

毛细管微乳电动色谱法的研究进展

郑园, 李云, 闫晨, 李正翔^{*}(天津医科大学总医院, 天津 300052)

摘要: 目的 介绍近年来毛细管微乳电动色谱法的研究和应用进展, 为该技术在药物分析中的应用提供参考。方法 通过检索阅读毛细管微乳电动色谱的文献报道, 对微乳电动色谱在正辛醇-水分配系数(log*P*)测定、天然产物和手性化合物分离等方面的应用进行总结。结果 毛细管微乳电动色谱对于难溶性物质和复杂混合物的分离具显著优势, 同时是目前报道的测定 log*P* 值最为简便快速准确的色谱方法。微乳液的微观结构分析尚需进一步深入研究。结论 毛细管微乳电动色谱兼具色谱和电泳分离的特点, 应用范围较广, 可以同时分离水溶性、脂溶性、酸性、碱性及中性物质。但毛细管微乳电动色谱分析的稳定性和重复性还有待提高。

关键词: 微乳电动色谱; 药物分析; 微乳; 手性分离

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2019)01-0120-08

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.01.025

引用本文: 郑园, 李云, 闫晨, 等. 毛细管微乳电动色谱法的研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(1): 120-127.

Research Progress of Microemulsion Electrokinetic Chromatography

ZHENG Yuan, LI Yun, YAN Chen, LI Zhengxiang^{*}(Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To introduce the research progress and application developments of capillary microemulsion electrokinetic chromatography(MEEKC) in recent years, and provide an useful reference for the application of this technology in drug analysis. **METHODS** Retrieving and reading research reports of MEEKC to summarize the applications of microemulsion electrokinetic chromatography in the determination of *N*-octanol-water partition coefficient (log*P*), separation of natural products and chiral compounds. **RESULTS** MEEKC had significant advantages for the separation of poorly soluble substances and complex mixtures. In the meanwhile, it was one of the most convenient and accurate chromatographic method for determining log*P* values. However, microstructure analysis of microemulsion still need further research. **CONCLUSION** MEEKC combines the features of both chromatographic and electrophoretic separations. It has a wide range of application scope and can separate water-soluble, fat-soluble, acidic, basic and neutral substances simultaneously. Furthermore, the stability and reproducibility of capillary microemulsion electrochromatographic analysis still need to be improved.

KEYWORDS: microemulsion electrokinetic chromatography; pharmaceutical analysis; microemulsions; chiral separation

自 1943 年 Hoar 和 Schulman 报道了微乳液以来, 微乳液的研究受到了广泛关注^[1]。微乳(microemulsion, ME)是由油相、水相、表面活性剂以及助表面活性剂在适当比例下自发形成的一种透明或半透明的、低黏度的、各相同性且热力学稳定的油水混合体系。1991 年, Hitoshi 等^[2]首次将微乳液作为分离介质应用到毛细管电动色谱(microemulsion electrokinetic chromatography, MEEKC)中。由于微乳溶液对疏水性物质有较强的溶解能力, 并具有独特的分离选择性和表面电荷性质, 因此 MEEKC 迅速应用于环境样品、食品、药品、生物样品及天然产物等物质的分析。比较 MEEKC 与其他毛细管电泳(capillary

electrophoresis, CE)法的异同, 归纳 MEEKC 在正辛醇-水分配系数测定以及天然产物和手性化合物分析方面的应用, 对医药工作者更好地利用 MEEKC 展开药物分析工作具有重要意义。

1 MEEKC 分离原理和微乳液的构成

MEEKC 是使用微乳作为分离介质的一种电泳模式, 各离子组分以及中性组分依据其在微乳油相与水相缓冲液之间的分配系数和电泳淌度的差异而分离, 具有色谱法和电泳法的双重分离机制, 可以同时分离水溶性、脂溶性, 带电荷或不带电荷的物质。当前在 MEEKC 中最常用的体系是水包油型微乳(O/W ME), 最常用的微乳组成是 6.6% 十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulphate,

基金项目: 天津医科大学总医院青年孵育基金(ZYYFY2017020)

作者简介: 郑园, 女, 硕士 Tel: 18602665560 E-mail: to_zhengy@163.com

^{*}通信作者: 李正翔, 男, 主任药师 Tel: (022)60363702

E-mail: 13820893896@163.com

SDS, 表面活性剂)-3.3%丁醇(助表面活性剂)-0.8%庚烷或辛烷(油相)-89.3%缓冲液(水相)^[3]。分离过程中, 被分析物可以进入微乳油滴中, 化合物的脂溶性越强, 和微乳油滴的亲合作用越强。构成微乳的各种组分的变化都会影响 MEEKC 的分离结果, 因此可为复杂成分的分离提供多种优化选择。

1.1 表面活性剂

表面活性剂通过降低水-油两相表面张力构成界面膜从而有助于形成稳定的微乳。它的浓度和种类对微乳液滴的大小、表面电位, 以及离子对作用都有显著影响。随着表面活性剂浓度的增加, 微乳液滴的表面电荷密度会增大, 其稳定性会增强。

1.1.1 阴离子表面活性剂 SDS 是 MEEKC 中最常使用的阴离子表面活性剂。Oledzka 等^[4]在检测动物饲料中 4 种脂溶性维生素的实验中, 考察了 SDS 浓度对分离的影响。结果表明 SDS 在 50~110 mmol·L⁻¹ 内, 随着 SDS 浓度的增加, 分离效率提高。近几年来, 其他阴离子表面活性剂, 如胆酸钠(sodium cholate, SC)^[5-8], 也在 MEEKC 中被广泛应用。Lin 等^[5]用 MEEKC 法分离 6 个邻苯二甲酸酯类化合物, 发现使用 SC 代替 SDS 时, 由于其手性性质的原因, 分离效果得到改善。胆酸钠的浓度从 80 mmol·L⁻¹ 增至 120 mmol·L⁻¹, 分离效果随着浓度的增加而不断提高, 但浓度>100 mmol·L⁻¹ 时谱带增宽。另外, 使用丁二酸二异辛酯磺酸钠[bis(2-ethylhexyl) sulfosuccinate sodium salt, AOT]制备的微乳也表现出很好的分离能力^[9-10]。

1.1.2 阳离子表面活性剂 使用阳离子表面活性剂制备微乳时, 在形成带正电的微乳体系的同时使得体系的电渗流反向, 因此需要采用反向电压。它可以消除带正电荷的分析物与 SDS 的离子对效应带来的影响。十六烷基三甲基氯化铵(cetyltrimethyl ammonium chloride, CTAC)/十四烷基三甲基溴化铵(tetradecyltrimethyl ammonium bromide, TTAB)被用于 β 受体阻滞剂和其相关物质的手性拆分实验中^[10]。

1.1.3 非离子表面活性剂 由于非离子表面活性剂不带电荷, 待测物在 CE 的分离主要是由于分配系数的不同。微乳电动色谱中使用的非离子表面活性剂有 Brij-35 和 Tween20。Cao 课题组用 Brij-35 组成的微乳液同时测定丹参样品中的 5 种酚酸^[11-12], 他提出溶质与微乳液滴之间有更深层

次的相互关系, 需要进一步深入的研究。Lin 等^[13]应用由 Brij-35 组成的微乳电动色谱测定了人体血液及尿液中的尿酸。Tween20 常在手性拆分实验中做表面活性剂, 如手性拆分 β -激动剂^[14]和 β -阻断剂^[15]。

1.1.4 混合表面活性剂 为了获得更稳定的微乳构成或得到更好的分离效果, 有报道使用 2 种或多种不同类型的表面活性剂制备 MEEKC 中使用的微乳。用 MEEKC 分析软饮中的邻苯二甲酸盐实验中^[16], 单用 SDS 做表面活性剂制备微乳时邻苯二甲酸(2-乙基己基酯)(DEHP)和邻苯二甲酸二丁酯(DBP)难以实现分离, 而当加入适量非离子表面活性剂 Pluronic F-127 后, 微乳液的分辨率得到了提高, 而且微乳液很稳定, 有利于对物质的检测。Cao 等^[17]用 SDS-DTAC 混和表面活性剂分离了 5 种类黄酮类化合物。最佳微乳组成是 0.5%乙酸乙酯-2.0%SDS-9 mmol·L⁻¹ DTAC-4.0%正丁醇-10 mmol·L⁻¹ 四硼酸钠或 25 mmol·L⁻¹ 磷酸缓冲液。

1.2 助表面活性剂

助表面活性剂主要起着协助表面活性剂降低界面张力, 增加界面流动性及减少微乳形成时的界面弯曲能, 使微乳自发形成的作用。应用最为广泛的助表面活性剂为短链醇类, 其种类和含量对溶质分离选择性的影响弱于表面活性剂。Lin 等^[5]研究了正丁醇浓度对微乳性质及分离效果的影响, 发现随着正丁醇浓度的增加, 微乳液滴体积变大, 乳滴表面电荷密度下降, 继而引起分析时间的缩短。Cao 等^[18]在使用 MEEKC 分离类黄酮和酚酸实验中, 考察了正丁醇、丙醇、异丙醇、正戊醇、四氢呋喃等 5 种助表面活性剂对分离效率的影响。结果表明, 正丁醇对分离影响最大。

笔者在实验中发现, 随着助表面活性剂含量的增加, 分析窗口缩短, 同时色谱峰宽减小, 柱效提高, 基线也更加平稳。在实际分析样品时, 既要保证足够宽的分析窗口, 又要兼顾分析效率, 因此要根据实际情况综合考虑助表面活性剂的影响。

1.3 油相

油相的种类和浓度对分析物在微乳液滴中的保留起着重要作用。油相的浓度增加, 对亲脂化化合物的增容作用会增强, 从而影响着化合物与微乳液滴之间的相互作用。常用的一些油相有: 正辛烷、正庚烷、正己烷等正构烷烃。而最近传统的烷烃油相逐渐被其他油相(植物油、乙酸乙酯、

离子液体等)代替。例如, Sirén 等^[19]首次用植物油做油相的 MEEKC 分离类固醇激素, 其分离效果与烷烃油相 MEEKC 相似。Li 课题组^[20]利用离子液体[BMIM]PF₆ 为油相, 完成了对核苷类化合物的分离, 此方法具有对传统中药进行快速分析的应用潜力。随后, Li 课题组^[21]实现了用离子液体[BMIM]PF₆ 代替有机溶剂形成水包 IL 型的微乳作为 MEEKC 的运行缓冲液, 检测了姜黄中的 3 种姜黄素类化合物。2016 年, Yang 课题组^[22]分别使用 1-丁基-1-甲基吡咯烷双三氟甲磺酰亚胺盐(BMPy[NTf₂])、1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐(BMImPF₆)、正辛烷为油相, 分离检测葛根中 8 种异黄酮类化合物。研究结果表明, 此 3 种微乳体系均可将待测异黄酮分离, 其中, 正辛烷作为 MEEKC 油相时具有良好的对称性和高分离度且分析时间短, 是最佳的油相选择。

1.4 添加剂

添加剂对物质的分离有明显的改善, 在分离 10 种非甾体抗炎药物的实验中, Kuo 等^[23]在微乳液中添加乙腈, 发现有机添加剂的种类和比例对这 10 种非甾体抗炎药物的分离起着至关重要的作用。Cao 等^[18]通过添加羧基单壁碳纳米管(C-SWNTs)和表面活性剂修饰的碳纳米管(SC-SWNTs)的微乳电动色谱分离天然产物中的黄酮和酚酸, 通过比较发现, 添加了 SC-SWNTs 的微乳与传统的微乳液相比, 能够提高分离效率和理论板数并且在分离时间上也有一定影响。2011 年, Cao 等^[24]通过在微乳液中加入单壁碳纳米管(SWNTs)成功分离了儿茶素、酚酸、黄酮类化合物。2013 年^[25], 其通过加入多壁碳纳米管(MWNTs)的微乳电动色谱成功的分离了血栓通胶囊里的 13 种成分。

离子液体(IL)是一类熔点接近或低于室温的熔融盐。因其独特的物理化学性质, IL 被广泛应用于 CE。Ni 等^[26]发现常规微乳体系中加入 1-丁基-3-甲基咪唑四氟硼酸盐(1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoro-borate, BmimBF₄)可以使微乳的表面电荷密度变小、粒径减小以及微乳内核极性增大, 并用这种方法分离了 7 种激素类化合物。其他研究者也应用离子液体作为添加剂的反向 MEEKC 分析化妆品中的皮质类固醇^[27]。

环糊精在电泳缓冲液中作为伪固定相, 根据

疏水性、氢键能力以及位阻的差异, 可不同程度地将相似的分析物纳入其腔内而达到分离。Melani 等^[28]使用核磁共振和分子建模来评价加入环糊精的微乳电动色谱的分离机制, 结果表明 SDS 在电动色谱中除了作为阴离子携带体的作用外, 也参与了环糊精的包合作用, 这增强了系统的分离作用。Wongwan 等^[29]通过环糊精修饰的 MEEKC 测定了硫酸右旋苯丙胺的杂质分布图。Orlandini 等^[30]用甲基-β-环糊精(methyl-β-cyclodextrin)和二甲基-β-环糊精[heptakis(2,6-di-O-methyl)-β-cyclodextrin] 2 种环糊精修饰的 MEEKC 法测定了氯马斯汀及其杂质。Abromeit 等^[31]用环糊精修饰的 MEEKC 及样品堆积技术对 5-脂质加氧酶代谢物进行了分离。Cheng 等^[32]用环糊精聚合体装配成分子膜修饰的 MEEKC 拆分了舍曲林手性异构体。

1.5 水相

MEEKC 微乳体系通常使用低浓度的硼酸盐或磷酸盐的缓冲液作为水相, 相对来说它们具有较低的分析电流和较大的电渗流。除了使用硼酸盐和磷酸盐配制缓冲液外, 三羟甲基氨基甲烷(Tris)盐和甲酸铵^[33]也常被使用。缓冲液常用的浓度范围为 5~10 mmol·L⁻¹, 高浓度的缓冲液可以降低电渗流, 增大电流。但是高离子强度限制了高电压的使用^[34]。对于普通的未涂层石英毛细管, 电渗流在高 pH 条件下较大, 因此多数 MEEKC 分离介质的 pH 值>7。但维生素与氨基酸类化合物常需要在弱酸性环境下分析。例如, Lin 等^[35]用 MEEKC 方法检测 20 种异硫氰酸荧光素衍生的氨基酸类化合物, 为了得到较好的异硫氰酸荧光素信号, 将缓冲液的 pH 降至 6。

2 MEEKC 与其他 CE 模式的比较

与其他 CE 模式相比, MEEKC 具有容量大, 分析范围广的特点。由于 MEEKC 与毛细管胶束电动色谱(micellar electrokinetic capillary chromatography, MEKC)分离机制相似, 因此研究者们经常比较这 2 种模式在分离物质上的异同。微乳在增加高疏水性物质的溶解力和调节分离窗方面具有明显的优势。这是因为油相和表面活性剂的加入使微乳结构的刚性相对于胶束有所降低, 溶质更易于透过微乳液滴, 转移更为迅速^[36]。Angkanasiriporn 等^[37]通过测定保留指数(*I*)和保留因子(*k*)比较了二取代苯在 MEEKC 和 MEKC 中的保留特性。通过比较发现, MEEKC 和 MEKC 中

测定的 I 值基本相似, k 值不同。因此, I 值可以作为化合物在 MEEKC 和 MEKC 这 2 种不同分离背景和相比例的方法中比较相对亲和力时的 1 个参数。Sirén 等^[19]在分离 5 种类固醇激素实验中比较了 MEEKC 和 MEKC, 发现 MEEKC 检测限高于部分填充的 MEKC(partial filling micellar electrokinetic chromatography, PF-MEKC)2~10 倍, 分析窗口也略大。然而, MEKC 在分离方面也有一定的优势。Ortner 等^[34]通过比较 CZE、MEEKC 和 MEKC 这 3 种电泳模式, 发现乙腈修饰的 MEKC 能够得到很好的分离。Preinerstorfer 等^[38]综述了 2007~2008 年 CZE、MEEKC 和 MEKC 在手性分离方面应用及分离机制。一般来说, CE 和 MEKC 在手性分离方面价格低廉而且环保。

多数学者在比较了正丁醇修饰的 MEKC 和 MEEKC 后, 发现两者分离效率基本一致。Nussbaumer 等^[39]采用 MEEKC 和 MEKC 2 种方式对药物中含有的顺铂、卡铂、奥沙利铂 3 种成分进行质量控制分析。结果表明, 2 种方法的分离效率都很好, 但是 MEKC 在检测时间和灵敏度方面更具优越性。Hu 等^[40]用胆酸钠做手性选择剂, 比较了 5 种 EKC 模式对 4 种盐酸帕洛诺司琼立体异构体分离效果的异同, 包括 MEKC、溶剂修饰的 MEKC、助表面活性剂修饰的 MEKC、MEEKC 和没有助表面活性剂的 MEEKC。4 种盐酸帕洛诺司琼立体异构体在 5 种 EKC 模式下都能得到分离, 包括每对对映异构体间的分离(手性分离)和非对映异构体之间的分离(非手性分离)。MEEKC 与助表面活性剂修饰的 MEKC 得到的结果相似, 而没有助表面活性剂的 MEEKC 得到的结果与 MEKC 相似。Cao 等^[41]比较了 MEEKC 和丁醇修饰的 MEKC 系统之间的微乳结构以及对三糖皮质激素分离的异同, 实验发现这 2 个系统有着相似的物理化学结构以及相同的分离性能。

综上所述, MEEKC 与不加入助表面活性剂的 MEKC 在多数情况下存在着一定区别。但 MEEKC 与添加相同助表面活性剂的 MEKC 相比, 2 个系统有着相似相同的分离性能。这可能因为助表面活性剂插到表面活性剂分子中间, 也能改变胶束的结构, 使之类似微乳。而甲醇、乙腈等不能插入表面活性剂分子中, 则不能起到这样的作用。如果把助表面活性剂修饰的胶束也称为一种微

乳, MEEKC 和 MEKC 的区别就明确了^[3]。

3 MEEKC 的应用

3.1 正辛醇-水分配系数($\log P$)的测定

$\log P$ 表征化合物亲脂性, 是药物定量构效关系(QSAR)研究中一个很重要的参数。 $\log P$ 值可利用 MEEKC 的保留因子($\log k$)通过 $\log P = b \log k + a$ 方程计算出来^[42]。相对于传统的摇瓶法测定 $\log P$, MEEKC 法更加经济、方便、快速。

据报道, 用 MEEKC 预测 $\log P$ 值的化合物包括中枢神经系统药物^[43], 金属抗肿瘤药物^[42]等。Xia 等^[44]报导了一种用峰位漂移鉴定技术测定不带电荷的化合物的 $\log P$ 值的方法。应用该方法时, 为了得到准确的迁移时间, 分析物浓度必须在微乳液滴容量以下。Jiang 等^[45]阐述了影响 MEEKC 测定 $\log P$ 值准确性和精密度的因素。文中首次提到用数学模型可以计算迁移时间差值引起 $\log P$ 误差的大小。Henchoz 等^[46]通过高通量筛选法测定了 85 个中性、酸性和碱性化合物的 $\log P$ 值, 测定值在 0~5 之间。Zamek-Gliszczyński 等^[8]测定了 94 个分子结构和物理化学性质不相同的化合物的 $\log k$, 并与其血浆中游离药物浓度(plasma Fu)一起通过方程来预测中枢神经系统药物的药物动力学参数, 并比较 MEEKC 保留因子(MEEKC k'), plasma Fu, 正辛醇-水分配系数($\log P$)及 PH 7.4 下的 $\log D$ 7.4 在预测脑中游离药物浓度(brain Fu)方面的能力。结果是 MEEKC k' 比 $\log P$ 更适合, 但预测最好的是 plasma Fu。最近, Hartinger 课题组^[47]利用 MEEKC 法确定一系列钆配合物抗肿瘤药物的容量因子。研究表明, MEEKC 可将钆配合物的结构特性与生物学活性相关联, 是临床前筛选钆配合物亲脂特性和抗癌潜力的高效手段。

3.2 中药和天然药物活性分子中的应用

MEEKC 具有较高选择性, 分析组分复杂的天然产物是其主要的方向之一。Cao 等在近几年用 MEEKC 对天然产物做了一系列研究, 所涉及的天然产物有葡萄糖苷^[12]、酚醛类、菲醌^[25]、原儿茶醛、迷迭香酸、丹酚酸 B 和原儿茶酸^[11]、黄酮、酚酸^[18]和儿茶素^[24]、皂苷^[48]等。并通过添加硼酸络合物, 碳纳米管或离子液体等来改善微乳液成分, 达到了较好的分离和较高的检测灵敏性。2017 年, Chu 课题组^[49]通过使用微基质固相分散体技术与 MEEKC 结合的方法, 简单而快捷地测

定五味子中的木脂素。Zhan 课题组^[50]采用快速简便的短程注射 MEEKC 方法与微波辅助提取技术相结合,对草豆蔻中山姜素与小豆蔻明进行常规检测,该方法显著缩短了检测所需时间。Yu 课题组^[51]对中成药栝楼桂枝颗粒有效成分进行了 MEEKC 分离,成功分离了甘草苷,甘草甜素,肉桂酸,没食子酸和原儿茶酸 5 种化合物。更多应用实例见表 1。

3.3 手性分离

Aiken 等^[52]在 1993 年首次介绍了手性 MEEKC,有 2 种方法达到分离:①间接法:通过衍生化将对映体变为非对映体,然后通过传统 MEEKC 达到分离;②直接法:缓冲液中加入手性拆分剂,例如手性表面活性剂 *R*- and *S*-dodecoxycarbonylvaline(DDCV)。由于 MEEKC 中可调控因素比较多,因此在分析手性异构体时可以采取添加手性表面活性剂、手性油相、手性助表面活性剂、手性添加剂^[53]等方法进行分离。

Hu 等^[10]用手性拆分剂,手性分离了 12 对 β -阻断剂。这种新型的手性拆分剂是原位合成的手性拆分剂 di-butyl *L*-tartrate-boric acid 复合体,与

单独使用手性油相相比,分离得到了明显提高。Kojtari 等^[54]介绍了 *R*- and *S*-DDCV 在麻黄碱和伪麻黄碱手性拆分中的影响,发现 *R*-DDCV 和 *S*-DDCV 的纯度对分离性能有较大影响。2016 年, Li 课题组^[55]报道了改进的 MEEKC 法同时测定金银花中 7 种咖啡酰奎尼酸异构体的方法。通过添加 20 mmol·L⁻¹ 的手性酒石酸钠,实现了异构体的快速高效分离。具体应用实例见表 2。

4 结论

由于 MEEKC 兼具色谱和电泳分离的特点,使得其可以同时分离水溶性、脂溶性、酸性、碱性及中性物质,应用范围广泛,特别对于难溶性物质和复杂混合物的分离更具显著优势。但是目前微乳电动色谱采用的微乳液体系比较复杂, MEEKC 分析的稳定性和重复性还有待提高。更进一步研究微乳粒子的微观结构和微乳液滴的物理化学性质,考察各组成在微乳液滴中的分布情况和作用,将有助于更深入阐明 MEEKC 的分离机制。可以预见的是, MEEKC 将被更广泛地应用于实际样品中成分分析和与亲脂性参数 log*P* 相关的药物理化参数和活性参数方面的预测。

表 1 MEEKC 在中药和天然产物分析中的应用

Tab. 1 Application of MEEKC in analysis of traditional Chinese medicines and natural products

化合物	微乳构成
异喹啉类化合物	18 mmol·L ⁻¹ 胆酸钠, 2.4% 1-丁醇, 0.6% 乙酸乙酯, 10% 甲醇和 87% 5 mmol·L ⁻¹ 四硼酸钠/10 mmol·L ⁻¹ 磷酸钠混合缓冲液, pH 10.2 ^[6]
葡萄糖苷	2.0% Brij-35, 6.0% 1-丁醇, 0.6% 庚烷, 20% CAN 和 40 mmol·L ⁻¹ 四硼酸钠缓冲液, pH 9.2 ^[12]
酚酸化合物	3.0% Brij-35, 6.0% 1-丁醇, 0.6% 辛烷和 90.4% 40 mmol·L ⁻¹ 四硼酸钠缓冲液, pH 9.0 ^[11] ; 0.33% IL[1-丁基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐(bmimPF ₆)], 4.0% Tween-20 和 10 mmol·L ⁻¹ 硼酸缓冲液 pH 9.0 ^[18] ; 0.33% bmimPF ₆ , 4% Tween-20, 10 mmol·L ⁻¹ 硼酸, pH 9.0 ^[56]
麻黄碱和伪麻黄碱	2% <i>R/S</i> -DDCV, 1.65% 2-己醇, 1.23% 酒石酸二乙酯和 50 mmol·L ⁻¹ 磷酸钠缓冲液, pH 7.0 ^[54]
儿茶酚和咖啡因	1.36% 庚烷, 3.5% SDS, 9.72% 1-丁醇和 86.5% 10 mmol·L ⁻¹ 醋酸钠与柠檬酸的缓冲液 ^[57] pH 2.0
植物激素	97.2% 10 mmol·L ⁻¹ 硼酸缓冲液, 1.0% 乙酸乙酯, 0.6% SDS, 1.2% 1-丁醇 pH 9.2 ^[58]
黄酮类化合物	2.0% SDS, 9 mmol·L ⁻¹ 十二烷基三甲基氯化铵, 4.0% 1-丁醇, 10 mmol·L ⁻¹ 硼酸钠或 25 mmol·L ⁻¹ 磷酸 ^[17] ; 3.0% SDS, 6% 1-丁醇, 0.6% 庚烷, 5 mmol·L ⁻¹ 四硼酸钠缓冲液, 用 6 mg·L ⁻¹ SC-SWNTs 调节 pH 至 9 ^[18]
雌二醇	0.5% 乙酸乙酯, 1.2% 1-丁醇, 0.6% SDS, 15% 乙腈, 82.7% 12 mmol·L ⁻¹ 四硼酸, pH 9.2 ^[59]
姜黄素类化合物	2.31%(80 mmol·L ⁻¹) SDS, 0.91%(80 mmol·L ⁻¹) 1-辛烷, 6.95%(937.5 mmol·L ⁻¹) 1-丁醇, 1.88%(312.5 mmol·L ⁻¹) 丙醇, 5 mmol·L ⁻¹ 硼酸缓冲液, pH 8.1 ^[60] ; 100 mmol·L ⁻¹ SDS, 1.6 mmol·L ⁻¹ 正丁醇, 20 mmol·L ⁻¹ [BMIM]PF ₆ , 10 mmol·L ⁻¹ 硼酸缓冲液, pH 10.2 ^[27]
蒿甲醚和苯苄醇	0.81% 辛烷, 6.61% 1-丁醇, 3.31% SDS, 89.27%, 10 mmol·L ⁻¹ 硼酸缓冲液 ^[61]
胡萝卜素和虾青素	9% SDS, 80% 1-丁醇, 11% 70 mmol·L ⁻¹ 醋酸钠缓冲液, pH 8 ^[62]
核苷和核碱基	10 mmol·L ⁻¹ SDS, 0.6% 1-丁醇, 0.5% 乙酸乙酯, 98.9% 硼酸缓冲液(10 mmol·L ⁻¹ , pH 9.0 ^[63])
氟喹诺酮类抗菌药物	81.75% 125 mmol·L ⁻¹ NaH ₂ PO ₄ 溶液, pH 2.75, 2.65% SDS, 1.00% 正辛醇, 6.60% 正丁醇, 8.00% 2-丙醇 ^[64]

表 2 MEEKC 在手性分离方面的应用

Tab. 2 Application of MEEKC in chiral separation

化合物	微乳构成
奥昔布宁及其杂质	89.1% 10 mmol·L ⁻¹ 硼酸缓冲液(pH 9.2), 1.7%正庚烷, 9.2% SDS/正丁醇为 1/2, 18 mmol·L ⁻¹ (2-羟丙基)-β-CD ^[53]
麻黄碱和伪麻黄碱	2% <i>R/S</i> -DDCV, 1.65% 2-己醇, 1.23%酒石酸二乙酯, 50 mmol·L ⁻¹ 磷酸钠缓冲液, pH 7.0 ^[54]
β-肾上腺素受体阻滞剂及其类似物	50 mmol·L ⁻¹ MTTAB, 30 mmol·L ⁻¹ <i>L</i> -酒石酸二丁酯, 30 mmol·L ⁻¹ 四硼酸钠和 60 mmol·L ⁻¹ 磷酸二氢盐的混合缓冲液 ^[10] ; 1.7% TTAB, 30 mmol·L ⁻¹ 四硼酸钠/60 mmol·L ⁻¹ 磷酸二氢盐缓冲液, pH 7.7 ^[65] ; 3.0% Tween-20 和 0.8% (30 mmol·L ⁻¹) <i>L</i> -酒石酸二丁酯, 40 mmol·L ⁻¹ 四硼酸钠缓冲液 ^[15]
克立马丁和 3 个相关化合物	2.66% SDS, 5.33% 1-丁醇, 1.05% 正庚烷, 15 mmol·L ⁻¹ M-β-CD 和 40 mmol·L ⁻¹ DM-β-CD ^[30]
硫酸右旋安非他明	1.4% SDS, 1.0%乙酸乙酯, 4.0% 1-丁醇, 2.8% 2-丙醇, 90.8% 50 mmol·L ⁻¹ 磷酸缓冲液, pH 3.0, 4.0%磺酰化 β-CD ^[29]
β-兴奋剂类	0.8% <i>D</i> -(-)-酒石酸二丁酯, 40 mmol·L ⁻¹ 四硼酸钠, 3.0% Tween-20, 60 mmol·L ⁻¹ 磷酸二氢钠 ^[14]
β-苯乙胺类	4.0% 磺酰化 β-CD, 0.5%乙酸乙酯, 1.0% SDS, 4.0% 1-丁醇, 3.0% 异丙醇, 91.5% 20 mmol·L ⁻¹ 磷酸缓冲液, pH 2.5. ^[66]
α-, β-, γ-细辛醚	40 mmol·L ⁻¹ SDS, 2.0 mol·L ⁻¹ 正丙醇, 8 mmol·L ⁻¹ [BMIM]PF ₆ , 10 mmol·L ⁻¹ 硼酸缓冲液, pH 9.5 ^[67]

REFERENCES

- [1] HOAR T P, SCHULMAN J H. Transparent water-in-oil dispersions: the oleopathic hydro-micelle [J]. *Nature*, 1943(152): 102-103.
- [2] HITOSHI W. Microemulsion capillary electrophoresis [J]. *Chem Lett*, 1991, 20(3): 391-394.
- [3] LIU J F, SUI X F, SUN J, et al. Advances of microemulsion electrokinetic chromatography [J]. *Chin J Anal Chem(分析化学)*, 2008, 36(12): 1742-1748.
- [4] OŁĘDZKA I, KOWALSKI P, BAŁUCH A, et al. Quantification of the level of fat-soluble vitamins in feed based on the novel microemulsion electrokinetic chromatography (MEEKC) method [J]. *J Sci Food Agric*, 2014, 94(3): 544-551.
- [5] LIN Z, ZHANG J, CUI H, et al. Determination of phthalate esters in soil by microemulsion electrokinetic chromatography coupled with accelerated solvent extraction [J]. *J Sep Sci*, 2010, 33(23-24): 3717-3725.
- [6] LIN Z, ZHANG J, CUI H, et al. Determination of aromatic amines in environmental water sample by hollow fiber-liquid phase microextraction and microemulsion electrokinetic chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(26): 4507-4510.
- [7] YU L, YE H, ZHENG L, et al. Determination of the epimerization rate constant of amygdalin by microemulsion electrokinetic chromatography [J]. *Electrophoresis*, 2011, 32(2): 218-222.
- [8] ZAMEK-GLISZCZYNSKI M J, SPRAGUE KE, ESPADA A, RAUB T J, et al. How well do lipophilicity parameters, MEEKC microemulsion capacity factor, and plasma protein binding predict cns tissue binding? [J]. *J Pharm Sci*, 2012, 101(5): 1932-1940.
- [9] LUCANGIOLI S, FLOR S, CONTIN M, et al. A capillary electrophoretic system based on a novel microemulsion for the analysis of coenzyme Q10 in human plasma by electrokinetic chromatography [J]. *Electrophoresis*, 2009, 30(11): 1899-1905.
- [10] HU S, CHEN Y, ZHU H, et al. In situ synthesis of di-n-butyl l-tartrate-boric acid complex chiral selector and its application in chiral microemulsion electrokinetic chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(45): 7932-7940.
- [11] CAO J, QI L W, LIU E H, et al. Separation and on-line preconcentration by stacking and sweeping of charged analytes in the plant by microemulsion electrokinetic chromatography with nonionic surfactants [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 49(2): 475-480.
- [12] CAO J, YI L, LI P, et al. On-line concentration of neutral analytes by complexation and acetonitrile sweeping in nonionic microemulsion electrokinetic chromatography with direct ultraviolet detection [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(29): 5608-5613.
- [13] LIN X, WANG Y, SUN J, et al. Determination of uric acid in human plasma and urine by microemulsion electrokinetic chromatography [J]. *Anal Methods*, 2013, 5(19): 5201-5207.
- [14] WANG L, GUO Q, YANG J, et al. Enantioseparation of three β-agonists using di-*N*-butyl d-tartrate-boric acid complex as chiral selector by means of MEEKC [J]. *Chromatographia*, 2012, 75(3): 181-185.
- [15] HU S Q, LÜ W J, MA Y H, et al. Chiral separation of β-blockers by MEEKC using neutral microemulsion: Analysis of separation mechanism and further elucidation of resolution equation [J]. *Electrophoresis*, 2013, 34(2): 260-268.
- [16] HSIEH S Y, WANG C C, WU S M. Microemulsion electrokinetic chromatography for analysis of phthalates in soft drinks [J]. *Food Chem*, 2013, 141(4): 3486-3491.
- [17] CAO J, DUN W L. Separation and sweeping of flavonoids by microemulsion electrokinetic chromatography using mixed anionic and cationic surfactants [J]. *Talanta*, 2011, 84(1): 155-159.
- [18] CAO J, QU H, CHENG Y. Separation of flavonoids and phenolic acids in complex natural products by microemulsion electrokinetic chromatography using surfactant-coated and carboxylic single-wall carbon nanotubes as additives [J]. *Electrophoresis*, 2010, 31(10): 1689-1696.
- [19] SIRÉN H, VESANEN S, SUOMI J. Separation of steroids using vegetable oils in microemulsion electrokinetic capillary chromatography [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2014(945-946): 199-206.
- [20] LI F, YANG F Q, XIA Z N. Simultaneous determination of ten nucleosides and related compounds by MEEKC with [BMIM]PF₆ as oil phase [J]. *Chromatographia*, 2013, 76(15), 1003-1011.
- [21] LI F, LIU R, YANG F, et al. Determination of three curcuminoids in *Curcuma longa* by microemulsion electrokinetic chromatography with protective effects on the analytes [J]. *Anal Methods*, 2014, 6(8): 2566-2571.
- [22] XIAO W, ZHANG Q, CHEN C. Analysis of eight isoflavones in radix puerariae by MEEKC: comparison on three different oil phases [J]. *J Chromatogr Sci*, 2016, 54(9): 1678-1686.

- [23] KUO Y L, LIU W L, HSIEH S H, et al. Analyses of non-steroidal anti-inflammatory drugs in environmental water samples with microemulsion electrokinetic chromatography [J]. *Anal Sci*, 2010, 26(6): 703-707.
- [24] CAO J, DUN W, QU H. Evaluation of the addition of various surfactant-suspended carbon nanotubes in MEEKC with an in situ-synthesized surfactant system [J]. *Electrophoresis* 2011, 32(3-4): 408-413.
- [25] CAO J, LI P, CHEN J, et al. Enhanced separation of Compound Xueshuantong capsule using functionalized carbon nanotubes with cationic surfactant solutions in MEEKC [J]. *Electrophoresis*, 2013, 34(2): 324-330.
- [26] NI X, YU M, CAO Y. Microstructure of microemulsion modified with ionic liquids in microemulsion electrokinetic chromatography and analysis of seven corticosteroids [J]. *Electrophoresis*, 2013, 34(17): 2568-2576.
- [27] CHEN X, TIAN Z S, LIU Y. Analysis of corticosteroids in cosmetics by reversed microemulsion electrokinetic chromatography with 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate ionic liquid as additive [J]. *J Instr Anal (分析测试学报)*, 2011, 30(2): 203-206, 212.
- [28] MELANI F, GIANNINI I, PASQUINI B, et al. Evaluation of the separation mechanism of electrokinetic chromatography with a microemulsion and cyclodextrins using NMR and molecular modeling [J]. *Electrophoresis*, 2011, 32(21): 3062-3069.
- [29] WONGWAN S, SCRIBA G K. Impurity profiling of dexamphetamine sulfate by cyclodextrin-modified microemulsion electrokinetic chromatography [J]. *Electrophoresis*, 2010, 31(17): 3006-3011.
- [30] ORLANDINI S, GIANNINI I, NAVARRO M V, et al. Dual CD system-modified MEEKC method for the determination of clemastine and its impurities [J]. *Electrophoresis*, 2010, 31(19): 3296-3304.
- [31] ABROMEIT H, WERZ O, SCRIBA G K E. Separation of 5-lipoxygenase metabolites using cyclodextrin-modified microemulsion electrokinetic chromatography and head column field-amplified sample stacking [J]. *Chromatographia* 2013, 76(17): 1187-1192.
- [32] CHENG H, HE B, ZHANG Q, et al. Chiral separation of sertraline with microemulsion electrokinetic chromatography on a polymer/ β -cyclodextrin assembling molecular film modified capillary [J]. *Anal. Sci*, 2010, 26(10): 1087-1092.
- [33] KADI A, HEFNAWY M, JULKHUF S, et al. Sample stacking microemulsion electrokinetic capillary chromatography induced by reverse migrating pseudostationary phase for the quantification of phenobarbital and its p-hydroxyphenobarbital metabolite in rat urine [J]. *Analyst*, 2011, 136(13): 2858-2865.
- [34] ORTNER K, BUCHBERGER W, HIMMELSBACH M. Capillary electrokinetic chromatography of insulin and related synthetic analogues [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(14): 2953-2957.
- [35] LIN W C, LIU W L, TANG W Y, et al. Determination of amino acids by microemulsion electrokinetic chromatography laser induced fluorescence method [J]. *Electrophoresis*, 2014, 35(11): 1751-1755.
- [36] HONORÉ H S. Recent applications of microemulsion electrokinetic chromatography [J]. *Electrophoresis*, 2003, 24(22/23): 3900-3907.
- [37] ANGKANASIRIPORN S, SINGSUNG W, PETSOM A, et al. Comparison and prediction of the retention in micellar electrokinetic chromatography and microemulsion electrokinetic chromatography for disubstituted benzenes [J]. *Electrophoresis*, 2010, 31(4): 695-701.
- [38] PREINERSTORFER B, LÄMMERHOFER M, LINDNER W. Advances in enantioselective separations using electromigration capillary techniques [J]. *Electrophoresis*, 2009, 30(1): 100-132.
- [39] NUSSBAUMER S, FLEURY-SOUVERAIN S, SCHAPPLER J, et al. Quality control of pharmaceutical formulations containing cisplatin, carboplatin, and oxaliplatin by micellar and microemulsion electrokinetic chromatography (MEKC, MEEKC) [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, 55(2): 253-258.
- [40] HU S Q, YANG H B, SHI H J, et al. Separation of palonosetron stereoisomers by electrokinetic chromatography using sodium cholate as chiral selector: Comparison of separation modes and elucidation of migration orders [J]. *Electrophoresis*, 2013, 34(20-21): 3086-3090.
- [41] CAO Y, NI X, SHENG J. Comparison of microstructures of microemulsion and swollen micelle in electrokinetic chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2011, 1218(18): 2598-2603.
- [42] FOTEEVA L S, TROFIMOV D A, KUZNETSOVA O V, et al. A quantitative structure-activity approach for lipophilicity estimation of antitumor complexes of different metals using microemulsion electrokinetic chromatography [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, 55(3): 409-413.
- [43] WAN H, AHMAN M, HOLMÉN A G. Relationship between brain tissue partitioning and microemulsion retention factors of CNS drugs [J]. *J Med Chem*, 2009, 52(6): 1693-1700.
- [44] XIA Z, YANG J, LI L, et al. Determination of octanol-water partition coefficients by MEEKC based on peak-shift assay [J]. *Chromatographia*, 2010, 72(5): 495-501.
- [45] JIANG X, XIA Z, DENG L, et al. Evaluation of accuracy for the measurement of octanol-water partition coefficient by MEEKC [J]. *Chromatographia*, 2012, 75(7-8): 347-352.
- [46] HENCHOZ Y, ROMAND S, SCHAPPLER J, et al. High-throughput log P determination by MEEKC coupled with UV and MS detections [J]. *Electrophoresis*, 2010, 31(5): 952-964.
- [47] KAI G, HANNAH U H, SANAM M. Analysis of ruthenium anticancer agents by MEEKC-UV and MEEKC-ICP-MS: Impact of structural motifs on lipophilicity and biological activity [J]. *Electrophoresis*, 2018, 39(9-10): 1201-1207.
- [48] CAO J, LI P, YI L. Ionic liquids coated multi-walled carbon nanotubes as a novel pseudostationary phase in electrokinetic chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2011, 1218(52): 9428-9434.
- [49] CHU C, WEI M, WANG S, et al. Micro-matrix solid-phase dispersion coupled with MEEKC for quantitative analysis of lignans in *Schisandrae Chinensis Fructus* using molecular sieve TS-1 as a sorbent [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2017(1063): 174-179.
- [50] ZHAO Y F, LÜ, H T, XU L B. Rapid analysis of alpinetin and cardamonin in *Alpinia katsumadai* Hayata using short-end injection microemulsion electrokinetic capillary chromatography combined with microwave-assisted extraction [J]. *Chromatographia*, 2017, 80(2): 347-352.
- [51] YU L, LIN S, SHA M. Simultaneous determination of effective components in Gualou Guizhi granules using microemulsion electrokinetic chromatography coupled with large volume sample stacking [J]. *Anal Methods*, 2015, 7(22), 9489-9494.
- [52] AIKEN J, HUIE C W. Use of a microemulsion system to incorporate a lipophilic chiral selector in electrokinetic capillary chromatography [J]. *Chromatographia*, 1993, 35(7): 1201-1207.

- 448-450.
- [53] GIANNINI I, ORLANDINI S, GOTTI R, et al. Cyclodextrin-MEEKC for the analysis of oxybutynin and its impurities [J]. *Talanta*, 2009, 80(2): 781-788.
- [54] KOJTARI A B, FOLEY J P. Effect of microemulsion component purity on the chromatographic figures of merit in chiral microemulsion electrokinetic chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(16): 3488-3491.
- [55] TANG B, GUO D, LI Y. Separation and quantitation of isomeric caffeoylquinic acids in honeysuckle products by low-pH microemulsion electrokinetic chromatography using tartrate as a chiral selector [J]. *Anal Methods* 2016, 8(1): 189-196.
- [56] CAO J, QU H, CHENG Y. The use of novel ionic liquid-in-water microemulsion without the addition of organic solvents in a capillary electrophoretic system [J]. *Electrophoresis*, 2010, 31(20): 3492-3498.
- [57] KARTSOVA L A, GANZHA O V, ALEKSEEVA A V. Possibilities and limitations of different modes of capillary electrophoresis for the quantitative determination of catechols and caffeine in black and green tea [J]. *J Anal Chem*, 2010, 65(2): 209-214.
- [58] CHEN Z, LIN Z, ZHANG L, et al. Analysis of plant hormones by microemulsion electrokinetic capillary chromatography coupled with on-line large volume sample stacking [J]. *Analyst*, 2012, 137(7): 1723-1729.
- [59] SILVA C A, AURORA-PRADO M S, ALTRIA K D. Separation of steroids and the determination of estradiol content in transdermic patches by microemulsion electrokinetic chromatography [J]. *Chromatographia*, 2011, 73(3): 373-378.
- [60] YANG F Q, YANG J, ZHANG X M, et al. Analysis of volatile Components in Curcuma Rhizome by microemulsion electrokinetic chromatography [J]. *J Chromatogr Sci*, 2013, 51(2): 155-160.
- [61] AMIN N C, FABRE H, BLANCHIN M D, et al. Determination of artemether and lumefantrine in anti-malarial fixed-dose combination tablets by microemulsion electrokinetic chromatography with short-end injection procedure [J]. *Malar J*, 2013(12): 202.
- [62] NYUNT K T N, PRUTTHIWANASAN B, SUNTORNSUK L. Microemulsion electrokinetic chromatography of β -carotene and astaxanthin [J]. *J Liq Chromato Rel Technol*, 2013, 36(6): 671-686.
- [63] HE Y, ZHANG W, CHEN J. Analysis of nucleosides and nucleobases by microemulsion electrokinetic capillary chromatography coupled with field-amplified sample injection [J]. *Anal Methods*, 2015, 7(6): 2603-2610.
- [64] KAALE E, HÖLLEIN L, HOLZGRABE U. Development and validation of a generic stability-indicating MEEKC method for five fluoroquinolone antibiotics [J]. *Electrophoresis*, 2015, 36(21-22): 2736-2744.
- [65] HU S Q, CHEN Y L, ZHU H D, et al. Effect of molecular structure of tartrates on chiral recognition of tartrate-boric acid complex chiral selectors in chiral microemulsion electrokinetic chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(34): 5529-5535.
- [66] BORST C, HOLZGRABE U. Comparison of chiral electrophoretic separation methods for phenethylamines and application on impurity analysis [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 53(5): 1201-1209.
- [67] WANG Y, LI F, YANG F Q, et al. Simultaneous determination of α -, β - and γ -asarone in *Acorus tatarinowii* by microemulsion electrokinetic chromatography with [BMIM]PF₆ as oil phase [J]. *Talanta*, 2012(101): 510-515.

收稿日期: 2018-04-02

(本文责编: 李艳芳)