UPLC-MS/MS 技术研究中药化学成分的体内代谢转化。

Wang X 等^[26]使用 UPLC-MS 在多反应监测(MRM)模式下,建立了测定大鼠血浆中的双氢槲皮素。血浆样品在乙酸乙酯液液提取后,经 Sunfire 色谱柱(2.1 mm @50 mm, 3.5 Lm)分离测定,线性范围为 6~6 750 ng/mL。日内和日间精密密度均小于 8%,回收率为 92.9%~105.1%,最低检出限为 6 ng/mL。大鼠双氢槲皮素的绝对生物利用度为 0.17%。Xi X Y 等^[27]利用 UPLC-MS/MS 在正离子模式及多反应检测模式下,检测大鼠血浆中牡荆苷基黄酮-2-O-鼠李糖苷(VOR)。线性校正曲线范围在 10~2 500 ng/mL。定量限为 10 ng/mL。VOR 平均萃取回收率为(97.2±2.6)%。该方法首次成功运用于口服单剂量(120 mg/kg)的 VOR 药代动力学研究。对中药复方制剂的代谢研究中,Wang 等^[28]利用 UPLC-MS 建立了中药复方茵陈蒿汤 45 个化合物的指纹图谱,以及该复方经口服进入小鼠体内后所产生的 21 个代谢产物的指纹图谱。进行比对发现,其中 19 个代谢产物是原形化合

物,而 6-甲氧基香豆素-7-羟基硫酸盐(6-methoxycoumarin-7-hydroxyl sulfate)和 7-甲氧基香豆素-6-羟基硫酸盐(7-methoxycoumarin-6-hydroxyl sulfate)是 6,7-二甲基香豆素(6,7-dimethylscutellin)的两个代谢产物。UPLC-MS 的高灵敏度、高分离度及高峰容量,可以为中药复方制剂的药代动力学及作用机理研究提供更多有用的化学信息。

3 UPLC 的局限性

尽管 UPLC 能显著减少复杂样品的分析分离时间,提高检测的灵敏度和分离度,但目前 UPLC 的使用仍然存在局限性,其普及应用可能仍然需要一些时间。3.1.1 与 UPLC 匹配的色谱柱比较少 UPLC 是应小粒径(小于 2 Lm)柱填料的需求而专门设计的耐高压液相色谱系统,因此使用小粒径填料的色谱柱能够最大限度地发挥 UPLC 高分离度和高灵敏度的优势。但是这种色谱柱要能够耐受由于粒径减小而带来的高反压,而且粒径的减小也给色谱柱充填技术带来了挑战。作为首家 UPLC 仪器开发商的 Waters 公司目前也只能提供有限型号的色谱柱(BEH C₁₈ ACQ, BEH Shield RP₁₈ ACQ, S₈ 和苯基键合固定相等)。可喜的是,各大公司已在努力开发小粒径填料色谱柱。Nguyen D T 等^[29]比较了已经上市的粒径小于 2 Lm 的色谱柱性能,如 Agilent 公司的 Zorbax Eclipse XDB C₁₈(1.8 Lm), Zorbax Extend C₁₈(1.8 Lm), Zorbax Stable Bond C₁₈(1.8 Lm)以及 Thermo Electron 公司的 Hypersil GOLD C₁₈ HYP(1.9 Lm)等。这些色谱柱均能发挥小粒径填料的优势,且各有所长。随着色谱填料技术的不断革新,UPLC 色谱柱型号缺乏的问题应该是可以克服的。

3.1.2 峰面积的重复性欠佳 Novdkov L 等^[30]发现,UPLC 分析样品时峰面积的重复性略逊于 HPLC,特别是低浓度样品时更加明显,其峰面积重复性的 RSD 约为 HPLC 的 2 倍。研究者认为,可能因 UPLC 的进样量过少(仅有 2 L),或者由于采用了半环(partial loop)进样的方式,理论上这种进样方式的精密密度不如全环(full loop)进样。通过稀释样品,增加注入样品的体积,可以改善这种状况。

3.1.3 对高频检测仪器的需要 UPLC 分离样品色谱峰扩展很小,通常峰底宽度只有几秒钟,低浓度的样品峰则更窄。O. Connor 等^[31]发现,使用 UPLC 测定低浓度样品时,准确度、精密密度都比较差。这可能是由于检测仪器探测频率比较低,检测低浓度样品时出现了样品点的遗漏。因此,随着 UPLC 的开发应用,必将推动高频检测仪器的进一步发展。

4 展望

UPLC作为一种新型液相色谱技术,延伸了液相色谱的应用范围。UPLC以超强分离能力和速度、超高灵敏度、与HPLC简单方便的方法转换、良好的质谱入口等特点为现代色谱分析开创了广阔的前景。其进样体积小,分离快,溶剂消耗少,为药物化学成分分析、药物合成分析、中药快速定性定量分析和体内代谢产物分析,提供了一种高效、准确的分析技术。充分利用UPLC的高分离效率和MS的高灵敏度与定性功能,能快速完成众多复杂成分的分离与鉴定。该联用技术既可建立中药或复方药物指纹图谱,又可进行多种有效成分或指标成分定量,还可用于体内药物分析。随着药物分析方法的发展,相信UPLC作为一种强有力的分析技术,将会在药物分析领域中发挥越来越重要的作用。

参考文献

- Nguyen D T, Guilam D, Rudaz S, et al. Validation of an ultra- fast UPLC- UV method for the separation of antituberculosis tablets J Sep Sci 2008; 31 (6- 7): 1050
- Dongre V G, Kamuse P P, Rao P P, et al. Development and validation of UPLC method for determination of primaquine phosphate and its impurities J Pharm Biomed Anal 2008; 46(2): 236
- Jurgen Mensch, Mark Noppé, Jef Adriaensen, et al. Novel generic UPLC / MS/MS method for high throughput analysis applied to permeability assessment in early Drug Discovery J Chromatogr B 2007; 847: 182
- Boogers J, Plugge W, Stokkemans Y Q, et al. Ultra- performance liquid chromatographic analysis of amino acids in protein hydrolysates using an automated pre- column derivatisation method J Chromatogr A 2008; 1189(1- 2): 406
- Muhammad Saeed, Sheila Higginsbotham, Eleanor Rogan, et al. Formation of depurinating N3adenine and N7guanine adducts after reaction of 1, 2- naphtho- quinone or enzyme activated 1, 2- dihydroxynaphthalene with DNA. Implications for the mechanism of tumor initiation by naphthalene Chem Biol Interact 2007; 165(3): 175
- Dan M, Xie G, Gao X, et al. A rapid ultra- performance liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometric method for the analysis of saponins in the adventitious roots of Panax notoginseng Phytoderm Anal 2009; 20 (1): 68
- Chen X J, Ji H, Zhang Q W, et al. A rapid method for simultaneous determination of 15 flavonoids in Epimedium using pressurized liquid extraction and ultra- performance liquid chromatography J Pharm Biomed Anal 2008; 46(2): 226
- Chen J, Wang GL, Yao LW, et al. Comparison of UPLC and HPLC for the determination of salvianolic acid B in Radix Salviae Miltiorrhizae Chin J Pharm Anal 2008; 28(5): 749
- Tang J, Wu W B. A rapid method for the simultaneous determination of five saponins in Xueshuantong injection with ultra performance liquid chromatography Chin J Pharm Anal 2008; 28(1): 97
- Zhou X P, Zhou W, Zhao S G, et al. Ultra performance liquid chromatography determination of paeoniflorin in Qianlie An tong tablets Chin J Pharm Anal 2008; 28 (2): 294
- Yang X L, Li G. Ultra performance liquid chromatography simultaneous determination of paeoniflorin and ferulic acid in Jieyu wan Chin Hosp Pharm J 2008; 28 (11): 946
- Dasandi B, Shah S, Shivprakash. Determination of quinapril and quinaprilat in human plasma by ultraperformance liquid chromatography - electrospray ionization mass spectrometry Biomed Chromatogr 2009; 23(5): 492
- Zhang S Q, Chen G H. Determination of a novel paclitaxel derivative (NPD- 103) in human plasma by ultra- performance liquid chromatography- tandem mass spectrometry Biomed Chromatogr 2009; 23 (5): 510
- Ming D, S Heathcote J. Therapeutic drug monitoring of clozapine and norclozapine in human serum using ultra- performance liquid chromatography- tandem mass spectrometry Anal Toxicol 2009; 33(4): 198
- Yadav M, Rao R, Kurani H, et al. Application of a rapid and selective method for the simultaneous determination of protease inhibitors lopinavir and ritonavir in human plasma by UPLC- ESI- MS/MS for bioequivalence study in Indian subjects J Pharm Biomed Anal 2009; 49 (4): 1115
- Bhaves D, Shah S, Shivprakash. Determination of fenofibric acid in human plasma by ultra performance liquid chromatography - electrospray ionization mass spectrometry application to a bioequivalence study Biomed Chromatogr 2009; 23(9): 922
- Berg T, Lundanes E, Christophersen A S, et al. Determination of opiates and cocaine in urine by high pH mobile phase reversed phase UPLC- MS/MS J Chromatogr B: Analyt Technol Biomed Life Sci 2009; 877 (4): 421
- Licea- Perez H, Wang S, Szapacs M E, et al. Development of a highly sensitive and selective UPLC/MS/MS method for the simultaneous determination of testosterone and 5 α - dihydrotestosterone in human serum to support testosterone replacement therapy for hypogonadism Steroids 2008; 73(6): 601
- Cai S, Huo T, Feng W, et al. Quantitative determination of mitiglinide in human plasma by ultra- performance liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry J Chromatogr B: Analyt Technol Biomed Life Sci 2008; 868(1- 2): 83
- Hu X L, Li H D. Determination of atorvastatin in human plasma by UPLC- MS- MS and pharmacokinetics in healthy subjects Central South Pharmacy 2008; 6(4): 400
- Hermes Licea- Perez Sherry W, Chester L, et al. A semi- automated 96- well plate method for the simultaneous determination of oral contraceptives concentrations in human plasma using ultra performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry J Chromatogr B 2007; 852(1- 2): 69
- Yunsheng H, Christine J G D, Suining L, et al. Comparison of fast liquid chromatography/tandem mass spectrometric methods for simultaneous determination of clobutrine and clofarabine in mouse plasma J Pharm Biomed Anal 2007; 44(2): 492
- Wang D, Zhang M. Rapid quantitation of testosterone hydroxyl metabolites by ultra- performance liquid chromatography and mass spectrometry J Chromatogr B 2007; 855(2): 290
- Hiroki K, Toshimasa T, Kenichi H, et al. Hair analysis of histamine and several metabolites in C3H/HeNCrj mice by ultra performance liquid chromatography with electrospray ionization time- of- flight mass spectrometry

- trometry(UPLC-ESI-TOF-MS): Influence of hair cycle and age Clin Chim Acta 2007, 378: 122
- 25 Samuele P, Marco GR, Paola M, et al. New perspectives in bioanalytical techniques for preclinical characterization of a drug candidate UPLC-MS/MS in in vitro metabolism and pharmacokinetic studies J Pharm Biomed Anal 2007, 44(3): 665
- 26 Wang X, Xia H, Xing F, et al. A highly sensitive and robust UPLC-MS with electrospray ionization method for quantitation of taxifolin in rat plasma J Chromatogr B: Analyt Technol Biomed Life Sci 2009, 877(18-19): 1778
- 27 Xi X Y, Xu M L, Xiao H S, et al. Determination of vitexin-2O- α -rhamnoside in rat plasma by ultra-performance liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry and its application to pharmacokinetic study Talanta 2007, 72: 1500
- 28 Wang X, Sun W, Sun H, et al. Analysis of the constituents in the rat plasma after oral administration of Y in Chen Hao Tang by UPLC/Q-TOF-MS/MS J Pharm Biomed Anal 2008, 46(3): 477
- 29 Nguyen D T, Guillaume D, Rudaz S, et al. Chromatographic behaviour and comparison of column packed with sub-2- μ m stationary phases in liquid chromatography J Chromatogr A 2006, 1128(1-2): 105
- 30 Novskov L, Matysov L, Solich P. Advantages of application of UPLC in pharmaceutical analysis Talanta 2006, 68(3): 908
- 31 O'Connor D, Smith R M, Morrison D, et al. Ultra-performance liquid chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry for robust high-throughput quantitative analysis of an automated metabolic stability assay with simultaneous determination of metabolic data Rapid Commun Mass Spectrom 2006, 20(5): 851

抗过敏中药及其作用机制研究进展*

华晓东¹, 尹春晖²

(1. 天津市药品检验所, 天津 300070; 2. 南京农业大学, 南京 210095)

摘要 综述近年来文献中有关中药抗过敏作用机制的研究情况, 以及各种主要抗过敏单方及复方中药的作用机制和研究现状, 显示中药的抗过敏反应是多环节的整体调节作用。

关键词 抗过敏, 过敏介质, 中药

中图分类号: R28

文献标识码: A

文章编号: 1006-2587(2009)06-2006-0204

Development of Research on Anti-allergy Mechanism of Chinese Traditional Medicine

Hua Xiaodong¹, Yin Chunhui²

(1. Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070; 2. Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

ABSTRACT The recent studies on the mechanism of anti-allergy actions of some Chinese traditional medicines (both single drug formulation and compounded formulation) are reviewed in this paper. Chinese traditional medicines investigated play their role in anti-allergy at multiple levels and exhibit integrated regulations in their actions.

KEY WORDS anti-allergy mechanism, Chinese traditional medicine

过敏反应是机体受抗原性物质刺激后引起的组织损伤或生理功能紊乱, 理论上属于异常的、病理性的免疫反应。随着全球生态环境的不断恶化, 过敏性反应疾病的发生不断增加。国内流行病学调查显示^[1], 目前我国变态反应性疾病的发病率高达 37.3%。过敏性疾病的高发, 也推动了抗过敏药物研究的发展。新药研究一般都是针对疾病发生的机制进行的, 过敏反应的发生机制比较复杂, 抗过敏中药的现代药理研究主要通过两种机理研究来指导, 即过敏介质理论和 Th₁/Th₂ 平衡理论。

1 过敏介质理论

过敏介质理论是研究最多、也最公认的过敏反应

的发生机制, 基于这种理论研制的药物主要是在过敏反应过程的各个环节中抑制过敏介质的释放, 或者拮抗过敏介质的作用而产生抗过敏的效果。目前使用的西药类抗过敏药物大多属于这一类, 包括肥大细胞稳定剂, 抗组胺药如氯雷他定、西替利嗪等。这些药物疗效明确、起效迅速, 但由于其作用机制仅针对过敏反应的某一个环节, 属于对症治疗, 停药后复发率高, 同时不良反应较多, 用后多有嗜睡、口干、头晕等副作用。现代中药的抗过敏作用研究也大多基于这种过敏介质理论, 相对于西药而言, 其作用机制呈现多层次、多靶点的特点^[2], 表现在过敏介质理论的多个环节上, 能够在抑制免疫球蛋白 E (IgE) 产生、保护和稳定靶细胞膜