

UPLC在中药及其复方分析中的应用和研究进展

张青^{1,2}, 罗秋月¹, 李静¹, 蒲旭峰^{2*}

(1. 成都中医药大学药学院, 成都 611130; 2. 成都市食品药品检验研究院, 成都 610045)

[摘要] 超高效液相色谱法(UPLC)是在高效液相色谱法(HPLC)的基础上发展而来的一种新兴的液相色谱技术,具有超高效、超高分离度、超高灵敏度等特点,已被广泛应用于中药成分分析、代谢组学研究、指纹图谱建立、与质谱等检测器联用测定未知化合物成分等方面。笔者通过查阅近5年的文献资料,对UPLC在中药领域的应用进行全面综述,并总结其相对运用优势和发展前景,以期药理学工作者能更好地运用UPLC技术提供科学指导和依据。

[关键词] 超高效液相色谱法; 成分分析; 指纹图谱; 代谢组学; 超高效液相色谱-质谱联用技术; 方剂; 主成分分析

[中图分类号] R22;R289;R284;G353.11;O657.7;R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)03-0226-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20182004

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180727.1544.014.html>

[网络出版时间] 2018-07-30 11:11

Application and Research Progress of UPLC in Analysis of Traditional Chinese Medicine and Its Compound

ZHANG Qing^{1,2}, LUO Qiu-yue¹, LI Jing¹, PU Xu-feng^{2*}

(1. College Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611130, China;

2. Chengdu Institute for Food and Drug Control, Chengdu 610045, China)

[Abstract] Ultra-high performance liquid chromatography (UPLC) is a new liquid chromatography technology, which developed on the basis of high performance liquid chromatography (HPLC). It has the characteristics of super high efficiency, high separation degree and high sensitivity, and has been widely used in the analysis of components in traditional Chinese medicine, the studies on metabolomics, establishment of fingerprint chromatogram, determination of unknown compounds combined with mass spectrometry and other detectors, etc. In this paper, the authors reviewed the application of UPLC in the field of traditional Chinese medicine through a review of the literature in the past 5 years, and summed up its relative advantages and development prospects, in order to provide scientific guidance and basis for pharmaceutical workers to make better use of UPLC technology.

[Key words] ultra-high performance liquid chromatography (UPLC); component analysis; fingerprints; metabolomics; UPLC-mass spectrometry; formula; principal component analysis

超高效液相色谱法(UPLC)是分离科学中的一个全新类别,是采用小颗粒填料色谱柱(粒径 < 2 μm)结合超高压输液泵(压力 > 105 kPa)的新兴液相色谱技术^[1]。中药及其复方是中医应用于临

床的主要形式,也是一个异于化学药物的高度复杂体系,多成分、多途径、多靶点的特点加大了成分分析的工作难度^[2]。在2015年版《中国药典》中,把高效液相色谱法(HPLC)作为中药成分分析的主要

[收稿日期] 20180511(018)

[第一作者] 张青,在读硕士,从事中药制剂质量评价研究,E-mail:836111272@qq.com

[通信作者] *蒲旭峰,博士生导师,从事中药品质 and 安全性评价研究,E-mail:Pxf68@263.net

仪器^[3],但实验操作繁琐,消耗大量时间和流动相,分离度、灵敏度不佳,同时中药成分易分解转化,因此无法快速、精准的完成定量分析。UPLC 具有超高效、超高分离度、超高灵敏度等优点,能大大缩短分析周期,显著提高色谱峰分离度和检测灵敏度,同时其特殊的色谱柱填料可减少固定相表面残余硅羟基,改善色谱峰展宽和拖尾现象。目前,虽然 UPLC 在中药领域发展迅速,但对其应用的综述性文献报道很少,以总结 UPLC 联用技术的应用为主,且分析不全面,也未作与传统分析仪器的具体对比分析,忽略了 UPLC 本身优势。笔者通过查阅近 5 年的文献资料,对 UPLC 在中药领域的应用进行全面综述,并总结其相对运用优势和发展前景,以期药学工作者能更好地运用 UPLC 技术提供科学指导和依据。

1 UPLC 简介

1.1 UPLC 基本原理及发展背景 色谱理论,即 Van Deemter 速率方程认为提高柱效就能增加仪器的解析度,而提高柱效的最好方法就是采用粒径 < 2 μm 的小颗粒填料,减小色谱柱填料粒径大小能降低理论塔板数,既能提高柱效,又能提高流动相线速度操作范围^[4]。因此填料粒径 < 2 μm 的色谱柱、高压溶剂输送单元、更小死体积的色谱系统、适应几秒峰宽的高速检测器等都是提高柱效必不可少的^[5]。为了解决这些瓶颈,UPLC 技术应运而生。2004 年 3 月,第一台 UPLC 系统在美国诞生,由 Waters 公司在传统 HPLC 系统基础上自主研发而成,填料粒径仅 1.7 μm 。与此同时,日本岛津公司、美国 Agilent 公司也相继研发出超快速液相色谱仪(UFLC)和高分离度快速液相色谱(RRLC),二者采用的色谱柱填料粒径分别为 2.2 μm 和 1.8 μm ^[6]。

1.2 UPLC 与 HPLC 的对比分析 UPLC 是在 HPLC 的基础上发展而来的,填料粒径仅 1.7 μm ,超高压达 105 kPa 以上,在更宽的线速度里使柱效保持恒定,不仅提高了流动相流速,并且大大增加了色谱峰分离度和检测灵敏度。和传统 HPLC 系统相比,其进样量、分析周期和消耗流动相体积均显著减少,见表 1。UPLC 在短时间内可获得高通量实验数据,减少流动相和溶剂消耗,实现对成千上百种成分快速、精准的定性定量分析^[7-9]。总结 UPLC 在中药领域的应用优势有 4 个方面:①超高效,完全能替代 HPLC,节约环保;②超高分离度,能胜任成百上千种成分的分析工作;③超高灵敏度,进样体积小,应对痕量成分分析毫无压力;④达到最佳线速度,增加离子化效率,不分流直接进入质谱,是质谱检测器

的最佳入口^[10-13]。

表 1 UPLC 与 HPLC 在中药分析中的对比分析

Table 1 Comparative analysis of UPLC and HPLC in analysis of traditional Chinese medicine

分析样品	分析仪器	进样量/ μL	分析时间/ min	消耗流动相体积/ mL	参考文献
川楝子	UPLC	2	5	3	[14]
	HPLC	5	110	100	[15]
何首乌	UPLC	2	12	10	[16]
	HPLC	10	75	75	[17]
川芎	UPLC	1	6	3	[18]
	HPLC	10	70	70	[19]
复方丹参方	UPLC	3	9	4	[20]
	HPLC	5	60	36	[21]
消癌平注射液	UPLC	5	5	1	[22]
	HPLC	20	30	30	[23]

2 UPLC 在中药成分分析中的应用

2.1 UPLC 在中药材成分分析中的应用 中药材种类繁多、来源广泛、成分复杂,其分析工作面临很大挑战。目前,中药材成分分析广泛选择由 HPLC 完成,耗时较长,但 UPLC 相比 HPLC 更加快捷、精确,不仅能实现对药材成分的快速定性定量,还能区分有效部位、品种来源等。此外,UPLC 对由药材提取物制成的配方颗粒的成分研究也同样适用^[24],UPLC 以其强大的分析功能在中药材分析工作中发挥重要作用,并得到广泛应用。

QI 等^[25]利用 UPLC 对 20 批刺蒺藜果实、茎、叶中的甾体皂苷等主要成分进行分析,实验初步鉴定出了 91 种类固醇皂苷,其中 37 种成分是首次在刺蒺藜中测出,通过主成分分析和偏最小二乘法-判别分析发现标记的差异成分属于 2 种皂苷类型——呋甾类和螺甾类,且二者在 3 个有效部位中的含量不同,前者主要存在于果实,后者在茎和叶中的含量相对较高,提示通过比较呋甾类和螺甾类这 2 种皂苷类成分的含量差异可以实现对刺蒺藜药材的不同有效部位区分。张晓旭等^[26]建立 UPLC 分析三七、西洋参、人参 3 种药材中原人参三醇型皂苷(人参皂苷 Rg_1 , Re , Rf)和原人参二醇型皂苷(人参皂苷 Rb_1 , Rc , Rd)的含量差异,结果发现 3 种药材中原人参二醇型皂苷含量均高于原人参三醇型皂苷,其中人参皂苷 Rg_1 在三七中含量最高,人参皂苷 Re 在西洋参中含量最高,而人参皂苷 Rf 只在人参中检出,

传统 HPLC 分离人参皂苷需要 50 min, 而 UPLC 只需 18 min, 时间缩短了约 3 倍, 而且后者流速是前者三分之一, 节约了大量流动相, 说明 UPLC 精确、快捷、高效, 适合日常、大批量样品的检测。Lee 等^[27]采用 UPLC 分别对不同年限的人参中 14 种皂苷进行了含量测定, 不同样品中各成分在短时间内均能达到良好分离, 实验结果显示不同年限的人参中皂苷含量及其 MALDI-imaging MS 截面定位均有所差异, 提示该方法可以区分不同生长年限的人参。YANG 等^[28]利用 UPLC 强大的分析能力检测黄连经姜汁炮制前后的成分变化, 结果发现炮制后黄连中 2 种原化合物消失, 部分生物碱类成分含量增加, 初步揭示了该炮制品增效减毒作用的物质基础。UPLC 还被用于分析其他药材中的化学成分^[29-31], 为中药复杂成分的定性与定量分析提供了更好的平台。

2.2 UPLC 在中药复方制剂成分分析中应用 中药复方制剂系指在中医理论和配伍原则指导下, 由 2 味或 2 味以上药味组成的方剂, 是中医方剂的主体组成部分。中药复方制剂的疗效是方中药味的多种有效成分整体协同作用的结果, 其质量优劣直接影响着药物的临床疗效^[32]。中药质量的好坏主要取决于有效成分的含量多少, 中药材本就是一个成分高度复杂的生物体系, 中药复方更甚。2015 年版《中国药典》中复方制剂的质量标准主要规定了方中君药、臣药或者某几味药材中的 1 个或几个指标成分含量, 很难实现准确有效地评价复方制剂的质量, 更难全面反映其安全性和整体性。同时在实际操作中, 复方制剂成分可达上千种, 且大多属于痕量成分, 传统的 HPLC 不足以应对其分析工作, 且费时耗材, 而 UPLC 则能实现上述分析工作。在中药复方制剂分析体系中引入 UPLC, 为研究中医临床用药的药效物质基础提供了高效的分析手段。

陈晓虎等^[33]建立同时测定栀子金花丸中 11 种有效成分含量的 UPLC, 并结合多波长检测器, 减小误差和干扰, 提高分析方法的灵敏度, 该方法在 30 min 内完成样品分析, 方便快捷, 适合复方多成分、多样本分析。李耿等^[34]发现采用 HPLC 对乐脉颗粒中成分定量分析需耗时 40 min, 尝试利用 UPLC 对乐脉颗粒中 11 种主要成分含量进行同时测定, 12.5 min 即可完成 1 次样品分析, 且各成分完全分离、峰形理想, 实验结果证明该方法准确、简便、可行。CHEN 等^[35]建立 UPLC 对气血双补酊剂中主要有效成分进行分离与鉴定, 从中鉴定出 56 个化学成

分, 主要为查尔酮、三萜类、黄酮类和原人参三醇类化合物, 实现对气血双补酊剂中复杂化学成分的快速识别。ZHANG 等^[36]建立了对丹红注射液中有效成分快速分析的 UPLC, 在短时间内分离并鉴定出 63 种化学成分, 其中包括 33 种酚酸, 2 种 C-糖基喹啉查尔酮, 6 种黄酮苷类, 4 种环烯醚萜苷, 6 种有机酸, 5 种氨基酸和 3 种核酸, 分析结果表明 UPLC 能完全胜任对中药复杂基质中成分的分析工作。UPLC 也被广泛应用于半夏泻心汤^[37]、四物汤^[38]等常用复方的成分分析。笔者查阅文献发现, 通过与正交设计结合, UPLC 也被运用到中药材提取工艺和炮制工艺优化中, 快速分析药材在不同提取、炮制工艺处理后有效成分的含量差异, 筛选出最佳的提取和炮制工艺, 实现中药有效成分的充分提取, 见表 2。选择科学、合理、可行的药材前处理工艺使中药在充分发挥药效的同时增效减毒, 使其能更好的应用于临床, 更容易被现代社会所广泛接受, 这些都将极大地促进中医药发展。

3 UPLC 在中药指纹图谱中的应用

指纹图谱是一种综合的、量化的现代质量分析方法, 可实现对中药整体性的全面评价。指纹图谱不仅能实现对中药质量评价、真伪鉴定和不同来源区别, 还能确保中药品质的稳定性和一致性^[47]。传统的指纹图谱均是通过 HPLC 完成的, 分离度和灵敏度不佳, 不能体现更多的中药成分, 随着 UPLC 的应用发展, 研究人员逐渐用其替代了 HPLC^[48-49]。LIU 等^[50]采用 UPLC 系统建立了 10 批三七粉末的指纹图谱, 指认了 51 个常见的色谱峰, 通过主成分分析发现, 有 1 批样品不合格, 不合格样品中有 15 种显著性差异成分, UPLC 能在 18 min 内完成 1 次样品分析, 为三七的真伪鉴别提供了快速质检方法。SUN 等^[51]建立了 6 个不同产地的 72 批何首乌药材 UPLC 指纹图谱并对其进行了化学计量学分析, 得到主成分评分图和聚类分析图, 结果发现同一产地何首乌样本聚类效果很好, 提示何首乌药材中成分含量与产地的地理位置和气候有关。许晓双等^[52]采用 UPLC 建立了 7 批不同产地、不同规格等级远志药材的特征指纹图谱, 结果表明不同规格等级远志间标志性成分含量都有不同程度的差异, 该研究提示指纹图谱结合指标成分分析能实现对不同规格等级远志药材更加全面的质量评价。此外, 国内外药理学研究者还对附子^[53]、胃必治药片^[54]、天麻^[55]、知母^[56]、银杏叶^[57]等中药材和中药复方制剂进行了 UPLC 指纹图谱研究。

表 2 UPLC 在药材提取、炮制工艺优选中的应用

Table 2 Application of UPLC in optimization of extraction and processing technology of herbal medicine

样品	考察因素	分析时间 /min	结果	参考文献
正骨洗药	煎煮时间、煎煮次数、加水量	16	最佳水煎工艺为加 20 倍量水煎煮 30 min;阿魏酸、异欧前胡素含量最高,浸膏得率最高	[39]
疏肝健脾方	加水量、提取时间、提取次数	10	最佳水提工艺为加 8 倍量水提取 3 次,每次 1.5 h;黄芪甲苷含量最高,干浸膏得率最高	[40]
当归益肾胶囊	乙醇体积分数、乙醇用量、提取时间、提取次数	20	最佳醇提工艺为加 10 倍量 80% 乙醇提取 1.0 h,提取 2 次;松果菊苷、毛蕊花糖苷、马钱苷含量最高,浸膏得率最高	[41]
二神丸	乙醇体积分数、乙醇用量、提取时间、提取次数	35	优选醇提工艺为加 8 倍量 60% 乙醇提取 2 次,每次 1 h	[42]
酒当归	黄酒量、闷润时间、微波功率、微波时间	16	当归每 1 g 加黄酒 0.5 g,闷润时间 5 h,微波功率 750 W,微波时间 3 min	[43]
白术	清炒、麸炒、蜜麸炒、糠炒、蜜糠炒	16	炮制品中白术内酯 I, II, III 的含量都有所升高,蜜糠炒白术中含量最高	[44]
苍耳子	清炒、砂炒	20	砂炒苍耳子中新绿原酸,绿原酸,隐绿原酸,咖啡酸,3,5-二咖啡酰奎宁酸和 4,5-二咖啡酰奎宁酸的含量较清炒高,且毒性成分羧基苍术苷和苍术苷较清炒低	[45]
苍耳子	温度、时间	16	最佳砂炒条件为温度 160 ℃,时间 7 min,绿原酸和 3,5 二咖啡酰奎宁酸质量分数最高,分别为 2.498, 2.004 mg·g ⁻¹	[46]

4 UPLC 在中药代谢组学中的应用

1999 年, Nicholson 等^[58]首次提出代谢组学的概念——生物体在病理生理刺激和遗传因素改变条件下,在不同时间、多方位对其代谢变化进行定量检测,通过对整体代谢图谱分析研究基因调控机制。在研究中药体内代谢过程中引入代谢组学原理,不仅能有效的筛选出中药的活性成分,对中药在体内的代谢过程进行追踪,还能对代谢产物进行定性与定量分析,科学的阐明中药药效物质基础^[59]。但中药有效成分体内代谢过程和代谢产物十分复杂,中药代谢组学研究面临诸多挑战,而 UPLC 为代谢组学研究提供了更好的技术平台,使代谢组学可以更好地应用于中药现代化研究,为更全面、更具体阐释中药药效物质基础及作用机制提供新的思路和方法。

杨瑞等^[60]采用 UPLC 技术研究雷公藤配伍甘草在肾病综合征(nephrotic syndrome, NS)模型大鼠的体内代谢组学,在 NS 组与正常组尿液中筛选出 29 个显著性差异成分,其中配伍能改变 14 个成分的含量,单用雷公藤能改变 11 个成分的含量,配伍组和单用雷公藤组尿液中筛选出 7 个显著性差异成分,结合主成分分析也证实雷公藤对 NS 大鼠尿液中代谢成分有显著回调作用,且配伍甘草后回调作用更佳。LI 等^[61]研究三七配伍雷公藤时在肠道的

代谢情况,结果发现三七对雷公藤甲素、雷公藤红素吸收有调节作用,使肠道吸收雷公藤甲素降低、雷公藤红素增加,该研究利用 UPLC 首次证实三七可降低雷公藤产生的体内急性肝毒性,为雷公藤的临床“异类相制”配伍减毒理论提供了实验依据。HUANG 等^[62]研究麻子仁丸体外诱导大鼠结肠平滑肌自发收缩的药理作用和代谢组学,建立 UPLC 对复方提取物、给药大鼠血液和粪便进行成分分析,共分离出 97 种化合物,血浆中发现 34 种,粪便中发现 10 种,结合网络药理学方法,发现其有效成分作用于多个生物靶点,提示麻子仁丸活性成分可能通过作用于多个目标和途径来增强结肠运动能力。WANG 等^[63]通过 UPLC 技术对东北产区黄连的根、茎、叶和种子 4 个部位的化学成分进行分析,从 4 个部位均分离出 150 多个色谱峰,进一步研究发现黄酮类成分主要分布在茎、叶和种子,结合代谢学分析,分别在根、茎、叶和种子中鉴定出 15, 5, 7, 11 种明显的生物标志物,可实现对东北产区黄连 4 个药用部位的快速鉴别。

5 UPLC 及其联用技术在中药分析中的应用

通常采用 HPLC 和对照品对比来实现对中药中众多成分的定量与定性分析,但是中药单体对照品存在化学性质不稳定、获取困难、价格昂贵等问题,使研究者对某些不明的单体或新化合物不能立即

定性, UPLC 超高的分离能力结合 MS 高灵敏的成分筛查能力, 能轻松解决这些问题。利用联用技术计算中药成分的碎片离子精确相对分子质量, 通过保留时间数据分析和数据库筛选, 可实现成分定性分析^[64], 同时拥有高分辨、高扫描速度等特点的 MS 可对大量成分同时进行检测。近年来, 许多国内外药理学研究者采用 UPLC 及其联用技术对中药体系中各种成分进行分析, 如酚类^[65]、皂苷类^[66]、生物碱类^[67]、黄酮类^[68]、香豆素类^[69], 并取得了很多建设性成果, 部分应用见表 3。

UPLC 快速分离能力与飞行时间 (TOF), 静电场轨道阱 (Orbitrap), 离子阱-飞行时间 (IT-TOF), 四极杆-飞行时间 (Q-TOF), 三重四极杆 (QQQ) 或四极杆离子阱 (Q-Trap) 等质谱检测器准确性优势联用对中药研究领域的发展将是一个极大的促进, 并为中药质量控制研究和药效物质的机制研究提供了高效分析手段。同时, 许多学者还利用 UPLC 联用技术对中药及其复方中的非法添加化学成分等方面进行了分析, 为中药产品质量监控提供了快速检测手段^[77-80]。

表 3 UPLC 及联用技术在中药分析中应用

Table 3 Application of UPLC and its combined technology in analysis of traditional Chinese medicine

药材或复方	分析样本	联用技术	处理方法	结果	参考文献
芩百清肺浓缩丸	大鼠肺组织	UPLC-Q-TOF-MS	主成分分析, <i>t</i> 检验	在给药后大鼠肺组织中鉴定了 20 个潜在生物标志物。与模型组比较, 芩百清肺浓缩丸对这 20 个潜在生物标志物均具有回调作用	[70]
喜树(喜树碱衍生物)	大鼠血浆	UPLC-MS/MS	-	3.5 min 内完成对大鼠体内 7-乙基-14-氨基喜树碱 (ECA) 及其代谢产物成分的定性定量分析, 发现 ECA 在体内清除速率适中, 主要分布在组织中	[71]
步长脑心通胶囊	大鼠血浆	UPLC/Q-TOF-MS	多变量数据分析, <i>t</i> 检验	鉴定了 28 个代谢成分, 主要与单胺类神经递质、氨基酸、能量和脂质等代谢有关; 该药能改善神经缺陷, 减少脑梗死规模	[72]
黄芪根、茎叶	甲醇提取液	UPLC-Q-TOF/MS	-	鉴定了根中 18 种成分、茎叶中 17 种成分, 其中有 12 个共有成分和 11 个区别成分	[73]
注射用益气复脉(冻干)	甲醇提取液	UPLC-Q-TOF/MS	-	鉴定了 145 个化合物, 其中有 26 个成分为首次检出, 包括 17 个黄酮类成分, 4 个麦冬皂苷类成分及 5 个木脂素类成分	[74]
三七(皂苷)	大鼠尿液	UPLC/Q-TOF-MS	多元统计分析	确定了由乙醇引起的 16 个潜在代谢生物标志物, 除已甘氨酸外, 这些标志物的酒精诱导变化可部分或全部被三七皂苷逆转	[75]
赤芍	大鼠血浆、尿液、胆汁、粪便	UPLC-MS/MS	-	芍药苷、芍药内酯苷和氧化芍药苷这 3 种单萜类化合物的主要排泄途径不是肾脏, 其主要排泄方式排序为粪便 > 胆汁 > 尿液	[76]

6 UPLC 在中药领域的应用局限和发展趋势

UPLC 在中药领域应用越来越广泛, 而实验过程中的一些问题也逐渐暴露, 如溶剂的压缩性导致流量降低, 要根据设定流量和实际流量进行流量补偿; 摩擦热效应可能导致温度梯度的出现, 造成峰展宽和柱效下降; 长时间高压条件下的 UPLC 系统可能发生高流液体喷射和管壁迸裂造成危险; 极端 pH 和温度、极高压容易损坏色谱柱, 样品前处理不当或流动相中缓冲盐析出容易造成色谱柱堵塞, 使用不同色谱柱时, 流速和压力都要进行相应调整; 仪器内部压力过大, 降低部位零件使用寿命, 加快连接部位

老化速度, 增加维护成本; 精密度、色谱峰面积重复性较 HPLC 差, 匹配色谱柱少, 仪器、耗材价格昂贵等。

但以上问题均可通过技术改进来避免, 如样品净化处理方法逐渐提高 (固相萃取、过滤、高速离心等) 和注意流动相品质并及时更换、进样前合适的平衡处理均可降低色谱柱的堵塞风险; 增大仪器检测频率, 降低噪音, 减小流通池体积来改善仪器精密程度; 改变半环进样方式, 加大进样量和样品质量浓度, 以提高色谱峰面积的重复性; 加入高集成和高通量的微流控检测芯片、毛细管柱等技术代替颗粒

粒径的减小可能会成为提高柱效的新方式;色谱仪器市场逐渐完善,耐高压的部位零件逐渐上市,更完美的UPLC将会普及到越来越多的实验室。因此UPLC的局限并不会成为阻碍其发展的原因,相反随着色谱技术的发展,UPLC系统能更加完善,能更好地应用于中药领域研究中。

7 展望

中药是中华民族的智慧结晶,实现中药现代化、国际化是无数药学工作者为之奋斗的目标。中药要走向国际,被世界范围所接受,不仅需要科学、清晰的药理理论依据,一套被国际认可的质量控制标准更是必不可少,但是中药成分分析工作面临诸多困难,借助高效、高灵敏的实验分析仪器是解决这些难点的首选之举。UPLC具有超高效、超高分离度、超高灵敏度、低消耗等特点,并能与质谱仪串联,扩大了其应用范围,使之受到众多研究学者的认可和选择。此外,UPLC与HPLC基本分析原理一致,数据、参数等存在通用性,将现有的HPLC色谱条件进行简单转换即可适用于UPLC系统。目前,色谱领域很多公司致力于丰富和完善已有的UPLC产品,不断推出各种型号色谱柱、检测器等,进一步扩展了UPLC的应用领域。随着时代的发展,在科研领域运用更加高效、简捷的分析仪器已成为必然,UPLC必将在未来的药物分析工作中发挥主导作用。本课题组后期将开展更加深入的中药成分分析研究,不断探索UPLC在中药领域的新应用,并通过改进样品前处理方式和适当的实验操作以规避其局限,使中药有效成分的种类更加确定,质量控制更加全面、规范、科学。

[参考文献]

[1] 杨艳,陈旭冰,陈光勇,等.超高效液相色谱在中药研究中的应用[J].云南中医中药杂志,2012,33(6):70-72.

[2] 盈竞男,韩新民.超高效液相色谱在中药及其复方研究中的应用进展[J].江苏中医药,2015,47(4):81-84.

[3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.一部[M].北京:中国医药科技出版社,2015:231-232.

[4] 戴朝政.超高效液相色谱塔板高度方程的推导[J].色谱,2015,33(5):535-540.

[5] 刘丹,齐双辉,马海英.UPLC在中药组分分析及代谢组学中的应用进展[J].中国药房,2016,27(7):973-975.

[6] 单玲玲,靳光乾,刘善新.UPLC、RRLC及UFLC在中

药质量控制中的研究进展[J].中华中医药杂志,2011,26(10):2340-2344.

[7] Fayed A S, Hegazy M A, Wahab N S. Chromatographic analysis of a multicomponent mixture of B1, B6, B12, benfotiamine, and diclofenac; part I: HPLC and UPLC methods for the simultaneous quantification of these five components in tablets and capsules[J]. J AOAC Int, 2016, 99(6): 1513-1521.

[8] 邓少东,王莲婧,林励,等.化橘红黄酮类成分UPLC与HPLC指纹图谱的比较研究[J].中草药,2013,44(9):1195-1198.

[9] Durand-Hulak M, Dugrand A, Duval T, et al. Mapping the genetic and tissular diversity of 64 phenolic compounds in Citrus species using a UPLC-MS approach[J]. Ann Bot, 2015, 115(5): 861-877.

[10] Miranda T A, Silva P H, Pianetti G A, et al. Simultaneous quantitation of chloroquine and primaquine by UPLC-DAD and comparison with a HPLC-DAD method[J]. Malar J, 2015, doi: 10.1186/s12936-015-0570-1.

[11] ZHAO M, LI G, QIU F, et al. Development and validation of a simple and rapid UPLC-MS assay for valproic acid and its comparison with immunoassay and HPLC methods[J]. Ther Drug Monit, 2016, 38(2): 246-252.

[12] ZHAO X, WANG B, XIE K, et al. Development and comparison of HPLC-MS/MS and UPLC-MS/MS methods for determining eight coccidiostats in beef[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2018, doi:10.1016/j.jchromb.2018.04.044.

[13] 贾博,贺玉林,宋扬.超高效液相色谱在药物分析中的应用研究[J].化工管理,2017(20):182.

[14] 朱渊,王俊虎.UPLC-MS法快速测定川楝子中川楝素的含量[J].亚太传统药,2018,14(4):54-56.

[15] 张春泥,王英姿,孙欣光,等.HPLC-CAD结合化学计量学的川楝子饮片指纹图谱研究[J].药学学报,2017,52(3):456-461.

[16] 郭忠会,贾志鑫,陈奎奎,等.基于UPLC-Q-TOF/MS分析何首乌提取物体内成分[J].中国中药杂志,2018,doi:10.19540/j.cnki.cjcm.20180419.002.

[17] 杨满琴,谢若男,徐玥玮,等.多产地何首乌药材质量的HPLC指纹图谱评价研究[J].广州化工,2017,45(17):96-98.

[18] 陈雏,吴燕,李彬,等.UPLC法测定川芎生长过程中6种主要成分的含量变化[EB/OL]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/51.1335.Q.20180315.1526.040.html,2018-03-15.

- [19] 张健平. HPLC 指纹图谱评价方法测定不同等级川芎饮片阿魏酸含量结果分析[J]. 四川中医, 2018, 36(1): 74-77.
- [20] 贾田芊, 王媚, 李兴欢, 等. 复方丹参方快速 UPLC 指纹图谱研究[J]. 中国医院药学杂志, 2018, 38(5): 474-477.
- [21] 徐美华, 李慧珍, 朱美晓, 等. 高效液相色谱法测定复方丹参方滴丸中三七总皂苷的含量[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(1): 221-224.
- [22] 董占军, 安静, 王祁民, 等. UPLC-MS/MS 同时检测消癌平注射液中通关藤苷 A、I、H 的含量[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(3): 396-398.
- [23] 王祁民, 马银玲, 李颖, 等. 高效液相色谱法测定消癌平注射液中通关藤苷 G 含量[J]. 中国药业, 2018, 27(3): 33-34.
- [24] 穆希岩, 付炎, 张玉倩, 等. UPLC 同时测定秦皮配方颗粒中 7 种成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(11): 63-67.
- [25] QI P, WU W Y, GUO D A, et al. Chemical characterization and discrimination of fruit, stem and leaf of *Tribulus terrestris* L. by UPLC-QTOF-MS based profiling and chemometrics analysis[J]. WJTCM, 2016, 2(2): 87-91.
- [26] 张晓旭, 马雪涛, 胡蒙, 等. 超高效液相色谱法检测 6 种人参皂苷含量[J]. 中国食品学报, 2015, 15(5): 241-246.
- [27] Lee J W, Ji S H, Lee Y S, et al. Mass spectrometry based profiling and imaging of various ginsenosides from *Panax ginseng* roots at different ages[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(6): E1114.
- [28] YANG C, GUO F, ZANG C, et al. The effect of ginger juice processing on the chemical profiles of *Rhizoma coptidis*[J]. Molecules, 2018, 23(2): E380.
- [29] 赵玉娇, 徐文慧, 沈小丽, 等. 白术中内酯类成分的 TLC 鉴别与 UPLC 含量测定[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(3): 531-535.
- [30] 樊小瑞, 刘梓晗, 冯伟红, 等. 基于 UPLC 技术的吴茱萸定性定量一体化研究[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(20): 3945-3956.
- [31] ZENG H, SU S, XIANG X, et al. Comparative analysis of the major chemical constituents in *Salvia miltiorrhiza* roots, stems, leaves and flowers during different growth periods by UPLC-TQ-MS/MS and HPLC-ELSD methods[J]. Molecules, 2017, 22(5): E771.
- [32] 周刚, 何燕萍. 中药复方新药研发中质量标准研究需关注的问题[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(17): 3389-3391.
- [33] 陈晓虎, 苏晶, 王慧, 等. UPLC 法同时测定栀子金花丸中 11 种成分[J]. 中草药, 2014, 45(7): 955-959.
- [34] 李耿, 王秀丽, 刘金欣, 等. UPLC 法同时测定乐脉颗粒中 11 种成分[J]. 中草药, 2013, 44(11): 1435-1439.
- [35] CHEN L W, WANG Q, QIN K M, et al. Chemical profiling of Qixue Shuangbu Tincture by ultra-performance liquid chromatography with electro-spray ionization quadrupole-time-of-flight high-definition mass spectrometry(UPLC-QTOF/MS)[J]. Chin J Nat Med, 2016, 14(2): 141-146.
- [36] ZHANG Q Q, DONG X, LIU X G, et al. Rapid separation and identification of multiple constituents in Danhong injection by ultra-high performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry[J]. Chin J Nat Med, 2016, 14(2): 147-160.
- [37] WANG Y, XU R, XIAO J, et al. Quantitative analysis of flavonoids, alkaloids and saponins of Banxia Xiexin decoction using ultra-high performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. J Pharm Biomed Anal, 2014, 88: 525-535.
- [38] 何瑶, 王丽娟, 刘婷婷, 等. 基于代谢组学技术分析四物汤治疗原发性痛经证的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(12): 82-89.
- [39] 董逸凡, 吴婷婷, 张蕊, 等. UPLC 结合正交实验法优选正骨洗药最佳水煎工艺[J]. 实用药物与临床, 2018, 21(3): 299-302.
- [40] 姜辉, 李竹青, 秦秀娟, 等. 疏肝健脾方水提工艺的正交试验法结合 UPLC 优选[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(6): 1299-1301.
- [41] 段贤春, 陈曦, 汪永忠, 等. 正交设计法优选苁归益肾胶囊提取工艺[J]. 中成药, 2014, 36(7): 1413-1417.
- [42] 张婷, 杨晓旭, 高家荣, 等. 基于超高效液相色谱指纹图谱的正交试验优选“二神丸”药对醇提工艺考察[J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(12): 1130-1133.
- [43] 魏文龙, 付娟, 李文涛, 等. 基于 UPLC 方法的酒当归微波炮制工艺研究[J]. 药物评价研究, 2014, 37(2): 150-154.
- [44] 王文凯, 翁萍, 张晓婷, 等. 建昌帮蜜糠炒白术炮制工艺优化[J]. 中草药, 2015, 46(6): 857-860.
- [45] 柳清, 洪燕, 汪永忠, 等. 苍耳子清炒改砂炒炮制工艺研究[J]. 中草药, 2016, 47(15): 2656-2662.
- [46] 孙艳华, 洪燕, 汪永忠, 等. 不同炮制时间和温度对苍

- 耳子中 2 种酚酸含量的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2014, 21(4): 82-85.
- [47] 李萍. 中药分析学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 167.
- [48] 全家羽, 赵嵘, 代云桃, 等. 当归标准汤剂质量评价体系的建立[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 18-23.
- [49] 于小红, 赵嵘, 代云桃, 等. 党参标准汤剂质量评价的建立[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 24-29.
- [50] LIU P, YU H S, ZHANG L J, et al. A rapid method for chemi-cal fingerprint analysis of *Panax notoginseng* powders by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. Chin J Nat Med, 2015, 13(6): 471-480.
- [51] SUN L L, WANG M, ZHANG H J, et al. Comprehensive analysis of *Polygoni Multiflori Radix* of different geographical origins using ultra-high-performance liquid chromatography fingerprints and multivariate chemometric [J]. J Food Drug Anal, 2018, 26(1): 90-99.
- [52] 许晓双, 张艳花, 王丹丹, 等. 基于 UPLC/Q-TOFMS 代谢组学技术分析影响远志商品药材质量的关键因素[J]. 山西医科大学学报, 2016, 47(3): 255-263.
- [53] ZHU Y, ZHENG Q F, SUN Z Y, et al. fingerprint-efficacy study of *Radix Aconiti Lateralis Preparata* (Fuzi) in quality control of Chinese herbal medicine [J]. J Therm Anal Calorim, 2014, 118(3): 1763-1772.
- [54] LIU Y C, SUN G X, LUAN J Y, et al. A comprehensive strategy to monitor quality consistency of Weibizhi tablets based on integrated MIR and UV spectroscopic fingerprints, a systematically quantified fin-gerprint method, antioxidant activities and UPLC/Q-TOF-MS chemical profiling[J]. Rsc Adv, 2016, 6(1): 366-375.
- [55] TANG C L, WANG L, LIU X, et al. Chemical fingerprint and metabolic profile a-nalysis of ethyl acetate fraction of *Gastrodia elata* by ultra performance liquid chromatography quadrupole-time of flight mass spectrometry [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2016, 1011: 233-239.
- [56] 朱建新, 冯亭亭, 罗飞, 等. 张家口地区知母药材 UPLC 指纹图谱研究[J]. 河北北方学院学报: 自然科学版, 2018, 34(4): 11-17.
- [57] 刘国雄, 李华, 张军. UPLC 指纹图谱快速评价银杏叶提取物及制剂的质量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(1): 64-68.
- [58] Nicholson J K, Connelly J, Lindon J C, et al. Metabonomics: a platform for studying drug toxicity and gene function[J]. Nat Rev Drug Discov, 2002, 1(2): 153-161.
- [59] 郭慧, 崔扬, 王秋红, 等. 基于代谢组学技术的中药复方研究近况[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(1): 213-219.
- [60] 杨瑞, 唐思, 董晓茜, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 分析雷公藤配伍甘草治疗肾病综合征大鼠的尿液代谢组学[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(12): 150-156.
- [61] LI Y, ZHANG B, LIU M, et al. Further study of influence of *Panax notoginseng* on intestinal absorption characteristics of triptolide and tripterine in rats with *Tripterygium wilfordii* [J]. Pharmacogn Mag, 2018, 14(53): 95-102.
- [62] HUANG T, NING Z, HU D, et al. Uncovering the mechanisms of Chinese herbal medicine (MaZiRenWan) for functional constipation by focused network pharmacology approach [J]. Front Pharmacol, 2018, doi: 10.3389/fphar.2018.00270.
- [63] WANG C, ZHANG N, WANG Z, et al. Nontargeted metabolomic analysis of four different parts of *Platycodon grandiflorum* grown in northeast China [J]. Molecules, 2017, 22(8): E1280.
- [64] ZHANG F, LI M, QIAO L, et al. Rapid characterization of *Ziziphi Spinosae Semen* by UPLC/Qtof MS with novel informatics platform and its application in evaluation of two seeds from *Ziziphus* species [J]. J Pharm Biomed Anal, 2016, 122: 59-80.
- [65] 王晴, 卢志威, 刘月红, 等. UPLC-Q-TOF/MS^E 结合诊断离子过滤方法快速分析大黄中酚类成分[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(10): 1922-1931.
- [66] 覃小丽, 孙慧园, 杨武, 等. UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 分析槲皮苷在大鼠肠道菌群中的代谢[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(2): 357-362.
- [67] 张婷, 刘秀秀, 晁若冰. 超高效液相质谱联用法测定中乌宁碱与大鼠血浆蛋白的结合率[J]. 中国药学杂志, 2018, 53(5): 388-392.
- [68] 许文, 傅志勤, 林婧, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定三叶青中 10 种黄酮类成分[J]. 药学报, 2014, 49(12): 1711-1717.
- [69] 徐倩, 胡云飞, 汪电雷, 等. 前胡香豆素类提取物的 UPLC/Q-TOF-MS 分析及其初步药效学研究[J]. 中草药, 2015, 46(24): 3637-3642.
- [70] 魏文峰, 刘焯, 霍金海, 等. 基于代谢组学的芩百清肺浓缩丸治疗支原体肺炎小鼠的作用机制研究[J]. 中草药, 2017, 48(24): 5211-5216.

- [71] 王万,廖立东,干玉娟,等. UPLC-MS/MS 法同时检测大鼠体内 7-乙基-14-氨基喜树碱及其代谢产物[J]. 工程科学与技术,2018,50(2):226-230.
- [72] LIU M, LIU X, WANG H, et al. Metabolomics study on the effects of Buchang Naoxintong capsules for treating cerebral ischemia in rats u-sing UPLC/Q-TOF-MS[J]. J Ethnopharmacol, 2016, 180: 1-11.
- [73] 施怀生,毕小凤,史宪海. UPLC-Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱联用分析黄芪根及其茎叶中黄酮和皂苷类成分[J]. 世界中西医结合杂志,2018,13(3):357-361,365.
- [74] 周焱焱,焦燕婷,王彦帅,等. 注射用益气复脉(冻干)化学成分的 UPLC-Q-TOF/MS 分析[J]. 药物评价研究,2018,41(3):446-450.
- [75] LIU F, BAI X, DING R B, et al. UPLC/Q-TOFMS-based metabolomics studies on the protective effect of *Panax notoginseng* saponins on alcoholic liver injury[J]. Am J Chin Med, 2015, 43(4): 695-714.
- [76] 陈新则,马浩玲,丁丽琴,等. UPLC-MS/MS 法同时测定大鼠血浆中赤芍提取物三种单萜类成分及其药代动力学研究[J]. 辽宁中医杂志,2018,45(3):590-595.
- [77] 郑华珠,王利胜,吴银爱,等. UPLC-MS/MS 联合细胞膜固相色谱法分析补阳还五汤作用于神经元样 PC12 细胞的效应成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(4):14-20.
- [78] 黄越燕,屠婕红,徐宏祥,等. UPLC-MS/MS 法快速测定中药及保健食品中非法添加 17 种抗炎镇痛类化学药的研究[J]. 中草药,2016,47(2):246-254.
- [79] 陈晓虎,秦剑,苏晶,等. UPLC-Q-TOF 检测止咳平喘类中成药中非法添加的 8 种化学药品[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(4):64-67.
- [80] 李锐,陈国彪. UPLC-Q-TOF-MS 法快速检测补肾壮阳类中成药中 11 个 PDE5 型抑制剂类药物[J]. 药物分析杂志,2014,34(5):879-884.

[责任编辑 刘德文]