技术创新

新型衍生化纤维素和N-异丙基丙烯酰胺共修饰的多模式热响应型手性固定相的制备

周静秋，万美君，何　洁，代雪梅，羊洪林，王路军
西南医科大学药学院 药物分析教研室（泸州 646000）

【摘　要】目的 通过表面自由基引发共聚反应制备一种新型衍生化纤维素和N-异丙基丙烯酰胺共聚物功能化的多模式热响应手性固定相（Sil-NP-NCAD）。**方法** 采用元素分析和红外光谱对该固定相的中间产物与最终产物进行表征。并对该多模式固定相的亲水相互作用（HILIC）模式和热响应模式的作用机制进行研究，考察流动相中水相比例和色谱柱温度对分析物保留时间的影响。**结果** 该固定相对5种核苷（硫脲，尿苷，腺苷，腺嘌呤，胞嘧啶）和4种苯胺（二苯胺，联苯二胺，联苯二胺，1，4-苯二胺）有较好的分离选择性，且能在热响应模式下通过改变柱温使固定相的选择性发生变化，同时也实现了对手性化合物华法林的拆分。**结论** 热响应型多模式手性固定相将成为分离亲水手性药物的潜在工具。

【关键词】 N-异丙基丙烯酰胺；纤维素；手性固定相；亲水色谱；制备
【中图分类号】 O658　　**文献标志码** A　　**DOI：**10.3969/j.issn.2096-3351.2022.06.004

Preparation of a novel multi-mode thermoresponsive chiral stationary phase functionalized with the copolymer of cellulose and N-isopropylacrylamide

ZHOU Jingqiu，WAN Meijun，HE Jie，DAI Xuemei，YANG Honglin，WANG Lujun
Department of Pharmacoanalysis，School of Pharmacy，Southwest Medical University，Luzhou 646000，China

【Abstract】Objective A novel multi-mode thermoresponsive chiral stationary phase (Sil-NP-NCAD) functionalized with cellulose derivative and *N*-isopropylacrylamide copolymers was prepared through a surface-initiated atom transfer radical polymerization reaction (ATRP). **Methods** The intermediate and final products Sil-NP-NCAD were characterized by elemental analysis and infrared spectroscopy. To elucidate the multiple retention mechanisms of the prepared column, the correlations between retention time of analytes and the composition of the mobile phase and the column temperature were studied. **Results** The results showed that the prepared stationary phase exhibited a good separation selectivity to five nucleosides (thiourea, uridine, adenosine, adenine and cytosine) and four anilines (diphenylamine, benzidine, m-phenylenediamine and p-phenylenediamine). The selectivity of these compound could be modulated by regulating the column temperature. The chiral separation of warfarin was also achieved. **Conclusion** These results indicated that the thermoresponsive chiral stationary phase can be a potential tool for separation of hydrophilic chiral drugs.

【Key words】 N-isopropylacrylamide; Cellulose; Chiral stationary phase; Hydrophilic interaction chromatography; Preparation

高效液相色谱作为一种高效、快速、准确的分离分析方法，是分离纯化化合物的常用工具[1-6]。而在分离亲水性物质时，正相色谱采用的流动相对分析物的溶解性差，反相色谱则不能达到有效的分离[7]。1990年Alpert提出的亲水相互作用色谱（hydrophilic interaction chromatography，HILIC），填补了这两类色谱固定相在分离极性物质中的不足[8]。近年来，有大量文献报道将多糖类[9-14]、弱阳离子交换[15-17]、亲水碳纳米材料[18-19]等功能基团作为配体键合到固定相表面，用于天然药物、碱基核苷等亲水性物质在HILIC模式下的分离检测。多糖类因具有很好的手性识别能力而同时在手性拆分方向得到了广泛的研究和应用[20-25]。其中纤维素衍生物具有高度有序的螺旋结构和出色的手性识别能力，是最常用的手性固定相（chiral stationary phase，CSP）之一。在CSP手性分离机理研究中，有三种或以上相互作用力存在于手性拆分过程之中，包括立体构象、疏水、氢键、包容络合和范德华力等[26]。基于此理论，研究者通过在手性固定相上修饰不同基团

基金项目：国家自然科学基金青年项目（21804112）；大学生创新创业训练计划项目（S201910730099）
第一作者简介：周静秋，研究生。
通信作者：王路军，副教授，博士。E-mail：wlj@swmu.edu.cn
引用本文：周静秋，万美君，何洁，等. 新型衍生化纤维素和N-异丙基丙烯酰胺共修饰的多模式热响应型手性固定相的制备[J]. 西南医科大学学报，2022，45（6）：478-483.DOI：10.3969/j.issn.2096-3351.2022.06.004

来提高手性拆分能力[27-28]。N-异丙基丙烯酰胺(N-isopropylacrylamide,NIPAM)是一种分子结构中同时具有疏水性异丙基和亲水性酰胺基的化合物,基于NIPAM的色谱固定相具有仅通过变化柱温度就能达成分析物分离的优势[29-34]。而结合NIPAM和纤维素的多模式固定相目前还未报道。故在本项研究中,以丙烯酸纤维素-(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)(NCAD)和NIPAM为功能单体,通过自由基引发共聚反应(atom transfer radical polymerization ,ATRP)接枝到硅胶上,制备了具有多种分离机制和对映体分离能力的色谱固定相(Sil-NP-NCAD)。

1 材料与实验方法

1.1 仪器与材料

IR Affinity-1(岛津,日本)对衍生化的纤维素和硅球上接枝的功能团进行表征,CHN628系统(LECO,美国)对硅球及接枝在硅球表面的功能团进行表征,HY-HPLC-S(Hydrosys,德国)将制备的高效液相色谱固定相填料装填入色谱柱,用于装填固定相填料的不锈钢柱(15 cm × 4.6 mm)购自中国大连日普利科技仪器有限公司,最后高效液相实验在安捷伦1260型高效液相色谱仪-二极管阵列检测器(安捷伦,美国)上进行。

球形硅胶(直径5.50 μm,孔径100 μm,比表面积465 $m^2 \cdot g^{-1}$)购买于日本Daiso Chemicals公司,4-(氯甲基)苯基三甲氧基硅烷购于美国Gelest公司,N-甲基咪唑、氯丙烯、丙烯酰氯、3,5-二甲基苯基异氰酸酯、N-异丙基丙烯酰胺、氯化铜购于中国阿达马斯试剂有限公司,氯化亚铜、三(2-二甲氨基乙基)胺(tris(2-(dimethylamino)ethyl)amine,Me 6 TREN)购于中国阿拉丁化学有限公司,硫脲、尿苷、腺苷、腺嘌呤、胞嘧啶、二苯胺、间苯二胺、1,4-苯二胺和华法林等标准测试品购于中国阿达马斯试剂有限公司,纳米纤维素(nanocellulose,NC,直径50 nm)购于中国麦克林试剂有限公司,用于调节流动相pH的氨水和甲酸购自中国成都凯隆试剂公司,超纯水由美国艾科浦AWL-1002-H超纯水系统纯化后获得,色谱级乙腈购于中国阿达马斯试剂有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 纤维素3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯(NCAD)的制备 参照文献的方法合成了1-烯丙基-3-甲基咪唑氯盐(AmimCl)作为纤维素在反应中的溶剂[35]。如图1A所示,将0.25 g纳米纤维素加入6 g AmimCl中,在80 ℃下机械搅拌1.5 h,得到4 wt%的纤维素溶液。然后将0.062 mL丙烯酰氯加入混合物中,在50 ℃下反应1.5 h。然后,将2.07 mL 3,5-异氰酸二甲酯与液体混合,在80 ℃下保持反应24 h。所得产物用400 mL甲醇重结晶,后用200 mL二甲基亚砜和200 mL甲醇洗涤得到的固体以除去未反应的丙烯酰氯和3,5-异氰酸二甲酯,得到的NCAD在60 ℃的真空干燥箱中干燥过夜。

1.2.2 引发剂改性硅球(Sil-Cl)的制备 5.0 g硅球分散在150 mL 1 mol/L的盐酸溶液之中,在90 ℃回流搅拌3 h后使用2 L纯水洗涤至中性,然后将活化后的硅球在150 ℃真空干燥箱中干燥24 h。接着如图1B所示,将2.5 g活化硅胶和0.68 mL 4-(氯甲基)苯基三甲氧基硅烷加入50 mL无水甲苯中,室温下搅拌反应16 h,然后用200 mL甲醇、200 mL二氯甲烷和200 mL丙酮清洗过滤后的沉淀。最后将Sil-Cl在55 ℃的真空干燥箱中干燥过夜。

1.2.3 Sil-NP-NCAD的制备 采用ATRP反应聚合硅球表面的功能单体。如图1C所示,2.79 g NIPAM、1.89 g NCAD与50 mL异丙醇溶解于三颈瓶中,将0.213 g氯化亚铜、0.029 g氯化铜和0.517 g Me6TREN的催化剂体系快速加入无氧环境下的三颈瓶中,然后将混合溶液搅拌反应30 min。再加入2.5 g Sil-Cl,在室温氮气保护下进行反应16 min后得到接枝了NIPAM与NCAD的硅球,将其用200 mL甲醇、200 mL乙二胺四乙酸(EDTA)溶液、200 mL水、200 mL DMSO和300 mL丙酮连续冲洗,最后在55 ℃下的真空干燥箱中干燥过夜得到Sil-NP-NCAD。

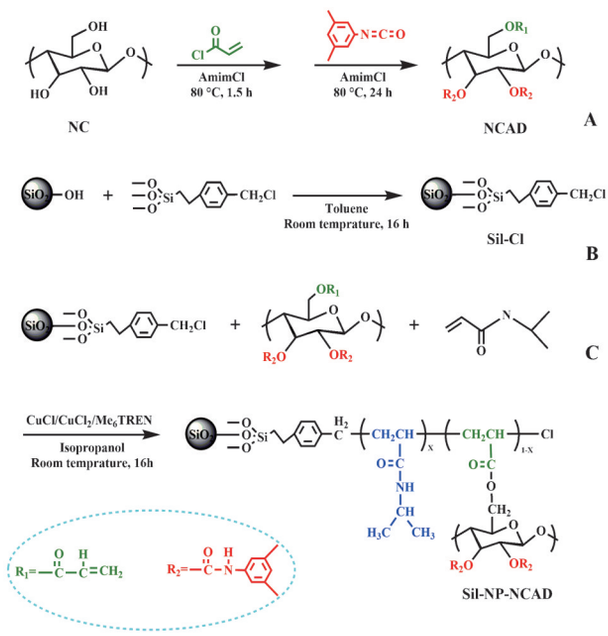


图1 Sil-NP-NCAD色谱固定相的制备过程

Figure 1 Scheme for the systhesis of Sil- NP-NCAD stationary phase

1.2.4 色谱柱的装填与活化 采用浆液充填法制备4.6 mm × 150 mm的混合模式高效液相色谱柱,以10 mL异丙醇和乙腈(1∶1,v/v)的混合溶液为溶剂,加入2 g Sil-NP-NCAD固体材料,将其充分混合搅拌,再超声震荡3 min,得到无色透明的匀浆液;甲醇作为顶替液,将压力缓慢上升至50 MPa保持20 min,然后减压至30 MPa保持10 min,缓慢降压至零,静止3至5 min,卸下柱子

后用刀铲平柱头。以甲醇为流动相，持续冲洗色谱柱5 h以上，从而活化色谱柱。

2 结果

2.1 Sil-NP-NCAD固定相填料的表征

2.1.1 元素分析 采用元素分析对功能基团键合至硅球表面的情况进行表征。如表1所示，相对于裸硅球而言，Sil-Cl的碳含量升至1.93 %，根据公式可计算出Sil-Cl上碳元素的键合密度为2.67 μmol·m^{-2}，表明4-(氯甲基)苯基三甲氧基硅烷成功接枝到二氧化硅表面。Sil-NP-NCAD材料的氮含量增加至0.3 %，碳含量升至6.17 %。通过公式，可计算出Sil-NP-NCAD材料上的氮元素和碳元素的键合密度分别增加至3.85 μmol·m^{-2}和9.48μmol·m^{-2}，表明纤维素酯和NIPAM已成功接枝到硅球表面。为评价功能基团键合率，键合密度的计算公式如下：

键合密度(μmol·m^{-2}) =(Z %×10^6)/(M_Z×S)

式中：Z代表被计算的相应元素，Z %为相应元素百分含量；M_Z为相应元素的相对原子质量；S为裸硅胶的表面积(465 m^2·g^{-1})。

表1 SiO_2、Sil-MPS与Sil-NP-NCAD的元素分析

Table 1 Element analysis results of SiO_2, Sil-MPS and Sil-NP-NCAD

样品	C (%)	H (%)	N (%)
Silica	1.49	1.27	0.00
Sil-Cl	1.93	0.93	0.05
Sil-NP-NCAD	6.17	1.48	0.30

2.1.2 红外光谱分析 用红外光谱法验证了纤维素衍生化合物和嫁接不同功能单体的二氧化硅的合成成功。如图2A所示，与NC的红外吸收光谱相比，NCAD的吸收峰明显不同，3 293 cm^{-1}处的吸收峰是N-H的拉伸振动峰，1637 cm^{-1}和1 562 cm^{-1}处的吸收峰分别为C = O和C = C的拉伸振动峰。以上结果证实了丙烯酰氯和3,5-二甲基异氰酸苯酯已经成功地与纤维素结合。裸硅球、Sil-Cl、Sil-NP-NCAD的红外谱图如图2B所示，裸硅球在968 cm^{-1}处的吸收峰是Si-OH的伸缩振动峰。而Sil-Cl的谱图中968 cm^{-1}处的峰强度明显下降，证明4-(氯甲基)苯基三甲氧基硅烷已成功被接枝到硅球表面。Sil-NP-NCAD的谱图中，3 295 cm^{-1}处的是N-H的伸缩振动峰，1 651 cm^{-1}处的吸收峰为C = O的伸缩振动峰，1 560 cm^{-1}、1 495 cm^{-1}和1457 cm^{-1}出现了苯环的特征峰。以上结果证明了固定相的成功制备。

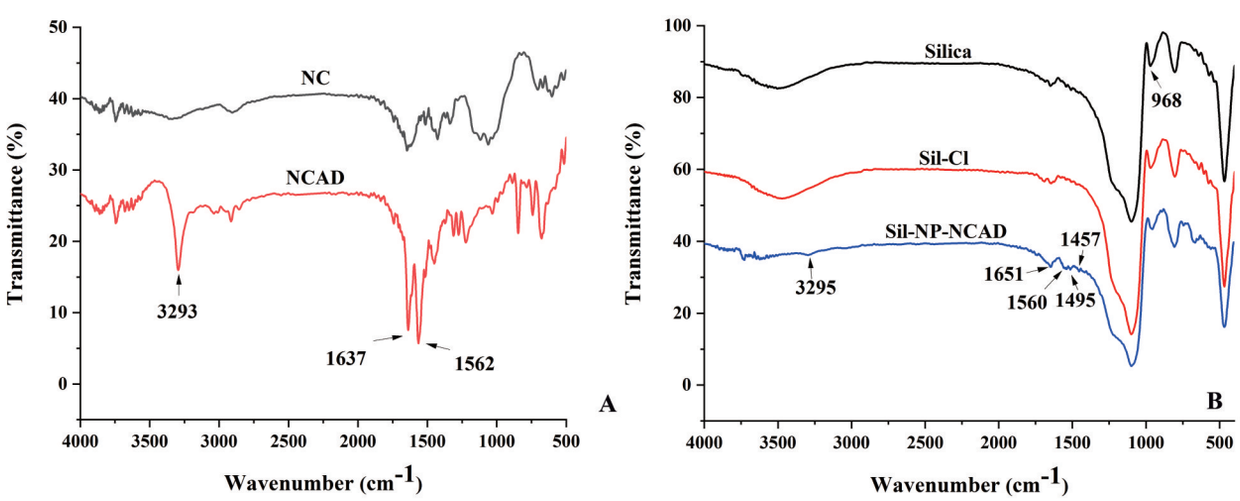


图2 红外表征图谱

Figure 2 FT-IR spectrums

注：A、B分别代表纤维素衍生物和Sil-NP-NCAD色谱固定相材料

2.2 Sil-NP-NCAD固定相上的色谱行为

本实验通过对硫脲(脂水分配系数lg P = -0.39)、尿苷(lg P = -1.61)、腺苷(lg P = -1.02)、腺嘌呤(lg P = -2.12)和胞嘧啶(lg P = -2.29)五种核苷类标准品进行分析来评价Sil-NP-NCAD在亲水相互作用模式下的分离性能。如图3A所示，在以乙腈/甲酸铵缓冲盐(93 : 7, v/v)为流动相和流速为1 mL/min的条件下，五种核苷类标准品的混合物在Sil-NP-NCAD上实现了良好的分离，且相邻色谱峰的分离度均已大于1.5。为进一步验证其保留机理，通过改变流动相中水相的百分比来观察核苷类分析物在固定相上的保留时间的变化规律，此过程中流动相组成中有机相为乙腈，水相为20 mmol/L甲酸铵水溶液(pH = 5.88)。如图3B所示，随着流动相中水相比例的降低，核苷类物质在固定相上的保留时间逐步缩短。接下来，如图3C所示，在10 °C ~ 50 °C的温度范围内对制备的色谱柱的热响应洗脱能力进行考察，随着柱温度的降低，制备的柱对分析物的保留增强。

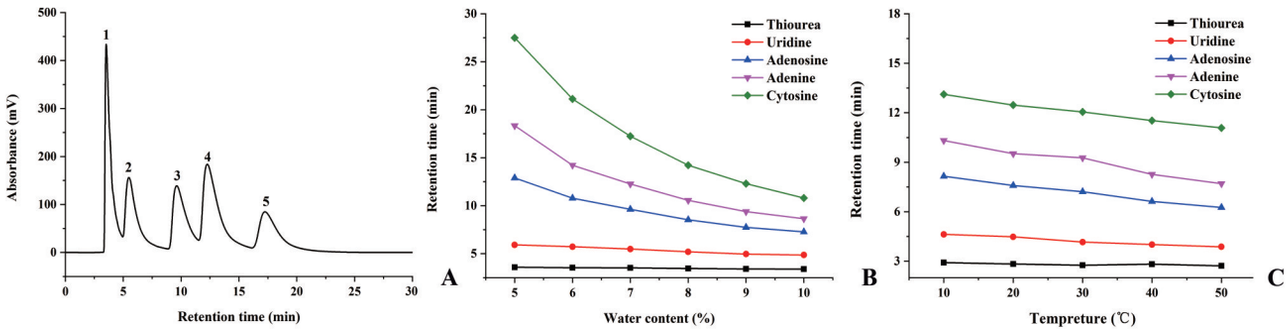


图3 核苷类在Sil-NP-NCAD 柱上的色谱分离图

Figure 3 Chromatographic separations of nucleoside and nucleic bases on Sil-NP-NCAD column

注：A、B、C分别是五种核苷在30 °C的分离图谱、在30 °C时保留时间与流动相中水含量的关系图、保留时间与柱温的关系图；进样量：10 μL；出峰顺序：(A)1 硫脲，2 尿苷，3 腺苷，4 腺嘌呤，5 胞嘧啶

接着采用苯胺类物质包括二苯胺(lg P = 2.97)、联苯二胺(lg P = 1.56)、间苯二胺(lg P = −0.31)、1,4−苯二胺(lg P = −0.68)对制备的Sil-NP-NCAD固定相温度响应分离能力进行进一步考察。如图4A所示，在乙腈/水(80∶20，v/v)和流速为1 mL/min的条件下，二苯胺、间苯二胺和1,4−苯二胺在该色谱固定相上达到完全分离，接着在相同流动相条件下改变流速至0.8 mL/min，二苯胺、联苯二胺、间苯二胺和1,4−苯二胺分离情况如图4B所示。联苯二胺和前后两种分析物的色谱分离度均未达1.5，故选取二苯胺、联苯二胺和间苯二胺在10 °C − 50 °C的温度范围内对制备柱的热响应性洗脱能力进行进一步考察。如图4C所示，随着柱温降低，三种分析物的保留时间逐渐延长，在10 °C成功实现了三种苯胺的分离。

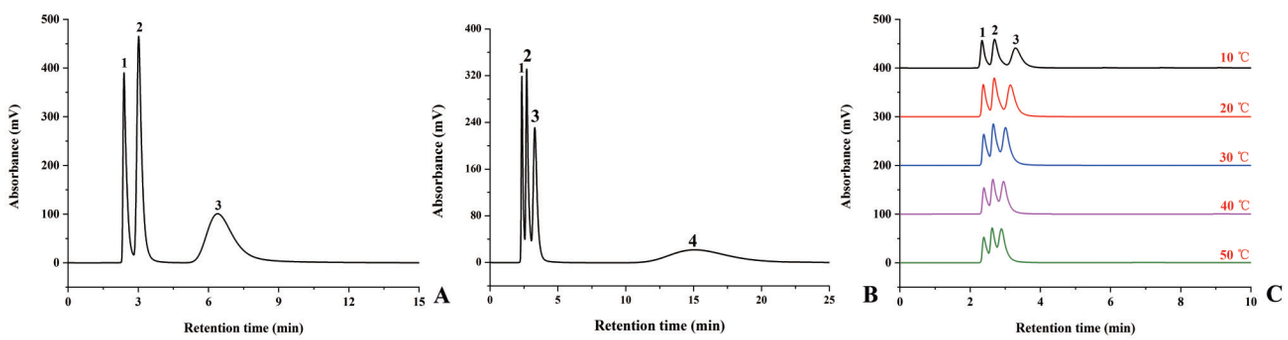


图4 苯胺类在Sil-NP-NCAD 柱上的色谱分离图

Figure 4 Chromatographic separations of anilines on Sil-NP-NCAD column

注：A、B、C分别是三种苯胺在30 °C的分离图谱 、四种苯胺在30 °C的分离图谱、三种苯胺保留时间与柱温的关系；进样量：10 μL；出峰顺序：(A) 1 二苯胺，2 间苯二胺，3 1,4−苯二胺；(B) 1 二苯胺，2 联苯二胺，3 间苯二胺，4 1,4−苯二胺；(C) 1 二苯胺，2 联苯二胺，3 间苯二胺

对手性化合物分离过程中，如图5A所示，Sil-NP-NCAD固定相成功实现了对手性药物华法林Warfarin (lg P = 3.42)的对映体拆分；图5B所示，接着在10 °C − 50 °C的温度范围对华法林在固定相上的色谱行为进行考察，华法林对映体分离随柱温度的变化不明显。

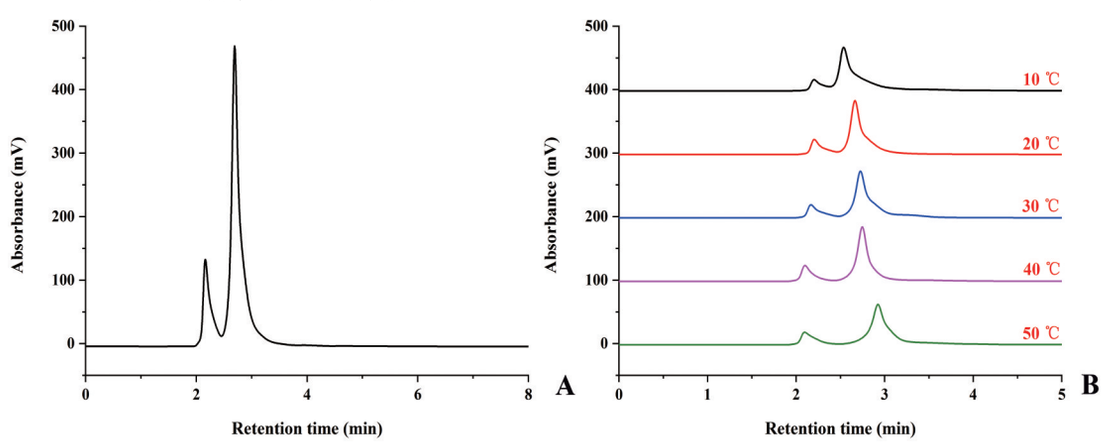


图5 华法林在Sil-NP-NCAD 柱上的色谱分离图

Figure 5 Chromatographic separations of warfarin on Sil-NP-NCAD column

注：A、B分别是华法林在30 °C的分离图谱和保留时间与柱温的关系图；进样量：10 μL

3 讨论

NCAD作为一种具有良好手性识别能力的功能单体，NIPAM作为一种疏水和亲水结构共存且可在温度调节下改变其疏水性的热响应材料，其在32 ℃的低临界溶解温度（lower critical solution temperature，LCST）左右，疏水和亲水性可以切换。在低温下，NIPAM聚合物膨胀，NIPAM高分子链中的酰胺基暴露出来，易与周围的水分子产生分子间氢键作用。而在高温下，NIPAM高分子链会收缩并形成分子内氢键，使得疏水作用逐渐加强[36]。将两者通过ATRP反应修饰到硅球上，开发了一种具有亲水分离机制、温度响应机制和对映体分离能力的多模式色谱固定相，并为亲水性、手性化合物开辟了一种新型色谱分离方法。

本研究采用元素分析对接枝量不同化合物的硅球产物（二氧化硅、Sil-Cl和Sil-NP-NCAD）上的接枝量进行了计算；采用红外光谱仪对硅球产物进行了表征，根据红外光谱上的特征峰的位置确定了硅球上存在的功能基团。这些表征结果为Sil-NP-NCAD固定相的色谱保留机制研究提供了论据。

为验证该制备色谱固定相是否具有多重作用模式，采用亲水性核苷类、苯胺类物质的混合物来考察其亲水相互作用模式。本项研究通过改变流动相的水相比例验证了其亲水相互作用模式，然后通过考察分析物的保留时间与色谱柱温度变化的关系，进一步证明了该制备色谱柱具有的温度响应模式。大部分核苷类物质出峰顺序都与物质本身的lg P值大小相关，腺苷相较尿苷的保留时间更长，说明除了亲水相互作用力以外，具有伯氨基的腺苷还与固定相产生了氢键相互作用，从而延长了保留时间。接着，如图3B所示，随着流动相中水相比例的降低，核苷类物质在固定相上的保留时间逐步缩短。这是一种典型的亲水模式作用下的保留特征。这进一步证明了该固定相材料可以与核苷类产生亲水相互作用，具有在亲水模式下分离核苷类的保留机制。接下来，如图3C所示，随着柱温度的降低，制备的柱对分析物的保留增强。其原因是固定相表面的共聚物链在低温下膨胀并展现出亲水性，和核苷类分析物发生亲水相互作用。因此本实验制备的Sil-NP-NCAD固定相在亲水模式下对核苷类化合物具有一定的热响应能力。

关于苯胺类的分离情况如图4B所示，四种苯胺类出峰顺序按其lg P值由大到小先后出峰，这证实了该色谱固定相能与苯胺类产生亲水相互作用。如图4C所示，二苯胺、联苯二胺和间苯二胺在10 ℃实现分离。这是由于在低温下固定相上的共聚物链亲水基团暴露，与分析物产生了分子间氢键作用，从而延长了分析物的保留时间。因此本实验制备的Sil-NP-NCAD固定相在亲水模式下对苯胺类化合物进行分离，且能通过对温度变量的控制对固定相的亲水性做出调节，使原本不能分离的化合物实现分离。

此外，华法林的对映体分离情况没有明显随柱温度的变化而变化（图5B）。毕竟相对疏水的华法林与核苷类的在色谱柱上的热响应是不同的。根据HPLC上的速率理论，流动相粘度随温度的增加而降低。随着柱温度的升高，分析物的保留时间会降低[37]。但华法林在Sil-NP-NCAD柱上的保留时间随温度的升高几乎保持不变。这些结果表明，制备的手性固定相通过提高温度从亲水性转变为疏水性，能与具有疏水基团的化合物发生更强的疏水相互作用。这结果也证明了Sil-NP-NCAD固定相具有一定的热响应调节能力。

以上实验结果验证了基于衍生化纤维素与NIPAM的多模式温度响应手性固定相的成功制备。Sil-NP-NCAD固定相的制备是对普通单模式HILIC色谱柱的补充，也为新型多模式色谱柱的开发提供可靠的依据。

4 结论

本研究采用ATRP反应制备得到衍生化纤维素和*N*-异丙基丙烯酰胺共聚物功能化的多模式热响应型手性固定相，并对其色谱行为进行了分析与评价。该固定相实现了对核苷和苯胺类亲水物质的分离，也成功对华法林对映体进行了拆分，在生物样品中核苷类亲水性物质的分离分析中具有广阔的应用前景。同时该固定相能在一定的温度范围对其亲水性与疏水性进行调节，具有实现对复杂样品进行分离的潜力。

（利益冲突：无）

参 考 文 献

[1] ZHANG ZM, ZHAO H, WANG XH, *et al*. HPLC and GC methods development for the analysis of key intermediate for synthesis of dicamba[J]. Chin J Chem Eng, 2021, 33: 112-117.

[2] ZHAO HW, SUN L, CHEN HH, *et al*. Intrinsic stability study of L-α-glycerylphosphorylcholine with HPLC method development and validation[J]. J Pharm Biomed Anal, 2020, 188: 113468.

[3] SU Y, WANG WJ, HU JY, *et al*. Dissipation behavior, residues distribution and dietary risk assessment of tembotrione and its metabolite in maize via QuEChERS using HPLC-MS/MS technique[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2020, 191: 110187.

[4] 韩瑜，王永林，王爱民，等. 高效液相色谱法测定注射用辛芍中甘露醇含量[J]. 贵阳医学院学报，2009，34(2)：199-200.

[5] 袁常珍，梅刚. 高效液相色谱法测定参麦散结胶囊中五味子醇甲含量[J]. 西南医科大学学报，2017，40(2)：188-191.

[6] 王丽琼. 高效液相色谱法测定复方酚咖伪麻胶囊的含量均匀度[J]. 西南医科大学学报，2019，42(4)：321-324.

[7] BO CM, LI Y, LIU B, *et al*. Grafting copolymer brushes on polyhedral oligomeric silsesquioxanes silsesquioxane-decorated silica stationary phase for hydrophilic interaction liquid chromatography [J]. J Chromatogr A, 2021, 1659: 462627.

[8] HEATON JC, WANG XL, BARBER WE, *et al*. Practical observations on the performance of bare silica in hydrophilic interaction compared with C18 reversed-phase liquid chromatography

[J]. J Chromatogr A, 2014, 1328: 7-15.
[9] 王媛,顾惠新,路鑫,等. 以亲水作用色谱为核心的液相色谱联用技术及其应用研究[J]. 色谱, 2008, 26(6): 649-657.
[10] PELUSO P, MAMANE V, DALLOCCHIO R, *et al*. Noncovalent interactions in high-performance liquid chromatography enantioseparations on polysaccharide-based chiral selectors[J]. J Chromatogr A, 2020, 1623: 461202.
[11] CHANKVETADZE B. Recent trends in preparation, investigation and application of polysaccharide-based chiral stationary phases for separation of enantiomers in high-performance liquid chromatography[J]. TrAC-Trend Anal Chem, 2020, 122: 115709.
[12] OGASAWARA M, ENOMOTO Y, URYU M, *et al*. Application of polysaccharide-based chiral HPLC columns for separation of nonenantiomeric isomeric mixtures of organometallic compounds[J]. Organometallics, 2019, 38(2): 512-518.
[13] LIPKA E, DASCALU AE, MESSARA Y, *et al*. Separation of enantiomers of native amino acids with polysaccharide-based chiral columns in supercritical fluid chromatography[J]. J Chromatogr A, 2019, 1585: 207-212.
[14] KOZLÍK P, ŠÍMOVÁ V, KALÍKOVÁ K, *et al*. Effect of silica gel modification with cyclofructans on properties of hydrophilic interaction liquid chromatography stationary phases[J]. J Chromatogr A, 2012, 1257: 58-65.
[15] 李文婧,赵丽娟,魏缠玲,等. 磺酸甜菜碱型两性离子亲水作用色谱固定相的制备及色谱性能评价[J]. 色谱, 2017, 35(4): 382-387.
[16] 胡静,刘让东,王薇薇,等. 新型亚微米亲水作用色谱的制备及其在加压毛细管电色谱中的应用[J]. 色谱, 2019, 37(5): 551-557.
[17] 成晓东,李云萍,贺银菊. 一种可控离子比例的两性亲水色谱固定相的制备及性能研究[J]. 色谱, 2019, 37(7): 683-691.
[18] ZHANG HJ, QIAO X, CAI TP, *et al*. Preparation and characterization of carbon dot-decorated silica stationary phase in deep eutectic solvents for hydrophilic interaction chromatography[J]. Anal Bioanal Chem, 2017, 409(9): 2401-2410.
[19] CAI TP, ZHANG HJ, RAHMAN AFMM, *et al*. Silica grafted with silanized carbon dots as a nano-on-micro packing material with enhanced hydrophilic selectivity[J]. Microchim Acta, 2017, 184(8): 2629-2636.
[20] OGASAWARA M, ENOMOTO Y, URYU M, *et al*. Application of polysaccharide-based chiral HPLC columns for separation of nonenantiomeric isomeric mixtures of organometallic compounds[J]. Organometallics, 2019, 38(2): 512-518.
[21] MATARASHVILI I, CHELIDZE A, DOLIDZE G, *et al*. Separation of enantiomers of chiral basic drugs with amylose- and cellulose- phenylcarbamate-based chiral columns in acetonitrile and aqueous-acetonitrile in high-performance liquid chromatography with a focus on substituent electron-donor and electron-acceptor effects[J]. J Chromatogr A, 2020, 1624: 461218.
[22] MERINO MED, LANCIONI C, PADRÓ JM, *et al*. Study of enantioseparation of β-blockers using amylose tris(3-chloro-5-methylphenylcarbamate) as chiral stationary phase under polar-organic, reversed-phase and hydrophilic interaction liquid chromatography conditions[J]. J Chromatogr A, 2020, 1634: 461685.
[23] FARHADPOUR M, MAGHARI S, REZADOOST H, *et al*. A click tyrosine zwitterionic stationary phases for hydrophilic interaction liquid chromatography[J]. J Chromatogr A, 2020, 1621: 461045.
[24] FU XQ, CEBO M, IKEGAMI T, *et al*. Separation of carbohydrate isomers and anomers on poly-N-(1H-tetrazole-5-yl)-methacrylamide-bonded stationary phase by hydrophilic interaction chromatography as well as determination of anomer interconversion energy barriers[J]. J Chromatogr A, 2020, 1620: 460981.
[25] TEIXEIRA J, TIRITAN ME, PINTO MMM, *et al*. Chiral stationary phases for liquid chromatography: recent developments[J]. Molecules, 2019, 24(5): 865.
[26] PIRKLE WH, POCHAPSKY TC. Considerations of chiral recognition relevant to the liquid chromatography separation of enantiomers[J]. Chem Rev, 1989, 89(2): 347-362.
[27] ZHAO YX, SI HL, ZHAO XY, *et al*. Fabrication of an allyl-β-cyclodextrin based monolithic column with triallyl isocyanurate as co-crosslinker and its application in separation of lipopeptide antibiotics by HPLC[J]. Microchem J, 2021, 168: 106462.
[28] CONG HL, XING J, DING X, *et al*. Preparation of porous sulfonated poly(styrene-divinylbenzene) microspheres and its application in hydrophilic and chiral separation[J]. Talanta, 2020, 210: 120586.
[29] NAGASE K, KANAZAWA H. Temperature-responsive chromatography for bioseparations: a review[J]. Anal Chim Acta, 2020, 1138: 191-212.
[30] TANG L, WANG L, YANG X, *et al*. Poly(N-isopropylacrylamide)-based smart hydrogels: design, properties and applications[J]. Prog Mater Sci, 2021, 115: 100702.
[31] SUN F, LI TT, ZHANG XY, *et al*. Facile fabrication of hydrophilic-underwater superoleophobic poly(N-isopropylacrylamide) coated PP/LPET nonwoven fabrics for highly efficient oil/water separation[J]. Prog Org Coat, 2020, 148: 105780.
[32] GUO JW, WANG CF, LAI JY, *et al*. Poly(N-isopropylacrylamide)-gelatin hydrogel membranes with thermo-tunable pores for water flux gating and protein separation[J]. J Memb Sci, 2021, 618: 118732.
[33] SUN F, REN HT, LI TT, *et al*. Bioinspired design of underwater superoleophobic Poly(N-isopropylacrylamide)/polyacrylonitrile/TiO_2 nanofibrous membranes for highly efficient oil/water separation and photocatalysis[J]. Environ Res, 2020, 186: 109494.
[34] XIONG XC, ZHAO D, DAI K, *et al*. Coaxial ring-layered poly(N-isopropylacrylamide) gel columns of improved thermoresponses[J]. Mater Chem Phys, 2020, 253: 123421.
[35] 王雁南,鞠美庭,李维尊,等. 离子液体AMIMCl对碱液活化的结缕草纤维素的提取与再生[J]. 化工进展, 2013, 32(2): 470-474, 480.
[36] TANG L, WANG L, YANG X, *et al*. Poly(N-isopropylacrylamide)-based smart hydrogels: design, properties and applications[J]. Prog Mater Sci, 2021, 115: 100702.
[37] FORNSTEDT T, SAJONZ P, GUIOCHON G. Thermodynamic study of an unusual chiral separation. propranolol enantiomers on an immobilized cellulase[J]. J Am Chem Soc, 1997, 119(6): 1254-1264.

(2021-12-24 收稿,2022-07-06 修回)