

以電灑游離質譜法研究環糊精非共價鍵錯合物之原理與應用

Application of Electrospray Ionization Mass Spectrometry to the Study of Cyclodextrin Non-Covalent Bond Complexes

陳玫慧、丁望賢

Mei-Hui Chen, Wang-Hsien Ding

電灑游離質譜法 (ESI-MS) 是屬於一種較溫和、低能量的游離方法，測定非共價鍵錯合物時，可以直接量測整體錯合物的離子峰，由信號強弱，可得知非共價鍵相互作用力的相對強度，並可獲得錯合物之化學計量比例。ESI-MS 技術具有高靈敏度、操作快速、樣品量少等優點，可輔助許多傳統檢測非共價鍵錯合物的方法。本文將介紹以電灑游離質譜法分析環糊精內包錯合物的原理及其與不同分子間非共價鍵錯合物的應用實例，以提供有興趣者參考。

Application of electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS) to study the non-covalent bond complexes is introduced. The gentleness of the electrospray ionization process allows intact complexes to be directly detected by mass spectrometry. Stoichiometry of the complex can be easily obtained from the resulting mass spectrum because the molecular weight of the complex is directly measured. ESI-MS technique is complementary to other physical methods, such as NMR and spectrophotometry. Moreover, mass spectrometry offers advantages in speed and sensitivity. In this paper, several applications of ESI-MS and non-covalent bond complexes between organic isomers, amino acids, peptides, organometallic, and cyclodextrins are discussed.

一、前言

電灑游離法 (electrospray ionization, ESI) 是目前質譜技術中普遍使用的游離方法之一，由於質譜技術可判讀化合物之質荷比 (mass to charge ratio, m/z)，且可用二次串聯質譜 (MS^2) 技術研究化合物

內之鍵結及其結構，因此電灑游離質譜法 (electrospray ionization mass spectrometry, ESI-MS) 常被用以研究內包錯合物 (inclusion complexes) 或主-客錯合物 (host-guest complexes) 之間的作用機制。此類錯合物之間的作用機制是由一個具有空腔結構的主分子與一個客分子錯合形成非共價鍵錯合

物 (non-covalent bond complex)。在製藥領域中，藥物分子如何辨別活性部位 (active site) 是十分重要的基礎。例如藥物與受體之間相互作用力 (drug-receptor interactions)，此類作用力會比內包錯合物或主-客錯合物之間的作用力來得複雜，研究人員會先利用簡單的主-客模型，模擬藥物與簡單受體基質之作用力。一般常見的受體基質分子或稱主體分子 (host molecule)，為冠狀醚類 (crown ether)、環芴 (cyclophane) 和環糊精 (cyclodextrin, CD)，而環糊精最常被使用。因為環糊精具有空腔結構及空腔中疏水性的特性，其與客體分子形成非共價鍵錯合物與藥物-受體相互作用力情況相類似，因而常被用來作為簡單的受體基質模型。除此之外，環糊精錯合物可模擬蛋白質-蛋白質之間作用力、酵素-基質之間作用力及抗原-抗體之間的作用力。

環糊精還有許多其他特別用途，在分析化學、醫學、食品及化妝品等行業中應用相當廣泛。在醫藥工業上，環糊精及其衍生物除可與藥物形成錯合物外，亦可增加藥物的溶解性而易被人體所吸收，通常做為藥物中的促進劑。在食品及化妝品方面，可以用環糊精維持味道的持久性且防止變味，作為成分中的穩定劑以及防止微生物的污染。在分析化學方面，環糊精及其衍生物被使用在催化反應，增加反應之選擇性以達純化和分離，更可用來分離鏡相異構物。

目前已有許多檢測非共價鍵內包錯合物的方法，如核磁共振 (NMR) 光譜法、UV-visible 光譜法、X-ray 繞射光譜法 (X-ray crystallography)、滴定熱卡計法 (titration calorimetry)、旋光儀 (circular dichroism)、示熱差掃描法 (differential scanning calorimetry, DSC) 等方法，但這些方法都有其限制性。如 NMR 光譜法或 X-ray 繞射光譜法雖然可以明確解析錯合物的結構，但所需的樣品濃度較高，對於一些昂貴或得來不易的樣品，有其侷限性；而且高濃度會造成樣品有聚集現象，這樣容易使所得的結果失真。為輔助前面所提到的傳統方法，目前測定非共價鍵內包錯合物的方法大都輔以毛細管電泳法 (capillary electrophoresis, CE) 或電灑游離質譜法 (ESI-MS) 檢測技術。毛細管電泳法可以同時估算多種分析物與環糊精在水溶液中錯合情

形，卻不能得知環糊精與分析物是以何種化學計量形成內包錯合物 (如 1:1 或 1:2 的結合)，且缺乏分子量和結構資訊。若以 ESI-MS 技術準確地檢測內包錯合物的總分子量，便可簡單地提供及確認錯合物之結構資訊，補充光譜法或毛細管電泳法所測出來的結果，而顯出 ESI-MS 在此研究領域中的重要性，目前 ESI-MS 已經被用來偵測許多非共價鍵錯合物。此技術具有高靈敏度、操作快速、樣品量少、且能提供分子量和化學計量等優點，可輔助許多傳統的方法。本文將介紹以電灑游離質譜法分析環糊精內包錯合物的原理及其與不同分子間非共價鍵錯合物的應用實例。

二、環糊精

環糊精 (cyclodextrin, CD) 為一種非離子型的環狀低聚葡萄糖。一般常見的環糊精包括 α -CD、 β -CD 及 γ -CD，分別由 6、7、8 個葡萄糖單元經由 α -1,4 鍵環狀相互連接而形成的結晶體。其結構如圖 1，性質如表 1 所示。

環糊精的結構十分特殊，外觀類似一個被截去頂端的中空圓錐體，兩端開口的環狀空腔結構，空腔直徑由其組成的葡萄糖基數目決定。環糊精的分子空腔內壁為氫基 (C-H group) 及葡萄糖氧原子 (glucosidic oxygen) 排列處，因此整個環糊精分子中孔洞內屬於較非極性，呈疏水性 (hydrophobic)，

表 1. 環糊精的性質。⁽¹⁾

	α -環糊精	β -環糊精	γ -環糊精
葡萄糖單體數	6	7	8
分子量 (g/mole)	972	1135	1297
熔點 (K)	551	572	540
密度 (g/cm ³)	1.42 – 1.45	1.42 – 1.45	1.42 – 1.45
醇氫基數	18	21	24
一級醇氫基數	6	7	8
二級醇氫基數	12	14	16
空腔內徑 (nm)	0.47 – 0.52	0.60 – 0.64	0.75 – 0.83
空腔外徑 (nm)	1.46 ± 0.04	1.54 ± 0.04	1.75 ± 0.04
空腔高度 (nm)	0.79 – 0.80	0.79 – 0.80	0.79 – 0.80
空腔體積 (nm ³)	0.176	0.346	0.510

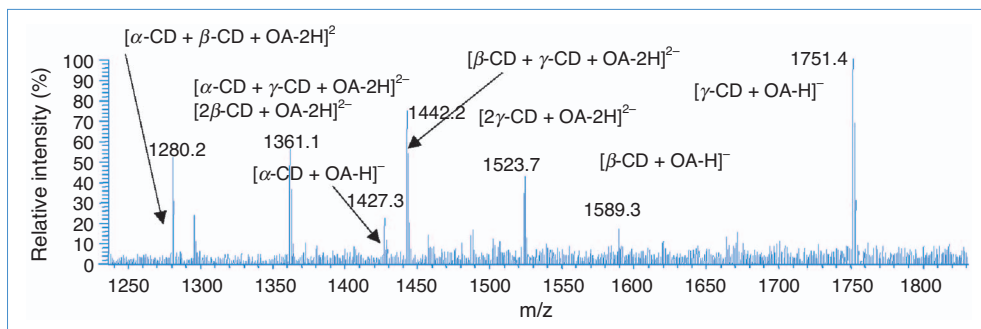


圖 2. Oleanolic acid (OA) 與 α -CD、 β -CD 及 γ -CD 形成錯合之 ESI 質譜圖。⁽²⁾

由於 ESI 是屬於一種較溫和、低能量游離化的方法，測定非共價鍵錯合物時，能讓液態分析物轉換成氣態離子，使得裂解情形不易發生，在質譜圖中可以看到錯合物的離子峰，信號強度十分明顯，故可用質荷比得知非共價鍵相互作用力的強弱，只有穩定的錯合物可存在於氣態游離過程中。由於環糊精特殊結構與其他化合物形成內包錯合物，不論是有機分子、無機分子或離子，只要可以進入環糊精的孔洞中，都可以和環糊精形成內包錯合物，並以 ESI-MS 所測得之質量來確認。

四、ESI 分析環糊精非共價鍵錯合物的應用實例

最近幾年有許多針對環糊精內包錯合物之形成和特性做進一步的研究，可以了解藥物及體外 (*in vitro*) 酵素對於環糊精之鍵結情形，在生物體、藥物、環境等領域中受到相當大的重視。

1. 環糊精與藥物錯合物之分析

齊墩果酸 (oleanolic acid, OA) 為一種抗消炎藥物，通常用於肝病輔助治療藥物和保護肝臟。然而應用在臨床醫學上仍有一主要問題，由於 OA 在水中溶解度不佳，因此並不易被人體所吸收。若 OA 與 β -CD 形成內包錯合物時，會提高 OA 在水中溶解度 (約 12 倍)、增加藥物的穩定性及生物活性，甚至可作為藥品延遲釋放的攜帶劑。圖 2 為 OA 與 α -CD、 β -CD 及 γ -CD 形成錯合之 ESI 質譜圖，由圖中得知 OA 分別與 α -CD、 β -CD 及 γ -CD 形成 1:1 化學計量的內包錯合物，而 OA 與 β -CD 及 γ -CD 除了 1:1 化學計量的內包錯合物之外，亦有

1:2 化學計量的內包錯合物，如圖 3 所示。假如我們想更進一步了解 OA-CD 的鍵結相對強度，可以利用串聯式質譜法 (tandem mass spectrometry, MS/MS) 測定之。圖 4 為 $[\beta\text{-CD} + \text{OA} + \gamma\text{-CD-2H}]^{2-}$ 錯合物 (m/z 1442.3) ESI-MS/MS 質譜圖，待測分析物經離子化後，選擇一個特定離子 (m/z 1442.3)，導入碰撞氣體氦氣至碰撞室內，使特定離子產生碰撞誘導裂解 (collision-induced dissociation, CID)，產生裂解離子為 $[\beta\text{-CD-H}]^{-}$ (m/z 1133.0)、 $[\gamma\text{-CD-H}]^{-}$ (m/z 1294.8) 和 $[\gamma\text{-CD} + \text{OA-H}]^{-}$ (m/z 1751.2)。液態分析物轉換成氣態離子時， $[\beta\text{-CD} + \text{OA-H}]^{-}$ 錯合物鍵結能力相對較弱，進行 MS/MS 會有裂解情形發生，故在質譜圖中沒有看見 $[\beta\text{-CD} + \text{OA-H}]^{-}$ 分子離子峰，而只看到 $[\gamma\text{-CD} + \text{OA-H}]^{-}$ 分子離子峰，此質譜圖可推估 γ -CD 與 OA 錯合物比 β -CD 與 OA 錯合物來得穩定。

2. 環糊精與胺基酸錯合物之分析

胺基酸 (amino acids) 是生命的基本元素，也是

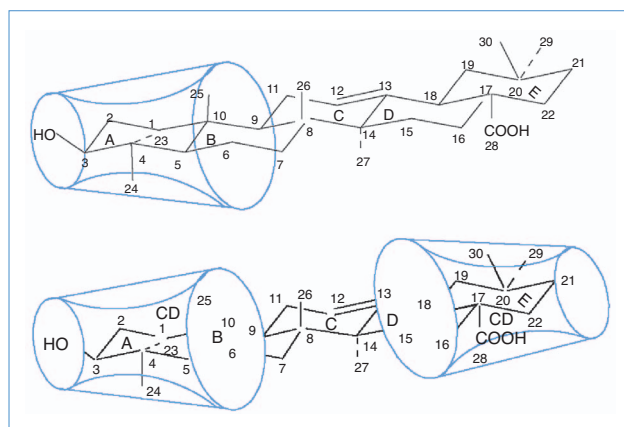
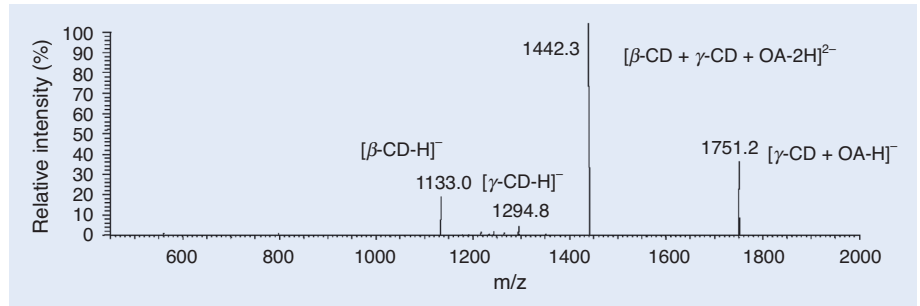


圖 3. OA-CD 錯合物之示意圖。⁽²⁾

圖 4.

$[\beta\text{-CD} + \text{OA} + \gamma\text{-CD-2H}]^{2-}$ 錯合物 ESI/MS/MS 質譜圖。⁽²⁾



蛋白質的組成單位。自然界裡約有 50 多種胺基酸，其中人體所需之胺基酸約有 20 種，但人體中約有 20% 的胺基酸無法自行製造，必須從飲食中取得胺基酸，此稱為必需胺基酸。色胺酸 (tryptone, Trp) 為其中一種必需胺基酸，可做為天然安眠藥，且是大腦製造血清素 (serotonin) 的原料，而血清素這種神經傳導物質能使人心情放鬆、愉悅、減緩神經活動進而引發睡意。圖 5 為色胺酸旋光異構物 (chiral) 與 CD 形成錯合之 ESI 質譜圖。由圖中得知色胺酸旋光異構物會與 CD 形成

1 : 1 化學計量的內包錯合物。圖中並可計算 $R = I[\text{complex}] / I[\text{host}]$ ，即錯合物相對離子峰強度對於主分子離子強度之值。 R 值大小代表非共價鍵結的相對強弱， R 值越大，表示錯合作用力相對越強； R 值越小，則反之。 $D/L\text{-Trp}$ 是旋光異構物的識別 ($D\text{-type}$ 代表右旋， $L\text{-type}$ 代表左旋)，一般來說右旋型態的生物活性會比較好。

由表 2 得知 $D\text{-Trp}$ 與 CD 會形成穩定的錯合物，而 $\beta\text{-CD}$ 與 $D\text{-Trp}$ 的錯合作用力最穩定及最具有選擇性。主要原因是 $\beta\text{-CD}$ 具有較大的孔徑能容

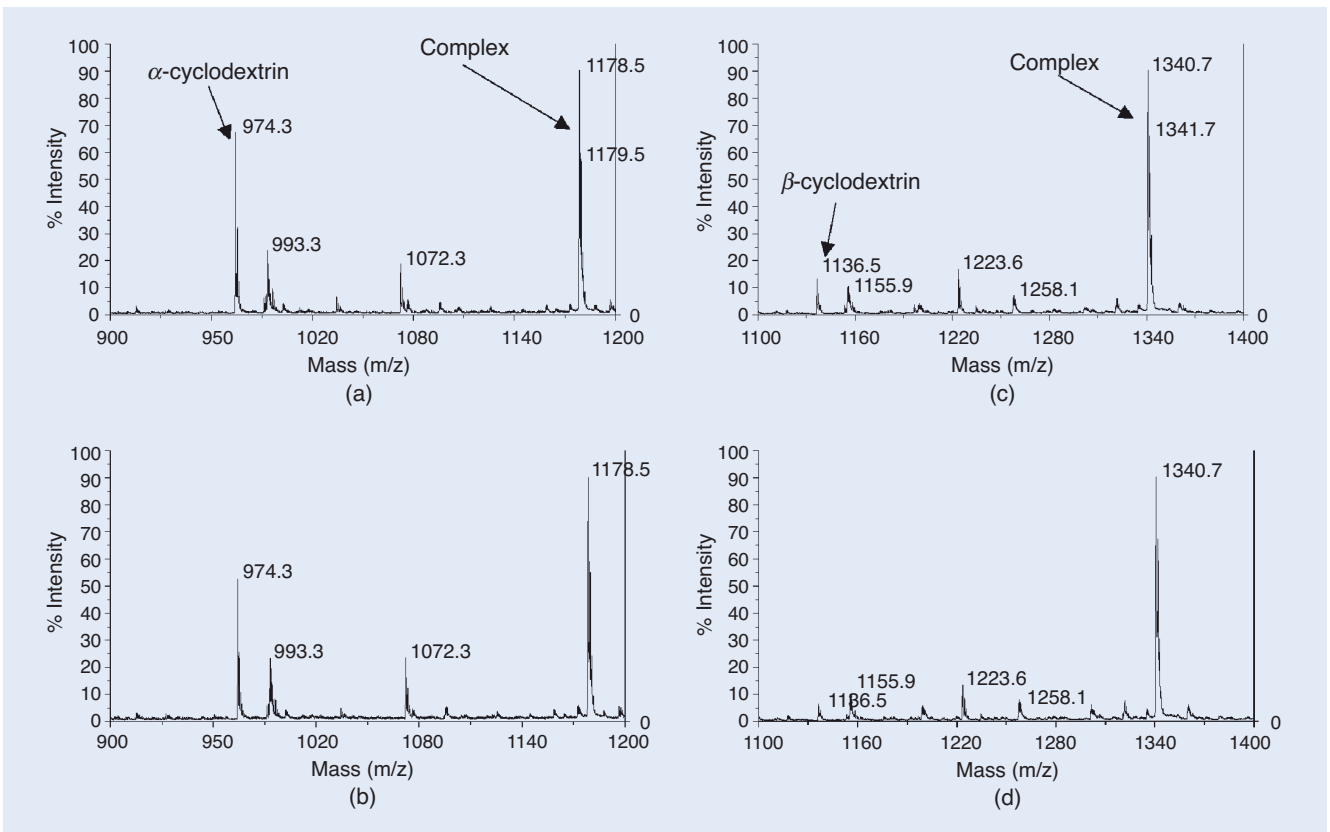


圖 5. (a) $L\text{-Trp}$ 和 $\alpha\text{-CD}$ ，(b) $D\text{-Trp}$ 和 $\alpha\text{-CD}$ ，(c) $L\text{-Trp}$ 和 $\beta\text{-CD}$ ，(d) $D\text{-Trp}$ 和 $\beta\text{-CD}$ 形成錯合之 ESI 質譜圖。⁽³⁾

表 2. 色胺酸旋光異構物與 CD 形成錯合物之 R 值。⁽³⁾

Compound	α -CD	β -CD
D-Trp	1.72 ± 0.14	13.3 ± 2.7
L-Trp	1.33 ± 0.16	6.7 ± 1.9

納 D-Trp 異構物進入孔洞中，造成 β -CD 與 D-Trp 錯合物比 α -CD 與 D-Trp 錯合物來的穩定。

3. 環糊精與胜肽錯合物之分析

胺基酸是構成蛋白質的最小單位，而胜肽 (peptide) 則是由多個胺基酸所組成。Bradykinin (BK) 是一種具有免疫活性的胜肽，為九個胺基酸所組成，圖 6 為 bradykinin (BK) 和 des-Arg-9-BK (dR^9 BK) 與 CD 形成錯合之 ESI 質譜圖。由圖中可得知 BK 和 dR^9 BK 與 CD 會形成 1:1 化學計量之二價離子內包錯合物 $[BK + CD + 2H]^{2+}$ (m/z 1246) 及 $[dR^9BK + CD + 2H]^{2+}$ (m/z 1168)，BK-CD 的可能錯合方式如圖 7 所示。而質子化的胜肽 $[BK + H]^+$ 和 $[BK + 2H]^{2+}$ 會形成帶有單一或雙電荷的離子，此乃因為 BK 和 dR^9 BK 都具有精胺酸結構，而精胺酸具有高質子親和力，使 BK 和 dR^9 BK 易被質子化，因此在質譜圖中可看見 $[BK + H]^+$ (m/z 1061) 和 $[dR^9BK + H]^+$ (m/z 905) 及其雙電荷的離子峰。

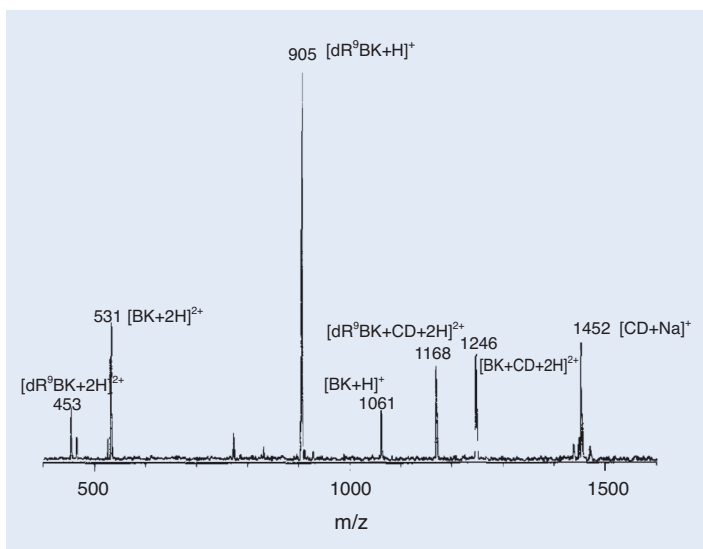


圖 6. Bradykinin (BK)、des-Arg-9-BK (dR^9 BK) 和 CD 形成錯合之 ESI 質譜圖。⁽⁴⁾

而在此質譜圖中無法看見低聚葡萄糖 CD 被質子化，是因在此實驗條件下低聚葡萄糖具有較低之質子親和力。此外，圖中亦可發現 $[CD + Na]^+$ (m/z 1452) 之鈉加成物分子離子峰，此乃由於水溶液中有微量鈉離子 (sodium ion) 存在，鈉離子會和 CD 中氧原子配位形成錯合物。

4. 環糊精與有機金屬錯合物之分析

二茂鐵 (ferrocene) 的結構為三明治構型，由兩個 cp (cyclopentadienyl) 環中間夾著一個鐵原子，本身具有氧化還原能力，而二茂鐵之衍生物 (IV，如圖 8 所示) 可能具有作為感應器 (sensor) 與分子開關 (molecular switch) 材料的潛力。二茂鐵之分子大小適合做為環糊精客分子，它可以與環糊精形成內包錯合物。圖 9 與圖 10 為二茂鐵衍生物 (IV) 與 α -CD 和 β -CD 形成錯合之 ESI 質譜圖。由圖中得知二茂鐵衍生物 (IV) 分別與 α -CD 和 β -CD 形成 1:1 化學計量的內包錯合物 $[\alpha\text{-CD} + \text{IV}]^+$ (m/z 1385) 和 $[\beta\text{-CD} + \text{IV}]^+$ (m/z 1547)。在 ESI 質譜圖中發現內包錯合物分子離子峰的強度並不明顯，由此現象可推測這是由於二茂鐵脂肪族與環糊精形成內包錯合物時，是

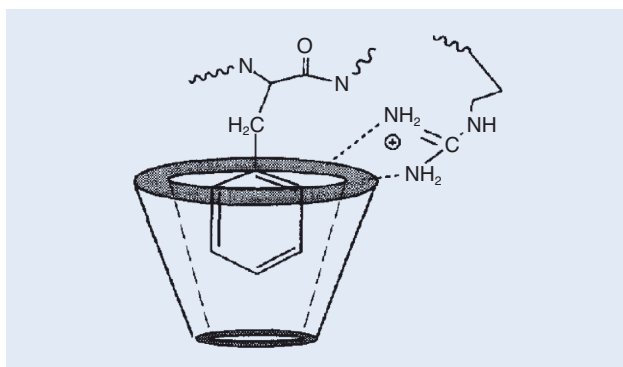


圖 7. Bradykinin-CD 錯合物之示意圖。⁽⁴⁾

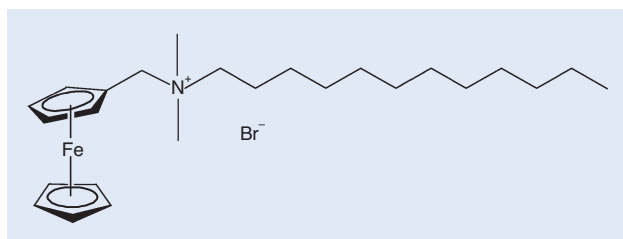


圖 8. 二茂鐵衍生物 (IV) 結構分子式。⁽⁴⁾

圖 9.
二茂鐵衍生物 (IV) 與 α -CD 形成錯合之 ESI 質譜圖。⁽⁵⁾

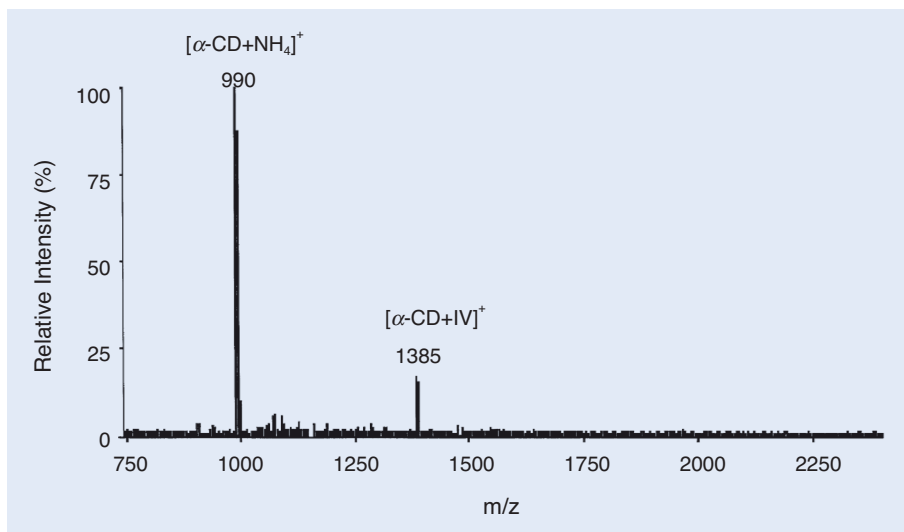
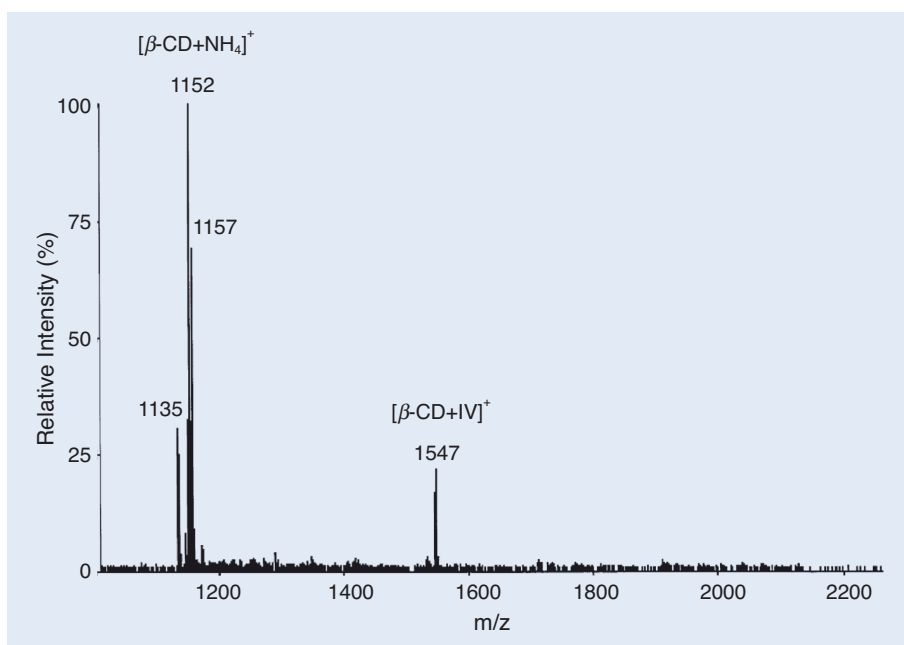


圖 10.
二茂鐵衍生物 (IV) 與 β -CD 形成錯合之 ESI 質譜圖。⁽⁵⁾



以疏水性作用力為主，而疏水性作用力在轉變成氣態離子中是屬於較弱的作用力，而證實原本在水溶液中穩定的內包錯合物，經由電灑游離過程形成氣態錯合物離子時變得不穩定，而易有裂解的情況產生。

5. 環糊精與褪黑激素錯合物之分析

褪黑激素 (*N*-acetyl-5-methoxytryptamine or melatonin, MLT, 如圖 11 所示) 為一種 indolamine 類物質，由生物體內的松果腺分泌產生。MLT 本

身也是一種效果頗強之抗氧化劑和自由基抑制劑，可以保護細胞，免於受到自由基的攻擊。由於許多疾病，如癌症，都跟自由基有關，有學者便據此推

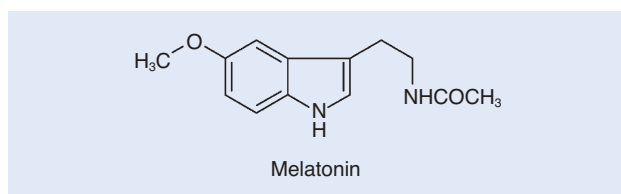


圖 11. 褪黑激素 (melatonin, MLT) 結構分子式。

論 MLT 可以預防癌症與其他疾病的發生。且因為 MLT 之分泌與白天及黑夜週期有關，似乎也會影響生殖力，因此一些哺乳動物在季節中之固定時段發情，可能也是因為某個日照時間誘發 MLT 分泌，進而有固定時段發情之現象。此外一些哺乳動物研究則顯示 MLT 有止痛、抗癲癇的效果，但實際情況如何，仍然缺乏足夠的證據，有待更多的研究證實之。

利用環糊精作為酵素模型，可先模擬環糊精與

MLT 間相互作用力。圖 12 為 MLT 與 β -CD 形成錯合之 ESI 質譜圖，由圖可知 MLT 與 β -CD 會形成 1 : 1 化學計量的內包錯合物 $[\beta\text{-CD} + \text{MLT}]^+$ (m/z 1367.8)。若利用 ESI-MS/MS 技術，可更進一步了解錯合物之質子裂解路徑，如圖 13 所示，選擇一個特定離子 $[\beta\text{-CD} + \text{MLT}]^+$ (m/z 1367.8)，使特定離子產生碰撞誘導裂解，產生裂解離子片斷分別為 $[\beta\text{-CD} + (\text{glucose-H}_2\text{O})_n + \text{H}]^+$ (m/z 811, 649, 487, 325, 163, $n = 2-6$)、 $[\beta\text{-CD} + \text{H}]^+$ (m/z 1135.3)、 $[\text{MLT} +$

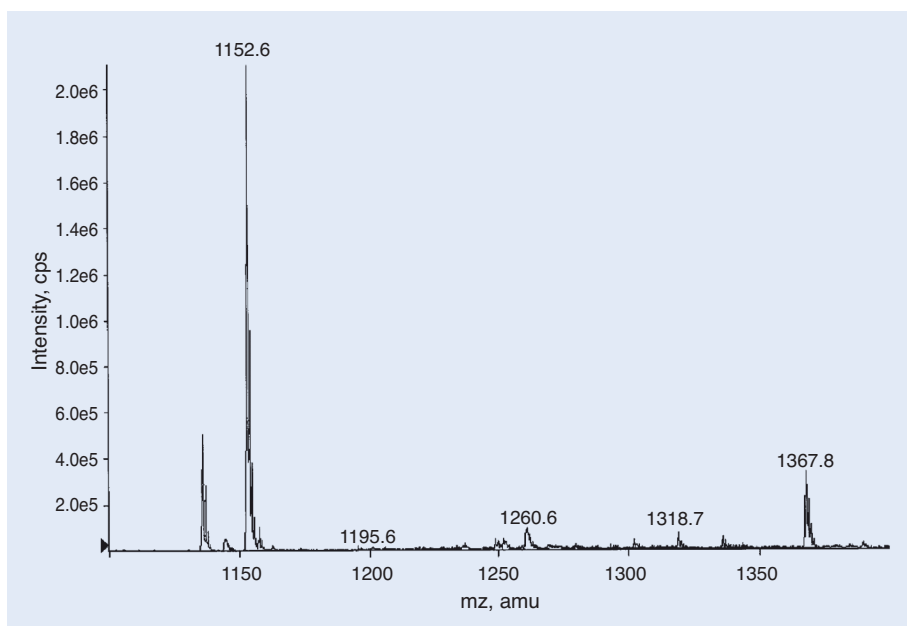


圖 12. 褪黑激素 (MLT) 與 β -CD 錯合之 ESI 質譜圖。⁽⁶⁾

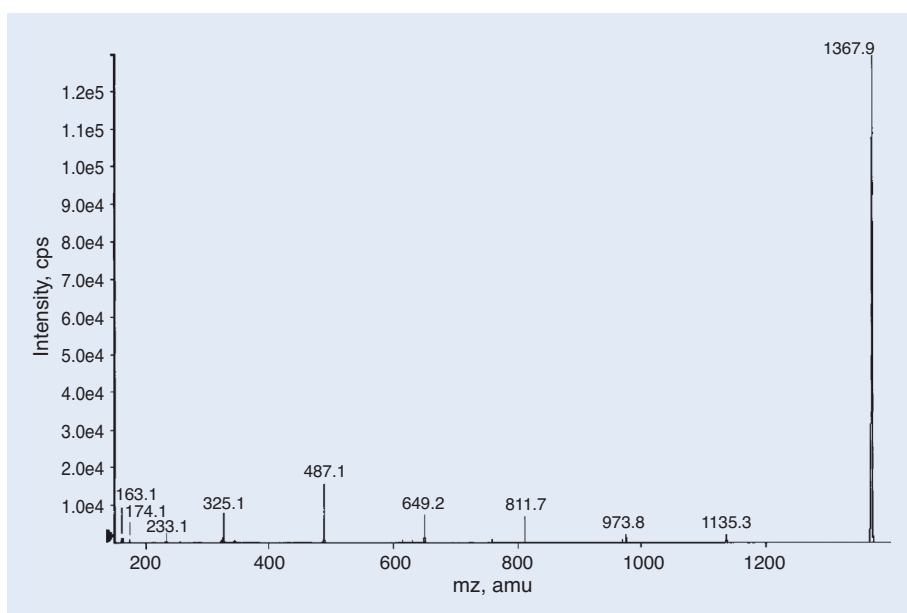


圖 13. $[\beta\text{-CD} + \text{MLT}]^+$ 錯合物之 ESI/MS/MS 質譜圖。⁽⁶⁾

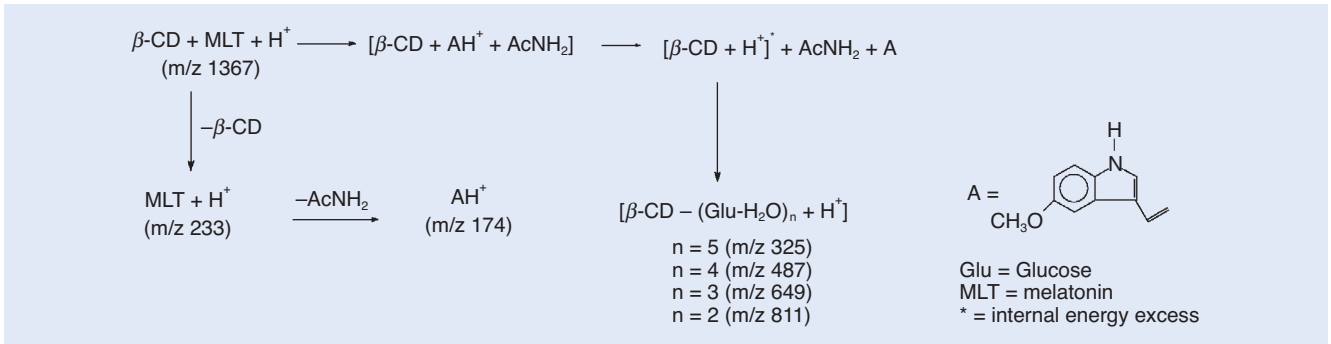


圖 14. 褪黑激素 (MLT) 與 β -CD 錯合物之質子轉移路徑。⁽⁶⁾

H^+ ($m/z\ 233$) 和 $[\text{A} + \text{H}]^+$ ($m/z\ 174$) 離子峰。由文獻中所預測之質子裂解路徑 (如圖 14) 和 ESI-MS/MS 質譜圖所得結果是一致的。

溶性與穩定性，易隨水流四處擴散，加上廢水處理無法適當降解此類化合物，以致這些化合物隨廢水

6. 環糊精與位置異構物錯合物之分析

萘磺酸鹽類 (naphthalenesulfonates) 是一種帶有磺酸根取代基的化合物，對於具有相同分子式與磺酸根取代基數目的萘磺酸鹽類，磺酸根有可能分配在萘上不同位置，形成萘磺酸鹽位置異構物 (如圖 15 所示)，此種萘磺酸鹽類在化學工業的產品製造上被廣泛使用。由於此類化合物具很高的水

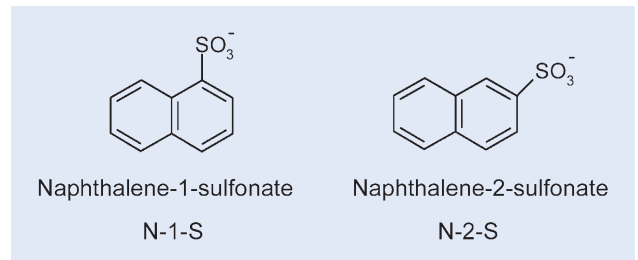
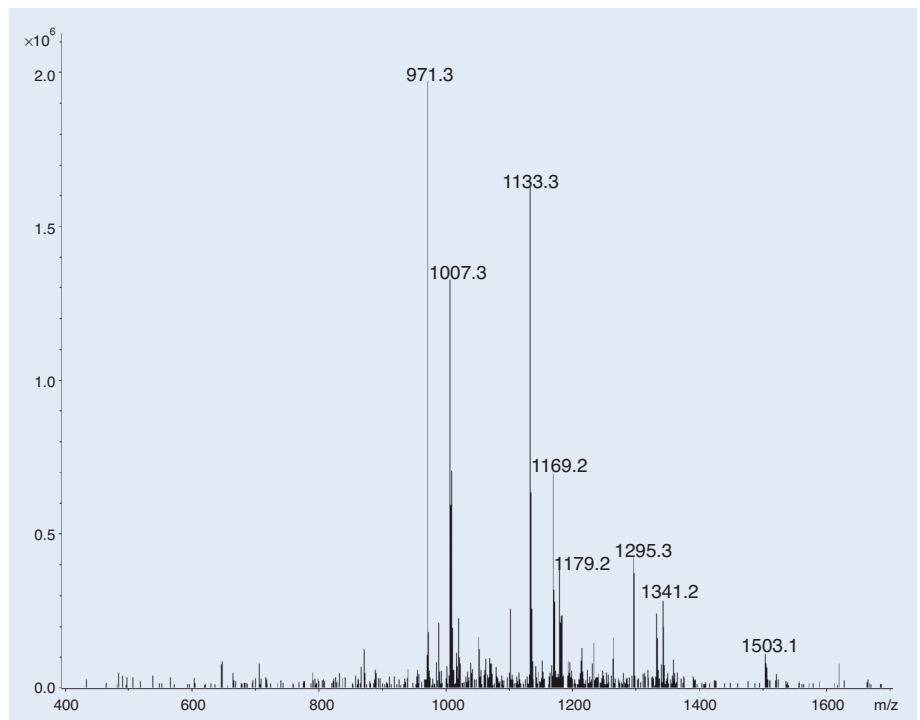


圖 15. 萘磺酸鹽類位置異構物結構分子式。

圖 16. N-1-S 與 α -CD、 β -CD 及 γ -CD 形成錯合物之 ESI 質譜圖。



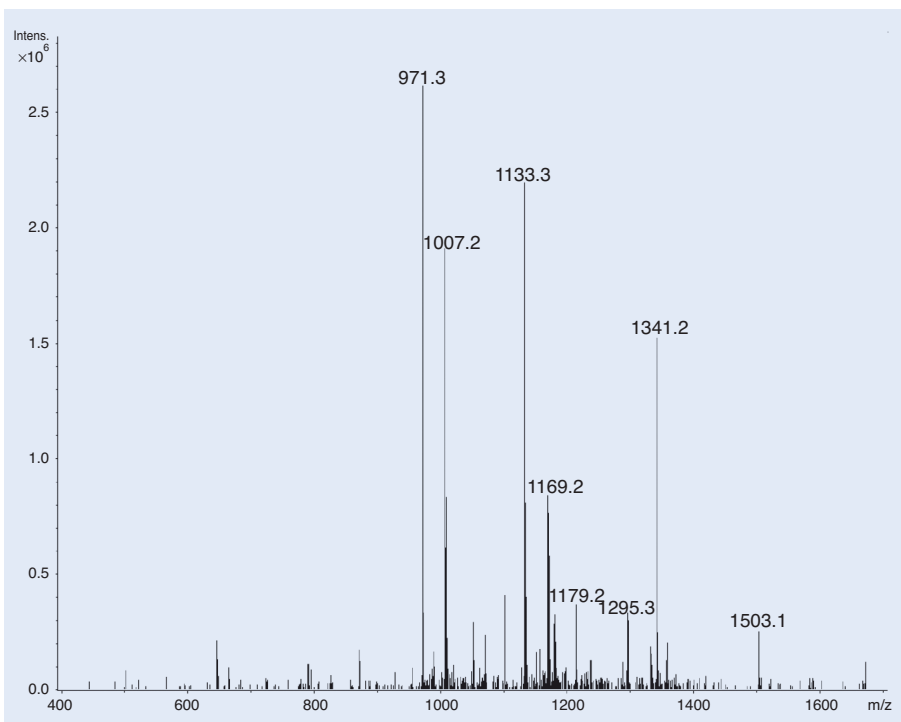


圖 17.
N-2-S 與 α -CD、 β -CD 及 γ -CD 形成錯合物之 ESI 質譜圖。

排入自然環境中。近年來生物研究結果顯示，此類物質會對生物體產生毒害影響，如疑似萘磺酸鹽類來源的胺基偶氮已被指定為具有致癌性物質，因此使得這方面研究逐漸受到各界重視。

利用環糊精作為酵素模型，可先模擬環糊精與萘磺酸鹽類位置異構物間相互作用力。圖 16 與圖 17 為萘磺酸鹽類位置異構物 (N-1-S, N-2-S) 與 α -CD、 β -CD 及 γ -CD 形成錯合物之 ESI 質譜圖，由圖中得知 N-1-S、N-2-S 與 α -CD、 β -CD 及 γ -CD 形成 1 : 1 化學計量的內包錯合物，由圖中看到 [α -CD-H]⁻ (m/z 971.3)、[β -CD-H]⁻ (m/z 1133.3)、[γ -CD-H]⁻ (m/z 1295.3)、[α -CD + 2H₂O-H]⁻ (m/z 1007.3)、[γ -CD + 2H₂O-H]⁻ (m/z 1169.2)、[α -CD + M]⁻ (m/z 1179.2)、[β -CD + M]⁻ (m/z 1341.2)、[β -CD + M]⁻ (m/z 1503.1) 分子離子峰 (M 代表 N-1-S 或 N-2-S 的分子量)。若依前面所討論過的 R 值來推估，由表 3 可得知 [N-2-S + β -CD] 和 [N-2-S + γ -CD] 離子峰相對強度明顯較強 (R 值分別為 0.686 和 0.750)，因為 N-2-S 在 β 位置上有萘磺酸鹽取代基，N-1-S 在 α 位置上有萘磺酸鹽取代基，而萘上取代基在 β 位置之立體障礙較小，使得 N-2-S 具有較好的反應，且 γ -CD 和 β -CD 具有較大的孔徑能容納 N-2-

S 位置異構物進入孔洞中，以上兩種因素造成 N-2-S 較易與 γ -CD 和 β -CD 形成內包錯合物，因此所得到之質譜訊號亦較明顯。

五、結語

許多研究顯示，無論是藥物、胺基酸和胜肽都可以與環糊精形成非共價鍵內包錯合物，使用 ESI 技術可藉由得知分子量，而推估化學計量的比例，更能確定非共價鍵的結構情況，是目前廣泛使用的一種方法。但要注意液態分析物轉換成氣態離子時，非共價鍵內包錯合物並不是所有鍵結能力都穩定，有些鍵結在這個過程會有裂解情形。除此之外，一些不易被 ESI 游離的分子，如非極性或低極性不易產生離子的分子，不適合以 ESI-MS 技術檢

表 3. 萘磺酸鹽類位置異構物與 CD 形成錯合物之 R 值。

Compound	α -CD	β -CD	γ -CD
N-1-S	0.196	0.174	0.292
N-2-S	0.145	0.686	0.750

測。ESI-MS 也可能發生抑制游離效應 (suppression effects)，使得分子離子不易產生，這些因素使得 ESI 仍然有它的侷限性。文中筆者所作之說明和應用實例，僅提供部分之參考，然著眼於此之研究發展日新月異，若能從中涉取經驗，妥善運用，期待對爾後非共價鍵內包錯合物之分析，必能提供一完整且快速之分析技術。

參考文獻

1. J. H. T. Luong and A. L. Nguyen, *J. Chromatogr. A*, **792**, 431 (1997).
 2. M. Guo, S. Zhang, F. Song, D. Wang, Z. Lin, and S. Liu, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **38**, 723 (2003).
 3. Y. Cheng and D. H. Hercules, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **36**, 834 (2001).
 4. S. G. Penn, F. He, M. K. Green, and C. B. Lebrilla, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **8**, 244 (1997).
 5. R. Bakhtiar and A. E. Kaifer, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **12**, 111 (1998).
 6. D. Bongiorno, L. Ceraulo, A. Mele, W. Panzeri, A. Selva, and V. T. Liveri, *J. Mass Spectrom.*, **36**, 1189 (2001).
 7. Y. Dotsikas, Y. L. Loukas, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **14**, 1123 (2003).
 8. V. Gabelica, N. Galic, and E. D. Pauw, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **13**, 946 (2002).
-
- 陳玫慧小姐為國立中央大學化學研究所碩士班學生。
 - 丁望賢先生為美國紐約州立大學化學博士，現任國立中央大學化學系教授。
 - Mei-Hui Chen is a master graduate student in the Department of Chemistry at National Central University.
 - Wang-Hsien Ding received his Ph.D. in analytical chemistry from the State University of New York at Albany, USA. He is currently a professor in the Department of Chemistry at National Central University.