

拆分手性化合物色谱填料的研究进展*

张美龄¹, 赵琰², 屈会化^{3**}

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100029; 2. 北京中医药大学中医学院, 北京 100029;

3. 北京中医药大学北京中医药研究院, 北京 100029)

摘要: 手性是自然界的一种普遍的现象。不同手性对映体的生理活性差异较大, 对手性化合物进行拆分具有十分重要的意义。随着生命、化学、材料的发展, 对手性化合物的研究也日益深入, 色谱法在拆分手性化合物中得到了越来越广泛的应用。作为色谱柱的“心脏”, 色谱填料的选择成为了色谱法拆分手性化合物的关键, 拆分手性化合物的色谱填料成为人们关注的热点。目前使用的填料主要包括多糖类手性色谱填料、大环手性色谱填料、手性配体交换色谱填料、分子印迹聚合物色谱填料、分子印迹冰胶聚合物色谱填料、“刷型”手性色谱填料、手性金属-有机骨架色谱填料、硅胶键合环果糖色谱填料、蛋白质类手性色谱填料、小粒径色谱填料、免疫亲和色谱填料。本文就拆分手性化合物的色谱填料的研究进展进行综述。

关键词: 手性药物; 手性对映体; 拆分技术; 色谱方法; 色谱柱填料

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2017)05-0755-08

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.05.02

Research progress of chromatographic packing on resolution of chiral compounds*

ZHANG Mei-ling¹, ZHAO Yan², QU Hui-hua^{3**}

(1. The School of Chinese Material Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2. The School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

3. Institute of Beijing Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

Abstract: Chirality is a common phenomenon in nature, which is an essential attribute to people's survival. Due to the different chiral enantiomers with different physiological activities, separation of the chiral compounds is of great significance. With the development of life, chemical and material sciences, study of chiral compound are increasingly enhanced and the chromatography has been more and more widely applied in separating chiral compounds. As the “heart” of chromatographic column, the selection of the chromatographic packing is the key to separate chiral compounds. Therefore, the chromatographic packing of separating chiral compounds gradually becomes the hot issue. The chromatographic packing mainly included polysaccharide-based chiral chromatographic packing, macrocyclic chiral chromatographic packing, chiral ligand exchange chromatographic packing,

* 国家自然科学基金(81473338): 基于特异性敲除技术的葛根素和黄芩苷与葛根芩连汤功效关联机制的研究

** 通信作者 Tel:(010)64286705; E-mail: quhuihuadr@163.com

第一作者 Tel: 18811790361; E-mail: 18811790361@163.com

molecularly imprinted polymer chromatographic packing, molecular imprinting cryogel polymer chromatographic packing, brush chiral chromatographic packing, chiral metal-organic framework chromatographic packing, silica supported cyclofructan chromatographic packing, protein-based chiral chromatographic packing, micro size chromatographic packing, and immunoaffinity chromatography packing. In this paper, we systematically reviewed the research progress of chromatographic packing used separation of chiral compounds.

Keywords: chiral drugs; chiral enantiomers; separation technology; chromatographic methods; chromatographic column packing

手性是自然界的属性^[1]。生命过程中发生的各种生化反应过程均与手性的识别和变化有关。在很多情况下,含有手性中心的活性成分,异构体之间的理化性质极为相似,但生理活性、毒性、代谢过程等都存在着显著的差异^[2]。例如:氯霉素(chloramphenicol)的左旋体有杀菌的药效作用,而右旋体却没有此种药效;(S)-构型布洛芬(ibuprofen)是高效的非甾体解热镇痛药,而(R)-构型布洛芬基本没有药理活性^[3];镇静药沙利度胺^[4]所致的“海豹儿事件”,经研究是因为该种药物的(R)-对映异构体具有缓解妊娠反应作用,但(S)-对映异构体却是一种强力致畸剂。由此可以看出,手性化合物的拆分对于药物的质量控制以及药效评价具有十分重要的意义。目前,拆分手性化合物的方法众多,例如结晶拆分法、化学拆分法、生物拆分方法、膜分离法、色谱拆分方法等^[5],随着色谱填料和分离技术的发展,色谱法所具有的种类繁多及选择识别性较强等优势,使其在手性化合物的拆分方面得到了普遍的应用。在手性化合物的拆分发展过程中,高通量、高性能、高选择性的色谱填料一直是色谱发展过程中最丰富,最有活力,最富于创造性的研究方向之一。因此,如何提高对手性化合物的分离效率,提高其选择性以及柱效等,也成为了手性拆分中备受关注的问题。作为拆分手性化合物的色谱柱的核心,色谱填料的发展和运用对提高色谱的选择性,实现手性化合物分离等方面起到了至关重要的作用。本文对可以用作拆分手性化合物的多糖类手性色谱填料、大环手性色谱填料、手性配体交换色谱填料、分子印迹聚合物色谱填料、分子印迹冰胶聚合物色谱填料、“刷型”手性色谱填料、手性金属-有机骨架色谱填料、硅胶键合环果糖色谱填料、蛋白质类手性色谱填料、小粒径色谱填料、免疫亲和色谱填料的研究进展进行综述。

1 多糖类手性色谱填料

多糖类手性固定相主要包括纤维素、直链淀粉以及它们的衍生物所制得的固体相^[6]。多糖如纤维素由D-葡萄糖单元构成,相较于直接用作色谱填料来拆分手性化合物,它们衍生后能够表现出更好的手性识别能力。现在多糖类衍生物手性固定相因其具有较为强大的手性拆分能力,在液相色谱直接拆分对映体方面应用越来越广泛^[7-10]。例如徐红月等^[11]制备了淀粉-2-苯甲酸酯-3-(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)-6-((S)-1-苯基乙基氨基甲酸酯)涂抹在氨基硅胶上的色谱填料,并且应用于高效液相色谱中,经研究表明,其在正相HPLC中具有较好的手性识别能力。

2 大环手性色谱填料

2.1 手性冠醚色谱填料 手性冠醚是指在大醚环上含有或者兼连有手性中心的冠醚,在大醚环上引入手性中心,能够使其对手性分子具有独特的手性选择性^[12]。将手性冠醚作为色谱填料来拆分手性化合物,经过研究表明,具有很好的拆分效果。例如R-(1,1'-二萘基)-20-冠-6涂敷于5 μm C₁₈键合硅胶的色谱填料用于高效液相色谱的手性拆分,已经验证了其对5种手性氨基酸(缬氨酸、苯甘氨酸、对羟基苯甘氨酸、谷氨酸、色氨酸)有不同程度的手性拆分能力^[13]。R-(3,3'-二萘基-1,1'-二萘基)-20-冠-6涂敷于5 μm C₁₈键合硅胶的色谱填料应用于高效液相色谱的手性拆分,实验结果表明其对11种α-氨基酸对映体(苯甘氨酸、对羟基苯甘氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、色氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、谷氨酸、天冬氨酸)有不同程度的手性拆分能力,并且对其中的6种α-氨基酸对映体(酪氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、谷氨酸、天冬氨酸)的手性拆分能力好于商品CR(+)柱^[14](即在5 μm硅胶表面涂覆手性冠醚的手性柱)。

2.2 环糊精类手性色谱填料 环糊精(CD)是由D-吡喃葡萄糖单元通过 α -1,4-糖苷键连接而成的环状结构分子,主要包括 α 、 β 、 γ 3种类型^[15]。这种分子呈锥筒形,中间形成一个空腔洞穴,空腔内部疏水外部亲水,手性药物的极性基团与环糊精洞口的羟基互相作用,疏水部分则嵌入环糊精洞穴中,形成了稳定性不同但可逆的包合物,使环糊精具有良好的手性识别能力。近年来CD手性固定相的研究大部分集中于开发新型CD衍生物及通过不同类型键(醚键、尿素、三唑等)键合CD或CD衍生物于硅胶上。

例如,陈姗姗等^[16]合成了一种新型 β -环糊精衍生物键合到 γ -巯丙基硅胶的色谱填料,并且用来对贝凡洛尔对映体进行拆分,表现出较好的分离性能。程彪平等^[17]制备了一种二硝基苯醚化 β -环糊精键合有序介孔SBA-15色谱填料,实现了对阿替洛尔对映体的快速拆分。王利涛等^[18]构建了 β -环糊精/硅基杂化介孔硅球手性色谱填料,在反相色谱模式下,将 β -环糊精的手性识别功能与有机-无机杂化材料的优异性能相结合,结果表明杂化手性固定相具有较高的手性识别能力。由此可见, β -环糊精及其衍生物作为固定相在手性拆分色谱中的应用越来越广泛。

2.3 大环抗生素类手性色谱填料 大环抗生素类化合物分子有几个到几十个手性中心,它们有立体的环状结构,芳香基团、氨基和羟基等活性基团。大环抗生素类手性固定相具有较高的手性识别能力以及高稳定性等优点,因此在手性化合物的拆分方面已经得到了较好的应用。张丹丹等^[19]利用3种大环抗生素类手性色谱固定相Chirobiotic V(万古霉素)、T(替考拉宁)和R(利托菌素),通过高效液相色谱法对盐酸马布特罗对映体进行了拆分,结果表明盐酸马布特罗对映体在Chirobiotic V、T固定相上均可得到较好的分离,与其他2种相比,Chirobiotic R结构中含有相对多的半糖结构,缺少与盐酸马布特罗对映体的结合位点羧基,因此不适合对其进行手性分离。

3 手性配体交换色谱填料

手性配体交换色谱填料应用于手性配体交换色谱中,到目前为止主要是有3种形式:(1)将常用的手性配体如氨基酸、青霉胺等涂渍在硅胶载体上,这种经过改良后的色谱填料,能够与流动相中的金属离子以及分析物之间形成三元配位体系,从而形成稳定性不同的配合物以达到分离的目的;(2)经金属

离子涂渍在硅胶载体上,形成色谱填料,最常用的金属离子为 Cu^{2+} 、 Ti^{4+} ;(3)混合涂渍法:采用手性物质与金属离子形成的化合物涂渍在硅胶载体上形成色谱填料。这3种方法所形成的色谱填料在手性化合物的拆分中都具有很好的应用^[20]。例如陈玲等^[21]构建了反式-4-羟基-L-脯氨酸键合硅胶手性配体交换色谱填料,并将其应用于手性固定相配体交换色谱中,这种填料是以硅胶作为载体,以反式-4-羟基-L-脯氨酸作为手性配体,具有机械强度高及分离效率高等优点,在氨基酸及其衍生物对映体的分离方面具有优势。手性配体填料也有一些尚未解决的不足之处,例如目前最为常用的手性配体试剂主要是一些氨基酸、羧基酸及其衍生物等,分离的手性物质较为狭隘。其次,手性配体、金属离子与对映体之间形成三元络合物的稳定性受到多种因素的综合影响,稳定性较难控制。

4 分子印迹聚合物色谱填料

分子印迹聚合物(MIPs)是模板分子与功能单体之间相互作用后,在合适的条件下加入交联剂,经过聚合、洗脱等步骤所得的一种交联聚合物^[22]。到目前为止,合成的分子印迹聚合物有很多,例如塑化剂类双模板分子印迹聚合物、小分子分子印迹聚合物、双分子印迹聚合物、磁性分子印迹聚合物等。在分离手性化合物的过程中,将分子印迹聚合物作为色谱填料,不仅操作简单、快速、高效,而且利用其表面印迹空穴中多具有的特异性识别位点,兼其所具生物识别体系的优点,可选择性识别富集复杂样品中的目标物,从而实现手性分子的拆分^[23]。和普通的手性固定相相比,将一种对映体作为模板分子制备的手性印迹聚合物,由于它的保留性很强,因此将其作为固定相来拆分手性化合物,可以达到分离对映体的目的^[24]。这种技术现在已经广泛地应用于固相萃取、固相微萃取、手性拆分、抗体模拟等方面,并且可以实现痕量样品的快速检测^[25]。

5 分子印迹冰胶聚合物色谱填料

冰胶是一种疏松、大孔状的凝胶物质,孔径在数微米到数百微米之间。制备冰胶是在低于体系的凝固点以下,以合适的模板物质、结构单体、功能单体、交联剂、引发剂通过聚合或者交联反应制备形成。目前其聚合物单体主要有甲基丙烯酸羟乙酯(HEMA)^[26]、N,N-二甲基丙烯酰胺(DMAM)^[27]、乙烯己内酰胺(VCL)^[28]、N-异丙基丙烯酰胺(NIPAm)^[29]、2-丙

烯酰胺基-2-甲基丙烷磺酸 (AMPS)^[30]、乙二醇二甲基丙烯酸酯 (EGDMA)^[31]等。分子印迹冰胶填充柱或整体柱的色谱填料通常是由冰胶制备成颗粒包埋型分子印迹冰胶聚合物所构成。和普通的分子印迹聚合物类色谱填料相比,这种填料的色谱柱内具有大孔、介孔和微孔3种孔径结构,从而实现了快速的对流传质。由于其具有能够将冰胶的大孔结构和高通量分子印记技术的构效预知性和特异识别优势相结合的特点,分子印记冰胶聚合物拥有更高的柱效以及色谱亲和能力。因此,这种色谱现在已经开始应用于从复杂的环境水样及血清、尿液、细胞破裂上清液等生物样品中快速、高特异性地进行手性识别、生物分离等,并且具有较为广泛的应用前景^[32]。

6 “刷型”手性色谱填料

“刷型”手性固定相是将作为选择体的单分子层手性有机分子通过一定的间隔臂键合到硅胶载体上制得,因而被称之为“刷型”或“束型”手性固定相。手性识别机理是 Dalgliesh 在 1952 年提出的“三点相互作用理论”,其具有色谱性能高,对映体选择性好,溶剂适应性好等优点^[33],常用作“刷型”手性色谱填料是苯昔胺酸衍生物。例如 Pirkle 等^[34]研究了一类苯甘氨酸衍生物手性固定相,虽然其手性识别能力不及 1-(3,5-二硝基苯甲酰胺)-1,2,3,4-四氢菲键合多孔硅胶的 Whelk-O1,但可以识别的化合物种类多,如非甾体抗炎药、苯二氮杂酮等,应用也较为广泛。

7 手性金属-有机骨架色谱填料

金属-有机骨架材料是由金属离子与含氮氧等多齿有机配体利用分子组装和晶体工程方法构建的一类具有周期性一至三维网络结构的多孔晶体材料,又名多孔配位聚合物^[35]。这种材料具有优于有机或者无机材料的独特性能,它本身的多孔结构,使其具有特异性识别特点,在手性识别方面具有广泛的应用。将这种材料作为色谱填料,可以实现某些化合物的手性分离。例如农蕊瑜等^[36]利用手性金属-有机骨架 $\{[\text{Co}(\text{L-trp})(\text{bpe})(\text{H}_2\text{O})]\cdot\text{H}_2\text{O}\cdot\text{NO}_3\}_n$ 作为手性固定相对奥美拉唑、马来酸氯苯那敏、盐酸普萘洛尔等 11 种外消旋体进行了手性拆分,结果表明其对醇类、胺类等外消旋化合物具有较好的手性识别能力。Tanaka 等^[37]将单一手性 (R)-MOF-silica 复合材料作为液相色谱固定相,结果表明其对一系列的亚砷类化合物表现出良好的手性识别能力。

8 硅胶键合环果糖色谱填料

环果糖 (CFs) 是环糊精的结构类似物,是由 6 个、7 个或更多的 β -D-果糖单元通过 1,2 糖苷键连接而成的环状低聚糖,环果糖的每一个果糖单元都含有 3 个羟基,硅胶键合衍生化的环果糖的手性拆分能力显著提高^[38]。近几年来,一系列环果糖及衍生物作为色谱填料应用于药物的手性拆分。例如硅胶键合 R-萘乙基氨基甲酸酯衍生的 β -D-环六果糖色谱柱可有效拆分联萘催化剂等^[39]。

9 蛋白质类手性色谱填料

蛋白质是由很多氨基酸组成的具有复杂三维结构的高分子聚合物,其分子内的氨基酸和多糖等结构可提供多种相互作用力和手性识别位点,因此蛋白质具有识别手性化合物的能力,其作为色谱填料制备成的手性固定相在手性药物拆分领域具有重要地位,其优点是可使用水做流动相且手性选择能力较好。目前,这种手性固定相作为应用最为广泛的手性固定相之一,对不同类型的药物如硝基咪唑类抗菌药、唑类抗真菌药、拉唑类质子泵抑制剂、西汀类抗抑郁药以及 β -受体抑制剂等有广泛的手性识别能力^[40-44]。

10 小粒径色谱填料

10.1 亚-2 μm 手性色谱填料 亚-2 μm 手性色谱填料主要是应用于纳米液相色谱 (nano-LC) 中。Rocchi 等^[45]合成了亚-2 μm 万古霉素改性氢化硅胶色谱填料,这种色谱柱能够有效地拆分手性化合物,和 5 μm 的色谱填料相比,表现出更好的色谱性能。

10.2 1 μm 无孔 C_{18} 填料^[46] 将 1 μm 的无孔 C_{18} 作为填料,以手性加压毛细管电色谱作为平台,通过采用手性流动相添加法来进行手性化合物的分离。1 μm 的无孔 C_{18} 作为色谱填料,根据 van Deemter 方程,在液相色谱中,降低固定相的粒径能够获得更高的柱效,但是在传统液相中,小粒径的填料会造成反压过高而限制其发展,加压毛细管电色谱的压力流和电渗流联合驱动正好解决了这个问题,在使用亚微米粒径填料时仅使用较低的压力即可达到合理的线性速度。这种色谱填料由于机械强度高等优势,在手性化合物分离的应用上也具有良好的前景。

11 免疫亲和色谱填料

免疫亲和色谱是指将某种抗原的单克隆抗体,结合到适宜的载体上,制备成免疫亲和色谱柱,根据

该单抗具有与相应抗原决定簇特异性结合的特点,特异性结合相应的抗原小分子,同时其他非抗原成分随洗脱液洗出,从而实现化合物的分离。免疫亲和色谱填料是免疫亲和色谱柱的核心部分,在其制备方面,现在研究已经逐渐增多,例如已经制备出了凝血因子Ⅶ免疫亲和柱^[47]。本实验室在这方面也具有一定的前期工作基础,现在已经制备出了葛根素^[48]、甘草酸^[49]等免疫亲和色谱柱,并且应用到了实验之中,根据配基单抗对抗原小分子的亲和力不同,成功实现了对某些成分的特异性敲除^[50]。例如 Qu 等^[51]利用葛根素单克隆抗体免疫亲和柱敲除葛根水提液中的葛根素,得到纯化的葛根素。

免疫亲和色谱填料主要由载体和配基组成,常用的载体多为耐高压的有机聚合物,比如琼脂糖凝胶等。配基又可以分为生物亲和配基和仿生亲和配基,比如说单克隆抗体等。在亲和色谱中,配基的性质和密度决定了免疫亲和色谱的手性拆分能力以及吸附容量,因此,用亲和色谱拆分手性化合物的关键是选择合适的配基^[52]。

本研究团队选择的免疫亲和色谱填料为以 CNBr 活化的琼脂糖凝胶 4B 为载体,将人工合成的单克隆抗体通过连接臂结合在载体上,从而形成。琼脂糖凝胶作为载体,具有良好的亲水性和稳定性,并且与可溶性蛋白的非特异性反应小,作为色谱填料基质既可以在非变性条件下使用,又可以在变性条件下使用,是目前在免疫亲和色谱应用较多的载体^[53]。固定化的单克隆抗体具有特异性强,灵敏度高,工艺简单,富集效果好以及环境友好等特点,因此可以利用已经制备出来的单克隆抗体对不同手性化合物的特异性结合能力来实现对不同构型手性化合物的拆分。

虽然之前用来拆分手性化合物的色谱填料种类多样,各有优势,但是随着技术的不断发展,需要不断创新,开发新型的分离手性化合物的色谱方法,探索新的色谱填料。有文献表明,利用免疫亲和色谱柱拆分手性化合物,具有特异性强,快速、简便的显著优势^[54]。早在 20 世纪初, Landsteiner^[55] 研究利用 D-酒石酸抗体来分辨酒石酸的对映异构体,证明抗体能够分辨手性化合物的立体异构体,这为后来利用抗体作为色谱填料提供了思路。近年来,研究者开始利用单克隆抗体与不同手性化合物特异性结合能力不同的特性来研究拆分手性化合物。但是由于单克隆抗体的制备工艺较难,并且在前期的检测探索中获得对

手性化合物具有良好分离效果的单克隆抗体更加困难,因此到现在为止利用单克隆抗体免疫亲和色谱分离手性化合物的研究鲜有报道。根据目前的文献记载,利用免疫色谱方法进行手性化合物的研究主要是在几种手性药物和手性小分子上。

11.1 手性药物的拆分 Ikegawa 等^[56]通过免疫获得了(S)-布洛芬的抗单克隆抗体,将其与亲和胶结合,得到了一种新的免疫亲和色谱填料,然后利用此填料对用(S)-布洛芬和(R)-布洛芬修饰的物质 P(RPKPQQFFGGLM-NH₂)进行拆分,用水洗脱时,(S)-布洛芬修饰的物质 P 滞留在柱子上,而(R)-布洛芬修饰的物质跟随水被洗脱出来,从而实现了对手性布洛芬修饰的物质 P 的分离。Nevanen 等^[57]利用(d)-二芳烷基三唑单克隆抗体的免疫亲和色谱填料对(d)-二芳烷基三唑和(a)-二芳烷基三唑进行了分离。Vuolanto 等^[58]利用免疫亲和色谱法对芬罗唑消旋体进行了手性分离。

11.2 手性小分子的拆分 对于小分子方面,本实验室^[59]已经完成了利用人参皂苷 Rh₁ 的单克隆抗体对人参皂苷 20(S)-Rg₂ 亲和力强,而与人参皂苷 20(R)-Rg₂ 几乎无亲和力的特点,实现了通过使用人参皂苷 Rh₁ 单克隆抗体的免疫亲和柱对人参皂苷 20(S)-Rg₂ 和人参皂苷 20(R)-Rg₂ 手性化合物的分离。并且在实践中又实现了利用人参皂苷 Re 与琼脂糖凝胶交联的免疫亲和色谱填料对人参皂苷 20(S)-Rh₁ 和人参皂苷 20(R)-Rh₁ 的拆分。

12 展望

随着科学技术的不断发展,人们对手性化合物不同对映体的生物活性等方面的研究不断深入。目前拆分手性化合物的色谱技术可以满足分析及一般性制备拆分的需要,但是大批量手性化合物的拆分依旧存在一定的局限性,例如手性制备柱的高价格等。同时,不同种类手性色谱柱的应用范围也比较有限,因此,不断开发引进新的色谱填料制备手性柱完成手性化合物的拆分成为研究的必然。在众多拆分手性化合物的色谱填料中,免疫亲和色谱填料在整个分离过程中特异性高,操作简便、快速,不需要有机试剂,对环境友好,可以满足大批量制备等其他色谱填料所不具有的优势,使其成为拆分手性化合物的一种潜在的、可行的色谱填料。虽然目前其在手性拆分的过程中也存在一定的缺陷性,但是它为手性化合物的拆分提供了一种新的思路与方法,通过与其他技术联用并

不断改进完善,将来必能呈现其巨大的分离潜力,使免疫亲和色谱填料应用于拆分手性化合物中,成为一种具有良好发展前景的色谱填料。

参考文献

- [1] 胡文浩,周静. 手性,手性药物及手性合成[J]. 化学教学, 2009(5): 1
HU WH, ZHOU J. Chirality, chiral medicine and chiral synthesis [J]. Educ Chem, 2009(5): 1
- [2] 林纯,章伟光,范军,等. 手性分子识别与分离研究进展[J]. 华南师范大学学报(自然科学版), 2014, 46(3): 1
LIN C, ZHANG WG, FAN J, *et al.* Progress in recognition and resolution of enantiomers [J]. J South China Norm Univ (Nat Sci Ed), 2014, 46(3): 1
- [3] 赵秀红,夏媛媛,黄玉荣,等. LC-MS/MS 法测定 Beagle 犬血浆中布洛芬对映体的浓度[J]. 中国药理学通报, 2015, 31(4): 570
ZHAO XH, XIA YY, HUANG YR, *et al.* Validation of a LC-MS/MS method for quantification of ibuprofen enantiomers in Beagle dog plasma [J]. Chin Pharmacol Bull, 2015, 31(4): 570
- [4] 李玲. 两类手性农药的对映体拆分及对映体选择性毒理研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2010
LI L. Enantioselective Separation and Toxicity of Two Types of Chiral Pesticides [D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2010
- [5] 李阳,罗素琴,刘乐乐. 手性药物的合成与拆分的研究进展[J]. 内蒙古医科大学学报, 2014, 36(1): 74
LI Y, LUO SQ, LIU LL. Resolution of chiral drugs and the research progress of synthesis [J]. J Inner Mongolia Med Univ, 2014, 36(1): 74
- [6] ADDADI K, SEKKOUM K, BELLBOUKHARI N, *et al.* Screening approach for chiral separation of β -aminoketones by HPLC on various polysaccharide-based chiral stationary phases [J]. Chirality, 2015, 27(5): 332
- [7] BEZHITASHVILI L, BARDAVELIDZE A, ORDJONIKIDZE T, *et al.* Effect of pore-size optimization on the performance of polysaccharide-based superficially porous chiral stationary phases for the separation of enantiomers in high-performance liquid chromatography [J]. J Chromatogr A, 2017, 1482: 32
- [8] FRANCOIS E, HUYNH D, ZHANG T. Photochemically immobilized 4-methylbenzoyl cellulose as a powerful chiral stationary phase for enantioselective chromatography [J]. Molecules, 2016, 21(12): 1740
- [9] ISLAM MF, ADHIKARI S, PAIK MJ, *et al.* Liquid chromatographic enantiomer separation of 1-naphthylamides of chiral acids using several amylose- and cellulose-derived chiral stationary phases [J]. Arch Pharm Res, 2017. doi: 10.1007/s12272-016-0883-9
- [10] MATARASHVILI I, GHUGHUNISHVILI D, CHANKVETADZE L, *et al.* Separation of enantiomers of chiral weak acids with polysaccharide-based chiral columns and aqueous-organic mobile phases in high-performance liquid chromatography typical reversed-phase behavior [J]. J Chromatogr A, 2017, 1483: 86
- [11] 徐红月,唐守万,潘富友,等. 反相液相色谱下淀粉 2-苯甲酸酯-3-(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)-6-((S)-1-苯基乙基氨基甲酸酯)手性固定相手性识别能力的研究[J]. 科学技术与工程, 2015, 15(3): 5
XU HY, TANG SW, PAN FY, *et al.* Evaluation of amylose 2-Benzoyl-3-(3,5-dimethylcarbamate)-6-((S)-1-phenylethylcarbamate) under reversed-phase conditions [J]. Sci Technol Eng, 2015, 15(3): 5
- [12] 周喜春,严慧,吴采樱,等. 手性冠醚聚硅氧烷固定相的制备及其气相色谱性能[J]. 分析化学, 1996, 24(10): 1123
ZHOU XC, YAN H, WU CY, *et al.* Preparation of chiral crown ether polysiloxane stationary phases and gas chromatographic performance [J]. Chin J Anal Chem, 1996, 24(10): 1123
- [13] 伍鹏,汤波,路振宇,等. 冠醚固定相的制备及手性拆分[J]. 化学研究, 2015, 26(1): 49
WU P, TANG B, LU ZY, *et al.* Crown ether stationary phase for chiral separation [J]. Chem Res, 2015, 26(1): 49
- [14] 路振宇,伍鹏,字敏,等. 冠醚手性固定相的合成及其性能评价[J]. 有机化学, 2015, 35(1): 217
LU ZY, WU P, ZI M, *et al.* Synthesis and evaluation of crown ether chiral stationary phase [J]. Chin J Org Chem, 2015, 35(1): 217
- [15] 戴荣继,王慧婷,孙维维,等. 高分子手性固定相的研究进展[J]. 色谱, 2016, 34(1): 34
DAI RJ, WANG HT, SUN WW, *et al.* Advances in polymer materials as chiral stationary phase [J]. Chin J Chromatogr, 2016, 34(1): 34
- [16] 陈珊珊,孙芳,罗培,等. 新型 β -环糊精手性固定相的合成及其对贝凡洛尔的拆分[J]. 郑州大学学报(理学版), 2015, 47(4): 66
CHEN SS, SUN F, LUO P, *et al.* Synthesis of novel β -cyclodextrin derivatives and its application in the separation of bevantolol enantiomers [J]. J Zhengzhou Univ (Nat Sci Ed), 2015, 47(4): 66
- [17] 程彪平,李来生,周仁丹,等. 衍生化 β -环糊精手性固定相液相色谱拆分和测定药片中的阿替洛尔对映体[J]. 色谱, 2014, 32(11): 1219
CHENG BP, LI LS, ZHOU RD, *et al.* Enantioselective separation and determination of atenolol enantiomers in tablets on a β -cyclodextrin-based chiral stationary phase by high performance liquid chromatography [J]. Chin J Chromatogr, 2014, 32(11): 1219
- [18] 王利涛,董树清,张志欣,等. β -环糊精/硅基杂化手性固定相的制备及其手性拆分性能[J]. 色谱, 2016, 34(1): 89
WANG LT, DONG SQ, ZHANG ZX, *et al.* Preparation and enantioselective performance of β -cyclodextrin-silica hybrid chiral stationary phases [J]. Chin J Chromatogr, 2016, 34(1): 89
- [19] 张丹丹,王欣欣. 大环抗生素手性固定相拆分盐酸马布特罗对映

- 体[J]. 化学研究, 2014, 25(6): 604
ZHANG DD, WANG XX. Enantioseparation of mabuterol hydrochloride with macrocyclic antibiotic stationary phases [J]. Chem Res, 2014, 25(6): 604
- [20] 王小平, 沈芒芒, 童胜强. 手性配体交换色谱的研究进展[J]. 分析测试学报, 2015, 34(12): 1446
WANG XP, SHEN MM, TONG SQ. Study progress of chiral ligand exchange chromatography [J]. J Instrum Anal, 2015, 34(12): 1446
- [21] 陈玲, 李杨, 农蕊瑜. 反式-4-羟基-L-脯氨酸手性固定相的制备及性能评价[J]. 分析实验室, 2015, 34(12): 1365
CHEN L, LI Y, NONG RY. Preparation and evaluation of *trans*-4-hydroxyl-L-proline chiral stationary phase [J]. Chin J Anal Lab, 2015, 34(12): 1365
- [22] LI Y, DONG C, CHU J, *et al.* Surface molecular imprinting onto fluorescein-coated magnetic nanoparticles via reversible addition fragmentation chain transfer polymerization: a facile three-in-one system for recognition and separation of endocrine disruption chemicals [J]. Nanoscale, 2011, 3(1): 280
- [23] YIN J, YANG G, CHEN Y. Rapid and efficient chiral separation of nateglinide and its 1-enantiomer on monolithic molecularly imprinted polymers [J]. J Chromatogr A, 2005, 1090(1-2): 68
- [24] 高磊. 分子印迹技术的研究进展[J]. 天津化工, 2016, 30(1): 1
GAO L. The research progress of molecular imprinting technique [J]. Tianjin Chem Ind, 2016, 30(1): 1
- [25] 买买提·吐尔逊, 古丽巴哈尔·达吾提, 热萨莱提·伊敏, 等. 基于活性自由基聚合的槲皮素分子印迹聚合物的合成及在兽药祖卡木颗粒活性成分分析中的应用[J]. 高等学校化学学报, 2015, 36(12): 2402
TURSON M, CAWUT G, EMIN R, *et al.* Preparation of quercetin imprinted polymer by living radical polymerization and its application in the composition analysis of Zukamu granules for Uighui medicine [J]. Chem J Chin Univ, 2015, 36(12): 2402
- [26] LAN HZ, GAN N, PAN DD, *et al.* An automated solid-phase microextraction method based on magnetic molecularly imprinted polymer as fiber coating for detection of trace estrogens in milk powder [J]. J Chromatogr A, 2014, 1331: 10
- [27] ASLIYUCE S, UZUN L, RAD AY, *et al.* Molecular imprinting based composite cryogel membranes for purification of anti-hepatitis B surface antibody by fast protein liquid chromatography [J]. J Chromatogr B, 2012, 889-890: 95
- [28] HAJIZADEH S, XU CG, KIRSEBOM H. *et al.* Cryogelation of molecularly imprinted nanoparticles: a macroporous structure as affinity chromatography column for removal of β -blockers from complex samples [J]. 2013, 1274: 6
- [29] LE NOIR M, PLIEVA FM, MATTIASSON B. Removal of endocrine-disrupting compounds from water using macroporous molecularly imprinted cryogels in a moving-bed reactor [J]. J Sep Sci, 2009, 32(9): 1471
- [30] BAGGIANI C, BARAVALLE P, GIOVANNOLI C, *et al.* Molecularly imprinted polymer/cryogel composites for solid-phase extraction of bisphenol A from river water and wine [J]. Anal Bioanal Chem, 2010, 397(2): 815
- [31] LE NOIR M, PLIEVA F, HEY T. *et al.* Macroporous molecularly imprinted polymer/cryogel composite systems for the removal of endocrine disrupting trace contaminants [J]. J Chromatogr A, 2007, 1154(1-2): 158
- [32] 王建, 王沁梅, 田莉莉, 等. 分子印迹冰胶聚合物研究进展[J]. 分析化学, 2015, 43(11): 1777
WANG J, WANG QM, TIAN LL, *et al.* Research progress of molecular imprinting cryogel [J]. Chin J Anal Chem, 2015, 43(11): 1777
- [33] SLATER MD, FRÉCHET JM, SVEC F, *et al.* In-column preparation of a brush-type chiral stationary phase using click chemistry and a silica monolith [J]. J Sep Sci, 2009, 32(1): 21
- [34] FERNANDES C, PALMEIRA A, SANTOS A, *et al.* Enantioresolution of chiral derivatives of xanthenes on (S,S)-whelk-O1 and L-phenylglycine stationary phases and chiral recognition mechanism by docking approach for (S,S)-whelk-O1 [J]. Chirality, 2013, 25(2): 89
- [35] 胡聪, 李丽, 杨娜, 等. 手性金属-有机骨架材料[Cu(S-mal)(bpy)]_n用于高效液相色谱拆分外消旋化合物[J]. 化学学报, 2016, 74(10): 819
HU C, LI L, YANG N, *et al.* Chiral metal-organic framework [Cu(S-mal)(bpy)]_n used for separation of racemates in high performance liquid chromatography [J]. Acta Chim Sin, 2016, 74(10): 819
- [36] 农蕊瑜, 孔娇, 陈玲, 等. 手性金属-有机骨架材料{[Co(L-trp)(bpe)(H₂O)]·H₂O·NO₃]_n}用于高效液相色谱的拆分性能[J]. 高等学校化学学报, 2016, 37(1): 19
NONG RY, KONG J, CHEN L, *et al.* Chiral metal-organic framework {[Co(L-trp)(bpe)(H₂O)]·H₂O·NO₃]_n} used for high performance liquid chromatographic separation [J]. Chem J Chin Univ, 2016, 37(1): 19
- [37] TANAKA K, MURAOKA T, HIRAYAMA D, *et al.* Highly efficient chromatographic resolution of sulfoxides using a new homochiral MOF-silica composite [J]. Chem Commun (Camb), 2012, 48(68): 8577
- [38] 舒扬, 高铭琴, 易大为. 环果糖色谱柱分离4组结构类似物[J]. 色谱, 2015, 33(4): 428
SHU Y, GAO MC, YI DW. Separations of four groups of analogues on cyclodextran based columns [J]. Chin J Chromatogr, 2015, 33(4): 428
- [39] KALIKOVA K, IANECKOVA L, AEMSTRONG DW, *et al.* Characterization of new R-naphthylethyl cyclodextran 6 chiral stationary phase and its comparison with R-naphthylethyl β -cyclodextrin-based column [J]. J Chromatogr A, 2011, 1218(10): 1393

- [40] DU JB, MA ZY, ZHANG YF, *et al.* Enantioselective determination of ornidazole in human plasma by liquid chromatography–tandem mass spectrometry on a Chiral–AGP column [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2013, 86: 182
- [41] BARCLAY VK, TYREFORS NL, JOHANSSON IM, *et al.* Trace analysis of fluoxetine and its metabolite norfluoxetine. Part II : Enantioselective quantification and studies of matrix effects in raw and treated wastewater by solid phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1227: 105
- [42] HUANG Q, ZHANG K, WANG Z, *et al.* Enantiomeric determination of azole antifungals in wastewater and sludge by liquid chromatography–tandem mass spectrometry [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2012, 403 (6): 1751
- [43] GAO YH, XU JX, SU ZX, *et al.* The chiral bioconversion and preclinical pharmacokinetic analysis of (R)-(+)-rabeprazole in Beagle dogs by HPLC and HPLC–MS/MS [J]. *Biomed Chromatogr*, 2013, 27 (11): 1380
- [44] DUBEY SK, HEMANTH J, VENKATESH KC, *et al.* New chiral reverse phase HPLC method for enantioselective analysis of ketorolac using chiral AGP column [J]. *J Pharm Anal*, 2012, 2 (6): 462
- [45] ROCCHI S, ROCCO A, PESEK JJ, *et al.* Enantiomers separation by nano–liquid chromatography: Use of a novel sub–2 μm vancomycin silica hydride stationary phase [J]. *J Chromatogr A*, 2015, 1381: 149
- [46] 鲁阳芳, 汪慧, 王桂明, 等. 1 μm C₁₈ 固定相的制备及在手性加压毛细管电色谱中的应用 [J]. *色谱*, 2015, 33 (3): 209
LU YF, WANG H, WANG GM, *et al.* Preparation of 1 μm non-porous C₁₈ silica gel stationary phase for chiral–pressurized capillary electrochromatography [J]. *Chin J Chromatogr*, 2015, 33 (3): 209
- [47] MOUSAVI HOSSEINI K, NASIRI S. Preparation of factor VIII concentrate using CNBr–activated Sepharose 4B immunoaffinity chromatography [J]. *Med J Islam Repub Iran*. 2015, 29: 170
- [48] 冯会宾. 利用单克隆抗体免疫亲和色谱特异性敲除葛根芩连汤中的化学成分 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2015
FENG HB. Using Immunoaffinity Chromatography Column Specificity Knocks out Gegen Qinlian Decoction [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2015
- [49] ZHANG Y, QU HH, ZENG WH, *et al.* Development of an enzyme–linked immunosorbent assay and immunoaffinity chromatography for glycyrrhizic acid using an anti–glycyrrhizic acid monoclonal antibody [J]. *J Sep Sci*, 2015, 38 (13): 2363
- [50] 赵琰, 屈会化, 王庆国. 利用单克隆抗体特异性敲除技术解析中药药效物质基础的新方法 [J]. *中国中药杂志*, 2013, 38 (17): 2906
ZHAO Y, QU HH, WANG QG. New method of analyzing pharmacodynamic material basis of traditional Chinese medicines by using specific knockout technology with monoclonal antibodies [J]. *China J Chin Mater Med*, 2013, 38 (17): 2906
- [51] QU HH, ZHANG GL, LI YF, *et al.* Development of an enzyme–linked immunosorbent assay based on anti–puerarin monoclonal antibody and its applications [J]. *J Chromatogr B*, 2014, 953–954: 120
- [52] 闫巍. 复合配基亲和色谱填料的制备 [D]. 杭州: 浙江大学, 2007
YAN W. Preparation of Column Filling of Multiple–ligand Affinity Chromatography [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2007
- [53] 孙永亮. 金属螯合亲和色谱填料的制备及其在六聚组氨酸融合蛋白分离中的应用 [D]. 西安: 陕西师范大学, 2007
SUN YL. Preparation of metal chelate affinity chromatographic medium and application in purification of histidine–tagged proteins [D]. Xi’an: Shaanxi Normal University, 2007
- [54] 屈会化, 赵琰, 王庆国. 中药小分子单克隆抗体技术平台的构建 [J]. *中草药*, 2014, 45 (7): 895
QU HH, ZHAO Y, WANG QG. Establishment of small molecular monoclonal antibody technology platform in Chinese materia medica [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2014, 45 (7): 895
- [55] 王保玲. 旋光异构氧氟沙星抗体制备及其识别性能差异研究 [D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2010
WANG BL. Preparation and Comparison of Antibodies on Ofloxacin and its Enantiomers [D]. Xianyang: Northwest A & F University, 2010
- [56] IKEGAWA S, ISRIYANTHI NM, NAGATA M, *et al.* The enantioselective immunoaffinity extraction of an optically active ibuprofen–modified peptide fragment [J]. *Anal Biochem*, 2001, 296 (1): 63
- [57] NEVANEN TK, SÖDERHOLM L, KUKKONEN K, *et al.* Efficient enantioselective separation of drug enantiomers by immobilised antibody fragments [J]. *J Chromatogr A*, 2001, 925 (1–2): 89
- [58] VUOLANTO A, LEISOLA M, JOKELA J. Enantioselective affinity chromatography of a chiral drug by crystalline and carrier–bound antibody fab fragment [J]. *Biotechnol Prog*, 2004, 20 (3): 771
- [59] QU HH, WANG Y, SHAN WC, *et al.* Development of ELISA for detection of Rh₁ and Rh₂ and potential method of immunoaffinity chromatography for separation of epimers [J]. *J Chromatogr B*, 2015, 985: 197

(本文于 2016 年 3 月 14 日收到)