

• 综 述 •

手性分离技术分离中药对映异构体的研究进展

汤露环¹, 官容丽², 李遇伯¹, 姚雅琦^{1*}

1. 天津中医药大学 中药学院, 天津 301617

2. 天津中医药大学 中药制药工程学院, 天津 301617

摘 要: 手性是生物分子所具有的一个普遍特征, 随着“反应停”事件的发生, 手性在化学药领域的重要性被广泛知晓并不断掀起研究的热潮。中药中也存在着许多含有手性中心的有效成分, 但由于成分复杂、含量差异大等原因, 并没有引起相应的重视, 而这些成分很有可能因手性的不同在药理、药动学上存在很大差异。为了对中药中手性成分有更好地研究, 首先需要对对映体分离技术有更深入的了解。手性化合物的对映体分离技术主要包括非色谱法和色谱法, 主要围绕这两类方法展开综述。

关键词: 中药; 手性成分; 对映体分离技术; 色谱法; 非色谱法

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2021)04-0844-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.04.043

Research and application of chiral separation technology in the analysis of active components in traditional Chinese medicine

TANG Lu-huan¹, GUAN Rong-li², LI Yu-bo¹, YAO Ya-qi¹

1. College of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

2. College of Pharmaceutical Engineering of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Abstract: Chirality is a universal feature of biomolecules. With the occurrence of "Thalidomide event", the importance of chirality in the field of chemical drugs has been widely known and the research upsurge has been set off. There are many active components containing chiral centers in traditional Chinese medicine, but due to the complex components and differences of content, they have not been attracted the corresponding attention, and these components are likely to have great differences in pharmacology and pharmacokinetics due to different chirality. In order to have a better study, we need to have a deeper understanding of enantiomeric separation technology. Enantiomeric separation techniques of chiral compounds mainly include nonchromatography and chromatography. This paper will focus on these two methods.

Key words: traditional Chinese medicine; chiral component; enantiomeric separation technology; chromatography; nonchromatography

手性是自然界的一种基本属性, 指一个物体不能与其镜像相重合表现出不同光学活性的现象, 而不能重合的立体异构体称为对映异构体, 通常用 *R/S*、*D/L* 对其进行识别。一对对映体的药理作用可能因手性的不同而存在很大差异, 通常只有一个对映体具有药理活性, 另一对映体无活性, 甚至具有

严重的毒副作用, 具体表现为: (1) 一个对映体有活性, 另一对映体有毒性。“沙利度胺事件”就是一个典型的例子, *R*-构型的沙利度胺具有良好的镇静作用, 能够缓解孕妇的妊娠反应, 而 *S*-构型则具有强烈的致畸作用, 临床以消旋体应用后, 导致了大量“海豹儿”的诞生。这一灾难性的事件也成为

收稿日期: 2021-01-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81873194); 天津市教委科研计划项目(2019KJ078)

作者简介: 汤露环(1998-), 女, 药学专业本科生, 研究方向为药物分析。E-mail: 13697985990@163.com

*通信作者: 姚雅琦, 研究方向为药物分析学。E-mail: yaopharmacy@163.com

了科学家开始深入研究手性药物的契机。(2) 两个对映异构体具有不同的生物活性, 如 *L*-(+)-四咪唑具有抗抑郁作用, 而 *D*-(-)-构型则用于驱虫。(3) 两个对映体具有相反的生物活性, 如 *R*-型的扎考必利是 5-HT₃ 的拮抗剂, *S*-构型则为 5-HT₃ 的激动剂。(4) 两个对映体具有相同的活性, 但活性强度不同, 如 *D*-(-)-异丙肾上腺素的支气管舒张作用是其 *L*-(+)-构型的 800 倍。(5) 一个对映体有活性, 其余对映体无活性, 如氯霉素结构中含有两个手性碳, 其 4 个对映体中只有 (1*R*, 2*R*)-(-)-构型具有抗菌活性^[1-2], 临床以单一对映体形式给药可降低药用剂量和人体的代谢负担, 并能减轻药物可能带来的副作用。

手性药物进入体内后, 可能引起对映体导致的不良反应甚至是毒副作用, 所以手性药物以消旋体形式应用于临床具有极高的风险性, 以单一对映体的形式给药才能发挥更为合理且有效的药理作用。因此, 对结构中含有不对称中心的药物进行手性研究尤为重要。然而, 当前有关手性的研究虽已引起一定关注, 但主要集中于化学药领域, 在中药有效成分研究中则鲜有提及, 而事实上中药中也存在着类似现象, 如麻黄中麻黄碱和伪麻黄碱是一对对映体, 在药理活性上, 麻黄碱平喘、解痉的疗效显著, 而伪麻黄碱更多表现出利尿、抗炎作用; 从金鸡纳树皮中提取分离得到的生物碱奎宁是一种抗疟药, 能快速杀灭血液裂殖体, 而其对映体奎尼丁则在临床上用作抗心律失常药; 萜类物质中的 *L*-薄荷醇气味清香宜人、应用广泛, 而其 *D*-对映体则辛辣刺鼻, 微带樟脑气味; 艾纳香中的 *D*-龙脑的抗炎、镇痛效果优于其差向异构体 *L*-龙脑, 在临床应用中起主要作用^[3]。因此, 对中药有效成分进行相关的手性研究也是十分必要的, 而建立快速、高效、灵敏的手性药物分离方法是获得单一对映体并对其进行药理活性、药动学等手性研究的前提。

获得单一对映体的方法目前主要有 3 种, 分别是不对称合成法、手性源合成法以及外消旋体拆分法^[4]。不对称合成法和手性源合成法均是通过有机反应得到对映体, 制备过程复杂, 并且产率低、消耗大, 有时甚至不可控, 在应用生产中受到限制。外消旋体拆分法是利用物理、化学、生物等因素将外消旋体分离成单一对映体的方法, 此方法种类较多、应用较广, 在中药有效成分的单一对映体获取中已有一定研究, 主要可以分为非色谱法和色谱法

两大类, 其中非色谱法又包括化学法、生物酶法、结晶法等, 色谱法则包括手性衍生化法、手性流动相法以及手性固定相法, 其中以手性固定相法的应用最为常见。

1 非色谱法

1.1 化学法

一对对映体的物理、化学性质在非手性条件下是相同的, 一般普通的分离方法很难将二者分开。化学法是利用有光学活性的拆分剂与被分离分子基团形成非对映体的盐或酯 (图 1), 然后再利用非对映体的物理、化学性质不同, 将其分离^[5]。

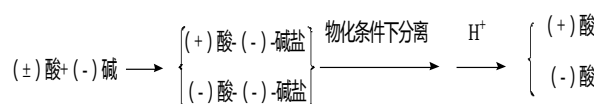


图 1 化学法分离手性物质原理图

Fig. 1 Schematic diagram of separation of chiral substances by chemical method

常用的光学活性拆分剂包括酸性拆分剂和碱性拆分剂, 其中酸性拆分剂用于碱性对映体的分离, 而碱性拆分剂则用于酸性对映体的分离。酒石酸是一种常用的光学活性酸, 有研究使用 (-)/(+) 二对甲苯甲酰酒石酸对四氢小檗碱进行拆分, 并发现溶剂甲醇的量会对非对映体产物的产生存在一定的影响, 用量过少会影响光学纯度, 过多则会减少析出的产率^[6]。聂爱华等^[7]也利用 *L*-(+)-二苯甲酰基酒石酸拆分了外消旋麻黄碱, 得到了 *D*-(-)-麻黄碱和 *L*-(+)-麻黄碱。而麻黄碱自身是一种常用的光学活性碱, 有研究使用右旋麻黄碱作为手性拆分剂, 在钙、镁离子为沉淀剂的条件下分离了扁桃酸外消旋体, 并发现沉淀剂的加入能更有效地促使非对映异构体盐的分离, 因此可通过控制钙、镁离子的比例来得到纯度更高的光学异构体^[8]。除此之外, 酰氯、酯类也作为手性拆分剂, 有研究将反-*N*-苯甲酰-2-氨基环己酸制备成相应的酰氯, 将其与薄荷醇反应生成非对映体酯从而实现分离^[9], Wong 等^[10]则使用螺环硼酸酯盐阴离子作为光学活性拆分剂实现了延胡索乙素的分离。然而, 光学活性试剂通常价格较高且不易回收, 因此使得化学拆分法未能得到广泛的应用。

1.2 生物酶法

生物酶法是利用了酶对底物具有严格的立体选择性这一原理来实现分离, 酶易降解、专一性强,

分离得到的产物一般无污染且光学纯度高,但生物酶技术大多用于手性物质的合成^[11-12],而在中药手性成分的分离中应用并不广泛,目前仅在薄荷醇的分离中有一定的应用。

L-型薄荷醇比 *D*-型气味更优、品质更佳,并且具有清凉止痒、杀菌镇痛、促渗透的疗效,被大量用于医药、食品、化妆品领域,天然薄荷醇主要是以 *L*-型为主,但受环境因素影响,产量并不乐观,为满足临床应用,经常通过工业合成薄荷醇,而合成的薄荷醇是以消旋体形式存在,因此获取 *L*-薄荷醇的方法备受关注^[13-15]。

酯酶对 *DL*-薄荷醇酯具有立体选择性识别作用,利用其不对称水解反应,可将薄荷醇酯拆分为一个单一对映体薄荷醇和一个不参与催化反应的薄荷醇酯(图 2-A),有研究采用洋葱布克氏菌酯酶

对(*D/L*)-乙酸薄荷酯不对称水解分离出了 *L*-薄荷醇、*D*-薄荷醇,该方法得到的 *L*-薄荷醇光学纯度高达 95%以上^[16]。并且 Zheng 等^[17]使用重组酯酶(recBsE)对(*D/L*)-乙酸薄荷酯、(*D/L*)-丙酸薄荷酯和(*D/L*)-丁酸薄荷酯进行催化,发现重组酯酶对(*D/L*)-乙酸薄荷酯的选择性最好,分离出的 *L*-薄荷醇含量最高。也有研究^[18]通过脂肪酶对(*D/L*)-薄荷醇的立体选择性,将 *L*-薄荷醇进行转酯化生成 *L*-薄荷醇酯和 *D*-薄荷醇,再利用水解方法得到 *L*-薄荷醇(图 2-B),此方法在乙酸乙烯酯为酰基供体的无溶剂体系催化效率更高。De 等^[19]利用诺维信固定化脂肪酶对(*D/L*)-薄荷醇进行拆分,发现在乙酸乙烯酯溶剂中进行转酯化的条件最佳,并且对(*D/L*)-薄荷醇可以显示出较高的选择性,到达很好的分离效果。

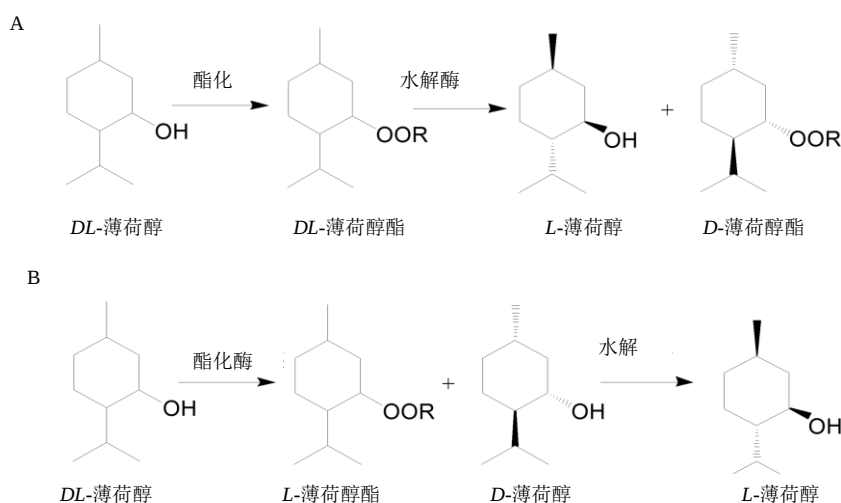


图 2 酯酶对(*D/L*)-薄荷醇酯的不对称水解图(A)和脂肪酶对(*D/L*)-薄荷醇的转酯化图(B)

Fig. 2 Asymmetric diagram of the hydrolysis of (*D/L*)-menthol ester by esterase (A) and transesterification diagram of (*D/L*)-menthol by lipase (B)

2 色谱法

2.1 手性衍生化法

手性衍生化法是指将对映体与手性衍生化试剂反应生成非对映体复合物的方法。与化学法不同之处在于它不是利用类似结晶、蒸馏、萃取等物理化学法实现分离,而是使用普通的色谱柱将非对映体进行分离。该方法成本低、适用范围广,但操作复杂并易出现消旋化现象,因此要求衍生化试剂有较高的纯度^[20],如临床上(-)-棉酚具有较强的抗肿瘤、抗病毒、抗菌作用,而(+)-棉酚则几乎无活性,在对棉籽仁中的(±)-棉酚进行分离研究时,

使用了纯度为 98%的 *R*-(+)-2-氨基-1-丙醇作为衍生化试剂与(±)-棉酚中的醛基发生反应,使其转化成非对映体,从而在普通 C_{18} 柱上就能得到较好的分离^[21]。

同时手性衍生化法常使用的具有发色团或荧光等结构的衍生化试剂还能起到提高检测能力的作用。辛弗林是存在于柑橘类水果中的一种手性苯乙胺生物碱,具有 α -肾上腺素受体激动作用,其中 *R*-辛弗林的活性比 *S*-辛弗林高 1~2 个数量级,是辛弗林发挥药理作用的有效构型,有研究使用 2,3,4,6-四-*O*-乙酰基- β -*D*-吡喃葡萄糖苷异硫氰酸酯为衍

生化试剂, 将外消旋辛弗林转化为非对映体, 采用反相 C_{18} 柱在高效液相色谱上使辛弗林达到较好的分离效果, 并且异硫氰酸酯的 π - π 共轭能力还能提高紫外检测^[22]。

2.2 手性流动相法

手性流动相法是指在流动相中加入可与手性药物生成非对映异构体的手性添加剂, 利用物质在流动相中的溶解性和与固定相结合的差异实现对映体的分离^[23]。手性流动相法适用于非手性固定相且不需要做柱前衍生化, 因此操作更为简便, 其分离的关键主要在于手性添加剂。常用的手性添加剂包括环糊精类化合物、手性金属配合物、手性离子对试剂、手性氢键试剂等^[24]。

环糊精及其衍生物是近几年手性研究中应用最多的手性添加剂, 其空穴的包合作用使得多种对映体能够实现分离。如 Sun 等^[25]以磺丁醚- β -环糊精为手性添加剂建立了分离二氢黄豆苷原、雌马酚和山姜素的高效液相色谱分离方法。王小平^[26]用羟丙基- β -环糊精为手性选择剂, 采用高速逆流色谱对芳基羧酸衍生物和薄荷醇酯进行手性拆分, 并得到了较好的分离效果。手性金属配合物是利用手性试剂和金属离子形成配位化合物以与对映体配位交换为原理来实现手性分离。手性试剂的加入能够改善溶质的色谱行为, 该方法不会发生消旋化反应, 有研究^[27]利用手性试剂 *L*-脯氨酸与金属 Cu^{2+} 形成手性金属配合物, 将其加入高效液相色谱的流动相中使得茶叶中的茶氨酸对映体能够在常温下实现基线分离。手性离子对试剂是指与对映体离子带有相反电荷的手性添加剂, 将其加入流动相中, 与对映体结合形成非对映体离子从而实现手性分离。有研究^[28]使用金鸡纳生物碱为手性离子对试剂, 实现了扁桃酸和一些芳香酸的基线分离。手性氢键试剂则是能与对映体形成氢键的添加剂, 在流动相中加入手性氢键试剂常见于氨基酸与氨基醇类物质的分离, 在中药分离中应用较少^[28-29]。

2.3 手性固定相法

手性固定相法是指利用含手性源的固定相和对映体之间手性作用的差异来实现分离, 常用的手性固定相包括多糖类手性固定相、环糊精类手性固定相、蛋白质类手性固定相、分子印迹手性固定相等, 其中以多糖类手性固定相最为常见。

2.3.1 多糖类手性固定相 多糖类手性固定相是以直链淀粉或纤维素为手性源, 又可分为涂敷型手

性固定相和键合型手性固定相, 其中涂敷型是利用物理涂敷的方法将手性选择剂固定于硅胶表面。

AD-H[直链淀粉-三(3,5-二甲苯基氨基甲酸酯)]、AS-H[直链淀粉-三[(*S*)- α -甲基苄基氨基甲酸酯]]、OD-H[纤维素-三(3,5-二甲苯基氨基甲酸酯)]、OJ-H[纤维素-三(4-甲基苯甲酸酯)]柱是使用最为广泛的涂敷型手性固定相, 被称为“四大金刚柱”, 已有研究表明, 很多手性成分都能在这几种手性固定相上得到良好的分离, 如黄烷酮、橙皮苷、二氢杨梅素等^[30-31]。不同固定相对不同对映体的识别能力存在差异, 这可能和多糖物质与对映体之间形成的氢键、 π - π 键以及手性空腔的空间适应性等作用力不同有关^[31]。有研究^[32]使用 Chiralpak AD-H 和 Chiralcel OJ-H 柱对 8 个扁桃酸化合物进行拆分, 发现对于这类化合物, Chiralcel OJ-H 柱比 Chiralpak AD-H 柱有更强的手性识别能力, 8 个扁桃酸化合物在 Chiralcel OJ-H 柱都能实现基线分离。钟宇静等^[33]用 Enantiopak AD、Enantiopak OJ 柱分离单萜类化合物中的薄荷脑, 发现 Enantiopak AD 柱对薄荷脑表现出更好的分离性能, 分离度可达到 2.84。

利用共价键合的方式将手性选择剂键合在硅胶基质上的手性固定相被称为键合型手性固定相, Chiralpak IA[直链淀粉-三(3,5-二甲苯基氨基甲酸酯)]、Chiralpak IB[纤维素-三(3,5-二甲苯基氨基甲酸酯)]、Chiralpak IC[纤维素-三(3,5-二氯苯基氨基甲酸酯)]柱是最常见的键合型多糖类手性固定相, 在中药手性成分分离研究中以 Chiralpak IA、IC 柱应用最多^[34-35]。不同种类的键合型固定相之间也存在手性识别的差异性, 如 Ciogli 等^[36-37]使用 Chiralpak IA、Chiralpak IC 柱对金丝桃素、假金丝桃素和原金丝桃素外消旋体进行对映体拆分发现, Chiralpak IA 柱比 Chiralpak IC 柱有更好的手性识别能力, 而在对板蓝根中告伊春分离中则是 Chiralpak IC 柱表现更佳, 这可能和直链淀粉与纤维素的空间结构以及键合基团的差异有关。

键合型固定相对多种溶剂如氯仿、醋酸乙酯等有着更高的耐受性, 使流动相与溶剂的选择范围更宽, 因而应用范围也比涂敷型手性固定相更广^[38], 但在对对映体的分离过程中发现, 有时涂敷型固定相有着更好的手性识别能力, 如涂敷型 Chiralpak AD 柱与键合型 Chiralpak IA 柱的手性固定相种类相同, 而在分离二氢黄酮等手性物质时 Chiralpak AD 柱比 Chiralpak IA 柱表现出更好的分离效果^[39],

这可能由于键合型色谱柱中多糖上的部分羟基与硅胶键合,从而影响了淀粉在硅胶表面形成高度有序的螺旋结构,导致其手性识别能力减弱。而多数情况下涂敷型手性固定相和键合型手性固定相的手性识别能力能够相互补充,如在相同条件下,涂敷型的 Chiralpak AD 柱不能分离的(D/L)-扁桃酸对映体能够在键合型的 Chiralpak IA 柱上获得分离;Chiralpak IC 柱则能够分离 Chiralcel OD 柱难以识别的柚皮苷对映体,而在某些条件下,Chiralpak AD、OD 柱也能表现出比 Chiralpak IA、IC 柱更好的分离性能,由此依据待分离物质的不同来选择手性固定相,实现更多对映体的手性分离^[39-40]。

2.3.2 环糊精类手性固定相 环糊精是淀粉经环糊精葡萄糖转位酶作用后生成的以 α -1,4-糖苷键连接的环状低聚多糖,具有内腔疏水而外部亲水的桶状结构,能与许多药物分子通过范德华力形成包含配合物。因此可通过在流动相中添加或在固定相上结合环糊精来实现对映体的分离。环糊精类化合物通常含有 6~12 个葡萄糖分子,其中以 6、7、8 个葡萄糖分子构成的 α -、 β -和 γ -环糊精最为常见,而 β -环糊精空穴大小适中、价廉易得,因此应用最为广泛^[41]。

β -环糊精水溶性差,且难以实现极性较大的物质的分离,一般通过衍生化来提高其溶解度,此外,取代基的引入也能增强其手性选择能力。如 Li 等^[42]使用了自制的 *N*-苄基苯乙氨基- β -环糊精手性固定相成功地分离了 4'-羟基黄酮,与天然 β -环糊精相比该手性固定相分离速度更快、选择性更好。张宏福等^[43]以甲醇-水作流动相,采用自制的苯氨基甲酸酯衍生化 β -环糊精键合有序介孔 SBA-15D 硅胶作为手性固定相,分离了柚皮苷对映体,并表明流速的改变会影响客体分子与固定相间的作用力,从而影响保留时间与分离效果。华江颖等^[44]使用 3,5-二甲基苯氨基甲酰化 β -环糊精作为手性固定相实现了安息香、甘草素的分离,并表明少量酸碱添加剂会改善分离结果。

此外, γ -环糊精手性固定相在中药成分手性分离中也有一定的应用,如儿茶素、麻黄碱、伪麻黄碱在 γ -环糊精手性固定相上能被较好地分离^[45-46]。此外,有研究表明 γ -环糊精对一些大分子萜类物质的分离效果较好,而在分在分离长春花碱等小分子物质时,其手性识别能力弱于 β -环糊精柱,这可能与其空穴大小有关, γ -环糊精的空穴更大,对大分

子物质有更好的包含能力^[47-48]。

2.3.3 其他手性固定相 除多糖类和环糊精类的手性固定相外,蛋白质手性固定相也逐渐被应用于对映体分离。蛋白质是由氨基酸组成的高分子聚合物,以 *L*-型氨基酸为主,能特异性识别一些手性分子,以 α 1-酸性糖蛋白和牛血清白蛋白最为常用,当前研究中同样以涂敷和键合的方法将这两类蛋白制备成手性固定相。

α 1-酸糖蛋白又称乳清类黏蛋白,对酸性、中性和碱性手性药物都具有一定的分离能力,已被应用于华法林、二氢黄酮、扁桃酸的分离^[49-50];牛血清白蛋白在对映体分离中常采用纳米材料为载体使之结合更加稳定。有研究制备了金纳米粒子,将其修饰到氨基衍生化的硅胶整体柱内,并通过化学键合法将牛血清白蛋白固载到金纳米粒子的表面作为毛细管电色谱手性固定相,成功分离了麻黄碱对映体^[51]。Bai 等^[52]利用吸附的牛血清白蛋白和多壁碳纳米颗粒作为开管毛细管柱的固定相,成功分离了橙皮苷对映体。

此外,将分子印迹聚合物作为手性源制备手性固定相也能实现手性化合物的特异性识别。有研究以(-)-麻黄碱、*L*-四氢巴马丁作为模板分子合成相应的分子印迹聚合物,该聚合物对麻黄中(-)-麻黄碱、延胡索中 *L*-四氢巴马丁有很好的识别亲合作用,能选择性地识别相应对映体,实现手性分离,该方法操作简单快速,并且分离效果较好,是中药手性分离研究的一个新方向^[53-54]。

3 结论与展望

目前,中药手性成分分离技术主要包括非色谱法和色谱法,非色谱法操作过程繁琐、时间长,其中的化学法虽较为经典,但多限于酸碱化合物,适用范围小;生物酶法虽具有高度的立体选择性、无污染,但因酶的种类有限,使用过程也依旧受到限制,总体来讲可操作性较低,仅在合成消旋体的制备分离中应用较多,不适用于微量分离和分析。而色谱法因其操作简单、稳定性好,可实现对映体的快速定性、定量以及少量制备,并能在复杂基质中完成对药物对映体纯度的测定。其中高效液相色谱法被视为应用前景较好的手性分离技术之一,而高效液相色谱手性固定相法已成为现代对映体分离分析研究中应用最为广泛的方法。

美国食品药品监督管理局(FDA)于 1992 年率先发布了光学活性药物发展纲要^[55],要求对于最

新研制的消旋体药物,其生产商必须测定药物中对映异构体的组成,并在新药的使用说明中明确给出每种对映体的药理、毒理、临床作用报告,当两种异构体有明显的药效和毒理作用差异时,必须以纯的单一对映体形式上市。从全球药品市场来看,手性药物在天然和半合成药物中占据非常高的比例,在全合成药物中也约占40%^[56]。据不完全统计,目前临床所用药物中约60%是手性化合物,而用于治疗的手性化合物中约88%为外消旋体药物。对于中药而言,药物成分结构式不明确,对映异构体混杂等问题使得其临床应用、国际化发展受到限制,因而对有效成分进行单一对映体的研究是十分重要且必要的,而选择和建立合适的分离方法是获取单一对映体药物的关键环节。在中药手性成分分离中,高效液相色谱手性固定相法是最为常的分离方法,在对手性中心较少的黄酮、生物碱、单萜类化合物分离中取得了一定的效果。但目前对中药的手性研究仅局限于结构简单、手性中心较少的成分,而大分子以及多手性中心的药物仍较难实现分离,这使得中药有效成分中许多对映异构体的研究仍处于空白阶段,因此,深入研究和开发中药有效成分的手性分离方法对于保证其在临床的安全、合理使用具有重要意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 官家乐,高原,高鸿慈. 手性药物 [J]. 中国医院药学杂志, 2001, 21(7): 443-445.
- [2] Ruan Y, Lin H, Zhang X, et al. Enantiomer-specific bioaccumulation and distribution of chiral pharmaceuticals in a subtropical marine food web [J]. *J Hazard Mater*, 2020, 394: 122589.
- [3] Granger R E, Campbell E L, Johnston G A R. (+)- And (-)-borneol: efficacious positive modulators of GABA action at human recombinant $\alpha 1\beta 2\gamma 2L$ GABA(A) receptors [J]. *Biochem Pharmacol*, 2005, 69(7): 1101-1111.
- [4] 王雪,梁晓桐,张强,等. 手性拆分膜的拆分原理及制备方法 [J]. 功能材料, 2016, 47(S1): 61-65.
- [5] 邓艳芳,吴桐,李泽文,等. 手性拆分技术-化学拆分法的研究进展 [J]. 沈阳药科大学学报, 2019, 36(11): 112-116.
- [6] 林云,张灿,华维一. 四氢小檗碱的拆分 [J]. 中国药科大学学报, 2002, 33(6): 470-472.
- [7] 聂爱华,李松. dl-麻黄碱的化学拆分研究 [J]. 中国药物化学杂志, 2008, 18(3): 195-199.
- [8] 熊正龙,夏露花. 扁桃酸拆分工艺研究 [J]. 亚太传统医药, 2015, 11(2): 24-27.
- [9] Hiroyuki N, Hisao M. Optical resolution of ($\pm$)-menthol [J]. *Nippon Kagaku Kaishi*, 1975, 6: 1122-1123.
- [10] Wong LW, Kan J W, Nguyen T H, et al. Bis (mandelato) borate: an effective, inexpensive spiroborate anion for chiral resolution [J]. *Chem Commun (Camb)*, 2015, 51(87): 15760-15763.
- [11] Xue Y P, Cao C H, Zheng Y G. Enzymatic asymmetric synthesis of chiral amino acids [J]. *Chem Soc Rev*, 2018, 47: 1516-1561.
- [12] Xia B, Zhang Y, Zhu Q, et al. Enzymatic synthesis and stereocomplex formation of chiral polyester containing long-chain aliphatic alcohol backbone [J]. *Biomacromolecules*, 2019, 20: 3584-3591.
- [13] 于丽娟. 薄荷醇的制备及对映体拆分研究进展 [J]. 中国食品添加剂, 2010(6): 187-195.
- [14] 夏非,邱智,许孟操,等. 薄荷酯的合成与应用研究进展 [J]. 精细化工中间体, 2020, 50(5): 6-11.
- [15] Nagai N, Ogata F, Yamaguchi M, et al. Combination with l-menthol enhances transdermal penetration of indomethacin solid nanoparticles [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(15): 3644.
- [16] 于丽娟. 洋葱布克氏菌 (*Burkholderia cepacia*) 酯酶酶法不对称拆分 dl-薄荷醇研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2008.
- [17] Zheng G W, Pan J, Yu H L, et al. An efficient bioprocess for enzymatic production of L-menthol with high ratio of substrate to catalyst using whole cells of recombinant *E. coli* [J]. *J Biotechnol*, 2010, 150(1): 108-114.
- [18] 李琴,鄢洪德,郑建永,等. 无溶剂体系脂肪酶 Lipozyme TL IM 催化拆分 DL-薄荷醇 [J]. 发酵科技通讯, 2015, 44(4): 15-18.
- [19] De Yan H, Li Q, Wang Z. Efficient kinetic resolution of ($\pm$)-menthol by a lipase from *Thermomyces lanuginosus* [J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2017, 64(1): 87-91.
- [20] 马波,雷勇胜,蒋庆峰. 气相色谱法在手性药物分析中的应用进展 [J]. 现代药物与临床, 2012, 27(6): 647-651.
- [21] 何晓文,李新霞,姚军,等. 柱前手性衍生化-高效液相色谱法测定棉籽仁中左旋和右旋棉酚含量 [J]. 食品科学, 2013, 34(12): 125-128.
- [22] Tanaka S, Sekiguchi M, Yamamoto A, et al. Separation of synephrine enantiomers in citrus fruits by a reversed phase HPLC after chiral precolumn derivatization [J]. *Anal Sci*, 2019, 35: 407-412.
- [23] Yu L, Wang S, Zeng S. Chiral mobile-phase additives in

- HPLC enantioseparation [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1985: 81-91.
- [24] 徐 雄, 宁卫红, 瞿志荣, 等. HPLC 手性流动相添加剂及其用于药物对映体拆分中的影响因素 [J]. *生物化工*, 2018, 4(5): 150-155.
- [25] Sun Y, Li T, Ma C. Separation of racemic flavonoids by high performance liquid chromatography using chiral mobile phase additive [J]. *Chin J Chromatogr*, 2013, 31(5): 447-450.
- [26] 王小平. 逆流色谱手性分离芳基羧酸及其(-)-薄荷醇酯衍生物 [D]. 杭州: 浙江工业大学, 2017.
- [27] 李银花, 刘仲华, 黄建安. 配体交换色谱手性流动相法拆分和定量茶氨酸对映体 [J]. *福建分析测试*, 2010, 19(1): 10-13.
- [28] 杨亚娜. 手性离子对色谱法分离手性药物的研究 [D]. 上海: 上海医药工业研究院, 2006.
- [29] Gyllenhaal O, Karlsson A. Enantiomeric separations of amino alcohols by packed-column SFC on Hypercarb with L-(+)-tartaric acid as chiral selector [J]. *J Biochem Biophys Methods*, 2002, 54(1-3): 169-185.
- [30] Baranowska I, Hejniak J, Magiera S. Simultaneous chiral separation of flavanone, naringenin, and hesperetin enantiomers by RP- UHPLC-DAD [J]. *Chirality*, 2016, 28(2): 147-52.
- [31] 李丽群, 范 军, 张 晶, 等. 手性固定相 AD、AS 和 OD 的拆分性能 [J]. *色谱*, 2016, 34(1): 108-112.
- [32] Wang M. Enantioseparation of mandelic acid compounds with Chiralpak AD-H and Chiralcel OJ-H chiral stationary phases [J]. *Chin J Chromatogr*, 2014, 32(2): 198-203.
- [33] 钟宇静, 郭 栋, 范 军, 等. 高效液相色谱法手性拆分薄荷脑对映体 [A]. //中国化学会第八届全国分子手性学术研讨会论文摘要集 [C]. 福州: 中国化学会第八届全国分子手性学术研讨会, 2017: 117.
- [34] Cai L, Lun J, Liu Y, et al. Separation and quantitation of notopteryl enantiomers in *Notopterygii Rhizoma* et *Radix* using solid-phase extraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 186: 113255.
- [35] 张 雪, 朱子豪, 章 博, 等. 纤维素键合手性固定相法分离 5 种黄烷酮糖苷类药物异构体 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2020, 37(10): 903-907.
- [36] Ciogli A, Bicker W, Lindner W. Determination of enantiomerization barriers of hypericin and pseudohypericin by dynamic high-performance liquid chromatography on immobilized polysaccharide-type chiral stationary phases and off-column racemization experiments [J]. *Chirality*, 2010, 22: 463-71.
- [37] 聂黎行, 王钢力, 戴 忠, 等. 手性高效液相色谱法测定板蓝根中表告依春和告依春含量 [J]. *色谱*, 2010, 28(10): 1001-1004.
- [38] Ghanem A, Hoenen H, Aboul-Enein H Y. Application and comparison of immobilized and coated amylose tris-(3, 5-dimethylphenylcarbamate) chiral stationary phases for the enantioselective separation of beta-blockers enantiomers by liquid chromatography [J]. *Talanta*, 2006, 68(3): 602-609.
- [39] 施俊庆, 段爱红, 袁黎明. 高效液相色谱的 8 种商品手性柱对 52 种手性化合物的拆分研究 [J]. *分析试验室*, 2017, 36(6): 643-649.
- [40] Nie L, Dai Z, Ma S. Improved chiral separation of (R,S)-goitrin by SFC: An application in traditional Chinese medicine [J]. *J Anal Methods Chem*, 2016: 5782942.
- [41] 王 敏. 环糊精与 α -淀粉酶相互作用的研究 [D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2019.
- [42] Li L, Cheng B, Zhou R, et al. Preparation and evaluation of a novel N-benzyl-phenethylamino- β -cyclodextrin-bonded chiral stationary phase for HPLC [J]. *Talanta*, 2017, 174: 179-191.
- [43] 张宏福, 李来生, 周仁丹, 等. 苯氨基甲酸酯化 β -环糊精手性固定相测定中草药中柚皮甙对映体 [J]. *分析试验室*, 2015(10): 1145-1150.
- [44] 华江颖, 刘文娜, 范 军, 等. 酸记忆效应对环糊精手性固定相手性分离性能的影响 [A]. //中国化学会第六届全国分子手性学术研讨会论文集 [C]. 武汉: 中国化学会, 2014.
- [45] Fiori J, Pasquini B, Caprini C, et al. Chiral analysis of theanine and catechin in characterization of green tea by cyclodextrin-modified micellar electrokinetic chromatography and high performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2018, 1562: 115-122.
- [46] Plotka J M, Simeonov V, Morrison C, et al. Capillary gas chromatography using a γ -cyclodextrin for enantiomeric separation of methylamphetamine, its precursors and chloro intermediates after optimization of the derivatization reaction [J]. *J Chromatogr A*, 2014, 1347: 146-156.
- [47] Pragadheesh V S, Yadav A, Chanotiya C S. Role of substituents in cyclodextrin derivatives for enantioselective gas chromatographic separation of chiral terpenoids in the essential oils of *Mentha spicata* [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2015, 1002: 30-41.
- [48] Sohajda T, Varga E, Iványi R, et al. Separation of vinca alkaloid enantiomers by capillary electrophoresis applying cyclodextrin derivatives and characterization of cyclodextrin complexes by nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 53: 1258-

- 1266.
- [49] Mallik R, Xuan H, Hage D S. Development of an affinity silica monolith containing alpha1-acid glycoprotein for chiral separations [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1149(2): 294-304.
- [50] 张紫恒, 杨 娜, 胡 聪, 等. α -酸糖蛋白手性柱对 56 种手性化合物的拆分 [J]. 化学研究, 2016, 27(6): 737-741.
- [51] 熊乐乐, 李瑞军, 季一兵. 金纳米粒子修饰的手性毛细管电色谱固定相的制备及性能表征 [J]. 色谱, 2017, 35(7): 712-718.
- [52] Bai Q, Zhang C, Zhao Y, *et al.* Evaluation of chiral separation based on bovine serum albumin-conjugated carbon nanotubes as stationary phase in capillary electrochromatography [J]. *Electrophoresis*, 2020, 41: 1253-1260.
- [53] Dong X, Wang W, Ma S, *et al.* Molecularly imprinted solid-phase extraction of (-)-ephedrine from Chinese Ephedra [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1070(1/2): 125-30.
- [54] Ou J, Kong L, Pan C, *et al.* Determination of DL-tetrahydropalmatine in *Corydalis yanhusuo* by L-tetrahydropalmatine imprinted monolithic column coupling with reversed-phase high performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1117(2): 163-169.
- [55] De Camp W H. Chiral drugs: the FDA perspective on manufacturing and control [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 1993, 11(11/12): 1167-1172.
- [56] 姚彤炜. 手性药物分析 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008.

[责任编辑 解学星]