

- 18 Toda M, *et al.* Nippon saikingaku Zasshi, 1991; 46(5): 839
- 19 堀内善信, 等. 感染症學雜誌, 1992; 66(5): 599
- 20 Toda M, *et al.* J Appl Bacter, 1990; 69(2): 109
- 21 Masako S O, *et al.* J Appl Bacter, 1991; 70(2): 109
- 22 島村忠勝. 茶, 1996; (10): 30
- 23 大久保幸枝, 等. 日本細菌學雜誌, 1991; 46(2): 509
- 24 中里賢一, 等. 日本農藝化學會志, 1993; 67(3): 30
- 25 Nakayama M, *et al.* Letters in Appl Microbio, 1990; (11): 38
- 26 张国营, 等. 中国病毒学, 1993; 8(2): 151
- 27 Nakane H, *et al.* Proceedings of International Symposium on Tea Science. 1991-08-26 Shizuoka, Japan/The Organizing Committee of ISTS, 1992; 282
- 28 陶佩珍, 等. 中国医学科学院学报, 1992; 14(5): 334

(1998-02-17 收稿)

毛细管电色谱及其在中药复杂成分[△] 分析中的应用前景

中国科学院大连化学物理研究所国家色谱研究分析中心(116011) 芮建中* 邹汉法

摘 要 综述了具有高效液相色谱和毛细管电泳二者优势的毛细管电色谱的基本概念、特点、研究进展和应用,并展望其在中药复杂成分分析中的应用前景。

关键词 中药 毛细管电色谱 成分分析

1 毛细管电色谱基本概念和特点

毛细管电色谱(Capillary Electrochromatography, CEC)^[1~3]是综合了毛细管电泳(CE)和HPLC的优势而发展起来的新型电分离微柱液相色谱技术。CEC一般采用熔融的石英毛细管柱,在柱内填充或管壁键合固定相,用高压直流电源(或加一定的压力)代替高压泵,即用电渗流(Electroosmotic Flow, EOF)代替压力驱动流动相,溶质依据它们在流动相与固定相中的分配系数的不同和自身电泳淌度的差异得到分离,因而既能分离中性物质又能分析带电组分。CEC是把CE的高效和HPLC的选择性(大量可选择的固定相)有机地结合,它克服了CE选择性差和分离中性物质的困难,同时大大提高了液相色谱的分离效率,形成了自己独特的高效、微量、快捷的特点,开辟了高效微分离技

术的新途径。

CEC主要有以下特性:(1)采用的是电场驱动的EOF,其扁平的流型较HPLC的抛物线流型有高得多的柱效。(2)没有背压问题,可以使用更小粒度的填料和更长的毛细管柱,具有更高的分辨能力。(3)在高pH下EOF很大,CEC有可能解决大范围中性分子的分离问题。(4)在分离中性分子时,CEC不需要如胶束电动色谱(MEKC)那样使用表面活性剂,有利于和MS联用。(5)在低pH下,如果选择合适的填料,如离子交换树脂,也可对带电组分达到很好的分离。(6)CEC类似于CE采用在柱检测,检测的死体积很小,有利于提高柱效和检测灵敏度。(7)加压电色谱(PEC)是在加电压的同时,附加一定压力驱动流动相,其优点是避免分离过程中产生气泡,提高稳定性。又可用压力来控制流速,缩

* Address: Rui Jianzhong, National Chromatographic Research & Analysis Centre, Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian

芮建中 男,主管医师。1987年7月毕业于第二军医大学,获学士学位;1994年7月在第二军医大学获硕士学位;1997年7月在南京药科大学毕业获博士学位。1997年10月进入中科院大连化物所博士后流动站进行博士后研究,研究方向为毛细管电色谱在中药成分分析中的应用。

△本项目获国家杰出青年资金资助

短分离时间,并能实现 CEC 的梯度洗脱。(8)目前在 HPLC 中已使用的分离模式在 CEC 中均可以实现。

2 毛细管电色谱发展近况

进入 90 年代,随着 CE 的全面开展和电色谱柱制备技术的提高,CEC 迅速位于分析化学的前沿,因为它集 CE 和 HPLC 的优势于一身,无论从柱效、选择性,还是分析速度上,都达到或超过现有的电泳和色谱方法。1992 年,Yamamoto 等观察到在不降低柱效的前提下,线性 EOF 速度可增加到 3 mm/s,保留时间的重现性良好,相对标准差小于 2%。1994 年,Smith^[4]进行电色谱分析,在加压下减少气泡形成,柱效为 $3.8 \times 10^5/\text{m}$ 理论塔板数。1995 年,Yan^[5]等在 150 μm 内径毛细管中填充 90% 的 3 μm ODS 和 10% 的 1 μm 硅胶颗粒,通过激光诱导荧光检测,获得 $4 \times 10^5/\text{m}$ 理论塔板数的柱效;Smith^[6]等用离子交换固定相在 $\text{pH} < 3$ 时分离酸性药物,取得了令人难以至信的 $8 \times 10^6/\text{m}$ 理论塔板数的柱效,展示了非常诱人的前景。近年来,国内外有关 CEC 的分离机制、柱制备、应用研究,以及全面的综述文章迅速增加^[7~11],并于 1997 年 8 月在美国加州召开了第一届毛细管电色谱会议,表明在分析领域中已出现毛细管电色谱这一新的研究热点。

3 毛细管电色谱研究动向

3.1 柱制备:常用方法是柱内填充固定相颗粒,即填充电色谱柱,主要方式有匀浆填充制备法、拉伸填充制备法、电动填充法。填充柱的柱容量大,但塞子效应、气泡、填充均匀度也是无法回避的问题。近来发展的开管电色谱柱和连续床电色谱柱有望解决这些不足^[11,12]。

3.2 梯度洗脱:Behnke 等首次在 PEC 中利用压力驱动实现了 CEC 系统溶剂的梯度洗脱,不仅大大缩短了分析时间,而且分离的柱效和分辨率均在显著提高,因而能达到梯度模式色谱的高选择性和电泳分离的高效性^[13]。Yan 等利用计算机控制电压系统,对

CEC 实现了溶剂的梯度洗脱,可避免 HPLC 梯度洗脱系统的流体脉动和可压缩性,保证实验数据的准确性和可靠性^[14]。

3.3 CEC-MS 偶联技术:1995 年 Lord 等首先实现了 CEC-MS 偶联,分离了用其它方法难以分离的染料^[15]。最近,Wu 以及 Ding 等将 CEC 与 MS 联用分析蛋白、肽、DNA 等生物大分子获得较理想结果^[16,17]。

4 影响毛细管电色谱分离的因素

4.1 电压:在柱长一定的情况下,增大电压则加大 EOF,有助于柱效的提高,但电压过高时会导致气泡产生而造成 EOF 消失。

4.2 有机溶剂:向缓冲液中加入乙腈后,溶液的粘度减小,一般随有机溶剂浓度增大电渗流增加。但是,在流动相中采用不同的溶剂对 EOF 会产生不同的影响。

4.3 pH 值:EOF 随流动相的 pH 值增大而加大。这是因为当 pH 值增大时,毛细管壁上硅醇基电离度增大, ξ 电势增大,可利用高 pH 值达到快速分离。

4.4 电解质:随电解质浓度增大,EOF 的线速度会因 ξ 电势的减小而下降。在提高电解质浓度时要考虑到焦耳问题。缓冲溶液电解质浓度在 1 mmol/L~10 mmol/L 内焦耳热的影响较小。Boughtflower 等报道了使用两性电解质缓冲溶液,如 Tris 等,可以在更高的浓度(100 mmol/L)下操作。

4.5 填料粒度: $>1 \mu\text{m}$ 情况下,EOF 的速度和流型不会随粒度的减小而改变,故可以采用小颗粒填料来提高柱效。

5 毛细管电色谱在中药分析中的应用前景

最近,Lord 等采用梯度电色谱柱结合电喷雾离子质谱检测,分析了异羟基洋地黄毒苷元、羟基洋地黄毒苷元、华蟾蜍它灵、洋地黄毒苷元、华蟾蜍精、蟾蜍灵等甾类化合物^[18]。魏伟等用离子交换电色谱分离盐酸巴马汀、盐酸药根碱、盐酸小檗碱等生物碱类成分^[19]。斑允东尝试用 CEC 分离中药复杂成分人参皂苷。因此,CEC 可以借鉴已有 HPLC 和 CE 在中药成分分析中的应用积

累,并充分利用高效快速、选择性好、灵敏度高、样品用量小、流动相消耗少和自动化的优点,建立更加系统的复杂成分分析方法。通过 CEC-MS 联用,CEC 梯度洗脱,CEC 配合 DAD、LIF 等检测技术,以及 CEC 微量制备与分子生物学、现代分子药理学进一步结合,势必在中药复杂成分分析中发挥很大作用,并成为中药全面质量控制、体内药物分析、新药研制和开发的新的切入点和突破口。

当然,在实际应用中还有一些问题需要考虑和解决,如焦耳热、塞子效应、气泡问题等。焦耳热效应是指在 CEC 中由于温度梯度而引起的谱带展宽,这些是电分离技术的共性,但在 CEC 中常易形成气泡,使基线噪音增大,严重时导致电渗流消失,使分离失败。而如何研制和开发耐用、死体积更小的塞子也是 CEC 柱制备的重点。CEC 操作中的困难是分离过程中常伴有气泡产生,如何更好地排除气泡问题是 CEC 走向仪器化和全面普及的关键。另外,CEC 的分离机理及影响分离的因素也需要不同研究人员,在分析不

同样品时作更深入的研究,如溶剂对保留值和分离选择性的影响、有机溶剂的正确选择。

参考文献

- 1 Dittmann M M, *et al.* LC-GC, 1995; 13: 800
- 2 Crego A L, *et al.* Crit Rev Anal Chem, 1996; 26: 261
- 3 Lelievre F, *et al.* J Chromatogr A, 1996; 723: 145
- 4 Smith N W, *et al.* Chromatogr, 1994; 38: 649
- 5 Yan C, *et al.* Anal Chem, 1995; 67: 2026
- 6 Smith N W, *et al.* Chromatogr, 1995; 41: 197
- 7 施 维,等. 色谱, 1997; 15: 388
- 8 施 维,等. 色谱, 1997; 15: 201
- 9 Wu J T, *et al.* Anal Chem, 1997; 69: 2908
- 10 Wright P B, *et al.* Anal Chem, 1997; 69: 3251
- 11 Tan Z J, *et al.* Anal Chem, 1997; 69: 581
- 12 Ericson C, *et al.* J Chromatogr, 1997; 767: 33
- 13 Behnke B, *et al.* J Chromatogr A, 1994; 680: 93
- 14 Yan C, *et al.* Anal Chem, 1996; 68: 2276
- 15 Lloyd DK, *et al.* J Chromatogr A, 1995; 694: 265
- 16 Wu, *et al.* Anal Chem, 1997; 69: 320
- 17 Ding J, *et al.* Anal Chem, 1997; 69: 379
- 18 Lord, *et al.* J Chromatogr, 1997; 768: 9
- 19 魏 伟,等. 分析化学, 1997; 25: 1132

(1998-01-04 收稿)

1998-02-23 修回)

《中草药》杂志 1998 年第 29 卷增刊(总第 310 期)征订启事

为了扩大学术交流,提高新药研究水平,经国家科学技术部(国科发信字[1998]217 号文)批准,我们编辑出版了《中草药》杂志 1998 年第 29 卷增刊(总第 310 期)。本增刊共收载论文 80 篇,并以当今国际研究的热点“银杏叶的开发研究”为专论重点,包括银杏叶的化学成分、提取工艺、质量控制、药理作用及临床应用等方面的科研论文 27 篇,并特邀国内从事银杏叶研究的知名专家和中青年学科带头人撰写综述文章,充分反映了国内、外在“银杏叶的开发研究”方面的新成果、新进展和新动态。另外收载反映我国中药植化、药理、分析、制剂、药材和临床等方面的新理论、新方法、新成就的科研论文和有关综述文章 54 篇。本增刊选题广泛,内容丰富,学术水平较高,科学性较强,集中反映了我国中草药研究领域近 1~2 年的新进展。

增刊为 16 开本,采用激光照排,胶版印刷,彩色封面,160 页(约 30 万字左右),天津市报刊增刊特许准印证(89)第 122 号,本部发行,定价 50 元,另加包装费、邮费 5 元。凡订阅者请向我部索取订单。 天津市南开区鞍山西道 308 号《中草药》杂志编辑部
电话(022)27474913 邮政编码:300193

通 告:经研究决定,增补陈金泉教授为《中草药》杂志第五届编委会委员。