·综　述·

儿茶酚胺检测技术的研究进展

叶珂君，周小琳，欧贤红*(医学电生理学教育部重点实验室，医学电生理四川省重点实验室，四川省心血管疾病防治协同创新中心，西南医科大学心血管医学研究所，四川 泸州 646000)

摘要：儿茶酚胺(catecholamines，CAs)是一类生物源性化合物，它们作为神经递质和激素在人和动物体内发挥着重要的生理作用。它们是诊断疾病和功能障碍的重要标志物，也是拟交感神经药物制剂的成分。因此生物样品、活细胞中 CAs 的测定方法，以及它们的精确度、灵敏度、选择性及实时性，对疾病的诊断及病理生理机制的研究具有重要意义。本文从临床生物样品、活体细胞、活体等不同层次综述近 5 年来 CAs 的检测方法，描述包括荧光成像法、电化学法、质谱法、光度分析法、非损伤成像技术等检测方法的性能特征及应用。

关键词：儿茶酚胺；荧光成像法；质谱法；电化学法；非损伤成像技术
中图分类号：{R914.1}　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1007-7693(2022)02-0253-08
DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.02.020
引用本文：叶珂君，周小琳，欧贤红. 儿茶酚胺检测技术的研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(2): 253-260.

Research Progress on Detection Technology of Catecholamines

YE Kejun, ZHOU Xiaolin, OU Xianhong*(*Key Laboratory of Medical Electrophysiology of Ministry of Education, Medical Electrophysiological Key Laboratory of Sichuan Province, Collaborative Innovation Center for Prevention and Treatment of Cardiovascular Disease, Institute of Cardiovascular Research, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China*)

ABSTRACT: Catecholamines(CAs) are a class of biologically derived compounds that, as neurotransmitters and hormones, play important physiological roles in humans and animals. They are important markers for the diagnosis of disease and dysfunction and are also components of sympathomimetic drugs. Therefore, a sensitive, accurate, highly selective, and real-time catecholamine assay is of great significance for the diagnosis of disease and the study of its pathophysiological mechanism. In this paper, the detection methods of CAs in the past five years are reviewed from clinical biological samples, living cells and living bodies. The performance characteristics and applications of detection methods including fluorescence imaging, electrochemical method, mass spectrometry, photometric analysis and non-invasive imaging technology are described.
KEYWORDS: catecholamines; fluorescence probe method; mass spectrometry; electrochemical method; non-invasive imaging technology

儿茶酚胺(catecholamines，CAs)是一类结构上带有儿茶酚和胺基的神经类物质，在人体内具有生物活性的 CAs 包括多巴胺、去甲肾上腺素和肾上腺素。甲基多巴是多巴胺的前体，由酪氨酸在酪氨酸羟化酶的作用下转化而来，随后多巴胺在多巴胺 β-羟化酶的作用下生成去甲肾上腺素，并在苯乙醇胺 *N*-甲基转移酶的作用下生成肾上腺素，其结构和生物合成途径见图 1。CAs 可作为神经递质参与中枢和外周神经系统的信号传递，且可作为激素参与免疫系统，调节机体重要的生理和病理过程，参与内分泌与心血管的调节。CAs 主要由交感神经元和外周嗜铬细胞分泌，当有信号刺激嗜铬性粒细胞时，细胞以胞吐的方式向外分泌大量的多巴胺、去甲肾上腺素、肾上腺素等，引起相应的生理效应[1]。生物样品、活细胞中 CAs 的测定方法，以及这些方法的精确度、灵敏度、选择性及实时性，对疾病的诊断以及研究病理生理过程的发生机制具有重要意义。

1　生物样品中的 CAs 检测技术

1.1　荧光成像法

荧光探针技术通过对探针的位点进行修饰或引入其他官能团或结构，实现 CAs 的选择性识别，

基金项目：国家自然科学基金项目(81700308，31871181)；四川省心血管疾病防治协同创新中心专项资金项目(xtcx2016-19)
作者简介：叶珂君，女，硕士生　E-mail: 460515192@qq.com　*通信作者：欧贤红，女，副教授，硕导　E-mail: oxh8081@swmu.edu.cn

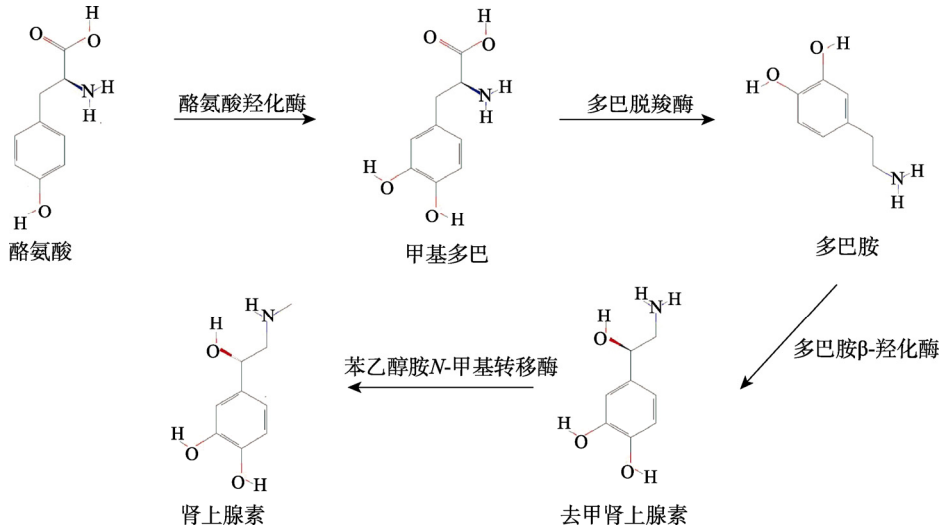

图 1 儿茶酚胺的合成及代谢

Fig. 1 Synthesis and metabolism of catecholamines

具备高灵敏度、操作简便、检出限低、高空间分辨率及高选择性的特点，广泛应用于生物分子的检测和识别中[2]。

由于其他物质如蛋白质和吲哚胺也具有强烈的天然荧光，因此很难将 CAs 与其他共现干扰物种区分开来。毛细管电泳-激光诱导荧光检测法可实现 CAs 与其他成分的良好分离。以荧光探针 1,3,5,7-四甲基-8-*N*-羟基琥珀酰亚胺丙酸酯-二氟化硼-二吡咯甲烷为柱前衍生试剂，30 mmol·L^{-1} 的柠檬酸钠溶液为背景缓冲溶液，分离电压为 10.0 kV，在 λ_{ex}=473 nm 的波长下，毛细管电泳-激光诱导荧光检测法可分离检测去甲肾上腺素、肾上腺素、左旋多巴和多巴胺，检测限分别为 1.0，2.0，5.0，0.5 nmol·L^{-1}，该方法可成功应用于人血清和尿液样品中生物胺的测定[3]。稀土发光离子(Tb^{3+}、Eu^{3+}等)具有优良的荧光特性，如斯托克斯位移大、荧光寿命长、发光强度大、选择性好、荧光稳定及干扰小等优点，使一些本来不发荧光或者量子产率低的荧光测试成为可能，所以稀土离子荧光探针法被广泛用于检测各种目标分析物，也是 CAs 的重要分析手段。

采用 Fe_3O_4NPs-H_2O_2-AUR 探针同样可以高选择性地检测尿液中的 CAs 物质[4]。该方法的原理是在 Amplex UltraRed(AUR)和 H_2O_2 的存在下，CAs 与 Fe_3O_4 结合形成络合物，从而诱导 Fe_3O_4 纳米粒子的活性降低。与 AUR 相比，产生的产物荧光>568/587 nm。以有机染料中性红、尿素和柠檬酸三钠为原料，所制备的聚合物点(Pdots)探针，在 435 nm 处表现出较强的荧光强度，多巴胺可通过内过滤效应和静态猝灭效应引发 Pdots 的荧光猝灭[5]。此方法具有较高的量子产率(量子产率为 30.2%)，对生物样品中多巴胺的检测具有超高的灵敏度和实用性。另外，将 4-(4-二烷基氨基苯乙烯)吡啶衍生的荧光团与柠檬酸盐的金纳米颗粒(AuNPs)连接得到的纳米探针，建立了尿样中多巴胺的定量测定方法[6]。该方法将荧光团连接到 AuNPs 上，在多巴胺的存在下，多巴胺的邻苯二酚基团吸附在 AuNPs 表面诱导其聚集，引起颜色变化。这种比色/荧光双信号分析方法的检测极限分别为 1.85 μmol·L^{-1} 和 0.29 μmol·L^{-1}。

1.2 电化学法

电化学法在测定 CAs 神经递质的释放中运用广泛。电化学检测器(electrochemical detector，ECD)通常用于难氧化化合物如 CAs 的氧化，并且具有良好的选择性，因此成为分析 CAs 最常用的检测器。周嘉婉[7]利用亚甲基蓝作为嵌入探针，开发了一种简单免标记的电化学生物传感器，可以灵敏、高效、选择性地检测人血清中的多巴胺浓度。Fatma 等[8]制备了一种新型的双印迹单体氧化石墨烯/炭黑复合聚合物，用于多巴胺和肾上腺素的电化学传感，没有任何交叉反应、干扰和假阳性。

复合纳米材料常用于 ECD 的制备，并且为电化学传感的应用提供了许多帮助。祝浪浪等[9]制备了基于中空多孔纳米硫化镍立方体修饰电极，用此电化学传感器建立了多巴胺定量检测方法，可用于人体尿液、血清等样品中多巴胺的检测。丁

帆[10]构建了纳米金管和纳米碳管功能化的电化学微针生物传感器，实现大鼠脑蓝斑核区的去甲肾上腺素的检测，灵敏度高，具良好的选择性和稳定性。将 PtNi 双金属纳米颗粒负载 MoS 纳米片(PtNi@MoS)的杂化材料浇筑在玻碳电极(GCE)上，制备的电化学传感器 PtNi@MoS/GCE 可同时检测多巴胺和尿酸，且具有良好的选择性和较宽的线性范围，检出限均降至 0.1 μmol·L^{-1} (S/N=3)[11]。甲酸根($HCOO^-$)桥联三价铽离子(Tb^{3+})配合物和银纳米粒子(AgNPs)增强的荧光纳米传感器可高选择性测定多巴胺。$HCOO^-$作为 Tb^{3+}的配位体和 Tb^{3+}与 AgNPs 间的连接物，与多巴胺的伯胺结合比肾上腺素更容易。甲酸桥联作用增强了 AgNPs-Tb^{3+}多巴胺配合物的荧光，提高了对多巴胺的选择性。在中性缓冲条件下，多巴胺的检测限为 0.15 nmol·L^{-1}(S/N=3)，线性范围为 0.5~100 nm(R^2=0.997 8)。此外，该纳米传感器还可以成功地区分多巴胺和肾上腺素[12]。有学者根据 CAs 的氧化产物在碱性条件下的光学性质，开发了一种纳米级荧光传感器阵列，即碲化镉传感器。该传感器在 0.25~30 μmol·L^{-1}的浓度内能有效地分辨单个多巴胺、去甲肾上腺素及其混合物，可用于临床尿液中各种 CAs 的识别[13]。此外分子印迹聚合物同样广泛应用于各种生物传感器。Kang 等[14]通过在石墨烯量子点/TiO 纳米管表面电化学聚合聚吡咯膜，制备了分子印迹聚合物和非印迹聚合物膜，大大提高了对多巴胺测定的抗干扰能力。

高效液相色谱-电化学检测器法(HPLC-ECD)是最常见的 CAs 分离检测方法。HPLC-ECD 已被用于不同生物样品，如尿样[15]、脑脊液[16]、血浆[17]、血清[18]等的分析。应用该法可快速检测尿液中的 CAs 含量，提高对嗜铬细胞瘤的诊断水平，特异性、灵敏度较高[15]。HPLC-ECD 还可以定量分析脑微透析的多巴胺，方法稳定、灵敏，结果准确[16]。在检测血浆中 CAs 浓度时，首先采用离子对萃取、活性溶剂萃取或者弱阳离子固相萃取小柱提取血浆中的 CAs，然后进行 HPLC-ECD 检测[17]。毛细管电泳-电化学检测也用于 CAs 的分离检测。该方法可以对 CA 类神经递质实现高效的富集分离，且样品及试剂的使用量较小[19]。

1.3 质谱法

质谱法用于样本量较少或不足时，能准确地检测出 CAs，并且耗时较短。质谱与气相色谱、液相色谱、毛细管电泳等分离技术联用可大大提高检测的灵敏性和特异性，并且能双重分离 CA 类物质，消除其他物质的干扰，在临床中的应用范围广，可应用于疾病的诊断及发病机制的研究。液相串联质谱(LC-MS/MS)分析 CAs 的选择性高，检测限一般为纳克每毫升水平，质谱条件一般为电喷雾离子源(electron spray ionization，ESI)及正离子检测，色谱条件的流动相略有不同。由于 CA 类物质在尿液、血浆中微量存在，因此具有专属性强、分析所需时间较短、较高的精确度及灵敏度优点的高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)定量检测方法适用于临床尿样、血样中的 CAs 检测。以肾上腺素-d3 氘代、去甲肾上腺素-d6 和多巴胺-d4 盐酸盐为内标，采用 WATERS ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱进行分离，建立尿液中 CAs 的 LC-MS/MS 检测方法，可为临床上嗜铬细胞瘤的诊断提供可靠信息[20]。由于尿液中存在着多种潜在干扰物，因此将氨基功能化的多面体低聚倍半硅氧烷共价键合在聚多巴胺包覆的氧化石墨烯表面，然后与 4-甲酰基苯基硼酸反应从而制备了立方硼酸键合的氧化石墨烯磁性吸附剂，最后通过高效液相色谱-荧光检测法对分析物进行定量。与小硼配体直接键合在材料表面的吸附剂相比，新型吸附剂对邻苯酚具有更好的选择性和更高的吸附容量[21]。

检测血浆样品中的 CAs 时，HPLC-MS/MS 可快速灵敏并且准确分离样品中 CAs，适用于血清、血浆中神经递质的批量分析。李泰锋等[22]采用正离子方式检测，多反应监测扫描，对血浆中 CAs 进行 LC-MS/MS 分析，测得 CA 类物质的浓度范围内线性关系良好，批内、批间准确度、精密度、精密度 RSD 均<15%。王泽民等[23]以乙腈-水-甲酸为流动相，尼莫地平为内标，通过 ZORBAX Extend C_{18} 色谱柱进行分离，采用 HPLC-MS/MS 选择离子监测(SIM)方式同时检测人血清样品中的去甲肾上腺素、多巴胺和 5-HT，最低检测限分别达到 0.5，1，1 ng·mL^{-1}。溶血是临床血液样品常见的问题，溶血可干扰 LC-MS/MS 检测 CAs 及其代谢产物的信号，主要是因为血红蛋白可吸附待测样品。因为中、重度溶血的样品血红蛋白水平过高，即使进行样品预处理，但可能已超过固相萃取板的能力，明显影响 CAs 及其代谢产物的信号[24]。因此采用 LC-MS/MS 检测血液样品中的 CAs 时，需注意样

品以下几点：①样品采集过程中避免溶血；②对样品进行预处理，去除溶血产生的杂质；③优化色谱条件。

此外，采用超高效液相色谱-串联质谱(UHPLC-MS/MS)可快速测定脑组织微透液中多巴胺、去甲肾上腺素、肾上腺素以及 5-羟色胺的浓度。实验前先对透析液样品采用同位素编码衍生化试剂或苯甲酰氯衍生化法进行预处理，使各组分很好地分离，再对样品采取 UHPLC-MS/MS 检测，从而高效地检测大鼠脑透析液中的 CA 类物质，并且可以应用于神经递质的基础水平微透析研究[25]。气相氢/氘交换(HDX)与离子迁移率谱(IMS)-MS/MS 技术相结合为化合物鉴定提供了有利条件。IMS 已被证明是分离同分异构体和同量异构体离子的有效手段，将 HDX 与 IMS-MS/MS 技术相结合可以克服 LC-MS/MS 的异构体和异压离子分离困难、分析时间长等缺点，具有很高的重复性，并且识别能力很强[26]。

化学衍生化已经成为改进质谱检测组织中许多小分子内源性化合物的一种成熟的策略。CAs 的化学衍生化是通过与合成的含吡啶阳离子的永久性硼酸分子 4-(*N*-甲基)吡啶硼酸通过硼酸酯形成反应(硼酸-二醇反应)进行的。衍生化使得它们可以通过 ToF-SIMS 和 LDI-ToF 质谱技术进行检测。4-(*N*-甲基)吡啶硼酸作为 CAs 与激光解吸/电离(LDI)的反应基质，提高了二次离子质谱(SIMS)和 LDI 的检测灵敏度，而硼原子的同位素丰度反映了衍生 CAs 在 MS 分析中独特的同位素模式[27]。

1.4 光度分析法

由于不同 CAs 神经递质的官能团不同，可根据其不同官能团的吸光度采用分光光度法进行检测。Su 等[28]使用功能化的 MoS 量子点标记多巴胺的适配子，MoS 纳米片作为能量受体，在 0.1~1 000 nm 内，荧光强度随着多巴胺浓度的增加而增加，该方法已成功应用于复杂基质中多巴胺的测定。表面增强拉曼散射信号主要由拉曼热点和分析物分子与金属纳米结构之间的距离决定。Jiang 等[29]通过在 MIL-101(Fe)这种典型的金属-有机骨架表面原位合成 AgNPs，制备了一种高效的表面增强拉曼散射衬底。该杂化材料基于 MIL-101(Fe)的类过氧化物酶活性，对多巴胺进行了超灵敏的表面增强拉曼光谱检测，为化学和生物检测应用开辟了新的机会。Zhang 等[30]基于硼酸盐对二元醇和 *N*-羟基琥珀酰亚胺酯对胺基团的特异性识别，提出了一种利用表面增强拉曼散射光谱作为信号读出检测多巴胺的简单、高灵敏度的方法。通过将 3,3’-二硫代二丙酸二(*N*-羟基琥珀酰亚胺酯)固定在金薄膜表面来捕获多巴胺，然后引入 3-巯基苯基硼酸功能化的银纳米粒子来产生大量具有纳米粒子-镜面几何形状的等离子体。这种双重识别机制不仅避免了复杂的基于生物元素的操作，而且有效地降低了背景信号。并成功地应用于患者脑脊液样本中多巴胺的检测。

比色法同样根据 CAs 的官能团性质不同进行检测。Mohseni 等[31]根据多巴胺和其他 3 种结构相似的 CAs 的尺寸依赖性聚集行为，利用未修饰的金纳米粒子，开发了一种快速、灵敏、选择性的多巴胺比色检测方法。多巴胺通过氢键相互作用诱导纳米粒子的聚集，导致颜色从粉红色变为蓝色，这可以通过分光光度法甚至肉眼来监测。Liu 等[32]建立了用氧化还原法在微流控纸基分析装置上比色检测多巴胺的方法。多巴胺与三氯化铁反应生成还原的铁，然后与邻菲咯啉反应形成红色的三(1,10-邻菲咯啉)铁(II)络合物。该方法作为一种低成本、快速的比色技术可在实际样品中检测多巴胺。Liu 等[33]用共沉淀法将铂纳米颗粒负载到 $CoSn(OH)_6$ 纳米立方体上，该材料是一种活性的过氧化物酶模拟物，催化过氧化氢(HO)氧化 3,3’,5,5’-四甲基联苯胺(3,3’,5,5’-tetramethylbenzidine，TMB)生成氧化型 TMB，在 652 nm 处有吸收。在不到 30 s 的时间内就能观察到蓝色的形成，从而建立了 HO 的目视比色分析方法。

2 单细胞中的 CAs 检测技术

单细胞神经递质释放是生物医学领域研究的前沿课题。荧光技术可通过荧光底物监测单胺类转运体的功能，实现转运蛋白功能的实时分析。碳基纳米材料由于其物理化学特性(即光学特性、导电性、机械强度、热特性)已被广泛研究作为传感器。单壁碳纳米管(SWCNT)具有独特的光物理特性，通过采用生物聚合物包裹 SWCNT 可以高灵敏度和选择性检测多巴胺等小分子[34]。Tb(III)复合传感器采用醋酸作为表面增强荧光的间距调节基团和多巴胺的识别组分，通过银纳米管和醋酸酯的协同作用，使荧光信号增强，用于多巴胺的高选择性和高灵敏度的检测[35]。而 CA 类荧光传感器 NS510 是基于一种喹诺酮类荧光团，其中

含有硼酸识别元素，使其对 CAs 具有高度亲和力。该传感器在共聚焦显微镜下观察到富含去肾上腺素的嗜铬细胞点状染色，表明它在分泌囊泡中染色。安培法结合全内反射荧光显微镜显示，该传感器可用于观察单个嗜铬颗粒在胞吐时的变化[36]。NS510 是目前可用的亲和力最高的荧光去甲肾上腺素传感器，可用于活细胞分析中 CAs 的测定。Apostolou 等[37]同样采用生物传感器，通过生物电方法观察到细胞膜电位与多巴胺浓度间的密切关系。然而，现在仍缺乏合适的传感器来跟踪具有高空间和时间分辨率的 CA 类神经递质。

Zeng 等[38]采用了一种自组装 DNA 纳米棱镜荧光探针，它能够在细胞表面对神经递质释放进行超灵敏成像，在单个活细胞水平上以高选择性、响应性和高时空精度直接可视化细胞表面的瞬态多巴胺释放，并进一步探索多巴胺释放与高 K^+触发的钙内流之间的动态相关性，为神经调节的细胞表面靶向成像提供了一种强大而灵敏的工具。李毓龙等[39]根据 G 蛋白偶联受体激活原理构建了示踪多巴胺和去甲肾上腺素的新型基因编码荧光探针，此方法的优势在于它具有较高的特异性、灵敏度和时空分辨率，并且分子的特异性也较高，具有普适性，为研究生理和病理情况下神经递质的释放与调控机制奠定了基础。

近年来，荧光假神经递质的合成在研究 CA 类神经递质在活细胞中的摄取、释放和储存等方面取得了突破。Dahl 等[40]设计的荧光探针模拟了 CA 的结构，通过去甲肾上腺素、多巴胺、5-HT 等转运体转运到细胞中，并在细胞受到刺激时通过胞吐作用释放。Dunn 等[41]以去甲肾上腺素和囊泡单胺转运蛋白为荧光底物，设计了荧光假神经递质 FFN270，它能标记去甲肾上腺素能神经元及其突触囊泡，并能够对活啮齿动物特定轴突位点释放的突触囊泡内容物进行成像。但是这种分子探针只是一种间接方法，它们模拟神经递质，而不是直接检测内源性的 CA 类神经递质。

3 在体非损伤成像技术

在体检测单胺类神经递质分泌的最广泛的分析方法是微透析，它是将一种大约 0.15~0.3 mm 的采样探针通过手术植入研究部位(例如麻醉啮齿动物的纹状体)，通过探针尖端的半透膜以恒定流速(通常为 0.5~5 $\mu L \cdot min^{-1}$)扩散，对细胞外液进行采样[42]。但侵入式探头只能检测直径几百微米区域范围内的氧气读数，并且会引起炎症反应。为了避免组织损伤和绘制更大区域的氧梯度图，非损伤成像方法是近年来发展的重点。大多数非损伤成像都是通过将结果与研究的“金标准”相比较而发展起来的。

磁共振波谱成像凭借自身特定的共振频率(化学位移)，可以非侵入性地定量检测活组织中的分子、神经代谢物、神经递质等，并对它们进行成像，在临床上常用于帕金森病的诊断[43]。传统的 MRI 检测由于其分辨率和灵敏度的局限性，以及样本量少和受试对象的异质性，导致检测结果相当不均匀。目前开发的新型磁共振波谱成像技术，如：固体谱编辑技术、磁共振指纹成像、磁敏感加权成像、定量磁化率图等，能快速检测到神经递质的改变，并且与传统的 MRI 相比能提供更加丰富详细的信息。体内光谱编辑 ^{1}H-MRS 可测量低浓度代谢物信号，利用代谢物内已知的 J 耦合关系来区分它们的共振与叠加信号[44]。

正电子发射断层成像技术(positron emission tomography，PET)是在体研究神经系统化学变化的首选方法，它根据多巴胺受体的密度和多巴胺的浓度绘制活体大脑中多巴胺的释放图谱，独特地适用于检测人脑中的神经递质信号[45]。它和单光子发射计算机断层扫描(SPECT)的放射性示踪剂联合运用于 CA 类神经递质的成像，在 PET 和 SPECT 的情况下，注入放射性示踪剂，并通过 2D 横截面扫描检测伽马射线[46]。该技术的优势在于灵敏度高，特异性强，能动态检测体内多巴胺的变化，并进行定量分析，临床上常用于帕金森病的检查。例如通过 ^{18}F-DOPA-PET 显像可以检测多巴胺的耗竭，评估帕金森病的多巴胺神经元功能，反应突触前神经元的多巴胺合成能力[47]；通过多巴胺转运体靶向示踪剂 ^{18}F-FP-CIT、^{11}C-CFT 进行 PET 显像可以测量多巴胺的终末释放量[48]。

此外，人们还在不断开发新技术，包括靶向和非靶向代谢组学应用，使用量子点[49]和基于铜(II)的金属-有机干凝胶[50]测定人体样品的多巴胺或采用荧光传感器阵列定量分析不同的神经递质[13]。这些新方法的实用性还有待确定，但它们的分析更快，结果更精确。Rahmani 等[51]建立了一种光蛋白抑制分析方法，利用水通道蛋白直接检测多巴胺，该方法不经前处理即可直接测定血清和尿液中的多巴胺。Wang 等[52]基于双发射荧光

分子印迹聚合物纳米颗粒(DE-MIP)，开发了一种简便的检测神经递质多巴胺的试纸。DE-MIP 具有特殊的多巴胺亲和力和良好的抗干扰性，由于多巴胺结合和猝灭引起的双发射荧光比率不同，因此呈现多巴胺浓度依赖的荧光颜色。将 DE-MIP 轻松涂覆在滤纸上，得到多巴胺试纸。这种试纸就像 pH 试纸一样简单，只需在试纸上滴少量的生物流体样本，就可以直接目测多巴胺水平，为临床上快速、直观检测生物样品提供了一种简便而有效的策略。

4 总结

CAs 在生物体内参与神经系统、外周神经系统及免疫系统等的调节，在信号传导的过程中起重要作用，并且参与多种生理及病理进程。因此选择高专属性、高灵敏度、高准确性的分离分析方法不仅具有生理学意义，更具有临床意义。检测 CAs 的方法有很多，光度分析法作为一种相对传统的分析方法，其原理简单，操作简便、高效，结果清晰。而目前常采用多种检测方法联用技术，最广泛应用的是 HPLC-ECD、LC-MS/MS 及 CE-ESI-MS/MS。质谱法在其中起重要作用的原因在于，它的专属性、特异性及准确度均较高，当样本含量较少或不足的情况下，质谱法能准确地检测出 CAs，并且检测所耗时间较短。当采用质谱与其他检测分离方法联用技术时，可大大提高检测的灵敏性和特异性，并且能双重分离 CA 类物质，消除其他物质的干扰，在临床中的应用范围广，可应用于疾病的诊断及发病机制的研究。荧光探针使实时并精确监测单细胞分泌 CAs 及其转运成为可能，对更好地理解神经系统的功能和脑中枢-外周组织间的对话机制以及研究神经系统疾病的发病机制等均具有重要意义。而 PET-CT 和 MRI 作为非损伤成像技术中的尖端前沿技术，越来越多地运用于活体检测多巴胺和帕金森病、癌症等疾病的临床诊断中。

REFERENCES

[1] JUNG-KLAWITTER S, KUSEYRI HÜBSCHMANN O. Analysis of catecholamines and pterins in inborn errors of monoamine neurotransmitter metabolism-from past to future [J]. Cells, 2019, 8(8): E867.

[2] WANG K. Synthesis and preliminary activity studies of boronic acid fluorescent sensors for selective recognition of catecholamines[D]. Jinan: University of Jinan, 2017.

[3] 魏甜. 基于荧光探针的神经递质类生物胺的色谱分析研究[D]. 广州: 暨南大学, 2018.

[4] LIU C H, YU C J, TSENG W L. Fluorescence assay of catecholamines based on the inhibition of peroxidase-like activity of magnetite nanoparticles[J]. Anal Chim Acta, 2012(745): 143-148.

[5] ALIZADEH N, SALIMI A. Polymer dots as a novel probe for fluorescence sensing of dopamine and imaging in single living cell using droplet microfluidic platform[J]. Anal Chim Acta, 2019(1091): 40-49.

[6] PENG J J, ZHOU N, ZHONG Y, et al. Gold nanoparticle-based detection of dopamine based on fluorescence resonance energy transfer between a 4-(4-dialkylaminostyryl)pyridinium derived fluorophore and citrate-capped gold nanoparticles[J]. Mikrochim Acta, 2019, 186(9): 618.

[7] 周嘉婉. DNA 甲基化转移酶及多巴胺的新型电化学传感器研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2018.

[8] FATMA S, PRASAD B B, JAISWAL S, et al. Electrochemical simultaneous analysis of dopamine and epinephrine using double imprinted One MoNomer acryloylated graphene oxide-carbon black composite polymer[J]. Biosens Bioelectron, 2019(135): 36-44.

[9] ZHU L L, HUANG Z H, MA H, et al. Determination of dopamine via electrochemical sensor modified with hollow porous nickel sulfide nanocubes[J]. Chin J Anal Lab(分析试验室), 2019, 38(1): 60-64.

[10] 丁帆. 微针传感器的构建及其用于大鼠脑内信号分子的检测[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2019.

[11] MA L, ZHANG Q R, WU C, et al. PtNi bimetallic nanoparticles loaded MoS_2 nanosheets: Preparation and electrochemical sensing application for the detection of dopamine and uric acid[J]. Anal Chim Acta, 2019(1055): 17-25.

[12] LI H, SHEN J, CUI R, et al. A highly selective and sensitive fluorescent nanosensor for dopamine based on formate bridged Tb(III) complex and silver nanoparticles[J]. Analyst, 2017, 142(22): 4240-4246.

[13] GHASEMI F, HORMOZI-NEZHAD M R, MAHMOUDI M. Identification of catecholamine neurotransmitters using fluorescence sensor array[J]. Anal Chim Acta, 2016(917): 85-92.

[14] KANG Q, ZHANG Q, ZANG L X, et al. Enhancement anti-interference ability of photoelectrochemical sensor via differential molecularly imprinting technique demonstrated by dopamine determination[J]. Anal Chim Acta, 2020(1125): 201-209.

[15] CHEN J, QIU H Q. Concentration determination of catecholamine in human urine by HPLC-electrochemistry[J]. China Pharm(中国药房), 2016, 27(26): 3627-3629.

[16] 黄小莹, 张黎君. 高效液相色谱-电化学法测定大鼠脑脊液中多巴胺含量的研究[J]. 企业技术开发, 2016, 35(12): 68-69.

[17] WU Z Y, QIU H Q, LIU M B. Determination of catecholamine in human plasma by HPLC-ECD and cation exchanged solid phase extraction[J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2015, 35(14): 1278-1282.

[18] YU M Y, LYU Q, WANG X, et al. Determination of serum catecholamine in rats with restraint and crush injury by HPLC-ECD[J]. J Logist Univ PAP: Med Sci(武警后勤学院学报: 医学版), 2016, 25(5): 345-349.

[19] 杨洋. 基于毛细管电泳电化学在线富集检测神经传导物质[D]. 青岛: 青岛科技大学, 2016.

[20] PENG Y F, WU J, GUO W, et al. Establishment of a LC-MS/MS for the determination of urinary catecholamines[J]. Lab Med(检验医学), 2015, 30(5): 433-436.

[21] ZHANG S, TANG Y P, CHEN Y Y, et al. Boronic acid-modified polyhedral oligomeric silsesquioxanes on polydopamine-coated magnetized graphene oxide for selective and high-capacity extraction of the catecholamines epinephrine, dopamine and isoprenaline[J]. Mikrochim Acta, 2020, 187(1): 77.

[22] LI T F, LIU X M, HU L, et al. Establishment of a LC/MS/MS method to determine content of catecholamines in human plasma[J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2019, 28(17): 2120-2125.

[23] WANG Z M, WANG Y W, YI J, et al. Determination of norepinephrine, dopamine and 5-hydroxytryptamine content in human serum by HPLC-MS/MS[J]. Chin J Heal Lab Technol(中国卫生检验杂志), 2015, 25(17): 2863-2865, 2868.

[24] YUAN F X, XUE X Y, CHEN C F, et al. Influence of hemolysis on the results of plasma catecholamines and their metabolites by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Lab Med(检验医学), 2018, 33(12): 1103-1107.

[25] LIU R X, XIAN Y Y, LIU S, et al. Development, validation and comparison of surrogate matrix and surrogate analyte approaches with UHPLC-MS/MS to simultaneously quantify dopamine, serotonin and γ-aminobutyric acid in four rat brain regions[J]. Biomed Chromatogr, 2018: e4276. Doi: 10.1002/bmc.4276.

[26] MALEKI H, MAURER M M, RONAGHI N, et al. Ion mobility, hydrogen/deuterium exchange, and isotope scrambling: Tools to aid compound identification in 'omics mixtures[J]. Anal Chem, 2017, 89(12): 6399-6407.

[27] KAYA I, BRÜLLS S M, DUNEVALL J, et al. On-tissue chemical derivatization of catecholamines using 4-(N-methyl) pyridinium boronic acid for ToF-SIMS and LDI-ToF mass spectrometry imaging[J]. Anal Chem, 2018, 90(22): 13580-13590.

[28] SU S, HAO Q, YAN Z, et al. A molybdenum disulfide@Methylene Blue nanohybrid for electrochemical determination of microRNA-21, dopamine and uric acid[J]. Mikrochim Acta, 2019, 186(9): 607.

[29] JIANG Z W, GAO P F, YANG L, et al. Facile *in situ* synthesis of silver nanoparticles on the surface of metal-organic framework for ultrasensitive surface-enhanced Raman scattering detection of dopamine[J]. Anal Chem, 2015, 87(24): 12177-12182.

[30] ZHANG K, LIU Y, WANG Y N, et al. Quantitative SERS detection of dopamine in cerebrospinal fluid by dual-recognition-induced hot spot generation[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2018, 10(18): 15388-15394.

[31] MOHSENI N, BAHRAM M. Highly selective and sensitive determination of dopamine in biological samples via tuning the particle size of label-free gold nanoparticles[J]. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2018(193): 451-457.

[32] LIU C Y, GOMEZ F A, MIAO Y Q, et al. A colorimetric assay system for dopamine using microfluidic paper-based analytical devices[J]. Talanta, 2019(194): 171-176.

[33] LIU H, DING Y N, BIAN B, et al. Rapid colorimetric determination of dopamine based on the inhibition of the peroxidase mimicking activity of platinum loaded $CoSn(OH)_6$ nanocubes[J]. Mikrochim Acta, 2019, 186(12): 755.

[34] NIßLER R, MANN F A, PREIß H, et al. Chirality enriched carbon nanotubes with tunable wrapping via *Corona* phase exchange purification(CPEP)[J]. Nanoscale, 2019, 11(23): 11159-11166.

[35] SHEN J, SUN C, WU X. Silver nanoprisms-based Tb(III) fluorescence sensor for highly selective detection of dopamine [J]. Talanta, 2017(165): 369-376.

[36] ZHANG L, LIU X N, GILLIS K D, et al. A high-affinity fluorescent sensor for catecholamine: Application to monitoring norepinephrine exocytosis[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2019, 58(23): 7611-7614.

[37] APOSTOLOU T, MOSCHOPOULOU G, KOLOTOUROU E, et al. Assessment of *in vitro* dopamine-neuroblastoma cell interactions with a bioelectric biosensor: Perspective for a novel *in vitro* functional assay for dopamine agonist/antagonist activity[J]. Talanta, 2017(170): 69-73.

[38] ZENG S, WANG S, XIE X, et al. Live-cell imaging of neurotransmitter release with a cell-surface-anchored DNA-nanoprism fluorescent sensor[J]. Anal Chem, 2020, 92(22): 15194-15201.

[39] WAN J X, LI Y L. Recent advances in detection methods for neurotransmitters[J]. Chin J Anal Chem(分析化学), 2020, 48(3): 307-315.

[40] DAHL E F, WRIGHT C D, O'CONNELL T D. Quantification of catecholamine uptake in adult cardiac myocytes[J]. Methods Mol Biol, 2015(1234): 43-52.

[41] DUNN M, HENKE A, CLARK S, et al. Designing a norepinephrine optical tracer for imaging individual noradrenergic synapses and their activity *in vivo*[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 2838.

[42] BUCHER E S, WIGHTMAN R M. Electrochemical analysis of neurotransmitters[J]. Annu Rev Anal Chem: Palo Alto Calif, 2015(8): 239-261.

[43] WATANABE T, TAN Z, WANG X, et al. Magnetic resonance imaging of noradrenergic neurons[J]. Brain Struct Funct, 2019, 224(4): 1609-1625.

[44] CHOI I Y, ANDRONESI O C, BARKER P, et al. Spectral editing in ^{1}H magnetic resonance spectroscopy: Experts' consensus recommendations[J]. NMR Biomed, 2021, 34(5): e4411.

[45] DAGHER A, PALOMERO-GALLAGHER N. Mapping dopamine with positron emission tomography: A note of caution[J]. Neuroimage, 2020(207): 116203.

[46] DINARVAND M, ELIZAROVA S, DANIEL J, et al. Imaging of monoamine neurotransmitters with fluorescent nanoscale sensors[J]. Chempluschem, 2020, 85(7): 1465-1480.

[47] KATHURIA H, MEHTA S, AHUJA C K, et al. Utility of imaging of nigrosome-1 on 3T MRI and its comparison with 18F-DOPA PET in the diagnosis of idiopathic parkinson disease and atypical Parkinsonism[J]. Mov Disord Clin Pract, 2021, 8(2): 224-230.

[48] PALERMO, CERAVOLO. Molecular imaging of the dopamine transporter[J]. Cells, 2019, 8(8): 872.

[49] LIU H, LI N, ZHANG H, et al. A simple and convenient fluorescent strategy for the highly sensitive detection of dopamine and ascorbic acid based on graphene quantum dots[J]. Talanta, 2018(189): 190-195.

[50] GUO M X, LI Y F. Cu (II)-based metal-organic xerogels as a novel nanozyme for colorimetric detection of dopamine[J]. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2019(207): 236-241.

[51] RAHMANI H, SAJEDI R H. Aequorin as a sensitive and selective reporter for detection of dopamine: A photoprotein inhibition assay approach[J]. Int J Biol Macromol, 2019(122): 677-683.

[52] WANG J X, DAI J D, XU Y Q, et al. Molecularly imprinted fluorescent test strip for direct, rapid, and visual dopamine detection in tiny amount of biofluid[J]. Small, 2019, 15(1): e1803913. Doi: 10.1002/smll.201803913.

收稿日期：2021-04-11
(本文责编：沈倩)

http://www.chinjmap.com