

毛细管电泳法在手性药物分离中的应用*

□李伟东** 蔡宝昌 (南京中医药大学 南京 210029)

摘要:毛细管电泳是一种毛细管为分离通道、以高压直流电为驱动力、依据样品各组分之间淌度和分配行为上的差异而实现分离的高效、高选择性的色谱技术,广泛应用于农业、医药、化工等领域。该技术对手性药物分离分析具有独特的优点。本文对近年来高效毛细管电泳用于手性化合物拆分的主要分离模式进行了综述。可以预见,该技术在生命科学领域将有着越来越广泛的应用,尤其是毛细管电泳单细胞分析正在成为细胞水平药理学及了解生命过程的一种活体检测手段。

关键词:毛细管电泳 手性药物 分离分析 综述

手性问题牵涉到生命的起源及各种动植物的生存和演化,有手性的分子在人类的生命活动中起着极为重要的作用。天然或半合成药物几乎都有手性,其中98%以上为光学活性物质;全合成药物中40%为手性药物;目前常用的700多种药物有一半至少含有一个手性中心,而87%以上的手性药物是以外消旋体的形式销售的。随着对手性药物药理活性研究的不断深入,人们已认识手性药物对映体生理作用和代谢过程的差别。特别是1992年美国食品与药品管理局(FDA)提出发展单一对映体生产计划和对映体药物纯度的鉴定规定后,如何能快速、准

确的分离和分析测定手性药物已成为医药界关注的重要课题。因此,手性药物的分离测定,对研究药物的药动学过程、药理和毒理机制以及手性药物的质量控制等都有重要意义。

常用的手性分离方法有结晶法、色谱法和酶法^[1]。其中色谱法包括液相色谱、气相色谱和超临界色谱。近年来,用毛细管电泳(CE)直接分离手性对映体得到很快发展^[2],尤其是对开发中的新药的对映体的分离和生物体内药物代谢过程中对映体的分离,CE更独具高效快速,样品和试剂耗用量少,可供选择的分离模式多等优点。用于手性拆分的模式有自由溶液区带电泳(CZE)、毛细管凝胶电泳(CGE)、胶束电动色谱(MEKC)、毛细管电色谱

收稿日期:2004-03-31

修回日期:2004-11-19

* 江苏省科技厅科技攻关重大项目(BK2001209):通塞脉片复方活性部位群及其药效学研究,负责人:蔡宝昌。

** 联系人:李伟东,在职博士,从事中药复方物质基础研究,Tel: 025-86798281, E-mail: liweidong323@yahoo.com.cn。

蔡宝昌,教授,博导,本刊编委,南京中医药大学副校长,Tel: 025-86798003, E-mail: becai@hotmail.com。

[World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica] 47

(CEC)以及毛细管等速电泳(CITP)等。

一、毛细管区带电泳(CZE)

CZE是CE中最基本、最普遍的一种模式,故一些位置异构体如反式丁烯二酸(富马酸)和顺式丁烯二酸(马来酸)等可用CZE直接分离^[3]。此外,其它手性对映体的拆分还是需加入各种不同手性选择剂才能达到分离目的。常用的手性选择剂有环糊精、冠醚、胆汁酸盐、手性混合胶束、手性选择性金属络合物、蛋白和糖等7种类型。其中以环糊精、冠醚较为常用。

1. 环糊精

发展最快、应用最多的手性选择剂首推环糊精(CD),环糊精是由多个吡喃葡萄糖单元以1,4-糖苷键首尾相连形成的环状低聚糖,其中六聚、七聚、八聚体分别称为 α -、 β -和 γ -环糊精,分别含有6、7和8个葡萄糖单元及30、35和40个手性中心。手性中心为受体分子提供了不可多得的包容物质基础和不对称环境。CZE中常用的有 α -、 β -和 γ -CD及CM- β -CD和TM- β -CD。牛长群等^[4]手性分离了盐酸曲马多和盐酸氯吡格雷2种药物的光学异构体,分离条件为盐酸曲马多:缓冲液为100mmol/L Tris(用磷酸调至pH2.4),内含20mmol/L甲基- β -环糊精。盐酸氯吡格雷:缓冲液为100mmol/L Tris(用磷酸调至pH4.8),内含20mmol/L甲基- β -环糊精。侯经国等^[5]采用 β -环糊精及其衍生物作为手性选择剂对毛果芸香碱对映体进行了分离,研究了环糊精类型和浓度对分离的影响,同时考察了背景电解质pH、操作电压和温度等因素对对映体分离的影响,结果采用羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)可以使毛果芸香碱对映体达到基线分离,优化条件下手性分离度可达2.79。李晓海等^[6]建立了HP- β -CD为手性选择剂,以40mmol/L Tris-H₃PO₄(pH4.0)-3.2mmol/L HP- β -CD,分离电压15 kV,柱温16℃,检测波长254 nm为色谱条件的HPCE分析方法,对d及l型一叶萩碱在大鼠体内代谢的高选择性进行了研究,测定条件下2种旋光异构体达到基线分离。也有采用新的CD衍生物——高取代磺酸基环糊精(HS-CDs),以3种新型高取代磺酸基环糊精

(HS- α -CD、HS- β -CD和HS- γ -CD)作手性选择剂对萘普生、酮洛芬、氧氟沙星和阿托品等4种药物对映体进行了分离^[7]。为了改进用环糊精分离一些阳离子的手性对映体的分离度,Quang等^[8]采用加入短链的如四丁基胺(TBA)或四甲基胺(TMA)覆盖毛细管壁表面,解决了苯吡拉明、SR和RS麻黄碱、SS和RR伪麻黄碱、SR和RS降麻黄碱、肾上腺素、去甲肾上腺素、异丙肾上腺素和普萘洛尔等对映体的分离。加入TBA或TMA后,增加了 β -CD的溶解度,可用更高浓度的 β -CD。因短链的TBA比长链的阳离子表面活性剂具较少的疏水性,因而也较少占据 β -环糊精的疏水腔,可使 β -CD有更多的手性选择腔体和对映体发生作用。二者综合显著改善了分离度,从而使一些单用 β -CD不能解决的对映体得到分离。

用环糊精作手性添加剂分离对映体,简便易行,所需控制的主要实验条件为所用环糊精的种类及浓度,缓冲液的组成及pH值及外加试剂(如甲醇或乙腈)的作用等。CD的类型和取代基对分离有很大影响,研究主要集中在探讨取代基的大小、位置和官能团和被分离物的结构间的关系。

2. 冠醚

冠醚是一类大分子的环状聚醚,含有1,4-氧乙烷基(-O-CH₂-CH₂-O-)单元,属于皇冠化合物类(coronands),其中间的空穴能与大小相当的分子形成主-客体络合物。手性识别取决于二级反应。主要用于多巴胺、肽类药物的拆分。夏小庆等^[9]采用缓冲液为20mmol/L Tris-0.1% H₃PO₄(v/v)(pH2.06)加入18-冠-6-四甲酸,使多巴胺等8种伯胺类药物得到拆分。由于冠醚毒性较大、价格高,柱效相对较低,其应用远不如环糊精广泛。

二、毛细管凝胶电泳(CGE)

CGE所用凝胶柱中有环糊精、蛋白和十二烷基硫酸钠等。环糊精凝胶电泳就是将CD加入到线性聚丙烯酰胺凝胶中,再灌入毛细管,使环糊精固定在凝胶网中提高分离选择性。或者制备凝胶时加入CD进行交联共聚。Gruzado等^[10]用ac- β -CD凝胶柱成功分离了9种丹磺酰氨基酸和一种合成散瞳药

后马托品的对映体；牛血清白蛋白制成的凝胶柱分离 D/L 色氨酸，其分离度可达 6.0，理论塔板数为 9.1 万^[11]。

三、胶束电动色谱 (MEKC)

在 MEKC 中，一些离子表面活性剂加到缓冲液中，当其中浓度超过临界浓度后，就会形成疏水性胶束，可看作为“准固定相”，溶质在水相和胶束相之间存在分配过程，藉此可将中性粒子根据本身的疏水性不同而加以分离，MEKC 同样可用于对映体。最常用的是在十二烷基硫酸钠 (SDS) 胶束中加入环糊精来分离对映体。

1. 环糊精

当环糊精加入到胶束中后，溶液中存在胶束、水和 CD 三相，待分离物质在电泳力和电渗流的驱动下，因在三相之间进行分配的迁移速度不同而得到分离。对映异构体因 CD 的分子识别能力而达到分离手性化合物的目的。沈江珊等^[12]以 β -CD 和 CM- β -CD 组成的二元体系作为选择剂，对 2 种较难手性拆分的蔡-2, 3-二甲醛氨基酸衍生物 (CBI-DL-Ser, CBI-DL-Glu) 进行对应映体分离，结果该二元环糊精体系在拆分 CBI-DL-Ser 和 CBI-DL-Glu 时具有协同效应，在选定的条件下，两者可完全手性拆分。

2. 天然手性表面活性剂

胆汁酸盐，含有多个手性中心，分子间相互作用形成不超过 10 个单体组成的螺旋型聚集胶束，因此可以取代 SDS。分离手性对映体机理是溶质可进入胆汁酸盐胶束间的夹层而引起选择性不同。常用于手性分离的胆汁酸盐有胆酸钠 (SC)、去氧胆酸钠 (SDC)、牛磺胆酸钠 (STC) 和去氧牛磺胆酸钠 (STDC)。王建等^[13]选择胆酸钠作为胶束剂，采用胶束电动毛细管电泳法成功地使盐酸表柔比星与其异构体、杂质得到了较好的分离，并测定了盐酸表柔比星的含量。

四、毛细管电色谱 (CEC)

在毛细管壁上键合、涂渍或内充固定相进行电

泳的方式称为毛细管电色谱。它是综合了 HPLC 和 CE 的优点而发展起来的一种新型分离技术。成为手性拆分强有力的工具。CEC 按其分离模式包括 3 种：填充柱 -CEC (P-CEC)；开管柱 -CEC (O-CEC)；整体柱 -CEC (monolithic-CEC)。

1. 填充柱 -CEC

在 P-CEC 中，分离是通过在柱内填充 HPLC 填料而实现的。由于 P-CEC 的柱效高，重复性好，易与质谱联用，因此，P-CEC 是目前应用范围最广的一类 CEC 分离模式。P-CEC 手性拆分主要有两种方式：手性流动相添加剂法和手性固定相法 (CSP)。

在 CEC 中，最常用做手性流动相添加剂的是环糊精 (CD) 及其衍生物。此外，蛋白质、ODS 及“印迹”高分子固定相等。Lelivere 等^[14]以 HP- β -CD 做流动相添加剂，分离了氯噻酮及苯肾上腺素对映体。

由于手性流动相添加剂法消耗大量昂贵的手性选择剂，不够经济，分离效率低，而且，手性选择剂在流动相中的溶解度有限制。因此，当前绝大多数手性拆分都是采用手性固定相法。在 CEC 中，常用以下几类 CSP：

(1) 环糊精、纤维素衍生物类。

环糊精是目前 CEC 中应用最广泛的 CSP，天然或衍生化的 CD 作为 CSP 在 P-CEC 上分离了一系列手性药物。LiSong 和 Lloyd^[15]用 50 μ m i. d. 的 β -CD 固定相填充柱，在甲醇-醋酸三乙胺和甲醇-磷酸流动相中分别分离了多种中性和离子性对映体，如二苯基乙醇酮、环磷酸胺、环己基巴比妥等；加入乙酸三乙胺时电渗流方向与加入磷酸相反，有利于离子性对映体的分离分析。

纤维素是 HPLC 上最常用的 CSP 之一。Meyring 等^[16]用纤维素-三 (3, 5-二甲基苯基氨基甲酸酯) (Chiralcel OD)、纤维素-三 (4-甲基苯甲酸酯) (Chiralcel OJ) 和直链淀粉-三 (3, 5-甲基苯基氨基甲酸酯) (Chiralpak AD) 这 3 种 CSP 对沙利度胺及其两种羟基化代谢物进行了手性拆分，都得到了基线分离。

(2) 大环抗生素。

大环抗生素替考拉宁 (teicoplanin)、万古霉素分

子中有多个手性中心和手性空腔, 有很强的手性识别能力。Annablie 等^[17]将替考拉宁用做 CSP 分离了抗抑郁剂色氨酸。Armstrong 等^[19]以万古霉素 CSP 分离了多种氮衍生氨基酸和酸性药物。

(3) 手性蛋白质。

以手性蛋白质作为固定相的 CEC 柱, 主要以填充柱为主。Liu 等^[18]利用毛细管壁表面硅羟基与碱性蛋白质的强相互作用, 采用蛋白质配体物理化学吸附的方法制备小内径的开管 CEC 柱, 成功地拆分了多种手性化合物, 由于柱内径的减小, 分离柱效最高可达 590000m^{-1} , 对于碱性很强的溶菌酶物理化学吸附固定相开管柱, 其柱寿命达到 1 个月以上。林秀丽等^[19]采用含 70mmol/L L- 白氨酸的 50mmol/L 硼砂缓冲液 ($\text{pH} = 9.0$) 为分离介质, 分离普萘洛尔等 12 种手性药物, 分离电压: 9kV , 检测波长: 214nm , 电动进样 9kV , 10s 。在以蛋白质为手性选择剂时, 加入有机添加剂可提高手性分离的选择, 改善峰形。

(4) 分子印迹聚合物 (MIPs)。

分子印迹聚合物 (MIPs) 作为新型的 CSP, 由于具有预定的选择性, 已成为当前手性拆分领域研究的热点。黄晓冬等^[20]采用原位分子印迹技术, 单步制备了一种辛可宁印迹的手性整体柱。为了提高柱效和选择性, 选择了相对低极性的甲苯/十二醇复合致孔体系。在等度及梯度洗脱条件下, 非对映异构体辛可宁与辛可尼丁被完全分离。等度洗脱中相对较宽的色谱峰可以在梯度洗脱中得到改善。同时考察了流动相中醋酸浓度、流速以及温度对分离的影响。由于柱中存在大的流通孔, 大大降低了分离过程中的柱压降, 从而使这种色谱柱能够在相对高的流速下使用。提高温度可以提高分离因子, 在 60°C 获得最大分离因子 540。Schweitz 等^[21]采用沉淀聚合方法制备了以 (S) 蔡心安为印迹的微球形聚合物, 装入毛细管柱, 进行 CEC 分离, 蔡心安的对映体在不到 75s 便得到了基线分离, 并获得较高的分离度和较好的峰型。Chirica 等^[22]采用丙烯酸酰胺凝胶作为捕获介质, 以 L- 苯丙氨酸作为模板制备成块状的 MIP, 然后经研磨、筛分成粒度 $\leq 5\mu\text{m}$ 。将制备好

的颗粒与适量的丙烯酸酰胺和双丙烯酸酰胺混合在以 Tris 为缓冲溶液的乙腈溶液中, 将混合溶液充满内径为 $75\mu\text{m}$ 的毛细管柱, 并将其在 40°C 的炉子中放置 4h , 在毛细管内形成聚丙烯酰胺凝胶, 以 Tris 作缓冲溶液的 $10 \sim 20\%$ 乙腈水溶液为洗脱液, 苯丙氨酸对映体可得到基线分离。

分子印迹法主要用于各类药物、氨基酸衍生物、糖等的手性拆分。另外, 在 CEC 手性拆分中引入非水电解质或带有恒定电压的固定相、使用由无孔硅胶颗粒或内径极小的颗粒组成的富集床等研究方向也被注意。

2. 开管柱 -CEC

O-CEC 是最早被用于手性分离的 CEC 模式。在开管柱中, 手性选择剂被涂布在毛细管内壁上作为 CSP 进行手性识别。O-CEC 具有柱子制备过程简单, 仪器平衡时间短, 易于微型化等特点。因此, O-CEC 被广泛应用于对映体的分离。

陆豪杰等^[23]建立了一种简单可行的制备衍生化聚硅氧烷开管毛细管电色谱柱的方法, 石英毛细管无需浸蚀, 直接键合上大分子的聚硅氧烷, 用异丁烯酸丁酯和乙烯基磺酸衍生化时对苯的同系物有很好的分离能力, 对甲苯柱效可达 $1.52 \times 10^5 \text{N/m}$ (N 为理论塔板数), 柱效稳定; 当用烯丙基全甲基 β - 环糊精和乙烯基磺酸衍生化时, 石英毛细管先经溶胶 - 凝胶处理后, 所制得的柱子对蔡普生对映体的分离度可达 0.81 。

3. 整体柱 -CEC

整体柱 -CEC 是通过原位聚合制得的一种整体多孔棒状固体, 以其这种整体固体做手性固定相的柱子称之为整体柱 (monolithic column)。与 P-CEC 和 O-CEC 相比, 整体柱 -CEC 的优势在于: (1) 聚合物是在柱内形成的, 整体毛细管柱很稳定, 因此避免了装柱、使用柱塞和产生气泡等问题, 并且减少了原料的浪费。(2) 在整体 -CEC 中可以使用内径很小的毛细管柱, 因而适用于进行微分离。(3) 分离效率由微孔尺寸决定, 而微孔尺寸可以通过调整致孔剂的组成来控制, 具有较高的渗透性。(4) 整体 -CEC 柱有高度交联性, 柱子的稳定性高, 平衡时间

短,寿命长。(5)制备整体柱时可以使用不同的单体从而得到有不同基质和表面化学的柱材料。当前,制备整体手性固定相主要有两种方法:① MIP 法;②将手性选择剂和几种单体混合直接进行共聚反应。

上述优点使得整体柱-CEC 成为最有发展潜力的 CEC 分离模式。Lin 等^[24]以 L-苯丙氨酸酰替苯胺作为模板分子,在 60℃下,用热引发聚合得到 MIP 整体毛细管柱,并将其用聚四氟乙烯管 (PTFE) 与充满电解质的开管毛细管柱连接。为提高检测灵敏度将检测窗口置于开管毛细管柱上,实现了 S-和 L-苯丙氨酸酰替苯胺的手性分离。

五、等速电泳 (CITP)

用 CD 及其衍生物作为等速电泳的前导电解质加入物,CD 和被分析物 (客体) 形成主-客体包络络合物,已成功地分离了手性对映体和许多光学、位置异构体。用 CITP 和 CD 分离了青霉素类药物^[25]及 7 种儿茶酚胺类化合物 (如多巴胺、肾上腺素、去甲肾上腺素、间甲肾上腺素及异丙肾上腺素等)^[26]。CITP 一般用 0.5 mm 内径的毛细管,需优化的参数为 CD 的种类、浓度和前导电解质的 pH 值等。

六、展 望

由于医药工业及药物管理部门 (如 FDA 等) 对手性对映体的分离提出更高的要求,手性 CE 正得到迅猛发展。如今,该技术已应用于细胞样品分析,尤其是单细胞分析正在成为细胞水平药理学及了解生命过程的一种活体检测手段^[27]。CE 作为微分离技术应用于细胞内的氨基酸、维生素、肽类等内源性物质的检测,如采用 β -环糊精手性选择剂分离单神经细胞中的天冬氨酸对映体^[28]等。与传统的细胞分析相比,CE 定量更为准确快速,可以分析细胞的化学组成及细胞内手性物质的分离。

与手性 HPLC 相比,手性 CE 可采用不同的操作模式,方式简便,优点突出。特别是 CEC 模式,将手性 HPLC 中繁多的固定相移植到 CE 中,得到了快速的发展。除了受制备限制,手性 CE 是近年来在手性

分析中发展最快的技术,相信随着高灵敏检测方法的不断出现以及克服其目前存在的重现性和稳定性差的缺点,CE 在手性药物分析中应用将日益广泛。

参考文献

- 1 周锡瑞. 光学异构体拆分方法的进展 [J]. 化学通报, 1979, (1): 24.
- 2 付若农. 环糊精及其衍生物在毛细管电泳中的应用 [J]. 色谱, 1993, 11(5): 271.
- 3 Chadwick RR, Hsieh JC. Separation of cis and trans double-bond isomers using capillary zone electrophoresis [J]. Anal Chem, 1991, 63: 377.
- 4 牛长群, 祝仕清, 张兰桐. 高效毛细管电泳手性分离 2 种手性药物 [J]. 中国新药杂志, 2000, 9(9): 613.
- 5 侯经国, 王柱命, 何天稀, 等. 毛果芸香碱对映体的毛细管电泳手性分离 [J]. 分析测试学报, 2004, 23(1): 64.
- 6 李晓海, 张金兰, 周同惠. 一叶萩碱的高效毛细管电泳手性分离及其大鼠体内立体选择性代谢研究 [J]. 药学报, 2002, 37(1): 50.
- 7 张智超, 张锴, 高如瑜. 以高取代磺酸基环糊精为手性选择剂毛细管电泳法拆分 4 种药物对映体 [J]. 药物分析杂志, 2000, 20(6): 363.
- 8 Quang C, Khaledi MG. Improved chiral separations of basic compounds in capillary electrophoresis using β -cyclodextrin and tetraalkylammonium reagents [J]. Anal Chem, 1993, 65: 3354.
- 9 夏小庆, 方骏, 金雅婷. 使用手性冠醚的高效毛细管电泳法研究伯胺类药物的手性分离 [J]. 皖南医学院学报, 2002, 21(4): 255.
- 10 Cruzado ID, Vigh G. Chiral separations by capillary electrophoresis using cyclodextrin-containing gels [J]. J Chromatogr A, 1992, 608: 421.
- 11 Birnbaum S, Nilsson S. Protein-based capillary affinity gel electrophoresis for the separation of optical isomers [J]. Anal Chem, 1992, 64: 2872.
- 12 沈江珊, 赵书林, 李舒婷, 等. 毛细管电泳中使用二元环糊精体系拆分 CBI-氨基酸对映体 [J]. 广西师范大学学报 (自然科学版), 2003, 21(4): 69.
- 13 王建, 黄宗玉. 高效毛细管电泳法测定盐酸表柔比星的含量 [J]. 药物分析杂志, 2000, 20(6): 383.
- 14 Lelievre F, Yan C, Zare RN. Capillary electrochromatography: operating characteristics and enantiomer separations [J]. J Chromatogr A, 1996, 723(1/2): 145.
- 15 Li S, Lloyd DK. Packed-capillary electrochromatographic separation of the enantiomers of neutral and anionic compounds using β -cyclodextrin as a chiral selector [J]. J Chromatogr, 1994, 666: 321.

(下转第 55 页)

三、讨 论

从试验结果看,采用超滤法纯化清热解毒口服液,膜截留分子量2万与7万膜比较,黄芩苷的保留率分别为90.8%与93.3%,无明显差异,均高于乙醇沉淀法的保留率78.8%(表1)。去除多糖以2万膜最好,其次为7万膜,再为醇沉;去除鞣质以7万膜最好,其次为醇沉,再为2万膜;综合考虑去除杂质以7万膜为好。2万膜通量衰减程度高于7万膜,且由于7万膜孔径大,超滤等量药液所需时间为6h,而2万膜需要19h。

本试验结果表明,超滤法较醇沉法能更有效地保留有效成分,去除杂质。并且通过选择适宜的超滤膜,截留分子量7万膜可以实现比醇沉法更好的纯化效果。以往的研究也表明超滤法较醇沉法更能有效地保留有效成分^[4-5],并能提高口服液的稳定性和澄明度^[6-7]。

参考文献

- 1 李淑莉,刘振丽,宋志前.超滤法在中药制剂纯化工艺中的应用研究进展[J].中药材,2003,26(12):898~900.
- 2 中华人民共和国药典.一部[S].北京:化学工业出版社,2000.
- 3 杨桦,贾旭,易红.藏药藏麻中多糖的含量测定研究.中草药,2001,32(1):29~31.
- 4 刘振丽,张秋海,欧兴长.超滤与醇沉对中研I号冲剂有效成分影响的对比研究[J].中草药,1998,29(7):451~454.
- 5 刘振丽,张秋海,欧兴长.超滤条件对中药四妙勇安汤超滤的影响[J].膜科学与技术,1999,19(2):554~556.
- 6 李淑莉,欧兴长,毛德法,等.超滤法与传统的醇沉法对黄连解毒汤纯化效果的比较研究.水处理技术,2000,26(1):21~22.
- 7 李十中,陈玮,李振花.不同制备工艺对中药有效成分的影响及药物成分分析[J].中草药,2000,31(9):668~669.

(责任编辑:刘维杰)

(上接第51页)

- 16 Meyring M, Chankvetadze B. Simultaneous separation and enantioseparation of thalidomide and its hydroxylated metabolites using high-performance liquid chromatography in common-size columns, capillary liquid chromatography and nonaqueous capillary electrochromatography[J]. J Chromatogr A, 2000, 876(1/2):157.
- 17 Annabille S, Frinch C. Enantiomeric separations by capillary electrochromatography using a macrocyclic antibiotic chiral stationary phase

[J]. J Chromatogr A, 1999, 848(1/2):375.

- 18 Liu Z, Zou H, Ni J, et al. Open tubular capillary electrochromatography with adsorbed stationary phase[J]. Anal Chim Acta, 1999, 378:73.
- 19 林秀丽,李关宾,主沉浮,等.以L-白氨酸为手性选择剂利用毛细管电泳法拆分12种手性药物[J].色谱,2001,19(2):109.
- 20 黄晓冬,邹汉法,毛希琴,等.原位分子印迹毛细管电色谱柱的制备及其对非对映异构体的分离[J].色谱,2002,20(5):437.
- 21 Schweitz L, Spiegel P, Nisson S. Molecule-imprinted microparticles for capillary electrochromatographic enantiomer separation of propranolol[J]. Analyst 2000, 125(11):1899.
- 22 Chirica G, Remacho VT. Silicate entrapped columns. New columns designed for capillary electrochromatography[J]. Electrophoresis. 1999, 20(1):50.
- 23 陆豪杰,欧庆瑜.以衍生化聚硅氧烷为固定相的开管毛细管电色谱柱的研制[J].高等学校化学学报,2002,23(1):30.
- 24 Lin JM, Takagama T, Uchiyama K, et al. Capillary electrochromatographic separation of amino acid enantiomers using on-column prepared molecularly imprinted polymer[J]. J Pharm Biomed Anal, 1997, 15(9-10):1351.
- 25 Jelinek I, Spopek J, Smolkova-keulemansova E. Use of cyclodextrins in isotachopheresis: I. Effect of cyclodextrin on the isotachopheretic separation of related penicillins [J]. J Chromatogr A, 1987, 405:379.
- 26 Tnaka S, Kaneta T, Taga M, et al. Capillary tube isotachopheretic separation of catecholamines using cyclodextrin in the leading electrolyte[J]. J Chromatogr A, 1991, 587:364.
- 27 Wang EK. Analytical Chemistry in 21 Century [M]. Beijing: Science Press. 1999. 102.
- 28 Zhao S, Lifu YM. Quantification of amino acid enantiomers in single cells by capillary electrophoresis[J]. Cell Mol Biol, 2001, 47(7):1217.

(责任编辑:刘维杰 张志华)

广州启动优秀中医临床人才研修项目

广州市卫生技术鉴定与评估中心代表广州市卫生局与广州中医药大学签订协议,正式启动“广州市优秀中医临床人才研修项目”。

该项目共投入100万元,其中广州市卫生局投入60万元,培养对象所在单位共投入40万元,在广州市卫生系统内选拔20名中青年中医学术骨干进行为期3年的中医古籍和中医临床实践的研修,并利用大学的优势,委托广州中医药大学对培养对象进行选拔、培养和考核。培养方式包括跟师临床实践、自我钻研中医经典理论、参加培训班、外出进修和参加学术交流等。(文摘)

This article discusses the establishment of weight in the assessment of TCM effectiveness by the method of stratification, which is composed of the following parts: (1) the establishment of hierarchical strata structure, (2) the construction of pair wise comparison decision matrix, (3) the computation of the relative weight of elements under a single norm and (4) the computation of the combined weight of elements in all the strata. The establishment of weight plays a significant part in the assessment since the functions of traditional Chinese medicine is characterized by multi – ways and multi – targets, which is able to directly influence the judgement of the effectiveness of assessed medicaments. It is a subject worthwhile being studied in the progress of the modernization of TCM to generally settle down the mathematic method for the assessment of TCM effectiveness with multi – ways and multi – targets and to assess the comprehensive effectiveness of TCM by means of objective quantization.

Key Words: effectiveness of TCM, weight, mathematic method

Exploration of Thinking and Method in Study of Active Components of Chinese Medicine by Taking Radix Peucedani for Example

*Shi Yunrong and Kong Lingyi (School of Traditional Chinese Medicine,
China University of Materia Medica, Nanjing 210009)*

Radix Peucedani is a common – used Chinese medicine in the Pharmacopeia of China. In the process of their deep and systematic study of the chemical components and bio – activities of this medicinal plant the authors have gradually understood the thinking and method of the study of bio – activities of Chinese medicine. This article mainly summarizes, in combination with the authors' long – term study in this area, their studies in the chemical components, the quality standards, the development of resources, the structural modification and total synthesis of effective components and pharmacological activity since 1993, aiming at how to all – roundly improve the study of Radix Peucedani and lay the foundation for the development of new Chinese drugs by the introduction of the study of the active components of this plant medicine. At present a modern mode of study on the active components of Radix Peucedani has initially be established and it is hoped that the thinking and method in this study can offer reference for the study of active components of other Chinese drugs.

Key Words: Radix Peucedani, Chemical component, coumarin, quality standards, development of resources, structural modification, total synthesis

Application of Capillary Electrophoresis to Separation of Chiral Drugs

*Li Weidong and Cai Baochang
Nanjing University of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Nanjing 210029)*

Capillary electrophoresis is a chromatographic technology with high efficiency and selectivity, which carries out

[*World Science and Technology / Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica*] 137

separation by taking capillary tubes for separation passage and high voltage electricity for motive force and in accordance with the difference of mobility and distribution behaviors of all the components of samples. It has unique merits in the separation and analysis of chiral drugs and is widely used in the areas of agriculture, medicine and chemical engineering. This article summarizes the application of capillary electrophoresis to the main modes of separation of chiral compounds in the last years. It can be foreseen that this technology will be applied more and more widely in the area of life science, and the analysis of monocells by capillary electrophoresis in particular is becoming a means of *in vivo* detection in pharmacology at the cellular level and in understanding the process of life.

Key Word: capillary electrophoresis, chiral drug, separation and analysis, summary.

Comparison of Purification Effects of Qingrejiedukoufuye (Heat – clearing and Detoxicating Oral Liquid) by Methods of Ultra – filtration and Alcohol Precipitation of Retain Molecular Weight of Two Membranes

Li Shuli, Liu Zhenli, Song Zhiqian and Fu Jun

(Institute of Basic Theories, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700)

Objective: To investigate the impact of retain molecular weight of milipore filters on the effect of purification and compare it with the effect of purification made by the method of alcohol precipitation. **Method:** To purify Qingrejiedukoufuye (Heat – clearing and Detoxicating Oral Liquid) by the method of ultra – filtration (retain molecular weights 20000 and 70000 of membranes) and the method of alcohol precipitation. To compare the effect of ultra – filtration of the said two membranes by the way of taking for indexes the retention rate of baicalin in Radix Scutellariae and that of chrologenic acid and the clearance rate of impure polysaccharides and tannin of Flos Lonicerae as well as the change of membrane flux and compare it with the effect of alcohol precipitation. **Result:** For the retention rate of baicalin and chrologenic acid the difference of purification effect of the membranes with two retain molecular weights is small but notably larger than that from the method of alcohol precipitation; for the clearance rate of polysaccharides the purification effect from the membrane with 20000 of retain molecular weight is the best and then that from the membrane with 70000, while the purification effect from the method of alcohol precipitation is the worse; for the clearance rate of tannin the purification effect from the membrane with 70000 of retain molecular weight is the best and then that from the method of alcohol precipitation, while the purification effect from the membrane with 20000 falls worse; the attenuation rate of flux of the membrane with 70000 of retain molecular weight is lower than of the membrane with 20000 and the time needed for equivalent liquid medicine by the method of ultra – filtration reduces twice. **Conclusion:** The purification effects of Chinese drugs can be achieved by selecting appropriate retain molecular weight of milipore filters.

Key Words: Ultra – filtration, alcohol precipitation, retain molecular weight, Qingrejiedukoufuye (Heat – clearing and Detoxicating Oral Liquid)