

• 综述 •

超高效/高分离度快速/超快速液相色谱在中药及其制剂研究中的应用

杨义芳

(上海医药工业研究院, 上海 200040)

摘 要:超高效液相色谱(UPLC)、高分离度快速液相色谱(RRLC)和超快速液相色谱(UFLC)是近几年来推出的一种新的液相色谱技术,峰容量、分析效率、灵敏度和分辨率较常规HPLC有了很大的提高。其主要用于中药成分分析、中药指纹图谱、中药及其复方定量测定。此外,与TOF-MS、MS/MS联用还可用于中药代谢产物、中药复方血清化学成分和药理学等复杂体系的生物分析,以及药物的研究与开发,是复杂体系中中药分离分析的重要手段。着重就其在中药及其复方研究中的应用进行介绍。

关键词:超高效液相色谱;高分离度快速液相色谱;超快速液相色谱;中药

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)08-1259-05

Application of UPLC /RRLC /UFLC in study on Chinese materia medica and its preparation

YANG Yi-fang

(Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200040, China)

Key words: ultra performance liquid chromatography (UPLC); rapid resolution liquid chromatography (RRLC); ultra fast liquid chromatography (UFLC); Chinese materia medica (CMM)

能够产生有效分离的色谱填料颗粒技术的发展,是推动HPLC发展的一个主要驱动力。近年来,世界三大仪器公司分别推出了自己的色谱新产品:Waters公司在2004年率先推出了超高效液相色谱(ultra performance liquid chromatography, UPLC),采用1.7 μm 颗粒度的色谱柱填料。紧接着,Agilent公司和岛津公司分别推出了高分离快速液相色谱(rapid resolution liquid chromatography, RRLC)和超快速液相色谱(ultra fast liquid chromatography, UFLC),分别采用1.8 μm 和2.2 μm 颗粒度的色谱柱填料。3种色谱除了粒度不同外,在色谱系统的硬件和软件设计上也存在差别。UPLC、RRLC和UFLC是分离技术的巨大进步,液相色谱亦由此进入了全新的时代。

UPLC、RRLC和UFLC技术与传统的采用5.0 μm 颗粒度的色谱柱填料的HPLC技术相比能获得更高的柱效,并且在更宽的线速度范围内柱保持恒定,因而有利于提高流动相速度,缩短分析时间,提高分析通量。通过性能优越的色谱柱,精确梯度控制的超高压液相色谱泵,低扩散、低交叉污染的自动进样系统、高速检测器及对系统所有硬件和软件的全面创新,使新型液相色谱的峰容量、分析效率、灵敏度较常规HPLC有了很大的提高,为复杂体系的分离分析提供了良好的平台^[1]。目前,UPLC/RRLC/UFLC已用于生物药物、天然产物、代谢组学等方面研究^[2-10]。本文着重就其在中药及其复方研究中的应用作一介绍。

1 基本原理

UPLC/RRLC/UFLC与传统的HPLC技术具有相同的分离原理,理论基础是van Deemter方程,随着填料颗粒度减小,相应的理论板高度(HETP)下降,会得到更高的柱效。随着线速度的提高(体积流量也相应提高),不同颗粒度的填料HETP的变化趋势有很大的不同,较大颗粒度的填料有一个最低点,即最佳体积流量点,高于此体积流量或低于此体积流量点HETP都会上升,即柱效会相应下降;小颗粒的HETP却可以在一个宽体积流量范围内保持不变,HETP最小值区域扩大了,即小颗粒填料在宽体积流量范围内可以保持良好的柱效,从而可以实现快速、高效分离。等度液相色谱分离的分离度与柱效的平方成正比,故填料颗粒度的降低,则分离度增加;在梯度分离中,分离能力用峰容量衡量,小颗粒填料提高了分离能力,可以得到更多的色谱峰,从而对样品提供的信息达到了一个新的水平。

2 UPLC/RRLC/UFLC与HPLC的比较研究

瑞士科学家^[11]通过比较高温液相色谱(high temperature liquid chromatography, HTLC)[色谱柱:Zorbax SB (150 mm×4.6 mm, 5 μm),体积流量:4 mL/min,柱温:90 $^{\circ}\text{C}$]、系统压力 4×10^7 Pa的UPLC[色谱柱:Hypersil Gold (50 mm×2.1 mm, 1.95 μm),体积流量:600 $\mu\text{L}/\text{min}$,柱温:30 $^{\circ}\text{C}$]、系统压力 1×10^8 Pa的UPLC[色谱柱:UPLC Acquity Shield (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm),体积流量:1 mL/min,

柱温:30℃]和传统的HPLC[色谱柱:Xterra RP18 (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 体积流量:1 mL/min, 柱温:30℃]4种液相色谱的色谱行为、优点和局限性;采用动力学曲线考察减小色谱填料的粒径与增加系统压力、增加流动柱的温度对LC的影响,比较快速LC与传统LC动力学曲线。得到的结论是温度为90℃,粒径小于2 μm和系统压力 1×10^8 Pa的UPLC与HPLC的精密度和准确性相等,但分析时间显著缩短、分离效果改善。

Guillarme等^[12]比较了20~50 mm短柱,装载粒径3.5和1.7 μm与传统的150 mm柱,装载粒径5 μm的HPLC色谱分离效果。结果20~50 mm短柱,粒径小于2 μm色谱填料,超高压 1×10^8 Pa的UPLC,在几分钟,甚至数秒钟内,就能达到良好的分离效果和分辨率。有文献报道采用van Deemter和Knox曲线对AcquityBEH柱(50 mm或100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)进行了评价,由实验数据绘制的动力学曲线研究了压力、色谱填料粒径对色谱速度和效果的影响,并与常规HPLC比较,评价UPLC的可行性和局限性^[13]。

为了验证小于2 μm色谱填料的短柱色谱性能,采用不同色谱系数和动力学曲线,研究结果表明小于2 μm色谱填料相对于常规5 μm是更具有吸引力的选择,在最佳反压,甚至超过常规反压下,仍改善色谱效果和减少了大量的分析时间;反压到 1×10^8 Pa具有最小柱死体积,最少的分析时间。由动力学曲线突出显示上述两个结论^[14]。

由HPLC转换到UPLC,对4种中药药剂及其药物分解产物的质控分析中^[3],通过理论板数、HETP、对称因子、分辨率、重现性等色谱参数和分析时间、消耗溶剂比较UPLC和HPLC的差异,讨论UPLC优点和缺点。所有的结果都支持,从HPLC到UPLC方法转换是容易的;UPLC在分析速度、灵敏度和分辨率方面优势明显,更适合药物制剂复杂样品的分析。在梯度洗脱色谱分离实验中,可在极短的时间内达到柱的平衡或重新平衡,显著减少分析时间,相应会显著减少溶剂消耗。此外,Yoshida等^[15,16]比较了RRLC与传统5 μm色谱柱的HPLC对日本绿茶中儿茶素类成分色谱分离效果。

小颗粒填料、耐压系统、最低交叉污染的快速进样器、快速监测器及优化的系统体积等构成了超高效液相色谱,是对普通HPLC系统所有硬件和软件进行全面的创新。与HPLC比较,最明显的优势是显著缩短分析时间,改善分离效果,提高了灵敏度和分辨率,减少了溶剂消耗。

3 在中药及其制剂中的应用

3.1 在复杂体系中中药分离分析中的应用:UPLC/RRLC/UFLC在中药这个复杂体系的分离分析中发挥了重要的作用。金高娃等^[1]对36味中药组分及10个复方组分在UPLC的保留规律进行了研究,实际应用表明UPLC是进行中药化学表征的有效手段。

采用RRLC对狼毒化学成分进行分离,并对RRLC色谱条件进行了优化选择。结果采用色谱柱XDB-C₁₈(50 mm×3.0 mm, 1.8 μm),分析时间比5 μm柱减少三分之二。柱温20℃,有利于增加分辨率。使用DAD为检测器,在波长210

nm处峰数量最多,峰面积最大。流动相为水(A)-乙腈(B),梯度洗脱,程序为0~4 min:5%~23% B;4~10 min:23% B;10~12 min:23%~30% B;12~18 min:30%~42% B;18~22 min:42%~95% B;22~30 min:95% B;体积流量0.4 mL/min。总离子流图(TIC)呈现22个色谱峰,其中9个成分经TOF-MS鉴定了化学结构。色谱图显示苯丙素首先被洗脱,接下来为香豆素、木脂素依次被洗脱出来,最后是黄酮。采用RRLC-DAD-ESI-TOF-MS对狼毒复杂成分进行分析,有助于化合物的鉴定与质量控制^[17]。

Zhou等^[18]采用UPLC-ESI-MS方法阐明了枳壳中6个双糖基二氢黄酮化学结构及其糖苷键的连接方式,并使用UPLC和CSASS软件进行了这些化合物保留时间参数与它们结构相关性研究,获得了相关性的信息。采用UPLC-ESI-MS/MS法鉴定短瓣金莲花*Trollius ledebouri* Reichb.花中主成分的结构,20 min内MS-TIC色谱图显示50以上的色谱峰,其中33个成分由电喷雾正负离子质谱推断出相对分子质量,其中15个成分通过MS/MS的图谱解析鉴定了化学结构^[19]。Szajwaj等应用UPLC-PDA分析了罗勒*Ocimum basilicum* L.、蒲公英*Taraxacum officinale* F. H. Wiggers、大豆*Glycine max* (L.) Merr.和辣薄荷*Mentha piperita* L.4种提取物中的酚性成分。

刘颖等^[20]建立一种新颖的RRLC-MS/MS方法,无需母离子选择可同时获得分子离子峰和碎片离子峰的二级质谱信息,此法用于中药的复杂活性成分分析快速、简便。

3.2 在中药色谱指纹图谱中的应用:Liu等^[10]用UPLC建立了丹参药材亲水性和亲脂性活性成分的指纹图谱。根据标准和已报道的保留时间数据及在线紫外光谱,检测到20个目标组分;并用丹参UPLC指纹图谱评价了11份不同来源的丹参药材,该方法为中药材的多组分检测提供了可行、可靠的方法保证。与传统HPLC方法相比,超高效液相色谱法显示了节约时间、节省溶剂、增加峰容量等诸多优点。

梁溢^[21]以2,3,5,4'-二苯乙炔苷、大黄素、大黄素甲醚为指标成分,对9个制何首乌和2个何首乌样品,用RRLC色谱,建立了何首乌在同一色谱条件下的二苯乙炔苷、蒽醌两类成分指纹图谱,分析时间不到5 min。

3.3 中药及其复方制剂的定量分析:康视明合剂系由党参、枳壳等14味中药经提取制备而成,具有益气养血、明目开窍的功效,用于治疗视神经萎缩、视网膜硬化等眼底疾病。采用UFLC法测定康视明合剂中枳壳的有效成分柚皮苷的量,并与HPLC法所得结果进行了比较,经方法学考察后所得主要数据见表1。由表1可见,UFLC法优于HPLC法^[22]。此外,采用UFLC法还建立了康视明合剂中甘草酸铵的测定方法,甘草酸铵平均加样回收率为102.60%(RSD为1.36%),精密度RSD为0.12%,重现性RSD为0.30%,稳定性RSD为0.07%。说明该方法快速、分离度高、专属性强、重现好、简便可行。

在《中国药典》2005年版一部中,采用了以十八烷基键合硅胶为填料色谱柱,0.1% H₃PO₄(A)-乙腈(B)为流动相,梯度洗脱的液相色谱分析西洋参中人参皂苷Rg₁、Re和Rb₁,

表1 康视明合剂的UFLC和HPLC分析比较

Table 1 Comparison of Kangshiming Heji analyzed by UFLC and HPLC

方法	色谱柱粒度/ μm	进样量/ μL	保留时间/min	系统精密性RSD($n=6$)/%	理论塔板数	拖尾因子	相邻峰分离度
UFLC法	2.2	5	2.067	0.16	65 000	1.059	1.78
HPLC法	5	20	24.977	0.85	39 000	1.114	1.24

分离一次的运行时间120 min。而RRLC采用Zorbax SB C₁₈ RRHT 色谱柱(50 mm×4.6 mm, 1.8 μm),其柱长与粒径比值(28)与HPLC 色谱柱(30)相当,故可获得相近的分离效率,但分离速度大大地提高,是原HPLC 分离速度的6倍。在保持分离度和重现性的前提下,改善了分析灵敏度,大大缩短了分离时间。

Li等^[19]采用UPLC-ESI-MS建立了对短瓣全莲花中2"-O- β -L-半乳糖红蓼苷、2"-O- β -鼠李糖苷、红蓼苷和荜茇素4个主要黄酮苷的测定方法。由于色谱峰检测采用了多反应监测(multiple reaction monitoring,MRM)模式,从而增强了色谱效果和灵敏度。UPLC 对样品色谱分离仅需3.5 min,定量分析总费时不超过7.5 min,色谱峰变得非常窄,色谱峰分辨率增加,分析时间明显减少,进而减少溶剂用量和氦气的消耗。

3.4 用于中药代谢产物的研究:Giri等^[23]采用UPLC-ESI-TOF-MS研究了槟榔碱和槟榔次碱在小鼠尿液中的代谢产物。鉴定了其中的槟榔次碱(arecaine)、N-氧化槟榔碱(arecaine N-oxide)、N-氧化槟榔次碱(arecaine N-oxide)、N-甲基-3-哌啶甲酸(N-methylnipecotic acid)、N-甲基-3-哌啶甲酰甘氨酸(N-methylnipecotylglycine)、槟榔次碱甘氨酸(arecainylglycine)、槟榔次碱甘油酯(arecainylglycerol)、槟榔次碱硫醚氨酸(arecaine mercapturic acid)、槟榔碱硫醚氨酸(arecaine mercapturic acid)及N-氧化槟榔碱硫醚氨酸(arecaine N-oxide mercapturic acid)10个槟榔碱代谢产物;槟榔次碱的6个代谢产物与槟榔碱相同;尚有9未能鉴定,可能是它们的代谢产物,也可能是这两个生物碱促使内源性化合物排泄。槟榔碱给药0~12 h尿液中排泄物:未转化的槟榔碱0.3%~0.4%,槟榔次碱7.1%~13.1%,N-氧化槟榔碱7.4%~19.0%,N-甲基-3-哌啶甲酸13.5%~30.3%。槟榔次碱给药0~12 h尿液中排泄物:未转化的槟榔次碱15.1%~23.0%,N-甲基-3-哌啶甲酸14.8%~37.7%。槟榔碱和槟榔次碱主要代谢产物N-甲基-3-哌啶甲酸和槟榔次碱的单酰基甘油酯是两个不同寻常的代谢物。还推测了槟榔碱可能的代谢途径。根据槟榔碱给药后小鼠尿液UPLC-TOF-MS测定的结果进行了多变量数据分析(multivariate data analysis)。UPLC-ESI-TOF-MS 这些研究增进了对槟榔碱和槟榔次碱代谢转化的了解,将会进一步地促进槟榔生物碱临床毒理研究进程。

汪江山等^[24]将UPLC-TO-TOF-MS用于人参皂苷Rg₃ip后大鼠尿液代谢物指纹图谱分析及标记物的鉴定,得到2种发生显著变化的未知内源性代谢物的元素组成和结构信息,并通过检索数据库分别鉴定为4,8-二羟喹啉甲酸和4-羟基-2-喹啉酸。研究表明,UPLC-TOF-MS 适合于尿液这一复杂生物样本的分离分析,并能提供丰富的代谢物定性和定量信息。

居文政等^[25]采用UPLC-MS法,研究灯盏乙素在胃肠道的代谢物,结果表明灯盏乙素可被盐酸、 β -葡萄糖醛酸苷酸水解为苷元,可被肠道内菌群转化为苷元。健康受试者po灯盏乙素后,在吸收入血之前,胃肠道内灯盏乙素与苷元并存,而苷元更易吸收。

3.5 用于中药复方血清化学成分的研究:复方五仁醇胶囊是一种治疗慢性肝炎的制剂,由五味子、三七、柴胡等4味药组成,其中五味子为君药。窦志华等^[26]采用了灵敏度更高UPLC-MS/MS方法,分析了大鼠ig 复方五仁醇胶囊后消化吸收进入血液的木脂素类成分。通过质谱图相关离子峰分析,确认制剂中存在的五味子醇甲、五味子醇乙、五味子酯甲、五味子甲素、五味子乙素5个木脂素类成分进入血液。

3.6 用于中药复方人体的药动学研究:注射用银黄是由金银花和黄芩组成,具有清热、解毒、消炎等功效,黄芩苷和绿原酸是其制剂的主要有效成分。居文政等^[27]采用UPLC-ESI-MS法,多反应监测,测定人血浆中黄芩苷和绿原酸的浓度,研究注射用银黄在健康人体中的药动学。结果表明志愿者静脉滴注注射用银黄后,黄芩苷和绿原酸的药时曲线分别符合二房室和三房室模型。该法简便、灵敏、特异,适用于血浆中黄芩苷和绿原酸的测定。

4 在药物研究中的应用

近年来药物研发过程发生了变化,对于那些新的化学实体(novel chemical entities, NCEs)早期就需要进行药动学特征优选,这就需要快速、高质量地获取吸收、分布、代谢及排泄(ADME)和药动学(PK)数据,以期有效地加速筛选先导化合物,降低药物研发成本和缩短研发周期。因此,在进行生物分析时首先要进行更快、更灵敏的高通量定量实验设计,而且在初筛时能在微粒体、肝细胞等复杂的生物基质中鉴定代谢产物。增加方法的分辨率和分析速度是分离代谢物的异构体关键问题。UPLC-MS/MS作为一种新的分析手段,仪器已商品化,相对于HPLC具备如下优势:①分辨率和灵敏度提高;②分析时间缩短;③压力高(可达到 $9.65 \times 10^7 \text{Pa}$),小颗粒的固定相,以及很小的死体积;④高通量的分离分析方法。由于UPLC-MS/MS不可比拟的优势,将会替代HPLC在新药研发中发挥作用^[28]。

Pedraglio等^[29]对抗癌、抗菌素候选化合物进行临床前HPLC-MS/MS和UPLC-MS/MS比较研究。对异博定体外狗肝细胞代谢物进行测定、代谢物相关碎片与化合物归属、UPLC和HPLC的定量限(LOQ)研究、建立药动学分析方法。UPLC-MS/MS方法在灵敏度和速度这两个方面具有明显优势。

5 结语与展望

通过实验发现UPLC峰面积重现性稍差,可能是由于其

进样量少或是采用的局部回路模式进样器(partial loop)产生误差所致^[3]。UPLC需要更高的工作压力,HPLC常规的工作压力为30~40 MPa,一般小于35 MPa,不影响柱寿命,100 MPa对于常规分析就不可思议了。目前尚未观察到与高压有关的不利现象出现,可能要花数年时间的实践来评价UPLC在这方面可能存在的缺陷。小颗粒填料需要耐受高压和更高稳定性,各大公司现仅能匹配有限种类色谱柱,故应用范围受到一定的限制。UPLC能否作为法定的测定方法,还有待进一步研究。目前该仪器较昂贵也阻碍了其普及应用。

RRLC和ESI-TOF-MS的联用能提供被测成分相对分子质量,有助于解析未知化学成分的结构,为筛选中药化学成分提供简单、快速、有效鉴定方法。该方法在中草药化学成分的研究中已显现出强大的应用前景。

UPLC/RRLC/UFLC与TOF-MS、MS/MS联用在成分极其复杂的中药及其复方代谢产物、血清化学成分和药动学的研究中已显优势,是揭示中药药效物质基础的有力手段,对阐明和揭示中药作用机制及其科学内涵及优选中药给药方案,促进中药新药开发和剂型改进及质控,推动中医中药走向世界,并最终实现中药现代化具有重要意义^[30,31]。

筛选先导化合物要求更快、更灵敏的定量手段来获取ADME和PK数据,UPLC/RRLC/UFLC不但能够更快、更好地完成以往HPLC的工作,还可以节省时间、提高效率、减少溶剂消耗,能为质谱提供最佳的液相色谱入口,UPLC-MS/MS在候选物体外代谢和药动学生物分析中展示了良好的应用前景^[32]。在不久的将来,UPLC/RRLC和UFLC将成为药物研发快速液相色谱方法的首选。

参考文献:

- [1] 金高娃, 章飞芳, 薛兴亚. 超高速液相色谱在复杂体系中药分离分析中的应用[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2006, 8(3): 106-111.
- [2] Guillaume D, Nguyen D T-T, Rudaz S, et al. Method transfer for fast liquid chromatography in pharmaceutical analysis: Application to short columns packed with small particle. Part I: Isocratic separation[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2007, 66: 475-482.
- [3] Novakova L, Matysova L, Solich P. Advantages of application of UPLC in pharmaceutical analysis[J]. Talanta, 2006, 68: 908-918.
- [4] Churchwell M I, Twaddle N C, Meeker L R. Improving LC-MS sensitivity through increases in chromatographic performance: Comparisons of UPLC-ES/MS/MS to HPLC-ES/MS/MS[J]. J Chromatogr B, 2005, 825: 134-143.
- [5] Nguyen D T-T, Guillaume D, Heinisch S, et al. High-throughput liquid chromatography with sub-2- μ m particles at high pressure and high temperature[J]. J Chromatogr A, 2007, 1167: 76-84.
- [6] Wren S A C, Tchelitcheff P. Use of ultra-performance liquid chromatography in pharmaceutical development[J]. J Chromatogr A, 2006, 1119: 140-146.
- [7] Wu Y, Engen J R. Ultra performance liquid chromatography (UPLC) further improves hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry[J]. J Am Soc Mass Spectr, 2006, 17: 163-167.
- [8] Fux E, McMillan D, Bire R. development of an ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry method for the detection of lipophilic marine toxins[J]. J Chromatogr A, 2007, 1157: 273-280.
- [9] Hsieh Y, Duncan C J G, Lee S. Comparison of fast liquid chromatography/tandem mass spectrometric methods for simultaneous determination of cladribine and clofarabine in mouse plasma[J]. J Pharm Biomed Anal, 2007, 44: 492-497.
- [10] Liu M, Li Y G, Choub G X. Extraction and ultra-performance liquid chromatography of hydrophilic and lipophilic bioactive components in a Chinese herb *Radix Salviae Miltiorrhizae*[J]. J Chromatogr A, 2007, 1157: 51-55.
- [11] Guillaume D, Nguyen D T-T, Rudaz S, et al. Recent developments in liquid chromatography—Impact on qualitative and quantitative performance[J]. J Chromatogr A, 2007, 1149(1): 20-29.
- [12] Guillaume D, Nguyen D T-T, Rudaz S, et al. Method transfer for fast liquid chromatography in pharmaceutical analysis: Application to short columns packed with small particle. Part I: Isocratic separation[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2007, 66(3): 475-482.
- [13] de Villiers A, Lestremay F, Szucs R, et al. Evaluation of ultra performance liquid chromatography Part I. Possibilities and limitations[J]. J Chromatogr A, 2006, 1127: 60-69.
- [14] Nguyen D T-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]. J Chromatogr A, 2006, 1128: 105-113.
- [15] Yoshida T, Majors R E. High-speed analyses using rapid resolution liquid chromatography on 1.8- μ m porous particles[J]. J Sep Sci, 2006, 29(16): 2421-2432.
- [16] Yoshida T, Majors R E, Kumagai H. High-speed analyses using rapid resolution liquid chromatography on ZORBAX column packed 1.8 μ m particles[J]. J Chromatogr, 2007, 28(2): 81-97.
- [17] Zhao L, Lou Z Y, Zhu Z Y, et al. Characterization of constituents in *Stellera chamaejasme* L. by rapid-resolution chromatography—diode array detection and electrospray ionization time-flight mass spectrometry[J]. Biomed Chromatogr, 2008, 22: 64-72.
- [18] Zhou D Y, Xu Q, Xue X Y, et al. Identification of O-diglycosyl flavanones in *Fructus aurantii* by liquid chromatography with electrospray ionization and collision-induced dissociation mass spectrometry[J]. J Pharm Biomed Anal, 2006, 44: 441-448.
- [19] Li X Q, Xiong Z L, Ying X X, et al. A rapid ultra-performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometric method for the qualitative and quantitative analysis of the constituents of the flower of *Trollius ledibourii* Reichb[J]. Anal Chim Acta, 2006, 580: 170-180.
- [20] 刘颖, 贺政明, 陈艳华, 等. 无需母离子选择可获得二级质谱的RRLC-MS/MS方法研究[J]. 质谱学报, 2007, 28(增刊): 6-7.
- [21] 梁溢. 复方人参首乌有效部位的初步研究[D]. 上海: 上海医药工业研究院, 2007.
- [22] 吴樱, 杨义芳, 罗明莉. 康视明合剂中柚皮苷的UFLC法测定[J]. 中国医药工业杂志, 2007, 38(12): 868-869.
- [23] Giri S, Idle J R, Chen C, et al. A metabolomic approach to the metabolism of the areca nut alkaloids arecoline and arecaidine in the mouse[J]. Chem Res Toxicol, 2006, 19: 818-827.
- [24] 汪江山, 赵欣捷, 郑育芳, 等. 超高效液相色谱/飞行时间质谱用于人参皂苷Rg₃作用后大鼠水液代谢物指纹图谱分析及标记物的鉴定[J]. 色谱, 2006, 24(1): 5-9.
- [25] 居文政, 储继红, 谭仁祥, 等. UPLC-MS/MS联用法分析灯盏乙素在胃肠道的代谢物[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2006, 11(3): 292-295.
- [26] 裴志华, 丁安伟, 居文政, 等. 复方五仁醇胶囊含药血清中木脂素类成分的UPLC-MS/MS分析[J]. 中成药, 2007, 29(4): 550-555.
- [27] 居文政, 刘芳, 吴婷, 等. UPLC-MS/MS法同时测定人血浆中黄芩苷和绿原酸[J]. 药学学报, 2007, 42(10): 1074-1077.
- [28] Wren S A C, Tchelitcheff P. Use of ultra-performance liquid chromatography in pharmaceutical development[J]. J Chromatogr A, 2006, 1119: 140-146.
- [29] Pedraglio S, Rozio M G, Misiano P, et al. New perspectives in bio-analytical techniques for preclinical characterization of a drug candidate: UPLC-MS/MS *in vitro* metabolism and

- pharmacokinetic studies [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, 44(3): 665-673.
- [30] Bruce S J, Jonsson P, Antti H, *et al.* Evaluation of a protocol for metabolic profiling studies on human blood plasma by combined ultra-performance liquid chromatography/mass spectrometry: From extraction to data analysis [J]. *Anal Biochem*, 2008, 372(2): 237-249.
- [31] 艾华, 王广基, 顾轶, 等. 超高效液相色谱在现代药代动力学中的应用 [J]. 中国药科大学学报, 2007, 38(4): 294-298.
- [32] Lee G, Stephen A W, Neil S. Ultra-performance liquid chromatography in the bioanalysis of small molecule drug candidates in plasma [J]. *J Chromatogr Sci*, 2007, 45(7): 298-304.

天然产物中环状二芳基庚烷类化合物的研究进展

张建斌^{1,2}, 柳军玺¹, 邱多隆^{1*}, 查飞²

(1. 中国科学院兰州化学物理研究所 甘肃省天然药物重点实验室, 甘肃 兰州 730000;

2. 西北师范大学化学化工学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 环状二芳基庚烷类化合物是一类广泛分布于核桃属、桉木属、杨梅属、嘉榄属等植物中的天然产物化学成分。大量的研究表明该类化合物具有抗炎、清除自由基、抗氧化、抗肿瘤、调节免疫功能等多种药理作用。综述了天然产物中环状二芳基庚烷类化合物的化学结构、光谱学鉴定特征、植物分布、生源合成途径和药理活性研究进展, 为该类化合物研究、开发和应用提供一定参考。

关键词: 环状二芳基庚烷类化合物; 天然产物; 抗肿瘤

中图分类号: R284 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2008)08-1263-06

Advances in studies on macrocyclic diarylheptanoids from natural products

ZHANG Jian-bin^{1,2}, LIU Jun-xi¹, DI Duo-long¹, ZHA Fei²

(1. Key Laboratory for Natural Medicine of Gansu Province, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China; 2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China)

Key words: macrocyclic diarylheptanoids; natural products; antitumor

二芳基庚烷类化合物(diarylheptanoids)为两个不同程度氧化或取代的芳香环, 被一具有7个碳原子的氧化脂肪链连接形成的一类化合物的总称。根据其成环与否以及两个苯环连接方式的不同, 分为3种类型, 即直线型(acyclics)、大环联苯型([7,0]-metacyclophanes)(图1-A)和环二苯醚型([7,1]-metaparacyclophanes)(图1-B)。该类化合物主要存在于植物的根、茎、皮、花以及果皮等部位。由于其独特的化学结构和广泛的药理活性尤其是抗癌活性, 近年受到国内外植物化学和药学研究者的普遍关注。如姜属植物中的线性二芳基庚烷类化合物姜黄素, 由于具有较强的抗癌活性以及癌化学预防作用, 被美国国立肿瘤研究所列为第3代癌化学预防药物已经进入Ⅲ期临床研究阶段。1993年, 日本学者井上隆夫^[1]对槭树属(*Acer* L.)和杨梅属(*Myrica* L.)的5种植物所含的二芳基庚烷类化合物进行综述。1997年, 黄初升等^[2]对姜黄素类线性二芳基庚烷类化合物的植物分布、结构特征、生源合成和药理活性进行了详细的综述。但目前尚未见对天然产物中环状二芳基庚烷类化合物进行过全面的综

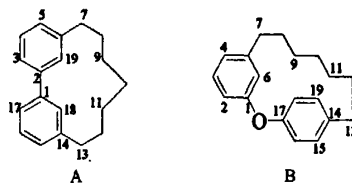


图1 环状二芳基庚烷类化合物结构类型

Fig. 1 Structure type of macrocyclic diarylheptanoids

述。本文就天然产物中环状二芳基庚烷类化合物的化学结构特征、谱学鉴定依据、植物分布、药理活性的研究进展进行综述, 以期该类化合物的研究、开发和应用提供一定参考。

1 天然环状二芳基庚烷类化学成分及其分布

环状二芳基庚烷类化合物主要分布于核桃属、桉木属、杨梅属、嘉榄属等植物中的各个部位, 根据其结构特征主要分为两类即大环联苯型和环二苯醚型二芳基庚烷类化合物。国内外近年来从天然产物中发现的环状二芳基庚烷类化合物及其植物来源见表1和图2。

收稿日期: 2008-03-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(20775083)资助; 中国科学院“百人计划”资助项目

作者简介: 张建斌(1972—), 男, 甘肃天水人, 西北师范大学化学与化工学院在读硕士研究生, 研究方向为天然产物化学。

* 通讯作者 邱多隆 Tel: (0931)4968248 E-mail: didl@lzb.ac.cn

超高效/高分离度快速/超快速液相色谱在中药及其制剂研究中的应用

作者: [杨义芳](#)
作者单位: [上海医药工业研究院, 上海, 200040](#)
刊名: [中草药](#) **ISTIC** **PKU**
英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2008, 39(8)
被引用次数: 13次

参考文献(32条)

1. [金高娃;章飞芳;薛兴亚](#) [超高速液相色谱在复杂体系中中药分离分析中的应用](#)[期刊论文]-[世界科学技术-中医药现代化](#) 2006(03)
2. [Guillarme D;Nguyen D T-T;Rudaz S](#) [Method transfer for last liquid chromatography in pharmaceutical analysis:Application to short columns packed with small particele.Part I:Isocratic separation](#)[外文期刊] 2007(3)
3. [Novakova L;Matysova L;Solich P](#) [Advantages of application of UPLC in pharmaceutical analysis](#)[外文期刊] 2006
4. [Churehwell M I;Twaddle N C;Meeker L R](#) [Improving LCMS sensitivity through increases in chromatographic performance:Comparisons of UPLC-ES/MS/MS to HPLC-ES/MS/MS](#) 2005
5. [Nguyen D T-T;Guillarme D;Heinisch S;et al](#) [Hightthroughput liquid chromatography with sub-2- \$\mu\$ m particles at high pressure and high temperature](#) 2007
6. [Wren S A C;Tchelitcheff P](#) [Use of ultra-performance liquid chromatography in pharmaceutical development](#)[外文期刊] 2006(1/2)
7. [Wu Y;Engen J R](#) [Ultra performance liquid chromatography \(UPLC\) further improves hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry](#)[外文期刊] 2006(2)
8. [Fux E;McMillan D;Bite R](#) [development of an ultraperformance liquid chromatography-mass spectrometry method for the detection of lipophilic marine toxins](#) 2007
9. [Hsieh Y;Duncan C J G;Lee S](#) [Comparison of fast liquid chromatography/tandem mass spectrometric methods for simultaneous determination of cladribine and clofarabine in mouse plasma](#)[外文期刊] 2007(2)
10. [Liu M;Li Y G;Choub G X](#) [Extraction and ultraperformance liquid chromatograpy of hydrophilic and lipophilic bioactive components in a Chinese herb Radix Salviae Miltiorrhizae](#) 2007
11. [Guillarme D;Nguyen D T-T;Rudaz S](#) [Recent developments in liquid chromatography--lmpact on qualitative and quantitative performance](#) 2007(01)
12. [Guillarme D;Nguyen D T-T;Rudaz S](#) [Method transfer for fast liquid chromatography in pharmaceutical analysis:Application to short columns packed with small particle.Part I, Isocratic separation](#)[外文期刊] 2007(03)
13. [de Villiers A;Lestremau F;Szues R](#) [Evaluation of ultra performance liquid chromatography Part I.Possibilities and limitations](#) 2006
14. [Nguyen D T-T;Guillarme D;Rudaz S](#) [Chromatographic behaviour and comparison of column packed with](#)

15. [Yoshida T;Majors R E High-speed analyses using rapid resolution liquid chromatography on 1.8-μm porous particles](#) 2006(16)
16. [Yoshida T;Majors R E;Kumagai H High-speed analyses using rapid resolution liquid chromatography on ZORBAX column packed 1.8μm particles](#) 2007(02)
17. [Zhao L;Lou Z Y;Zhu Z Y Characterization of constituents in *Stellera chamaejasme* L. by rapid-resolution chromatography--diode arraydetection and electrospray ionization time-flightmass spectrometry](#)[外文期刊] 2008(1)
18. [Zhou D Y;Xu Q;Xue X Y Identification of Odiglycosyl flavanones in *Fructus aurantii* by liquid chromatography with electrospray ionization and collision-induced dissociation mass spectrometry](#)[外
文期刊] 2006(4)
19. [Li X Q;Xiong Z L;Ying X X A rapid ultraperformance liquid chromatography-electrospray ionizationtandem mass spectrometric method for the qualitative and quantitative analysis of the constituents of the flower of *Trollius ledibouri* Reichb](#)[外文期刊] 2006(2)
20. [刘颖;贺政明;陈艳华 无需母离子选择可获得二级质谱的RRLC-MS/MS方法研究](#) 2007(zk)
21. [梁溢 复方人参首乌有效部位的初步研究](#) 2007
22. [吴樱;杨义芳;罗明莉 康视明合剂中柚皮苷的UPLC法测定](#)[期刊论文]-[中国医药工业杂志](#) 2007(12)
23. [Giri S;Idle J R;Chen C A metabolomic approach to the metabolism of the areca nut alkaloids arecoline and arecaidine in the mouse](#) 2006
24. [汪江山;赵欣捷;郑育芳 超高效液相色谱/飞行时间质谱用于人参皂苷Rg3作用后大鼠水液代谢物指纹图谱分析及标记物的鉴定](#)[期刊论文]-[色谱](#) 2006(01)
25. [居文政;储继红;谭仁祥 UPLC-MS/MS联用法分析灯盏乙素在胃肠道的代谢物](#)[期刊论文]-[中国临床药理学与治疗学杂志](#) 2006(03)
26. [袁志华;丁安伟;居文政 复方五仁醇胶囊含药血清中木脂素类成分的UPLC-MS/MS分析](#)[期刊论文]-[中成药](#) 2007(04)
27. [居文政;刘芳;吴婷 UPLC-MS/MS法同时测定人血浆中黄芩苷和绿原酸](#)[期刊论文]-[药学学报](#) 2007(10)
28. [Wren S A C;Tehelitcheff P Use of ultra-performance liquid chromatography in pharmaceutical development](#)[外文期刊] 2006(1/2)
29. [Pedraglio S;Rozio M G;Misiano P New perspectives in bio-analytical techniques for preclinicalcharacterization of a drug candidate:UPLC-MS/MS in vitro metabolism and pharmacokinetic studies](#)[外文期刊] 2007(03)
30. [Bruce S J;Jonsson P;Antti H Evaluation of a protocol for metabolic profiling studies on human blood plasma by combined ultra-performance liquid chromatography/mass spectrometry:From extraction to data analysis](#)[外文期刊] 2008(02)
31. [艾华;王广基;顾轶 超高效液相色谱在现代药代动力学中的应用](#)[期刊论文]-[中国药科大学学报](#) 2007(04)
32. [Lee G;Stephen A W;Neill S Ultra-performance liquid chromatography in the bioanalysis of small molecule drug candidates in plasma](#) 2007(07)

引证文献(14条)

1. [赵骏铭](#), [张紫佳](#), [孙庆龙](#), [陈洁](#), [朴虎日](#), [王峥涛](#) [超高效液相色谱法测定杜仲中松脂醇二葡萄糖苷](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2010(11)
2. [胡紫艳](#), [田稷馨](#), [李小丽](#) [LC-MS联用技术在中药非目标化学成分分析中的研究进展](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2011(1)
3. [胡紫艳](#), [田稷馨](#), [李小丽](#) [LC-MS联用技术在中药非目标化学成分分析中的研究进展](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2011(1)
4. [谢耀轩](#), [林亚珠](#) [超高效液相色谱法测定三七中人参皂苷Rg1、人参皂苷Rb1和三七皂苷R1的含量](#)[期刊论文]-[广东药学院学报](#) 2011(5)
5. [葛亮](#), [姚蓝](#), [田树革](#) [RRLC\(超高速液相\)在中药化学实验教学中的应用](#)[期刊论文]-[中国民族民间医药](#) 2009(16)
6. [郑文红](#), [蓝义琨](#) [UPLC测定化癥止痛片人参皂苷Rg1和三七皂苷R1含量实验报告](#)[期刊论文]-[中国中医药现代远程教育](#) 2012(3)
7. [毕晓黎](#), [罗文汇](#), [胥爱丽](#), [谭志灿](#) [超高效液相色谱法测定白芷配方颗粒中欧前胡素和异欧前胡素的含量](#)[期刊论文]-[中国实验方剂学杂志](#) 2012(10)
8. [韩军](#), [花卉](#), [白子竹](#), [孙敬](#) [超高效液相色谱法测定纺织品禁用染料](#)[期刊论文]-[印染](#) 2010(18)
9. [韩军](#), [花卉](#), [冯立](#) [超高效液相色谱法测定皮革中甲醛含量](#)[期刊论文]-[西部皮革](#) 2010(9)
10. [刘永利](#), [袁浩](#), [李冬梅](#), [冯丽](#) [UPLC法测定罂粟壳中3种生物碱类成分含量](#)[期刊论文]-[中药材](#) 2011(9)
11. [解军波](#), [张彦青](#), [戚务勤](#) [RRLC-MS/MS法测定三黄片中小檗碱、黄芩苷和大黄素](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2010(5)
12. [王莉](#), [赵明波](#), [何文顺](#), [咎柯](#), [毕开顺](#), [屠鹏飞](#) [RRLC-UV法同时测定丹参中酚酸类成分的含量](#)[期刊论文]-[中国中药杂志](#) 2009(19)
13. [何丹](#), [杨林](#), [秦少容](#), [张景勃](#) [UPLC法测定藿香正气口服液中3种核苷](#)[期刊论文]-[中成药](#) 2013(12)
14. [孙会敏](#), [田颂九](#) [高效液相色谱法简介及其在药品检验中的应用](#)[期刊论文]-[齐鲁药事](#) 2011(1)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200808048.aspx