



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101788490 A

(43) 申请公布日 2010.07.28

(21) 申请号 201010107910.1

(22) 申请日 2010.02.10

(71) 申请人 中国科学院长春应用化学研究所
地址 130000 吉林省长春市人民大街 5625 号

(72) 发明人 由天艳 李霞 于彩霞 唐小风
袁柏青 徐春荧

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227
代理人 魏晓波 逯长明

(51) Int. Cl.
G01N 21/76 (2006.01)
G01N 27/447 (2006.01)

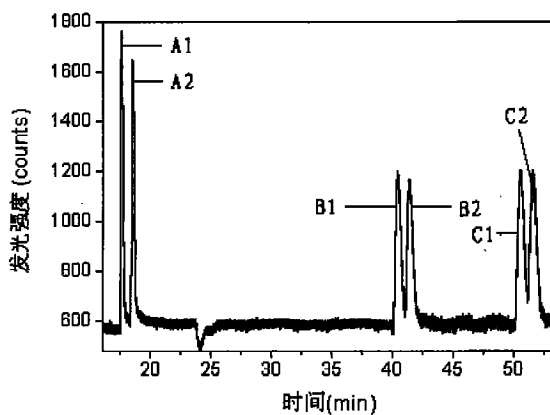
权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 2 页

(54) 发明名称

一种同时手性分离分析山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的方法

(57) 摘要

本发明提供了一种同时手性分离分析山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的方法,包括:将山莨菪碱样品、阿替洛尔样品和美托洛尔样品投入毛细管电泳电化学发光检测联用仪器的样品池中,施加进样电压,使所述样品进入所述仪器的毛细管;施加分离电压,使所述样品在所述毛细管内进行电泳分离,所述毛细管为含有羧甲基-β-环糊精的分离溶液,所述分离溶液的pH值为3.0-6.0;分离后的样品进入所述仪器的检测池,施加检测电压进行检测,所述检测池内为含有三联吡啶钼的检测溶液,所述检测溶液的pH值为6.0-9.0。与现有技术相比,本发明提供的手性分离分析方法试剂使用较少、检测成本较低、分离效率较高、检测灵敏度较高。



1. 一种同时手性分离分析山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的方法,其特征在于,包括:
将山莨菪碱样品、阿替洛尔样品和美托洛尔样品投入毛细管电泳电化学发光检测联用仪器的样品池中,施加进样电压,使所述样品进入所述仪器的毛细管;
施加分离电压,使所述样品在所述毛细管内进行电泳分离,所述毛细管为含有羧甲基- β -环糊精的分离溶液,所述分离溶液的 pH 值为 3.0-6.0;
分离后的样品进入所述仪器的检测池,施加检测电压进行检测,所述检测池内为含有三联吡啶钌的检测溶液,所述检测溶液的 pH 值为 6.0-9.0。
2. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述羧甲基- β -环糊精的浓度为 5mmol/L-20mmol/L。
3. 根据权利要求 2 所述的方法,其特征在于,所述羧甲基- β -环糊精的浓度为 13mmol/L-16mmol/L。
4. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述分离溶液的 pH 值由 HAc-NaAc 缓冲溶液保持。
5. 根据权利要求 4 所述的方法,其特征在于,所述 HAc-NaAc 缓冲溶液的浓度为 30mmol/L-70mmol/L。
6. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述三联吡啶钌的浓度为 4mmol/L-10mmol/L。
7. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述三联吡啶钌的浓度为 5mmol/L。
8. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述检测溶液的 pH 值由 NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 缓冲溶液保持。
9. 根据权利要求 8 所述的方法,其特征在于,所述 NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 缓冲溶液的浓度为 50mmol/L-150mmol/L。
10. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于,所述毛细管为内径为 50 μm 的未涂层融硅毛细管。

一种同时手性分离分析山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及手性药物的手性分离分析领域,尤其涉及一种同时手性分离分析山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的方法。

背景技术

[0002] 阿替洛尔和美托洛尔均属于 β_1 肾上腺受体抑制类药物,具有相似的结构和性质,广泛应用于高血压、心绞痛、心律失常和心肌梗塞等心血管疾病的治疗。山莨菪碱为抗胆碱药,临床主要用于平滑肌痉挛、胃肠绞痛、胆道痉挛等疾病的治疗。阿替洛尔、美托洛尔和山莨菪碱均为手性药物,其各自的对映异构体在药理、毒理乃至临床性质方面存在较大差异,因此,对阿替洛尔对映异构体、美托洛尔对映异构体和山莨菪碱对映异构体进行分离分析具有重要意义。

[0003] 现有技术已经公开了多种手性分离分析阿替洛尔、美托洛尔和山莨菪碱的方法,如 H. Wang 等用毛细管电泳紫外检测方法对山莨菪碱对映异构体进行了分离 (H. Wang, J. L. Gu, H. F. Hu, R. J. Dai, T. H. Ding, R. N. Fu. *Analytica chimica acta*, 1998, 359, 39), H. -L. Zhang 等用毛细管电泳紫外检测方法对手性阿替洛尔对应异构体和酒石酸美托洛尔对映异构体逐一进行了分离 (H-L. Zhang, H. Shao, Y-M. A, Z-Z. Zhang. *Chromatographia*, 2008, 68, 653)。但是紫外检测法灵敏度较低,难以满足高灵敏度的检测要求。

[0004] 电化学发光方法是一种新型的分析检测方法,尤其是以联吡啶钉体系作为发光体系时,发光效率较高,检测灵敏度也较高。现有技术已经公开了使用毛细管电泳电化学发光方法对氨基酸、蛋白质、DNA 和有机胺类等物质进行分离检测的技术,如中国专利文献 200610173390.8 公开了一种毛细管电泳电化学发光检测美托洛尔和阿替洛尔的方法,使用毛细管电泳电化学发光技术将结构相似的美托洛尔和阿替洛尔进行了分离分析,但是并没有实现美托洛尔对映异构体和阿替洛尔对映异构体的分离分析。

[0005] 因此,本发明人考虑提供一种方法同时将山莨菪碱对映异构体、阿替洛尔对映异构体和美托洛尔对映异构体分离检测,以降低成本、提高效率,并获得较高的检测灵敏度。

发明内容

[0006] 有鉴于此,本发明所要解决的技术问题在于提供了一种同时手性分离分析山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的方法,本发明提供的方法能够将不同结构的手性药物分离检测,降低检测成本,提高分离效率。

[0007] 本发明提供了一种同时手性分离分析山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的方法,包括:

[0008] 将山莨菪碱样品、阿替洛尔样品和美托洛尔样品投入毛细管电泳电化学发光检测联用仪器的样品池中,施加进样电压,使所述样品进入所述仪器的毛细管;

[0009] 施加分离电压,使所述样品在所述毛细管内进行电泳分离,所述毛细管为含有羧

甲基-β-环糊精的分离溶液,所述分离溶液的 pH 值为 3.0-6.0;

[0010] 分离后的样品进入所述仪器的检测池,施加检测电压进行检测,所述检测池内为含有三联吡啶钌的检测溶液,所述检测溶液的 pH 值为 6.0-9.0。

[0011] 优选的,所述羧甲基-β-环糊精的浓度为 5mmol/L-20mmol/L。

[0012] 优选的,所述羧甲基-β-环糊精的浓度为 13mmol/L-16mmol/L。

[0013] 优选的,所述分离溶液的 pH 值由 HAc-NaAc 缓冲溶液保持。

[0014] 优选的,所述 HAc-NaAc 缓冲溶液的浓度为 30mmol/L-70mmol/L。

[0015] 优选的,所述三联吡啶钌的浓度为 4mmol/L-10mmol/L。

[0016] 优选的,所述三联吡啶钌的浓度为 5mmol/L。

[0017] 优选的,所述检测溶液的 pH 值由 NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 缓冲溶液保持。

[0018] 优选的,所述 NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 缓冲溶液的浓度为 50mmol/L-150mmol/L。

[0019] 优选的,所述毛细管为内径为 50 μm 的未涂层融硅毛细管。

[0020] 与现有技术相比,本发明以羧甲基-β-环糊精为手性选择剂,使不同结构的山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的异构体在 pH 值为 3.0-6.0 的毛细管内电泳分离,然后通过三联吡啶钌电化学发光体系对各个异构体进行检测,最终实现对山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔等 3 种手性药物的同时分离检测。本发明提供的手性分离分析方法试剂使用较少、检测成本较低、分离效率较高、检测灵敏度较高。实验表明,通过本发明提供的方法同时对山莨菪碱对映异构体、阿替洛尔对映异构体和美托洛尔对映异构体进行分离检测时,山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的检测限分别为 $6 \times 10^{-7} \text{mol/L}$ 、 $5.5 \times 10^{-7} \text{mol/L}$ 和 $3 \times 10^{-7} \text{mol/L}$ 。

附图说明

[0021] 图 1 为本发明实施例提供的 NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 缓冲溶液、三联吡啶钌、山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔在铂盘电极上的循环伏安曲线图;

[0022] 图 2 为本发明实施例提供的 NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 缓冲溶液、三联吡啶钌、山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的电化学发光曲线图;

[0023] 图 3 为本发明实施例提供的山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的电泳谱图;

[0024] 图 4 为本发明实施例提供的空白尿样以及添加了山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的尿样的电泳谱图。

具体实施方式

[0025] 本发明提供了一种同时手性分离分析山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的方法,包括:

[0026] 将山莨菪碱样品、阿替洛尔样品和美托洛尔样品投入毛细管电泳电化学发光检测联用仪器的样品池中,施加进样电压,使所述样品进入所述仪器的毛细管;

[0027] 施加分离电压,使所述样品在所述毛细管内进行电泳分离,所述毛细管为含有羧甲基-β-环糊精的分离溶液,所述分离溶液的 pH 值为 3.0-6.0;

[0028] 分离后的样品进入所述仪器的检测池,施加检测电压进行检测,所述检测池内为含有三联吡啶钌的检测溶液,所述检测溶液的 pH 值为 6.0-9.0。

[0029] 按照本发明,首先将山莨菪碱样品、阿替洛尔样品和美托洛尔样品投入毛细管电

泳电化学发光检测联用仪器的样品池中,施加进样电压,使所述样品进入所述仪器的毛细管。本发明对毛细管电泳电化学发光检测联用仪器的来源没有特殊限制,可以从市场上购得,如西安瑞迈分析仪器有限公司出售的 MPI-A 型毛细管电泳电化学发光检测仪。本发明对进样电压没有特殊限制,优选为 10kV-20kV,更优选为 10kV-15kV。本发明对所使用的毛细管没有特殊限制,优选为内径 50 μm 的未涂层融硅毛细管。为了使样品分离效果更好,本发明的进样时间优选为 2s-15s,更优选为 2s-10s,最优选为 3s-8s。为了保证检测的灵敏度及分析结果的重现性,优选在进样之前对所述毛细管进行预处理,优选依次使用 80mmol/L-120mmol/L 的 NaOH 溶液冲洗所述毛细管 5min-15min、二次水冲洗所述毛细管 2min-6min,30mmol/L-70mmol/L、pH 值为 3.0-6.0 之间的 HAc-NaAc 缓冲溶液冲洗所述毛细管 5min-15min。

[0030] 所述样品进入毛细管后,对毛细管施加分离电压,使样品在毛细管内实现电泳分离。本发明对所述分离电压没有特殊限制,优选为 10kV-20kV,更优选为 13kV-20kV,最优选为 13kV-15kV。

[0031] 所述毛细管内为含有羧甲基- β -环糊精的分离溶液。由于将山莨菪碱对映异构体、阿替洛尔对映异构体和美托洛尔对映异构体电泳分离后还需要在三吡啶钉的发光体系中进行检测,因此,本发明使用没有还原性的羧甲基- β -环糊精作为手性选择剂,降低试剂对后续检测结果的影响。所述羧甲基- β -环糊精能够分别与山莨菪碱对映异构体、阿替洛尔对映异构体和美托洛尔对映异构体结合形成络合物,但形成的络合物的稳定度不同,因此所述络合物在毛细管中进行电泳的速率也不同,从而最终实现对映异构体的分离。实验表明,山莨菪碱对映异构体最先与羧甲基- β -环糊精结合并分离,美托洛尔对映异构体最后与羧甲基- β -环糊精结合并分离。本发明对所述羧甲基- β -环糊精的浓度没有特殊限制,优选为 1mmol/L-25mmol/L,更优选为 5mmol/L-25mmol/L,最优选为 5mmol/L-20mmol/L。

[0032] 按照本发明,所述毛细管内溶液的 pH 值为 3.0-6.0,所述溶液的 pH 值优选由缓冲溶液保持,所述缓冲溶液优选为本领域技术人员熟知的 HAc-NaAc 缓冲溶液,所述 HAc-NaAc 的浓度优选为 10mmol/L-100mmol/L,更优选为 20mmol/L-90mmol/L,最优选为 30mmol/L-70mmol/L。

[0033] 所述山莨菪碱对映异构体、阿替洛尔对映异构体和美托洛尔对映异构体在毛细管内实现分离后,先后进入毛细管电泳电化学发光检测联用仪器的检测池中,在检测电压下进行检测。本发明对检测电压没有特殊限制,优选为 1.0V-1.4V,更优选为 1.0V-1.2V。

[0034] 所述检测池内为含有三联吡啶钉的溶液,所述三联吡啶钉是最常见电化学发光体系,其发光检测原理如下:三联吡啶钉体系中含有 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$, $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 经工作电极被氧化成不稳定的氧化态 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$, 该氧化态物质与手性山莨菪碱相互作用,被还原成激发态的 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+*}$, 该激发态立即回迁至基态 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$, 并释放出光子,此光信号的强度与被测物的浓度呈线性关系。由于山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔各有左旋和右旋两种异构体,经过毛细管电泳分离先后进入检测池,会先后发生六次激发,产生六个发光强度峰值,从而实现对手性山莨菪碱对映异构体、阿替洛尔对映异构体和美托洛尔对映异构体的检测。本发明对三联吡啶钉的浓度没有特殊限制,优选为 1mmol/L-20mmol/L,更优选为 1mmol/L-15mmol/L,最优选为 4mmol/L-10mmol/L。

[0035] 按照本发明,所述检测池内溶液的 pH 值为 6.0-9.0,优选由缓冲溶液保持,所述缓冲溶液优选为本领域技术人员熟知的 NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 缓冲液, NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 缓冲液的浓度优选为 10mmol/L-200mmol/L,更优选为 30mmol/L-200mmol/L,最优选为 50mmol/L-150mmol/L。

[0036] 按照本发明,所述检测池内为三电极体系,所述三电极体系优选为:直径为 500 μm 的 Pt 盘工作电极、Ag/AgCl 参比电极 (KCl 饱和溶液) 和 Pt 丝对电极。

[0037] 按照本发明,所述毛细管电泳电化学发光检测联用仪器的发光检测器用于检测并记录光信号,获得毛细管-电化学发光检测的谱图,从而得到山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的手性分离分析结果。按照本发明,所述发光检测器优选为光电倍增管,其电压优选为 700V-900V。

[0038] 按照本发明,优选将分离后的山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔进行本领域技术人员熟知的结构分析,以确定分离后的物质为左旋分子还是右旋分子。

[0039] 与现有技术相比,本发明以羧甲基- β -环糊精为手性选择剂,使不同结构的山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的异构体在 pH 值为 3.0-6.0 的毛细管内电泳分离,然后通过三联吡啶钌电化学发光体系对各个异构体进行检测,最终实现山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的同时手性分离分析。本发明提供的手性分离分析方法试剂使用较少、检测成本较低、分离效率较高、检测灵敏度较高。实验表明,通过本发明提供的方法同时对山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔进行手性分离分析时,山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的检测限分别为 $6 \times 10^{-7}\text{mol/L}$ 、 $5.5 \times 10^{-7}\text{mol/L}$ 和 $3 \times 10^{-7}\text{mol/L}$ 。

[0040] 为了进一步理解本发明,下面结合实施例对本发明提供的同时手性分离分析山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的方法进行详细描述。

[0041] 实施例 1

[0042] 按以下步骤配制 NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 缓冲溶液:

[0043] 分别配制浓度为 200mmol/L 的 NaH_2PO_4 溶液和 200mmol/L 的 Na_2HPO_4 溶液,将两溶液混合后,用二次水稀释至浓度为 100mmol/L,然后将混合溶液的 pH 调到 7.0 备用。

[0044] 实施例 2

[0045] 按照以下步骤配制 HAc-NaAc 缓冲溶液:

[0046] 首先配制浓度为 200mmol/L 的 NaAc 溶液,然后用二次水稀释至 57.6mmol/L,然后用冰醋酸将溶液的 pH 值调到 5.3 备用。

[0047] 实施例 3

[0048] 使用的仪器装置为:内径 50 μm 的未涂层融硅毛细管柱,直径 500 μm 的 Pt 盘工作电极,Ag/AgCl 参比电极,Pt 丝对电极,从西安瑞迈分析仪器有限公司购买的 MPI-A 型毛细管电泳电化学发光检测仪。

[0049] 以实施例 1 配制的 NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 缓冲溶液为背景电解质,扫描电位为 0-1.30V,记录稳定时的循环伏安曲线和电化学发光曲线,参见图 1 中的 a 曲线和图 2 中的 a 曲线;

[0050] 向所述背景电解质中加入 5mmol/L 的三联吡啶钌,扫描电位为 0-1.30V,记录稳定时的循环伏安曲线和电化学发光曲线,参见图 1 中的 b 曲线和图 2 中的 b 曲线;

[0051] 向含三联吡啶钌的溶液中加入 0.3mmol/L 的山莨菪碱、0.3mmol/L 的阿替洛尔和 0.3mmol/L 的美托洛尔,扫描电位均为 0-1.30V,记录稳定时的循环伏安曲线和电化学发光

曲线,分别参见图 1 中的 c 曲线、d 曲线、e 曲线和图 2 中的 c 曲线、d 曲线、e 曲线。

[0052] 将所得到的循环伏安曲线和电化学发光曲线对比,参见图 1 和图 2,图 1 为本发明实施例提供的 $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$ 缓冲溶液、三联吡啶钌、山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔在铂盘电极上的循环伏安曲线图;图 2 为本发明实施例提供的 $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$ 缓冲溶液、三联吡啶钌、山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的电化学发光曲线图;由图 1 可知,加入山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔后,溶液的电响应没有显著增强;由图 2 可知,加入山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔后,溶液的电化学发光曲线中的响应度比只加入三联吡啶钌的响应度强,说明山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔虽然不会增强三联吡啶钌的电化学活性,但能够增强三联吡啶钌的电化学发光活性,因此,使用电化学发光方法同时检测山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔是可行的。

[0053] 实施例 4

[0054] 使用的仪器装置为:内径 $50\ \mu\text{m}$ 的未涂层融硅毛细管柱,直径 $500\ \mu\text{m}$ 的 Pt 盘工作电极, Ag/AgCl 参比电极, Pt 丝对电极, MPI-A 型毛细管电泳电化学发光检测仪。

[0055] 将实施例 1 配制的 $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$ 缓冲溶液和 5mmol/L 的三联吡啶钌溶液加入到 MPI-A 型毛细管电泳电化学发光检测仪的检测池中,将实施例 2 配制的 HAc-NaAc 缓冲溶液和 14.7mol/L 的羧甲基- β -环糊精加入到 MPI-A 型毛细管电泳电化学发光检测仪的毛细管中。

[0056] 对毛细管进行预处理:首先用 100mmol/L 的 NaOH 溶液冲洗后备用;在使用前,再依次用 100mmol/L 的 NaOH 溶液、二次水溶液和实施例 2 配制好的 HAc-NaAc 缓冲溶液冲洗 10min 、 5min 和 10min 。

[0057] 将 1.0mmol/L 的山莨菪碱溶液、 1.0mmol/L 的阿替洛尔溶液和 1.0mmol/L 的美托洛尔溶液加入到 MPI-A 型毛细管电泳电化学发光检测仪的样品池中,控制 MPI-A 型毛细管电泳电化学发光检测仪的操作条件如下:进样电压 10kV ,进样时间 4s ;分离电压 17.5kV ;检测电压 1.15V ,光电倍增管电压为 800V ,对山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔进行手性分离分析,检测结果参见图 3,图 3 为本发明实施例提供的山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的电泳谱图;由图 3 可知,在开始手性分离分析后 1133s 时出现 A1、A2 两个峰, 2489s 时出现 B1、B2 两个峰, 3074s 时出现 C1、C2 两个峰。

[0058] 保持手性分离分析条件不变,以 2.0mmol/L 的山莨菪碱溶液、 1.0mmol/L 的阿替洛尔溶液和 1.0mmol/L 的美托洛尔溶液为样品进行手性分离分析,得到的电泳谱图中,最先出现的两个峰的出现时间和峰形发生了变化,但依然是最先出现,而后面的四个峰的出现时间和峰形均无明显变化,由此可以得知,图 3 中 1133s 出现的 A1 和 A2 两个峰为山莨菪碱对映异构体的峰。

[0059] 保持手性分离分析条件不变,以 1.0mmol/L 的山莨菪碱溶液、 2.0mmol/L 的阿替洛尔溶液和 1.0mmol/L 的美托洛尔溶液为样品进行手性分离分析,得到的电泳谱图中,中间出现的两个峰的出现时间和峰形发生了变化,但依然是在中间出现,而前面两个峰和后面两个峰的出现时间和峰形均无明显变化,由此可以得知,图 3 中 2489s 出现的 B1 和 B2 两个峰为阿替洛尔对映异构体的峰。

[0060] 保持手性分离分析条件不变,以 1.0mmol/L 的山莨菪碱溶液、 1.0mmol/L 的阿替洛尔溶液和 2.0mmol/L 的美托洛尔溶液为样品进行手性分离分析,得到的电泳谱图中,最后

出现的两个峰的出现时间和峰形发生了变化,但依然最后出现,而前面的四个峰的出现时间和峰形均无明显变化,由此可以得知,图 3 中 3074s 出现的 C1 和 C2 两个峰为美托洛尔对映异构体的峰。

[0061] 由此可知,山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔与三联吡啶钌发生作用释放光子的时间不同,因此,本发明提供的方法能够同时将山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔进行手性分离分析。

[0062] 在上述操作条件下,山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的检出限分别为 $6 \times 10^{-7} \text{mol/L}$ 、 $5.5 \times 10^{-7} \text{mol/L}$ 和 $3 \times 10^{-7} \text{mol/L}$ 。

[0063] 实施例 5

[0064] 取健康人的尿液,经 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜过滤后,用实施例 2 制备的缓冲溶液将其稀释,作为空白尿样;向空白尿样中加入 $6 \times 10^{-5} \text{mol/L}$ 的山莨菪碱溶液、 $5.0 \times 10^{-5} \text{mol/L}$ 的阿替洛尔溶液和 $3 \times 10^{-5} \text{mol/L}$ 的美托洛尔溶液。

[0065] 使用与实施例 4 相同的仪器、试剂和操作条件对空白尿样和添加了手性药物的尿样进行手性分离分析,结果参见图 4,图 4 为本发明实施例提供的空白尿样以及添加了山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的尿样的电泳谱图。图 4 中,曲线 1 为空白尿样的电泳谱图,曲线 2 为添加了山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔的尿样的电泳谱图,在曲线 2 中,1133s 处出现了 A1 和 A2 两个峰,2489s 处出现了 B1 和 B2 两个峰,3074s 处出现了 C1 和 C2 两个峰。

[0066] 参考实施例 4 的分析,A1 和 A2 为山莨菪碱同分异构体的峰,B1 和 B2 分别为阿替洛尔同分异构体的峰,C1 和 C2 分别为美托洛尔同分异构体的峰。由此可见,尿液的基底对这三种手性物质的分离并没有很大影响,本发明提供的方法可以实现对尿液中的山莨菪碱、阿替洛尔和美托洛尔同时进行手性分离分析。

[0067] 以上实施例的说明只是用于帮助理解本发明的方法及其核心思想。应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以对本发明进行若干改进和修饰,这些改进和修饰也落入本发明权利要求的保护范围内。

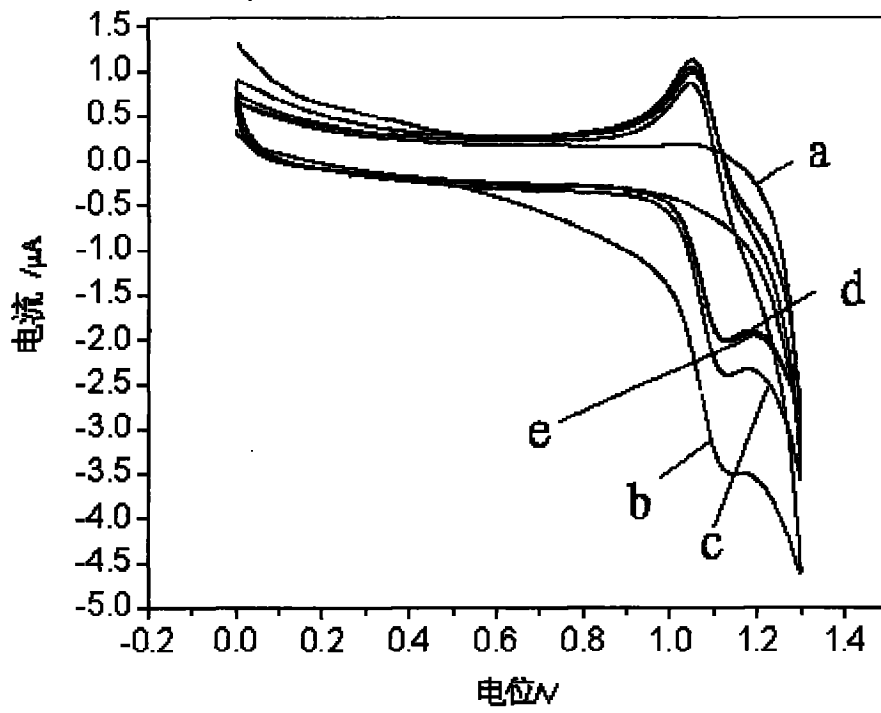


图 1

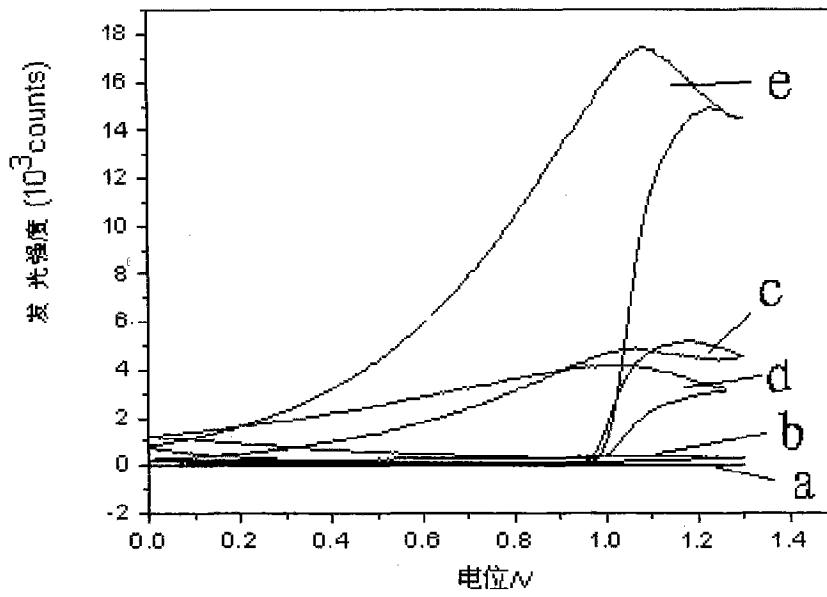


图 2

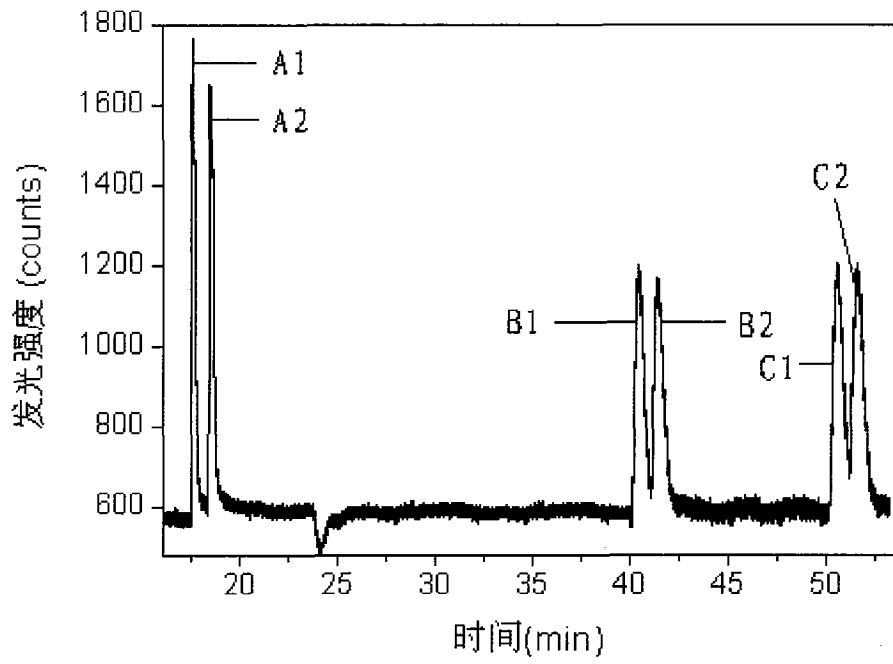


图 3

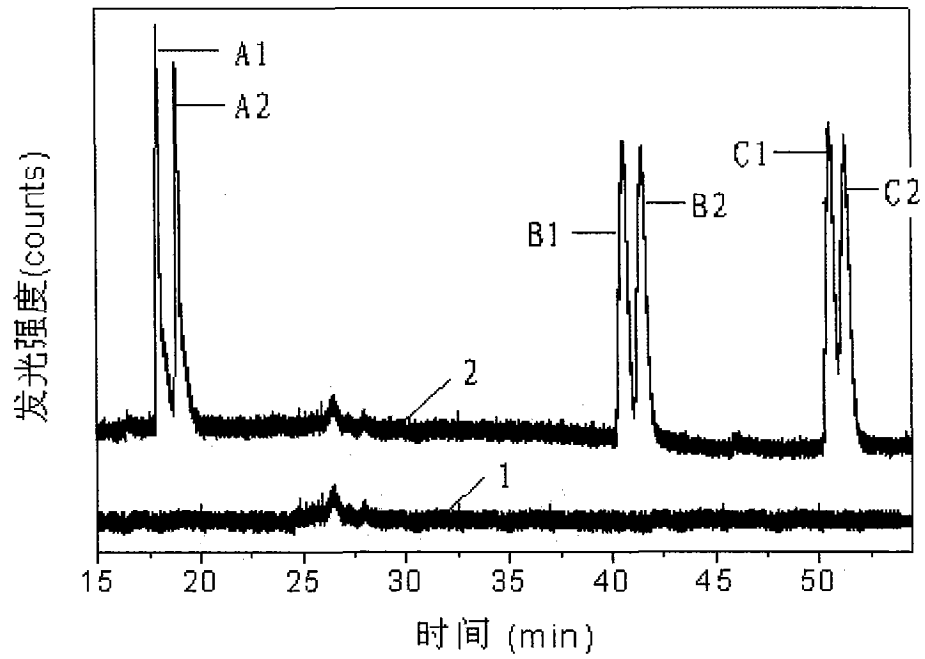


图 4