

纳米粒子毛细管电泳/微流控芯片新技术 及其在手性分离中的应用

陈 杰¹, 丁国生², 岳春月¹, 唐安娜^{1*}

(1. 南开大学化学学院分析科学研究中心, 天津 300071; 2. 天津大学分析中心, 天津 300072)

摘要: 纳米粒子因其具有较大的比表面积和良好的生物相容性等特点, 已广泛应用于分离科学领域。纳米粒子毛细管电泳/微流控芯片技术是纳米材料技术与毛细管电泳/微流控芯片技术相结合的产物。纳米粒子可以被吸附或键合到毛细管壁作为固定相与被分析物发生相互作用; 也可以作为假固定相参与样品在柱内的分配和保留, 从而提高柱效, 改善分离。手性是自然界的本质属性之一, 开发新的快速、高效、灵敏的手性分离分析方法对于对映体的立体选择性合成、药理研究、手性纯度检测和环境检测都具有重要的意义。本文主要综述了近些年来几种不同类型纳米粒子(聚合物纳米粒子、磁性纳米粒子、金纳米粒子、碳纳米管和其他类型纳米粒子)用于毛细管电泳/微流控芯片进行手性分离的现状, 并对该领域今后的发展进行了展望。

关键词: 纳米粒子; 毛细管电泳; 微流控芯片; 手性分离; 综述

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2012)01-0003-05

New technique for nanoparticle capillary electrophoresis / microfluidic chip and its uses in enantioselective separation

CHEN Jie¹, DING Guosheng², YUE Chunyu¹, TANG Anna^{1*}

(1. Research Center for Analytical Sciences, College of Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071, China;
2. Analysis Center, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: Nanoparticles have been widely used in separation science due to their large specific surface area and good biocompatibility. Nanoparticle capillary electrophoresis (CE) / microfluidic chip (MC) technique is the hybrid of nanomaterial and the CE/MC technique. By being adsorbed or bonded onto the inner surface of the capillary, the nanoparticles can interact with the analytes as stationary phase. As a kind of separation medium, the nanoparticles can also participate in the separation process acting as a pseudostationary phase (PSP) to improve the separation efficiency and selectivity. Chirality is one of the intrinsic characters of the nature. It is important to develop the novel, fast, highly efficient and sensitive chiral separation technique in many research areas, such as stereoselective synthesis of enantiomers, pharmacology, chiral compounds purity check and environment monitoring. Herein, the recent applications of different types of nanoparticles such as polymer nanoparticles, magnetic nanoparticles, gold nanoparticles and carbon nanotubes in enantioseparation by CE/MC are reviewed, and the future developments in this area are also prospected.

Key words: nanoparticle; capillary electrophoresis (CE); microfluidic chip; chiral separation; review

纳米粒子(nanoparticles, NPs) 是指粒度在 1 ~ 100 nm 之间的粒子, 由于其粒径较小, 所以具有较大的比表面积。由于处于原子簇和宏观物体之间

的过渡区, 纳米粒子又有着一些特殊的性质, 如体积效应、表面效应和量子尺寸效应等^[1~2]。

毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE) 和

* 通讯联系人: 唐安娜 副教授. E-mail: tanganna@nankai.edu.cn.

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(20505011, 21005054).

收稿日期: 2011-09-29

微流控芯片(microfluidic chip , MC) 技术是近些年来发展起来的主要以电渗流为驱动力的高效、快速分离分析手段^[3~5]。纳米粒子毛细管电泳/微流控芯片(NPCE/MC) 技术是纳米材料技术与 CE/MC 技术相结合的产物。该技术是将功能化纳米粒子吸附或键合到毛细管壁, 作为固定相与被分析物发生相互作用; 或将其加入电泳运行缓冲液中, 以其作为假固定相(pseudostationary phases , PSPs) 参与样品在柱内的分配和保留, 从而提高柱效, 改善分离。目前, 这一新技术已成功应用于蛋白质、多肽、脱氧核糖核酸(DNA) 和药物等的分离分析^[2~6, 7]。

手性是自然界的本质属性之一。作为生命活动重要基础的生物大分子, 如蛋白质、多糖、核酸和酶等, 几乎全都是手性的。这些分子在生物体内往往具有重要的生理功能。此外, 人类目前所用的药物多为低于 50 个原子组成的有机小分子, 很大一部分也具有手性, 它们的药理作用是通过与体内大分子之间严格的手性匹配与分子识别来实现的。对于手性药物, 一个异构体可能是有效的, 而另一个异构体可能是无效甚至是有害的。因此, 开发新的快速、高效、灵敏的手性分离分析方法对于对映体的立体选择性合成、药理研究、手性纯度检测和环境检测都具有十分重要的意义^[8~9]。

目前, 应用于手性分析的色谱技术主要有薄层色谱(TLC) 、高效液相色谱(HPLC) 、气相色谱(GC) 、超临界流体色谱(SFC) 和毛细管电泳/电色谱(CE/CEC) 等^[10, 11]。NPCE/MC 技术自 2000 年首次用于手性分离^[12]以来, 以其高效、快速、易于操作等优点而备受关注, 相关的研究也逐年增多。目前, 用于该领域的纳米粒子主要包括聚合物纳米粒子(polymer nanoparticle , PNP) 、磁性纳米粒子(magnetic nanoparticle , MNP) 、金纳米粒子(gold nanoparticle , GNP) 和碳纳米管(carbon nanotubes , CNTs) 其他类型的纳米粒子也有所应用。

1 聚合物纳米粒子

自 1989 年 Wallingford 等^[13] 首次将磺化的聚合物纳米粒子作为添加剂用于 CE 分离以来, 人们对 PNP 的应用进行了诸多探索。Na 等^[14] 将平均粒径为 15 nm 的聚苯乙烯纳米微球和羟丙基-β-环糊精按比例加入 CE 运行缓冲溶液中, 高效拆分了手性药物普萘洛尔(propranolol) 。与常规的 CE 手性分离实验相比, 由于羟丙基-β-环糊精吸附在聚合物纳米微球上使得对映体和羟丙基-β-环糊精的相互作用得到了一定程度的加强, 因而可大大减少手

性选择剂的用量。Xu 等^[15] 采用可逆加成-断裂链转移(reversible addition-fragmentation chain transfer , RAFT) 反应和微乳液聚合的方法成功制备了聚合物手性纳米粒子。实验证实这种纳米粒子对(±)-3-氨基-4-2-丙二醇、D/L-树胶醛糖、D/L-酒石酸和 D/L-苦杏仁酸等都有较好的手性选择性。Paik 等^[16] 以聚环氧乙烷(poly ethylene oxide , PEO) 与 D/L-谷氨酸、D/L-苯丙氨酸的嵌段共聚物(PEO-*b*-(D/L-GluA)₁₀ 、PEO-*b*-(D/L-Phe)₁₀) 进行共聚制备出孔径为 3.5 ~ 3.7 nm 的手性介孔聚吡咯(CMPPy) 球形纳米粒子, 实验表明此纳米粒子具有一定的手性识别能力。Chen 等^[17] 将甲基丙烯酸缩水甘油醚修饰的壳聚糖纳米粒子与甲基丙烯酰胺在 N,N'-亚甲基双丙烯酰胺的交联作用下共聚, 从而使壳聚糖纳米粒子键合到毛细管内壁并以其作为手性固定相, 对色氨酸和儿茶酚的异构体进行了较好的拆分。

分子印迹聚合物(molecular imprinted polymers , MIPs) 是通过分子印迹技术合成的对特定目标分子(模板分子) 及其结构类似物具有特异性识别和选择性吸附的聚合物。Nilsson 等^[12, 18] 以 S-普萘洛尔为模板分子制备出 200 ~ 500 nm 的分子印迹纳米粒子, 将其添加于电泳运行缓冲溶液中对普萘洛尔外消旋体进行了手性分离。实验中, 为了消除纳米粒子在毛细管壁的吸附而对检测产生的影响, 采取了区段灌注技术(partial filling technique , PF) 。随后, 该研究组又同时以 S-普萘洛尔和 S-罗哌卡因(S-ropivacaine) 为印迹分子, 制备了复合型分子印迹纳米微球, 并将其作为电泳添加剂对这两种物质的外消旋体同时进行了拆分^[19]。de Boer 等^[20] 分别以甲基丙烯酸和 1,1,1-三(羟甲基) 丙烷三甲基丙烯酸酯为功能单体和交联试剂, 采用热引发的沉淀聚合方法合成了粒径在 100 ~ 200 nm 范围的(+)-麻黄碱((+)-ephedrine) 印迹纳米球, 在优化实验条件下对麻黄碱及其结构类似物沙丁胺醇(salbutamol) 的外消旋体同时进行了拆分。Nilsson 等^[21] 采用微乳液聚合的方法, 以表面活性单体十一碳烯酰甘氨酸钠(SUG) 取代通常使用的功能单体, 合成了粒径在 30 ~ 150 nm 的“单克隆”分子印迹纳米粒子, 通过采用区段灌注技术, 使得普萘洛尔对映体达到了基线分离; 同时由于采用了这种新颖的表面印迹技术, 很大程度地避免了印迹纳米粒子进行手性分离时常见的峰形拖尾现象, 理论塔板数达到了 25 000 ~ 60 000 块/m。

2 磁性纳米粒子

磁性纳米粒子是一类智能型的纳米磁性材料,既具有纳米材料所具有的性质如粒径小、比表面积大,同时又具有磁性材料的磁响应性及超顺磁性,可以在恒定磁场下聚集和定位、在交变磁场下吸收电磁波产生热等。由于这些特性,磁性纳米粒子已被应用于磁共振成像、药物载体、细胞分离、免疫检测和癌症热疗等领域^[22~26]。

在手性分离领域,磁性纳米粒子也得到了许多研究者的关注。基于磁性硅胶纳米粒子(magnetic silica nanoparticle, MSNP)超顺磁性、低毒、表面易修饰等优点,Choi等^[27]在其表面键合了手性选择剂,借助于外加的磁场对外消旋的N-(3,5-二硝基苯甲酰)丙氨酸、N-(3,5-二硝基苯甲酰)缬氨酸及N-(3,5-二硝基苯甲酰)亮氨酸的衍生物进行了拆分,这也是MSNP直接用于手性分离的首次报道。Ghosh等^[28]以氰胺为偶联剂,在MSNP表面修饰上羧甲基-β-环糊精。使用此修饰过的纳米粒子,对色氨酸、苯丙氨酸和酪氨酸等芳香氨基酸的对映体进行了吸附试验。试验表明,疏水作用和形成氢键的能力越强,吸附容量越大;而对同一种氨基酸而言,对L型的吸附容量大于D型。Qu等^[29]以S-氧氟沙星(S-ofloxacin)作为模板分子,在粒径为25 nm的磁性纳米粒子表面进行聚合反应,制备出粒径约为200 nm的分子印迹磁性纳米粒子,将其应用于微流控芯片系统对氧氟沙星的外消旋体进行了基线分离,分离时间仅需195 s。由于磁性内核的存在,实验过程可以通过外部磁场的作用很容易地控制纳米粒子在微流控芯片毛细通道中的填充长度,因而操作简捷、方便。

3 金纳米粒子

自2001年Neiman等^[30]首次将GNP作为添加剂应用于毛细管电泳以来,金纳米粒子以其独特的理化性质和良好的稳定性引起了人们的关注^[2,31]。在手性分离方面,Liu等^[32]将GNP键合到高效液相色谱柱所用的硅胶表面,再通过3-巯基丙酸的作用将牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)键合到纳米粒子上制成了BSA手性柱,对L/D-丹酰-戊氨酸进行了手性拆分。Shukla等^[33]在金纳米粒子表面修饰上D-或L-半胱氨酸使得其具有手性选择性,并将修饰后的纳米粒子加入到外消旋的氧化丙烯溶液中,通过旋光度测定表明,D-半胱氨酸(L-半胱氨酸)修饰的金纳米粒子对S-

氧化丙烯(R-氧化丙烯)具有选择性的吸附效果。Li等^[34]在芯片的毛细通道内用γ-巯基三甲氧基硅烷进行衍生化,然后再依靠巯基的作用将牛血清白蛋白-金纳米粒子复合物(BSA-GNP)结合到毛细通道内壁形成手性涂层。实验表明在36 mm的毛细通道有效长度下,该芯片装置可在250 s内对麻黄碱、去甲麻黄碱的外消旋体进行分离,且表现出良好的重现性。Yang等^[35]以巯基-β-环糊精修饰的金纳米粒子(CD-GNPs)为电泳分离的添加剂,对二硝基苯基(DNP)取代的氨基酸对映体(缬氨酸、亮氨酸、谷氨酸、天冬氨酸)和3对手性药物(扑尔敏、佐匹克隆、卡维地洛)进行了手性分离,在较低的金纳米粒子使用质量浓度(0.8~1.4 mg/mL)下,理论塔板数最高达到240 000块/m,分离度最高可达4.7。分离所需使用的β-环糊精浓度仅为0.30~0.53 mmol/L,远低于单纯使用β-环糊精时所需的最佳浓度15 mmol/L,大大节省了手性选择剂的用量。在随后的研究中,该研究小组^[36]依靠二烯丙基二甲基氯化铵(diallyldimethylammonium chloride, PDDA)与CD-GNPs的静电相互作用将CD-GNPs吸附于毛细管壁作为手性涂层,对佐匹克隆等3种外消旋手性药物进行了拆分。实验结果表明,这种依据静电作用组装起来的毛细管柱在pH 3.0~9.2范围内都有着稳定的电渗流,且稳定性能保持4 h以上,毛细管柱之间有着良好的重现性。

4 碳纳米管

自1991年日本科学家Iijima^[37]发现碳纳米管以来,这种碳六元环构成的类石墨平面卷曲而成的纳米级中空管因其独特的电学和化学性质而得到广泛的应用。碳纳米管按照石墨烯片的层数可分为单壁碳纳米管(single-walled nanotubes, SWNTs)和多壁碳纳米管(multi-walled nanotubes, MWNTs),按照结构特征可以分为扶手椅式纳米管、锯齿形纳米管和手形纳米管3种类型。Na等^[38]考察了MWNTs、聚苯乙烯、TiO₂和Al₂O₃4种不同纳米粒子表面修饰上β-环糊精后对克伦特罗(clenbuterol)进行手性拆分的效果。实验表明β-环糊精修饰的MWNT能最大程度地改善克伦特罗手性分离的效果;在一定范围内增加修饰纳米粒子的浓度可改善手性分离的效果;继续增加浓度不仅于手性分离无益,还会发生团聚现象影响分离的重现性。Valcarcel等^[39,40]使用表面活性剂十二烷基硫酸钠(SDS)涂覆的SWNTs和MWNTs作为假固定相用于CE手性拆分麻黄碱(ephedrine)和去甲

麻黄碱(norephedrine) 等外消旋体。研究认为 , 尽管所用的商品化 CNTs 本身没有手性 , 但通过超声处理后很有可能在其结构中引入了手性特征 , 因而可用于直接的手性分离实验 , 而不需另加其他类型的手性选择剂。研究同时还表明 , 相对于修饰后的 SWNTs 来说 , 修饰后的 MWNTs 分离对映体的能力更强。Weng 等^[41] 通过羧基的作用在酸处理过的 SWNTs 表面键合上 BSA , 并将其作为手性选择剂用于微流控芯片系统 , 在 70 s 内实现了色氨酸对映体的分离。武春霞等^[42] 综述了碳纳米管在分离科学中的应用 , 其中讨论了碳纳米管在毛细管电泳假固定相方面的应用。

5 其他类型的纳米粒子

除了上述种类的纳米粒子之外 , 也有少量其他类型的纳米粒子用于手性分离的报道。Choi 等^[43] 以磺化 β - 环糊精作为手性选择剂 , 在缓冲液中加入 Ag 纳米粒子对几种芳香醇进行了分离。研究发现 , 磺化 β - 环糊精与 Ag 纳米粒子的比例是影响手性分离的一个重要参数 , 两者最合适的物质的量比为 65 : 1 。郭宝晶等^[44] 以戊二醛为偶联剂 , 在一种树枝状聚合物——聚酰胺胺(PAMAM) 的端氨基上键合手性选择剂 BSA , 在开管电色谱模式下成功分离了 D / L- 色氨酸。MCM-41 (Mobile crystalline material-41) 作为一种新型的有序介孔材料 , 具有孔道呈六方有序排列、大小均匀、孔径可在 2 ~ 10 nm 范围内连续调节、比表面积大等特点。Dong 等^[45] 以十六烷基三甲基溴化铵(CTAB) 为模板制备出球形的 MCM-41 纳米粒子并将其固着于毛细管内壁 , 随后将 3,5- 二甲基异氰酸酯修饰的纤维素涂敷在其表面制得手性开管毛细管柱。扫描电镜图片显示毛细管经过 MCM-41 纳米粒子处理后 , 其光滑的内壁变得粗糙 , 从而大大增加了毛细管内壁的表面积。对多种不同类型的手性化合物分离的结果表明 , 这种方式制得的手性柱比直接用纤维素涂敷的常规毛细管手性拆分能力要提高很多。

6 展望

综上所述 纳米粒子用于毛细管电泳 / 微流控芯片手性分离的方式主要有两种 : 加入电泳运行缓冲溶液或通过不同方式(键合、吸附或外加磁场) 固着于毛细管通道内壁。与常规的 CE 手性分离技术相比 , 在运行缓冲液中加入纳米粒子不仅可以灵活地调节系统的电渗流 , 作为假固定相参与样品在柱内的分配和保留 , 也大大减少了手性选择剂的用量 , 降

低了操作的成本。与 CEC 手性柱常规的制备方法 (如高压填充、原位反应等) 相比 , 将纳米粒子固着于毛细管内壁的方法简单易行 , 既避免了繁琐的柱制备步骤 , 也保证了手性柱较高的相比 , 因而可获得高度重现的、令人满意的分离。

与纳米粒子在分离领域的其他应用 (如蛋白质、DNA 和药物等) 相比 , 纳米粒子在手性分离方面的研究起步较晚 , 所用的纳米粒子种类还比较有限 , 分离的手性化合物种类也较少。在手性分离所用的纳米粒子中 , 本身具有手性分离能力 (或手性特征) 的所占的比例还很小 , 大部分还是与常用的手性选择剂一起使用 , 通过两者的协同作用来提高或改善手性拆分的效果。此外 , 在手性分离机理研究方面 , 大多数的研究还局限于定性的讨论 , 缺乏深入细致的分析和实验验证。随着纳米材料制备技术的进一步发展和各种表征手段 (如透射电镜 (TEM) 、拉曼光谱 (Raman) 、红外光谱 (IR) 、核磁共振 (NMR)) 的广泛使用 , 相信上述两方面的研究将在今后得到重视和加强。

致谢: 感谢南开大学 2011 年度基本科研业务费项目的支持。

参考文献:

- [1] Goldstein A N , Echer C M , Alivisatos A P. Science , 1992 , 256(5062) : 1425
- [2] Li H , Yan X H , Ding G S , et al. Journal of Instrumental Analysis (李慧 , 闫新焕 , 丁国生 , 等 . 分析测试学报), 2010 , 29(6) : 638
- [3] Natishan T K. J Liq Chromatogr Related Technol , 2005 , 28 (7/8) : 1115
- [4] Dittrich P S , Manz A. Nat Reviews Drug Disc , 2006 , 5(3) : 210
- [5] Erickson D , Li D Q. Anal Chim Acta , 2004 , 507(1) : 11
- [6] Guihen E , Glennon J D. Anal Letters , 2003 , 36(15) : 3309
- [7] Nilsson C , Birnbaum S , Nilsson S. J Chromatogr A , 2007 , 1168(1/2) : 212
- [8] Amini A. Electrophoresis , 2001 , 22(15) : 3107
- [9] Ward T J , Farris III A B. J Chromatogr A , 2001 , 906(1/2) : 73
- [10] Gubitz G , Schmid M G. Biopharm Drug Disp , 2001 , 22(7/8) : 291
- [11] Bos R , Woerdenbag H J , Pras N. J Chromatogr A , 2002 , 967(1) : 131
- [12] Schweitz L , Spegel P , Nilsson S. Analyst , 2000 , 125(11) : 1899
- [13] Wallingford R A , Ewing A G. Adv Chromatogr , 1989 , 29: 1
- [14] Na N , Hu Y P , Ouyang J , et al. Anal Chim Acta , 2004 , 527(2) : 139
- [15] Xu W L , Cheng Z P , Zhang L F , et al. J Poly Sci Part A: Poly Chem , 2010 , 48(6) : 1324
- [16] Paik P , Gedanken A , Mastai Y. J Mater Chem , 2010 , 20

- (20) : 4085
- [17] Chen J L , Hsieh K H. Electrophoresis , 2011 , 32(3/4) : 398
- [18] Spegel P , Schweitz L , Nilsson S. Electrophoresis , 2001 , 22(17) : 3833
- [19] Spegel P , Schweitz L , Nilsson S. Anal Chem , 2003 , 75 (23) : 6608
- [20] de Boer T , Mol R , Zeeuw R A D , et al. Electrophoresis , 2002 , 23(9) : 1296
- [21] Priego-Capote F , Ye L , Shakil S , et al. Anal Chem , 2008 , 80(8) : 2881
- [22] Lise-Marie L , Don H , Sun S H. Curr Top Med Chem , 2010 , 10(12) : 1184
- [23] Mini N , Sutanjay S , Rasika T. J Nanosci Nanotechnol , 2008 , 8(7) : 3247
- [24] Daisuke K , Shogo T , Yoko I. Int J Mol Sci , 2011 , 12(6) : 3705
- [25] Magda L , Carlos R. Puerto Rico Health Sci J , 2009 , 28 (3) : 227
- [26] Zhao C , Liu T , Gao J N. MINI-REV MED CHEM , 2010 , 10 (3) : 194
- [27] Choi H J , Hyun M H. Chem Commun , 2009 , 10(42) : 6454
- [28] Ghosh S , Badruddoza A Z M , Uddin M S , et al. J Colloid Interf Sci , 2011 , 354(2) : 483
- [29] Qu P , Lei J P , Zhang L , et al. J Chromatogr A , 2010 , 1217 (39) : 6115
- [30] Neiman B , Grushka E , Lev O. Anal Chem , 2001 , 73(21) : 5220
- [31] Sardar R , Funston A M , Mulvaney P. Langmuir , 2009 , 25 (24) : 13840
- [32] Liu F K , Wei G T , Cheng F C. Journal of the Chinese Chemical Society , 2003 , 50(4) : 931
- [33] Shukla N , Bartel M A , Gellman A J. J Am Chem Soc , 2010 , 132(25) : 8575
- [34] Li H F , Zeng H L , Chen Z F , et al. Electrophoresis , 2009 , 30(6) : 1022
- [35] Yang L , Chen C J , Liu X , et al. Electrophoresis , 2010 , 31 (10) : 1697
- [36] Li M , Liu X , Jiang F Y , et al. J Chromatogr A , 2011 , 1218 (23) : 3725
- [37] Iijima S. Nature , 1991 , 354(7) : 56
- [38] Na N , Hu Y P , Ouyang J , et al. Talanta , 2006 , 69(4) : 866
- [39] Suarez B , Simonet B M , Cardenas S , et al. Electrophoresis , 2007 , 28(11) : 1714
- [40] Moliner-Martinez Y , Cardenas S , Valcarcel M. Electrophoresis , 2007 , 28(15) : 2573
- [41] Weng X X , Bi H Y , Liu B H , et al. Electrophoresis , 2006 , 27(15) : 3129
- [42] Wu C X , Wang C , Wang Z. Chinese Journal of Chromatography (武春霞 , 王春 , 王志 . 色谱) , 2011 , 29(1) : 6
- [43] Choi S H , Noh H J , Lee K P. Bull Korean Chem Soc , 2005 , 26(10) : 1549
- [44] Guo B J , Yang Y , Su P. Chemical Research in Chinese Universities (郭宝晶 , 杨屹 , 苏萍 . 高等学校化学学报) , 2007 , 28(7) : 1267
- [45] Dong X L , Wu R A , Dong J , et al. Electrophoresis , 2008 , 28(15) : 2606