

毛细管电泳法检查左旋麻黄碱中对映异构体杂质的研究

刘长海¹, 赵亮², 张海², 朱臻宇¹, 张国庆², 柴逸峰¹ (1. 第二军医大学药学院, 上海 200433; 2. 东方肝胆外科医院药材科, 上海 200438)

摘要 目的:建立左旋麻黄碱中对映异构体杂质检查的毛细管电泳方法。方法:以 SBE- β -CD 和 HP- β -CD 二元环糊精为手性添加剂,探讨了环糊精种类及浓度、pH、有机溶剂种类等因素对麻黄碱及伪麻黄碱对映体拆分的影响,结果表明:毛细管:未涂渍熔融石英毛细管 75 μ m \times 68 cm (有效长度 60 cm)。分离用缓冲液为 25 mmol/L 的 Tris 缓冲液,含 2.0% HP- β -CD 和 1.0% SBE- β -CD,用磷酸调节 pH 至 3.0。分离电压 16 kV;温度 15 $^{\circ}$ C;虹吸进样:高度 10 cm,时间 3 s;紫外检测波长 214 nm。结果:麻黄碱及伪麻黄碱对映体得到良好分离,并满足进行左旋麻黄碱中对映异构体杂质检查所需要的条件。结论:该方法简单可靠、专属性强,可以作为常规的杂质检查手段。

关键词 麻黄碱;对映体分离;毛细管电泳法;环糊精;杂质检查

中图分类号:R927 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2009)01-0033-05

Analysis of optical impurity of ephedrine levorotatory by capillary electrophoresis

LU Chang-hai¹, ZHAO Liang², ZHANG Hai², ZHU Zhen-yu¹, ZHANG Guo-qing², CHAI Yi-feng¹ (1. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of Pharmacy, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT Objective: To develop a method for purity test and enantioseparation of ephedrine levorotatory by capillary electrophoresis (CE). **Methods:** The cyclodextrin, concentration, pH, organic solvent were studied, and the results indicated that the enantiomer of ephedrin and ephedrine levorotatory were baseline separated under the following experimental conditions: uncoated fused silica capillary (75 μ m \times 68 cm), 25 mmol/L Tris, 2% HP- β -CD and 1% SBE- β -CD, pH was adjusted at 3.0 by phosphoric acid, and 15 kV separation voltage. The detection wavelength was set at 214 nm with the column temperature of 15 $^{\circ}$ C. **Results:** Under the experimental conditions adopted, the baseline separation of ephedrin and ephedrine levorotatory was obtained. **Conclusions:** The proposed method is simple, reliable and can be used for routine purity test and chiral separation.

KEY WORDS ephedrin; enantioseparation; capillary electrophoresis (CE); cyclodextrin; purity test

麻黄碱为苯乙胺类肾上腺受体激动剂,临床上常用于治疗支气管哮喘、过敏反应、低血压等疾病^[1-4]。其分子结构中有两个手性中心,存在麻黄碱和伪麻黄碱两对对映异构体如图 1 所示。在左旋麻黄碱的合成过程中,需要建立灵敏的以控制合成中生成的右旋麻黄碱、左旋伪麻黄碱和右旋伪麻黄碱对映异构体杂质的方法。对于麻黄碱对映异构体的拆分,文献报道有毛细管电泳法^[5-13]、气相色谱法^[14]、高效液相色谱法^[15-19]及薄层色谱法^[20],有文献报道测定左旋麻黄碱中右旋麻黄碱杂质的方法^[6,7]。也有文献报道用二元环糊精作为手性选择

剂分离分析这两对对映异构体^[21],但该方法不能用来测定左旋麻黄碱中右旋麻黄碱、左旋伪麻黄碱和右旋伪麻黄碱对映体杂质的含量。所以,本研究建立了采用另外的二元环糊精系统测定了左旋麻黄碱中右旋麻黄碱、左旋伪麻黄碱和右旋伪麻黄碱对映异构体杂质的方法。

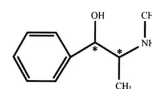


图 1 麻黄碱和伪麻黄碱的结构图

左旋麻黄碱 (1R, 2S-ephedrine),

右旋麻黄碱 (1S, 2R-ephedrine),

左旋伪麻黄碱 (1S, 2S-pseudoephedrine),

左旋伪麻黄碱 (1R, 2R-pseudoephedrine)

基金项目:国家“十一五”科技支撑计划课题(2006BA D08B03-07)。

作者简介:刘长海(1977-),男,硕士。

通讯作者:柴逸峰。Tel: (021) 25070373, E-mail: yfchai@smmu.edu.cn.

2 实验部分

2.1 仪器与材料 Waters Capillary Bn Analyzer, 75 μm \times 68 cm (有效长度 60 cm) 空心熔融石英毛细管柱, 柱上紫外检测。左旋麻黄碱、右旋麻黄碱、左旋伪麻黄碱和右旋伪麻黄碱对照品由上海医药工业研究院提供; 利多卡因 (内标, 中国药品生物制品检定所); 硫酸酯-环糊精 (SBE- β -CD)、羟丙基-环糊精 (HP- β -CD)、羧甲基-环糊精 (CM- β -CD), 纯度大于 98.0%, 为我课题组自己合成。甲醇、磷酸和三羟甲基氨基甲烷 (Tris) 均为分析纯, 水为重蒸馏水。

2.2 电泳条件 毛细管: 未涂渍熔融石英毛细管 (河北永年光学纤维厂), 75 μm \times 68 cm (有效长度 60 cm)。分离用缓冲液为 25 mmol/L 的 Tris 缓冲液, 含 2.0% HP- β -CD 和 1.0% SBE- β -CD, 用磷酸调节 pH 至 3.0。分离电压 16 kV; 温度 15 $^{\circ}\text{C}$; 虹吸进样: 高度 10 cm, 时间 3 s; 紫外检测波长 214 nm; 此条件下左旋麻黄碱、右旋麻黄碱、左旋伪麻黄碱和右旋伪麻黄碱的电泳图如图 2 所示:

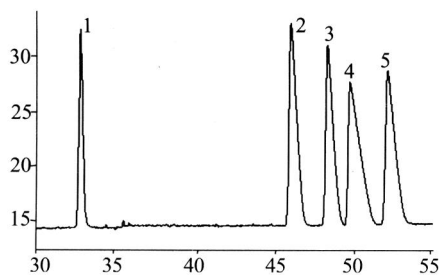


图 2 手性分离色谱图

1. 利多卡因 (内标); 2. 右旋伪麻黄碱; 3. 右旋麻黄碱;
4. 左旋伪麻黄碱; 5. 左旋麻黄碱

2.3 溶液配制

2.3.1 对照品贮备液的制备 精密称取左旋麻黄碱对照品 24.78 mg, 右旋麻黄碱对照品 10.21 mg, 左旋伪麻黄碱对照品 9.783 mg 和右旋伪麻黄碱对照品 9.874 mg 于 25 mL 容量瓶中, 分别用水溶解并定容至刻度, 摇匀, 配置成 0.991 2 mg/mL 的左旋麻黄碱溶液、0.408 4 mg/mL 的右旋麻黄碱溶液、0.391 3 mg/mL 的左旋伪麻黄碱溶液和 0.395 0 mg/mL 的右旋伪麻黄碱溶液。置 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。

精密称取利多卡因对照品 50.05 mg 于 50 mL 容量瓶中, 用水溶解并定容至刻度, 摇匀, 配置成 1.001 mg/mL 的利多卡因溶液作为内标溶液。至 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。

2.3.2 背景电解质 (BGE) 的配制 吸取一定

体积的 0.1 mol/L 的磷酸溶液, 滴加到 25 mmol/L Tris 缓冲液中至所需 pH 值。取适量手性选择剂 SBE- β -CD 和 HP- β -CD 直接加入上述溶液中, 即得到含一定浓度手性选择剂的背景电解质溶液。

3 结果与讨论

3.1 毛细管柱的选择 考察了 75 μm 和 50 μm 毛细管对分离选择性的影响, 实验表明 75 μm 柱分离选择性较差, 但选用 75 μm 毛细管柱却能明显提高检测的灵敏度, 能够满足对映异构体杂质检查的需要, 所以选择 75 μm 的毛细管柱。由于相同条件下, 75 μm 毛细管柱的电渗流远大于 50 μm 柱, 引起焦耳热的增加, 限制了高电压的使用。这些不利因素可以优化其他条件加以克服。还考察了 48 cm、68 cm 和 108 cm 柱长对分离的影响, 研究表明 68 cm 为最佳柱长。

3.2 手性选择剂种类对分离的影响 分别以 β -CD、HP- β -CD、SBE- β -CD 和 CM- β -CD 为手性选择剂, 单独使用时, β -CD 选择性最差, HP- β -CD 对伪麻黄碱有较好的分离度, 对麻黄碱分离选择性较差, SBE- β -CD 和 CM- β -CD 分别对两对对映体都有较好的选择性, 但均未能完全基线分离 4 个手性化合物, 因此, 本文尝试用二元环糊精体系 SBE- β -CD 和 CM- β -CD 进行分离, 实验表明, 两者合用能增加分离选择性, 可使 4 个手性光学纯化合物能完全基线分离。但当进样浓度太大时, 各对映异构体之间有叠加现象, 不能满足对映异构体杂质分析的需要。所以又尝试用混合手性添加剂 SBE- β -CD 和 HP- β -CD 进行分离, 实验表明, 两者合用显著改善了这 4 个手性光学纯化合物的分离度, 当样品的浓度较大也能够基线分离这 4 个手性光学纯化合物, 这就满足了对映异构体杂质检查的需要。

3.3 手性选择剂浓度对分离的影响 在 25 mmol/L 磷酸-Tris (pH 3.0) 缓冲溶液中加入不同浓度的手性选择剂以考察手性选择剂用量对手性分离效果的影响。选择剂浓度太低, 分离选择性不够; 浓度太高, 背景电解质溶液离子强度增加, 增加焦耳热, 增加扩散, 影响分离选择性。结果表明以 SBE- β -CD 1.0%、HP- β -CD 2.0% 作为混合手性选择剂, 从分离时间和分离度综合评价, 结果最佳。

3.4 缓冲溶液浓度对分离的影响 以 SBE- β -CD 1.0% 和 HP- β -CD 2.0% 作为混合手性选择剂, 研究了磷酸-Tris (pH 3.0) 缓冲溶液浓度对上述药物的手性分离效果的影响, 实验发现, 浓度太低, 离子强度不够, 毛细管壁易吸附, 影响分离选择性, 浓度太高, 增加背景电解质溶液离子强度增加, 增加焦耳

热,增加扩散,影响分离选择性。缓冲溶液的最佳浓度为 25 mmol/L。

3.5 pH值对分离的影响 通过调节缓冲液 pH值,可调节电泳中电迁移和电渗的平衡,达到增加分离度的目的,本文考察了背景电解质溶液中磷酸-Tris缓冲溶液的 pH(2.5~7.0)对上述手性药物分离的影响。实验表明在 pH 3.0时,手性分离效果最好。

3.6 有机溶剂的影响 有机溶剂的加入褒贬不一,它可能会和客体竞争 CD空腔,从而不利于客体-CD的包合,但另一方面,它又有可能参与形成 CD-客体-溶剂三元包结物,三元包结物一般比二元包结物更为稳定,因而可以促进 CD与客体的包合作用。这两种相反的作用同时存在,其中产生的最终效果决定于哪种因素占主导地位。本文也考察了有机溶剂加入对分离的影响,发现无明显影响,故不加有机溶剂。

3.7 电压和电渗流的影响 考察了不同电压对分离的效率和分离选择性的影响,电压过低,分离效率低,电压过大,使电渗流过大引起高焦耳热,不利于手性化合物与手性包合物的形成,影响分离选择性,本文选用的最佳电压为 16 kV。

3.8 温度的影响 温度对手性拆分有很大的影响,由于温度下降,缓冲液的粘度升高,电渗流降低,使手性物质与手性添加剂接触更充分,有利于手性物质的分离。考察了 15、20、25 后,发现柱温为 15 时,4个手性光学纯化合物分离度更好。而且毛细管柱选用了 75 μm内径的柱子,电渗流远大于 50 μm柱,引起焦耳热的增加,限制了高电压的使用,当柱温为 15 时,可以降低毛细管柱产生的焦耳热。所以,选择柱温 15。

3.9 标准曲线 分别精密量取 0.991 2 mg/mL的左旋麻黄碱溶液 1、2、4、6、8 mL置 5个 10 mL的容量瓶中,然后分别精密量取 0.408 4 mg/mL的右旋麻黄碱溶液、0.391 3 mg/mL的左旋伪麻黄碱溶液和 0.395 0 mg/mL的右旋伪麻黄碱溶液 0.1、0.2、0.4、0.8、1.6 mL置顺序对应的以上 5个容量瓶中,最后分别精密量取 1.001 mg/mL的利多卡因溶液 1 mL置以上 5个容量瓶中作为内标。用 pH值为 3.0的 25 mmol/L的 Tris缓冲液分别稀释并定容至刻度,摇匀。按“2.1”中电泳条件进样,所得标准曲线如下:

左旋麻黄碱: $y = 0.009412x + 0.1258$ $r = 0.9999$ (99.12 μg/mL ~ 793.0 μg/mL)

右旋麻黄碱: $y = 0.009271x + 0.007601$ $r = 0.9997$ (4.084 μg/mL ~ 65.34 μg/mL)

左旋伪麻黄碱: $y = 0.009235x + 0.004825$ $r = 0.9994$ (3.913 μg/mL ~ 62.61 μg/mL)

右旋伪麻黄碱: $y = 0.009231x + 0.01252$ $r = 0.9996$ (3.950 μg/mL ~ 63.20 μg/mL)

3.10 精密度 分别精密量取 0.991 2 mg/mL的左旋麻黄碱溶液 2、4、6 mL置 3个 10 mL的容量瓶中,然后分别精密量取 0.408 4 mg/mL的右旋麻黄碱溶液、0.391 3 mg/mL的左旋伪麻黄碱溶液和 0.395 0 mg/mL的右旋伪麻黄碱溶液 0.2、0.4、0.8 mL置顺序对应的以上 3个容量瓶中,最后分别精密量取 1.001 mg/mL的利多卡因溶液 1 mL置以上 3个容量瓶中作为内标。用 pH值为 3.0的 25 mmol/L的 Tris缓冲液分别稀释并定容至刻度,摇匀。按“2.1”中电泳条件进样。

表 1 左旋、右旋普拉可索的精密度 (n=3)

	日内精密度 (%)			
	左旋麻黄碱	右旋麻黄碱	左旋伪麻黄碱	右旋伪麻黄碱
低浓度	2.4	4.7	5.2	4.8
中浓度	1.3	2.9	3.2	3.4
高浓度	0.8	2.1	1.9	2.3

	日间精密度 (%)			
	左旋麻黄碱	右旋麻黄碱	左旋伪麻黄碱	右旋伪麻黄碱
低浓度	3.7	5.6	6.4	4.9
中浓度	1.2	3.7	3.6	3.6
高浓度	0.9	2.7	1.7	2.8

3.11 最低检测限 取对照品溶液逐步稀释并按“2”中电泳条件进样,按照 S:N为 3:1确定左旋麻黄碱、右旋麻黄碱、左旋伪麻黄碱和右旋伪麻黄碱的最低检测限都为 0.8 μg/mL。

3.12 样品测定 精密称取 sam01、sam02、sam03 三批样品,配制成约 500 μg/mL的待测溶液,按“1.2”中电泳条件进样,结果如图 3、图 4、图 5、表 2所示。

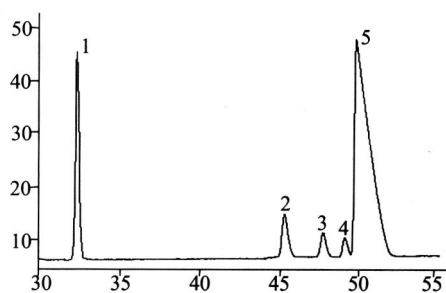


图 3 样品 sam01杂质检查的电泳图

1. 利多卡因(内标); 2. 右旋伪麻黄碱; 3. 右旋麻黄碱; 4. 左旋伪麻黄碱; 5. 左旋麻黄碱

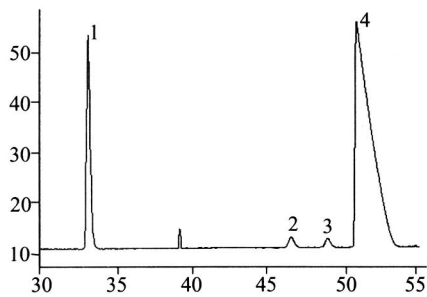


图4 样品 sam02 杂质检查的电泳图

1. 利多卡因(内标);2. 右旋伪麻黄碱;3. 右旋麻黄碱;4. 左旋麻黄碱

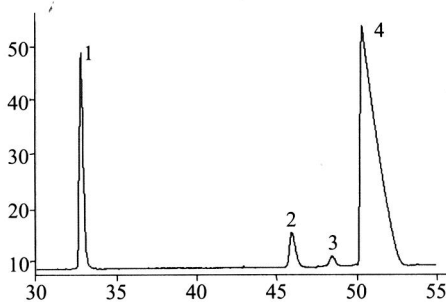


图5 样品 sam03 杂质检查的电泳图

1. 利多卡因(内标);2. 右旋伪麻黄碱;3. 右旋麻黄碱;4. 左旋麻黄碱

表2 三批样品测定结果

批号	右旋伪麻黄碱		右旋麻黄碱		左旋伪麻黄碱	
	含量 (%)	RSD (%)	含量 (%)	RSD (%)	含量 (%)	RSD (%)
sam01	7.06		3.77		2.41	
	7.17	1.3	3.74	1.6	2.46	1.5
	6.98		3.65		2.39	
sam02	1.59		1.32		<0.5	
	1.62	1.6	1.28	3.0	<0.5	
	1.64		1.36		<0.5	
sam03	5.17		1.41		<0.5	
	5.35	2.8	1.34	2.7	<0.5	
	5.47		1.40		<0.5	

4 结论

建立了 CE法用二元环糊精系统分离分析左旋麻黄碱中右旋麻黄碱、左旋伪麻黄碱和右旋麻黄碱对映异构体杂质的方法。在研究中主要进行了 CE 手性拆分体系的选择,优化并完善了二元环糊精体系拆分这两对对映体的方法。能够分离分析主药左旋麻黄碱和其对应映体杂质。本实验中建立的分离和杂质测定方法经方法学考察,结果表明方法灵敏、可靠、重复性好、简单可行。

参考文献:

- [1] Klamann E, Lingens F. Degradation of (-)-ephedrine by Pseudomonas putida. Detection of (-)-ephedrine: NAD⁺-oxidoreductase from *Arthrobacter globiformis*. Z Naturforsch [C]. 1980, 35 (1-2): 80.
- [2] Simons FE. Nonprescription availability of theophylline, epinephrine and ephedrine for asthma [J]. CMAJ, 1987, 137 (9): 789.
- [3] Miyagoshi M, Amagaya S, Ogiwara Y. Antitussive effects of L-ephedrine, amygdaline, and makyokansekito (Chinese traditional medicine) using a cough model induced by sulfur dioxide gas in mice [J]. Planta Med, 1986, (4): 275.
- [4] Zubizarreta J. Azatidine maleate/pseudoephedrine sulfate repeats versus placebo in the treatment of severe perennial allergic rhinitis [J]. J Int Med Res, 1980, 8 (6): 395.
- [5] 邹定, 吴学军, 姜文清. 胶束电动毛细管色谱法用于研究麻黄碱类药物的手性分离 [J]. 中国药理学杂志, 2001, 36 (10): 688.
- [6] Bicker W, Hebenstreit D, Lammerhofer M, et al. Enantiomeric impurity profiling in ephedrine samples by enantioselective capillary electrochromatography [J]. Electrophoresis, 2003, 24 (15): 2532.
- [7] Amini A, Rundlof T, Rydberg MB, et al. Characterization of sulfated beta-cyclodextrins and determination of enantiomeric purity of (1R, 2S)-ephedrine by capillary zone electrophoresis [J]. J Sep Sci, 2004, 27 (13): 1102.
- [8] Hellriegel C, Handel H, Wedig M, et al. Study on the chiral recognition of the enantiomers of ephedrine derivatives with neutral and sulfated heptakis(2, 3-O-diacetyl)-beta-cyclodextrins using capillary electrophoresis, UV, nuclear magnetic resonance spectroscopy and mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2001, 914 (1-2): 315.
- [9] Sevcik J, Stransky Z, Ingelse BA, et al. Capillary electrophoretic enantioseparation of selegiline, methamphetamine and ephedrine using a neutral beta-cyclodextrin epichlorhydrin polymer [J]. J Pharm Biomed Anal, 1996, 14 (8-10): 1089.
- [10] Flurer CL, Lin LA, Satzger RD, et al. Determination of ephedrine compounds in nutritional supplements by cyclodextrin-modified capillary electrophoresis [J]. J Chromatogr B Biomed Appl, 1995, 669 (1): 133.
- [11] 武向锋, 柴逸峰, 刘荔荔, 等. 以羟丙基-环糊精为手性选择剂的毛细管电泳法分离测定日夜百服宁片剂中的伪麻黄碱 [J]. 色谱, 2001, 19 (11): 552.
- [12] 周大铮, 姜子洋, 武向锋, 等. 羟丙基-环糊精——毛细管电泳法分离伪麻黄碱 [J]. 药学实践杂志, 2001, 19 (1): 24.
- [13] 柴逸峰, 武向锋, 李国栋, 等. 混合取代基-环糊精——毛细管电泳法分离测定麻黄碱和伪麻黄碱 [J]. 药物分析杂志, 2002, 22 (1): 14.
- [14] LeBelle MJ, Savard C, Dawson BA, et al. Chiral identification and determination of ephedrine, pseudoephedrine, methamphetamine and methcathinone by gas chromatography and nuclear magnetic resonance [J]. Forensic Sci Int, 1995, 71 (3): 215.
- [15] 金晓, 崔凯容. 用 (+)-HLEC 手性试剂自动柱前衍生高效液相色谱法拆分麻黄碱类药物对映体 [J]. 药化学报, 1994, 29 (2): 122.
- [16] 栾燕, 陈笑艳, 司端运, 等. 麻黄碱对映异构体的柱前手性衍生化-反相高效液相色谱法拆分 [J]. 分析测试学报, 2001,

20(5): 12.
 [17] Wu ZC, Goodall DM, Lloyd DK. Determination of enantiomeric purity of ephedrine and pseudoephedrine by high-performance liquid chromatography with dual optical rotation/UV absorbance detection[J]. J Pharm Biomed Anal, 1990, 8(4): 357.
 [18] Pettersson C, Stuuman HW. Direct separation of enantiomer of ephedrine and some analogues by reversed-phase liquid chromatography using (+)-di-n-butyltartrate as the liquid stationary phase[J]. J Chromatogr Sci, 1984, 22(10): 441.

[19] Bhushan R, Martens J, Aroora M. Direct resolution of (+/-)-ephedrine and atropine into their enantiomers by impregnated TLC[J]. Biomed Chromatogr, 2001, 15(3): 151.
 [20] 王铁松, 范愉, 高秀峰, 等. 高效液相色谱纤维素类手性固定相拆分麻黄碱对映体[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(6): 854.
 [21] 官守凤, 何新亚, 林炳承. 毛细管电泳手性拆分中的二元环糊精体系[J]. 化学进展, 2001, 13(6): 450.

收稿日期: 2008-10-14

(上接第 14 页)

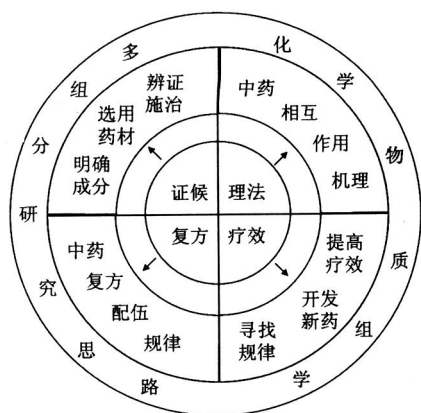


图 2 化学物质组学在中医药现代化中的运用

参考文献:

[1] Keith CT, Borisy AA, Stockwell BR. Multicomponent therapeutics for networked systems [J]. Nat Rev Drug Dis, 2005, 4(1): 71.
 [2] He XJ, Qiu F, Yao XS. Present situation and thinking of Chinese traditional compound medicine research [J]. 化学进展, 2001, 13(6): 481.
 [3] Guo WF, Tong L. Mod botanical drugs[J]. 世界科学技术——中药现代化, 1999, 1(3): 41.
 [4] Hara A, Iizuka N, Hamamoto Y, et al. Molecular dissection of a medicinal herb with anti-tumor activity by oligonucleotide microarray[J]. Life Sc, 2005, 77(9): 991.
 [5] 王若光, 尤昭玲, 刘小丽, 等. 基于激光解析/离子化-飞行时间质谱技术的中药阿胶蛋白质组分析[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(13): 2518.
 [6] 宋元英, 王忠, 曲迅, 等. 中药不同组分对小鼠缺血脑组织蛋白表达谱的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2006, 26(6): 526.
 [7] 罗国安, 梁琼麟, 张荣利, 等. 化学物质组学和中药方剂研究-兼析清开灵复方物质基础研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2006, 8(1): 6.
 [8] 高琳, 白晶, 刘迪谦. 柴胡黄芩水煎液中不同化学成分群配伍与其解热作用相关性研究[J]. 北京中医药大学学报, 2006, 29(11): 760.
 [9] 高云, 董福慧, 郑军. 阿胶对骨愈合过程中相关基因表达影响[J]. 中国骨伤, 2004, 17(9): 520.
 [10] 王忠, 应康, 张占军, 等. 黄芩苷对局灶性脑缺血大鼠

脑组织基因表达谱的影响[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(1): 83.
 [11] 管冬元, 方肇勤, 赵晓珍, 等. 健脾理气法下调大鼠肝癌信号转导有关基因转录水平的筛选[J]. 辽宁中医杂志, 2006, 33(7): 891.
 [12] 张丽萍, 方卓, 武丽, 等. 草果知母汤对戊四唑慢性诱导癫痫模型大鼠脑内海马区凋亡调控因子 p53 蛋白表达的影响[J]. 中国临床康复, 2006, 10(31): 25.
 [13] 姜楠, 霍海如, 李兰芳, 等. 桂皮醛对发热大鼠下丘脑蛋白质组双向凝胶电泳分析[J]. 中药药理与临床, 2003, 19(6): 11.
 [14] 何国雄, 梁清华, 杨波, 等. 胶原诱导性关节炎大鼠滑膜组织醛缩酶 A 表达及痹肿消汤的干预效应[J]. 中国临床康复, 2006, 10(47): 103.
 [15] 叶能胜, 赵艳峰, 张荣利, 等. 双龙方干预骨髓间充质干细胞分化过程的蛋白表达[J]. 中成药, 2007, (1): 24.
 [16] 李臻琰, 李炜, 颜永平, 等. 天麻钩藤饮对高血压肝阳上亢证大鼠下丘脑差异蛋白质表达的影响[J]. 中国临床康复, 2006, 10(47): 58.
 [17] 王喜军, 孙文军, 孙晖, 等. CCl₄ 诱导大鼠肝损伤模型的代谢组学及茵陈蒿汤的干预作用研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2006, 8(6): 101.
 [18] 刘玉萍, 罗集鹏, 冯毅凡, 等. 广藿香的基因序列与挥发油化学型的相关性分析[J]. 药学报, 2002, 37(4): 304.
 [19] 周联, 王培训, 黄丰, 等. 阳春砂的 ITS 序列分析[J]. 中草药, 2002, 33(1): 72.
 [20] 吴海峰, 潘莉, 邹多生, 等. 3 种绿绒蒿挥发油化学成分的 GC-MS 分析[J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(17): 1298.
 [21] 张英, 黄明辉, 柏干荣, 等. 三七的 18S rRNA, matK 基因序列和 HPLC 化学指纹图谱分析研究[J]. 药品评价, 2005, 2(1): 23.
 [22] 石俊英, 卢燕, 徐凌川, 等. 三组中药的电泳指纹图谱研究[J]. 中药材, 2002, 25(12): 864.
 [23] 赵剑宇, 颜贤忠, 彭双清. 关木通肾毒性的代谢组学研究[J]. 中草药, 2006, 37(5): 725.
 [24] Zhang JW, Chen LB, Gu JK, et al. Novel theory and methods for chemanic multi-component release/ dissolution kinetics of traditional Chinese medicines[J]. Chin J Nat Med, 2008, (6): 1.
 [25] 陈立兵, 张继稳, 傅丹丹, 等. 应用化合物组释放动力学方法评价银翘解毒片的释放特征[J]. 中国天然药物, in press.
 [26] 张继稳, 陈立兵, 顾景凯, 等. 多组分中药化合物组释放同步性评价方法[J]. 药学报, in press.

收稿日期: 2008-03-13