

综 述

手性有机聚合物毛细管电色谱整体柱研究进展

陈利 丁朱 康, 姚传义

(厦门大学 化学化工学院, 福建 厦门 361005)

摘 要: 毛细管电色谱具有高分离效率、多种保留机制和高选择性的优点。近年来, 利用毛细管电色谱进行对映异构体的手性拆分受到了广泛关注。相对于传统的填充柱和开管柱, 整体柱在手性拆分方面具有显著优势。与手性硅基整体柱相似, 手性有机聚合物整体柱由于具有大孔, 可产生较高的流速而压降较小。该文综述了近十年手性有机聚合物整体柱制备方法的研究进展, 将手性有机聚合物整体柱的制备方法分为“原位聚合法”和“手性修饰法”两种, 虽然前者制备简单并广泛应用于早期研究, 但聚合混合液成分的微小改变即可引起最终聚合物的形态变化, 并且大部分带丙烯基的手性选择剂较难从市场购买。因此, 手性修饰法因作为手性选择剂基质的整体柱制备且优化只需进行一次的优势而受到普遍关注。亲核取代、杂环开环和点击化学是常用的修饰手段。该文总结了这两种制备方法的应用, 同时对未来的研究方向提出参考性意见。

关键词: 毛细管电色谱; 整体柱; 手性固定相; 立体选择性; 综述

中图分类号: O657.1; O741.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2010)12-1235-06

doi: 10.3969/j.issn.1004-4957.2010.12.023

Progress on Chiral Organic Polymer-based Monoliths for Capillary Electrophoresis

CHEN Li-ding ZHU Kang YAO Chuan-yi

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract Capillary electrophoresis (CEC) is a new separation technique that has the advantages of both capillary electrophoresis (high efficiencies) and HPLC (mobile and stationary phase selectivity). The application of CEC for enantioseparations has received much more attention in recent years. Chiral monolithic columns can avoid the problems encountered in chiral open-tubular and chiral conventional packed columns. Similar to chiral silica-based monoliths, chiral organic polymer-based monoliths possess large pores which allow convective flow of mobile phase and result in high flow rates at reduced pressure drop. The present review summarizes the recent development in preparation of chiral organic polymer-based monoliths and their applications for enantioseparations by capillary electrophoresis. The preparations of chiral organic polymer-based monolithic columns are classified as in situ polymerization approach and chiral postmodification approach. The former is simple and mainly adopted by the early researchers, but its application is limited by some of its disadvantages, e.g. the morphology of the monolith is very sensitive to the variation of the composition of the polymerization mixture; moreover, most of the allyl chiral selectors used are not commercially available. Whereas in the chiral postmodification approach, once the monolith column is prepared and optimized, it can be used as the substrate for immobilization of various chiral selectors, thus it has received much concern in recent years. Nucleophilic substitution, heterocyclic ring-opening and click chemistry are generally used modification means. In this review, the application of the these two preparation methods are summarized and in addition, some research directions for the future are suggested.

收稿日期: 2010-07-19 修回日期: 2010-08-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20876128)

第一作者: 陈利丁 (1985-), 女, 福建福州人, 硕士研究生

通讯作者: 姚传义, Tel: 0592-2186038, E-mail: cyao@xmu.edu.cn

Key words capillary electrochromatography monolithic column chiral stationary phase enantioselectivity review

手性是自然界的本质属性之一, 药物和食品添加剂等具有生物活性的手性物质, 在体内的运输和代谢方式均与其立体化学有关^[1]。因此, 手性分离在生化、医药、环境等领域十分重要。利用手性固定相 (Chiral stationary phases CSPs) 的高效液相色谱柱法是目前应用最广泛的拆分手性对映体的方法^[2-4]。毛细管电色谱 (CEC) 可看作是高效液相色谱和毛细管电泳的“杂交体”, 以高压直流电场为驱动力, 克服了液相色谱流速不均引起的谱带展宽、压降大等问题, 具有选择性高、分离时间短, 固定相、溶剂和样品用量少等优点。已有许多高效液相色谱的 CSPs 被应用于 CEC 模式, 并成功分离了多种手性化合物^[5-7]。

毛细管电色谱柱的制备方法主要包括开管柱、填充柱和整体柱技术。手性开管柱技术是在毛细管内壁用物理吸附、涂布或共价键合等方式结合手性选择剂; 由于开管柱的内表面积有限, 因此存在相比低、容易过载、手性拆分能力较差等问题^[8-10]。手性填充柱技术是将粒状的手性填料填充到毛细管中, 并在管两端高温烧结塞子“困住”填料; 手性填充柱可以得到高效快速的分离效果, 但制柱麻烦、塞子处容易产生气泡、压降较高, 导致分析结果的重复性和稳定性较差^[11-12]。手性整体柱技术则克服了上述问题, 其在毛细管内原位反应制备柱体, 具有柱效高、柱容量大的优点, 且省却了烧结柱塞的工序^[13-15]。

手性 CEC 整体柱可分为两大类: 第一类是硅基整体柱: 通过溶胶-凝胶法直接制备硅基 CSPs, 或将手性粒子填料固定在硅胶基质上。手性硅基整体柱具有很高的机械强度, 不会因为流动相性质的改变导致柱体溶胀或皱缩。第二类是有机聚合物整体柱: 将合适的有机单体、交联剂与致孔剂混合, 通过引发剂引发自由基链式聚合反应制得。手性有机整体柱的优势在于制备简单、容易修饰、在很宽的 pH 范围内化学性质稳定。多糖^[16-17]、单糖^[18-19]、蛋白质^[20-21]、糖蛋白^[22]、大环抗生素^[23-24]等多种手性选择剂被用于制备手性 CEC 整体柱。国内外已有学者对硅基 CEC 整体柱和手性硅基 CEC 整体柱做了相关的综述^[25-28]。本文对手性有机聚合物 CEC 整体柱的制备及分离过程中影响手性识别的因素进行了系统的综述。

1 手性有机聚合物毛细管电色谱整体柱的制备

20 世纪 80 年代, Hjerten 等^[29]率先提出了整体柱的概念。1992 年, Frechet 研究小组^[30-32]引入了一种新的色谱分离基质: 将单体混合物及致孔剂注入空管中, 经热、紫外光或 γ 射线等引发使单体混合物在管内聚合, 制备棒状、刚性、连续、多孔的有机整体; 并证明了该整体介质修饰手性选择剂后在 CEC 模式下也能很好地拆分手性化合物。有机聚合物 CEC 整体柱取材较广、使用 pH 范围宽、生物兼容性好、容易进行化学修饰。根据所选用的单体和交联剂的不同, 有机聚合物 CEC 整体柱可分为聚丙烯酰胺整体柱、聚苯乙烯整体柱和聚甲基丙烯酸酯整体柱 3 种类型。非手性有机聚合物 CEC 整体柱的制备国内外已有相关综述^[33-35], 本文主要讨论手性有机聚合物 CEC 整体柱。根据整体柱制备结束后是否需要后处理, 将手性有机聚合物 CEC 整体柱的制备方法分为原位聚合法和手性修饰法。

1.1 原位聚合法

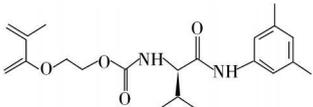
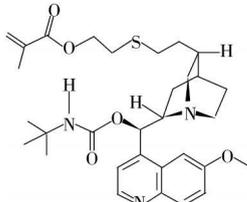
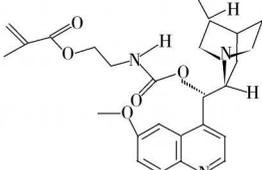
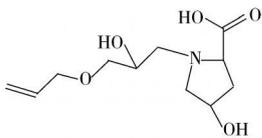
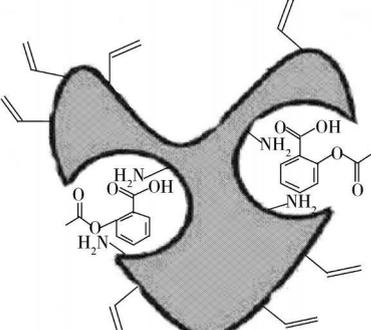
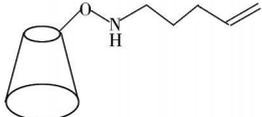
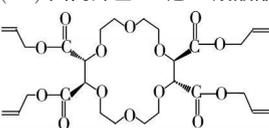
原位聚合法是将单体、交联剂、致孔剂等有机混合物加入毛细管中原位一步完成聚合, 根据聚合反应结束后是否将手性选择剂从整体柱上洗脱而分为手性单体聚合法和手性分子印迹法两种。

1.1.1 手性单体原位聚合法 手性单体原位聚合法是将带有手性侧链的有机单体与其他功能单体、交联剂、致孔剂和引发剂混合, 在毛细管中原位一步聚合, 制备得到具有手性选择性的整体柱。早期研究多采用该法制备手性有机聚合物 CEC 整体柱。与其他方法相比, 这种直接聚合的方法可以简单、快速地制备出手性 CEC 整体柱, 且固定相中手性选择剂所占的比例易控制。然而, 具有一个或多个手性中心并带烯基结构的手性有机单体往往不能在市场上购得。因此, 为得到合适的手性有机聚合物 CEC 整体柱, 常需合成与纯化相关的手性有机单体。Frechet 研究小组^[32, 36-37]分别将氨基甲酸酯衍生物、奎宁衍生物和奎宁丁衍生物作为手性有机单体, 通过 O-酰化或催化加成反应制备了手性聚丙烯酸酯 CEC 整体柱。为制备手性聚丙烯酰胺 CEC 整体柱, Schmid^[38] 和 Mächtejevas^[39] 分别通过亲核开环反应制备了

带乙烯基的脯氨酸衍生物和入血清白蛋白衍生物; Koide 等^[40-41]则通过催化加成和 O 酰化反应分别制备了带乙烯基的 β -环糊精衍生物和冠醚衍生物。表 1 列出了一些用于原位聚合法制备有机聚合物 CEC 整体柱的手性有机单体及其在手性化合物拆分中的应用。手性单体原位聚合法的最大局限在于每次使用新的手性单体都必须重新优化整体柱的最佳制备条件, 不利于手性有机聚合物 CEC 整体柱研究的快速发展。

表 1 手性有机单体在 CEC 手性拆分中的应用

Table 1 Application of chiral organic monomers for enantioseparation by capillary electrochromatography (CEC)

Type of monolith	Chiral monomer	Analyte	Reference
丙烯酸酯	2-羟乙基甲基丙烯酸 (N-L-缬氨酸-3, 5-二甲苯胺) 氨基甲酸酯 	N-(3, 5-二硝基苯甲酰基) 二烯丙胺 亮氨酸	[30]
	O-9-(tert-丁基氨基甲酸酯)-11-[2-(甲基丙烯酸) 乙硫基]-10, 11-二氢奎宁 	3, 5-二硝基苯甲酰基亮氨酸; 3, 5-二硝基氨基甲酸苄亮氨酸酯; 苄甲氧羰酰亮氨酸; 苄甲氧羰酰丝氨酸; 咪唑-9-羧基丙氨酸; 咪唑-9-羧基丝氨酸; 丹磺酰基丝氨酸; 7-二甲氨基磺酰基-1, 3-二苯并咪唑-4-基亮氨酸	[34]
	O-[2-(甲基丙烯酸) 乙硫基]-10, 11-二氢奎尼丁 	3, 5-二硝基氨基甲酸苄亮氨酸酯	[35]
丙烯酰胺	N-(2-羟基-3-烯丙氧基丙基)-L-4-羟基脯氨酸 	天冬氨酸; 二羟基苯丙氨酸; p-酪氨酸; 丝氨酸; 苏氨酸; α -甲基二羟基苯丙氨酸; 苯丙氨酸; 色氨酸; α -甲基苯丙氨酸	[36]
	丙烯基人血清白蛋白 	犬尿酸; 色氨酸	[37]
	丙烯基氨基甲酸酯- β -环糊精酯 	特布他林; 异丙肾上腺素; 普萘洛尔; 咪唑洛尔; 氯苯那敏; 色氨酸甲酯; 色氨酸乙酯; α -甲基色胺; 克伦特罗; 1-萘乙醇; 扁桃酸甲酯	[38]
	(+)-四丙烯基-18-冠-6 羧酸酯 	1-萘乙醇; 1-苯乙胺; 丙氨酸-2, 2-萘胺; α -甲基色胺; 1-氨基茛菪; 1, 2-二苯基乙胺; 色氨酸; 2-氨基-1, 2-二苯基乙醇; 色氨酸甲酯	[39]

1.1.2 手性分子印迹法 分子印迹(MIP)技术是将模板分子、功能单体和交联剂共聚合,制备得到具有高选择性的聚合物;模板分子随后从聚合物上洗脱,留下与其形状和功能基团位置相吻合的识别位点。由于该聚合物可以识别模板分子,当模板分子为手性对映体的某个构象时,聚合物便具有了手性识别的能力。分子印迹技术具有低成本、制备简单、可预测选择性、物化性质稳定等优点^[42]。1997年, Schweitz等^[43-44]率先将MIPs材料用于CEC模式下拆分手性化合物,研制出制作周期仅需3h的聚丙烯酸MIP-CEC整体柱,并在120min内成功拆分了两种 β -肾上腺阻滞剂——普纳洛尔对映体和美托洛尔对映体。Li等^[45-46]分别以(R)-联萘二酚和(S)-纳普生为模板分子制备了聚丙烯酸MIP-CEC整体柱,成功分离了联萘二酚对映体和纳普生对映体,其中(S)-纳普生的洗脱效率高达90000理论板/m。Ou等^[47]制备了L-延胡索乙素(L-THP)和(S)-朝格碱[(S)-TB]的MIP-CEC整体柱,在加压CEC模式下4min内可拆分THP和TB对映体。Haginaka等^[48]制备了(+)-尼伐地平为模板分子的聚苯乙烯MIP-CEC整体柱,并加入N-苄氧羰基-L-缬氨酸(CbzL-Trp)作为共模板分子使整体柱内部形成较大的流通孔,使尼伐地平对映体得到快速有效地拆分。

1.2 手性修饰法

手性修饰法是指先在毛细管内制备有机聚合物CEC整体柱并优化其结构和渗透性,然后在整体柱内孔表面利用化学修饰结合上手性选择剂的方法。该法的优势在于对同类整体柱的制备条件只需优化一次,极大地促进了手性有机聚合物CEC整体柱的发展,受到许多研究人员的关注。带环氧基的甲基丙烯酸缩水甘油酯(GMA)是制备有机聚合物CEC整体柱基质中最常用的功能单体,多种化合物都可通过水解或氨解等开环反应对其进行修饰^[49]。

Messina等^[50-51]利用(+)-氨丁基-5R, 8S, 10R特麦角胺的氨基亲核进攻整体柱表面上的环氧基,制备了手性聚丙烯酸酯CEC整体柱;与经过相同修饰的硅粒子HPLC填充柱^[52]相比,吡氟氯禾林对映体的分离度由HPLC中的1.24提高到CEC中的1.47,而保留时间则由45~60min缩短至5.7min,表明用上述的CEC整体柱分析吡氟氯禾林等2-芳氧基丙酸对映体更加有利。Tian^[53]与Li^[54]同样用亲核开环的方法在聚丙烯酸酯CEC整体柱上结合了 β -环糊精及其衍生物。Preinerstorfer等^[55-56]用硫化钠亲核进攻整体柱上的环氧基,开环形成带3-巯基-2-羟基残基的CEC整体柱。具有活性的巯基可通过自由基加成、接枝聚合、亲核取代、二硫交换或麦克加成反应与任何色谱配基相连。为验证上述理论,他们将阳/阴离子交换型配基通过自由基反应共价结合于整体柱表面,制得具有手性选择性的阳/阴离子交换CEC整体柱。与原位聚合法制备的结合有同系物的手性CEC整体柱^[36]和修饰有同样手性选择剂的硅基粒子CEC填充柱^[57]相比,通过巯基结合手性配基的CEC整体柱制备简单、手性拆分能力更高。Komysova等^[58-59]用酸水解整体柱表面的环氧基得到偕二醇基,然后利用高碘酸钠将偕二醇基氧化成醛基,最后通过还原胺化反应连接上万古霉素;该手性CEC整体柱能在10min内高效(分离度2.5,柱效120000理论板/m)快速地拆分沙利度胺对映体。

近年来,点击化学(Click chemistry)实现了在不同大分子结构上的化学修饰。点击化学最早由Sharpless^[60]在2001年提出。目前,点击化学的反应类型有限,主要有以下几种类型:环加成反应,尤其是1,3-偶极环加成反应(1,3-dipolar cyclo-addition reaction)和杂原子Diels-Alder反应;亲核开环反应,尤其是张力杂环亲电子体,如环氧化物、环氮化物等的亲核开环反应;非A-Hol类型的羰基化学,如脎、脎、酰胺化合物的形成;碳碳多键的加成反应,如环氧化反应、不对称双羟基化反应和杂环环丙烷化反应等。点击反应应用范围广、副产物无害、原料和反应试剂易得、对溶剂不敏感、适应大范围pH温度、反应条件温和、产物易分离、反应具有很强的立体选择性。因此,在手性有机聚合物CEC整体柱的制备中,研究人员也广泛应用点击化学的原理进行手性修饰。常用的点击化学反应包括环氧化物的亲核开环反应、叠氮与炔在一价铜催化下的1,3-偶极环加成反应等。Guerrouache等^[61]利用碘化亚铜催化的1,3-偶极环加成反应,在具有叠氮活性的聚琥珀酰亚胺CEC整体柱表面接枝了 β -环糊精。

此外,也有研究人员通过物理吸附等方法将手性选择剂固定在整体柱表面,比如Dong等^[62]在聚丙烯酰胺CEC整体柱上引入大量季氨基,使纤维素三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)(CDMPC)通过氢键作用紧密地保留在整体柱的基质表面。与CDMPC-CEC填充柱^[63]相比,CDMPC-聚丙烯酰胺CEC

整体柱的分离度和柱效显著提高; 与 CDMPC-硅基 CEC 整体柱^[64]相比, 虽然 CDMPC-聚丙烯酰胺 CEC 整体柱上结合的 CDMPC 浓度较前者低, 致使柱效也较低, 但分离度并无明显降低。表 2 总结了一些通过手性选择剂修饰制备的手性有机聚合物 CEC 整体柱及其在手性化合物拆分中的应用。

表 2 手性选择剂修饰的有机聚合物 CEC 整体柱在手性拆分中的应用

Table 2 Application of organic polymer-based CEC monolithic columns modified with chiral selector

Type of monolith	Chiral monomer	Analyte	Reference
聚丙烯酰胺	(+) 氨基-5R, 8S, 10R-特麦角脲	禾草灵; 吡氟禾草灵; 精 唑禾草灵; 环嗪酮; 2-甲基-4-氯苯氧乙酸; 滴丙酸; 苯基二氯化磷	[48]
	4-二甲氨基基-1, 8-萘二甲酰亚胺-β-环糊精 (DMAN-β-CD)	布洛芬; 纳普生	[51]
	β-环糊精; 天冬氨酸-β-环糊精 (Asp-β-CD); 氨基-β-环糊精; 羟丙基-β-环糊精	苯丙氨酸; 酪氨酸; 丝氨酸; 色氨酸; 丙氨酸; 赖氨酸; 组氨酸; 精氨酸; 盐酸美西律; 盐酸奥昔布宁	[52]
	0-9-tert-丁基甲酰胺奎宁	3, 5-二硝基苯甲酰亮氨酸	[53]
	(S)-N-(4-丙烯氧基-3, 5-二氯苯甲酰基)-2-氨基-3, 3-二甲基丁基磷酸	甲氟喹; 氨基甲酸叔丁酯甲氟喹	[54]
聚丙烯酰胺	β-环糊精	黄烷酮	[59]
	盐酸万古霉素	沙利度胺; 华法林; 氯杀鼠灵; 非洛地平	[56]
	纤维素-三(3, 5-二甲苯基-氨基甲酸酯) (CDMPC)	安息香; 吡啶帕胺; 吡嗪酮; 朝格爾碱; 华法林; 罗通定; 吡啶洛尔; 丙烯洛尔; 普萘洛尔	[60]

2 展 望

近年来有机聚合物 CEC 整体柱技术有了较快速的发展, 各国学者开发出许多新型的整体柱。尽管手性有机聚合物 CEC 整体柱具有制备简单、单体选择空间大、孔径易调、生物相容性好、适应 pH 范围宽、手性拆分能力高等优点, 但还存在易发生溶胀、机械强度差以及受热易变形等缺点, 有待于进一步的研究和完善。今后的研究热点可能集中在寻找更方便可靠的有机聚合物 CEC 整体柱制备技术, 以及使用已研究成熟的整体柱制备技术开发手性选择效率更高、更容易在整体柱上进行修饰的手性选择剂。

参考文献:

- [1] 顿彬, 刘会臣. [J]. 中国临床药理学杂志, 2005, 21(1): 66-69.
- [2] LISZ I, PATAJ Z, ARANY IA, PETER A. [J]. Mini Rev Med Chem, 2010, 10(4): 287-298.
- [3] OKAMOTO Y, KAIT. [J]. Chem Soc Rev, 2008, 37(12): 2593-2608.
- [4] 黄艳梅, 苏克曼, 蔡水洪. [J]. 分析测试学报, 1999, 18(4): 83-86.
- [5] BEATR K P, MICHAEL L. [J]. Electrophoresis, 2007, 28(15): 2527-2565.
- [6] 谷雪, 瞿其曙, 阎超. [J]. 色谱, 2007, 25(2): 157-161.
- [7] ALI I, SALEEM K, HUSSA N I. [J]. Sep Purif Rev, 2009, 38(2): 97-147.
- [8] 黄萍, 陈利丁, 姚传义. [J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2008, 47(4): 611-613.
- [9] DONG X L, WU R A, DONG J WU M H, ZHU Y, ZOU H F. [J]. Electrophoresis, 2009, 30(1): 141-154.
- [10] YAO C Y, GAO R, YAN C. [J]. J Sep Sci, 2003, 26(1/2): 37-42.
- [11] YAO C Y, TANG S K, GAO R Y, JIANG C, YAN C. [J]. J Sep Sci, 2004, 27(13): 1109-1114.
- [12] 辛艳飞, 万丽丽, 马丽萍, 孙焯, 周向军, 王永祥. [J]. 分析测试学报, 2008, 27(10): 1088-1090.
- [13] 梁哲, 姚传义. [J]. 分析测试学报, 2008, 27(4): 364-367.
- [14] QIN F, XIE CH, YU Z Y, KONG L, YEM L, ZOU H F. [J]. J Sep Sci, 2006, 29(10): 1332-1343.
- [15] ZHANG Z B, WU R A, WU M H, ZOU H F. [J]. Electrophoresis, 2010, 31(9): 1457-1466.
- [16] DONG X L, WU R, DONG J WU M H, ZOU H F. [J]. Electrophoresis, 2008, 29(4): 919-927.
- [17] DONG X L, WU R A, DONG J ZOU H F. [J]. J Chromatogr B, 2008, 875(1): 317-322.
- [18] LIL S, WANG Y, YOUNG D J NG S C, TAN T T Y. [J]. Electrophoresis, 2010, 31(2): 378-387.
- [19] WISTUBA D, BANSPACH L, SCHURIG V. [J]. Electrophoresis, 2005, 26(10): 2019-2026.
- [20] LIU Z, OTSUKA K, TERABE S, MOTOKAWA M, TANAKA N. [J]. Electrophoresis, 2002, 23(17): 2973-2981.
- [21] PRENERSTORFER B, LUBDA D, MUCHA A. [J]. Electrophoresis, 2006, 27(21): 4312-4320.
- [22] ZHONG H, RASSI Z E. [J]. J Sep Sci, 2009, 32(10): 1642-1653.
- [23] 丁国生, 唐安娜. [J]. 色谱, 2006, 24(4): 402-406.
- [24] DONG X, DONG J, OU J. [J]. Electrophoresis, 2007, 28(15): 2606-2612.

- [25] ALLEN D, RASSIZ E [J]. *Electrophoresis* 2003, 24(22/23): 3962– 3976
- [26] RIEUX L, NIEDERLANDER H, VERPOORTE E, BISCHOFF R [J]. *J Sep Sci* 2005, 28(14): 1628– 1641.
- [27] WISTUBA D [J]. *J Chrom atogr A*, 2010, 1217(7): 941– 952
- [28] 叶芳贵, 韩燕燕, 赵书林. [J]. *分析测试学报*, 2008, 27(6): 670– 676
- [29] HJERTEN S, LIAO J L, ZHANG R [J]. *J Chrom atogr* 1989, 473(1): 273
- [30] SVEC F, FRECHET JM J [J]. *Anal Chem*, 1992, 64(7): 820– 822
- [31] PETERS E C, PETRO M, SVEC F [J]. *Anal Chem*, 1998, 70(11): 2288– 2295.
- [32] PETERS E C, LEW ANDOWSKI K, PETRO M, SVEC F, FRECHET JM J [J]. *Anal Commun*, 1998, 35: 83– 86
- [33] LEGIDO- QUIGLEY C, MARLN N D, MELN V, MANZ A, SMITH N W. [J]. *Electrophoresis*, 2003, 24(6): 917– 944.
- [34] ROBERTS M W H, ONGKUDON C M, FORDE G M, DANQUAH M K. [J]. *J Sep Sci* 2009, 32(15/16): 2485– 2494
- [35] 尹俊发, 魏晓奕, 杨更亮. [J]. *色谱*, 2007, 25(2): 142– 149.
- [36] LAMMERHOFER M, TOBLER E, ZARBL E, LINDNER W, SVEC F, FRECHET JM J [J]. *Electrophoresis* 2003, 24(17): 2986– 2999.
- [37] LAMMERHOFER M, PETERS E C, YU C, SVEC F, FRECHET JM J [J]. *Anal Chem*, 2000, 72(19): 4614– 4622
- [38] SCHMID M G, GROBUSCHEK N, TUSCHER C, GUBITZ G, VEGVARIA, HJERTEN S [J]. *Electrophoresis* 2000, 21(15): 3141– 3144
- [39] MACHTEJEVAS E, MARUSKA A. [J]. *J Sep Sci* 2002, 25(15/17): 1303– 1309.
- [40] KOIDE T, UENO K. [J]. *J Chrom atogr A*, 2000, 893(1): 177– 187
- [41] KOIDE T, UENO K. [J]. *J Chrom atogr A*, 2001, 909(2): 305– 315
- [42] 梁哲, 姚传义, 阎超. [J]. *分析测试学报*, 2007, 26(5): 757– 762
- [43] SCHWEITZ L, ANDERSSON L I N I LSSON S [J]. *Anal Chem*, 1997, 69(6): 1179– 1183
- [44] SCHWEITZ L, ANDERSSON L I N I LSSON S [J]. *Analyst* 2002, 127(1): 22– 28
- [45] LIU Z S, XU Y L, WANG H F, YAN C, GAO R Y. [J]. *Anal Sci* 2004, 20(4): 673– 678
- [46] XU Y X, LIU Z S, WANG H F, YAN C, GAO R Y. [J]. *Electrophoresis*, 2005, 26(4/5): 804– 811
- [47] OU J J, DONG J TIAN T J HU JW, YEM L, ZOU H F [J]. *J Biochem Biophys Methods*, 2007, 70(1): 71– 76
- [48] HAGNAKA J FUTAGAM IA. [J]. *J Chrom atogr A*, 2008, 1185(2): 258– 262
- [49] 邹汉法, 吴明火, 王方军, 吴仁安, 叶明亮. [J]. *色谱*, 2009, 27(5): 526– 536
- [50] MESSINA A, FLEGER M, BACHECHIF, SNIBALD IM. [J]. *J Chrom atogr A*, 2006, 1120(1/2): 69– 74
- [51] MESSINA A, SNIBALD IM. [J]. *Electrophoresis* 2007, 28(15): 2613– 2618
- [52] PADIGLONIP, POLCARO C M, MARCHES S [J]. *J Chrom atogr A*, 1996, 756(1/2): 119– 127
- [53] TIAN Y, ZHONG C, FU E Q, ZENG Z R [J]. *J Chrom atogr A*, 2009, 1216(6): 1000– 1007
- [54] LI Y J, SONG C H, ZHANG L Y, ZHANG W B, FU H G. [J]. *Talanta* 2010, 80(3): 1378– 1384
- [55] PRENERSTORFER B, BICKER W, LINDNER W, LAMMERHOFER M. [J]. *J Chrom atogr A*, 2004, 1044(1/2): 187– 189
- [56] PRENERSTORFER B, LINDNER W, LAMMERHOFER W. [J]. *Electrophoresis*, 2005, 26(10): 2005– 2018
- [57] ZARBL E, LAMMERHOFER M, WOSCHEK A. [J]. *J Sep Sci* 2002, 25(15/17): 1269– 1283
- [58] KORNYSOVA O, JARMALAVICENE R, MARUSKA A. [J]. *Electrophoresis* 2004, 25(16): 2825– 2829
- [59] KORNYSOVA O, OWENSPK, MARUSKA A. [J]. *Electrophoresis*, 2001, 22(15): 3335– 3338
- [60] KOLLBH C, FINN M G, SHARPLESS K B [J]. *Angew Chem*, 2001, 40(11): 2004– 2021.
- [61] GUERROUCHEM, MILLOT M C, CARBONNIER B [J]. *Macromol Rapid Commun*, 2009, 30(2): 109– 113
- [62] DONG X L, WU R A, DONG J WU M H, ZHU Y, ZOU H F. [J]. *Electrophoresis* 2008, 29(4): 919– 927.
- [63] GIRODM, CHANKVETADZE B, BLASCHKE G. [J]. *Electrophoresis* 2001, 22(7): 1282– 1291.
- [64] QIN F, XIE C, FENG S [J]. *Electrophoresis* 2006, 27(5/6): 1050– 1059