

磷脂微乳电动色谱的定量结构保留关系研究

宋 静¹ 郑 园² 霍长虹¹ 刘建芳^{*1,3}

¹(河北医科大学研究生学院, 石家庄 050017) ²(天津医科大学总医院, 天津 300052)

³(白求恩国际和平医院, 石家庄 050082)

摘 要 以大豆磷脂为主要的表面活性剂,制备适合毛细管电动色谱使用的不同构成比的微乳体系,应用溶剂化参数模型研究了中性溶质在其中的定量结构保留关系。使用动态涂层毛细管,以二甲基亚砜和十二烷基苯分别作为电渗流和微乳液滴迁移的标记物,测定了 26 个具有不同结构小分子中性化合物在 17 种微乳电动色谱体系下的保留因子,建立了线性溶剂化能量关系(LSER)方程。通过比较两体系的 LSER 方程系数比较体系相似性。结果表明,本研究建立的磷脂微乳电动色谱体系在线性溶剂化特征上和其它构成的微乳电动色谱体系相似。对溶质保留贡献较大的是溶质体积和有效氢键碱度,油相种类及浓度对溶质的保留选择性无明显影响。

关键词 微乳电动色谱; 大豆磷脂; 保留因子; 线性溶剂化能量关系

1 引言

微乳电动色谱(Microemulsion electrokinetic chromatography, MEEKC)是使用微乳作为分离介质的电泳技术,具有分离效率高、适用范围广和样品消耗少等优势,已广泛应用于分离科学领域^[1,2]。中性物质在 MEEKC 系统中依据其在水相和假固定相(微乳液滴)的分配系数不同而实现分离,而带电物质除了在两相间的分配系数不同外,还有物质间的静电作用。MEEKC 的选择性通过假固定相的改变实现,不同的表面活性剂、油相、助表面活性剂和有机改性剂的加入都会改变微乳对分离物的选择性。尽管 MEEKC 的应用已有 20 余年,已有许多关于微乳体系构成的报道^[3],但最常用的仍是以十二烷基硫酸钠(Sodium dodecyl sulfate, SDS)作为表面活性剂制备的微乳。Lucangioli 等^[4,5]最初将磷脂类生物表面活性剂引入 MEEKC 体系中,并将其应用于免疫抑制剂倍他米松及其衍生物的正辛醇/水分配系数(n -Octanol/water partition coefficient, $\lg P$)测定,发现用磷脂类生物表面活性剂制备的微乳体系预测以上药物的 $\lg P$ 值更准确。但是该研究仅检测了 4 种药物,且未见应用该系统进行其它药物集合 $\lg P$ 值测定的报道,因此磷脂类微乳电动色谱体系提高药物 $\lg P$ 值预测准确性的结论尚不十分肯定。磷脂类微乳与其它构成的微乳体系是否存在保留机制的差别也未见报道。

线性溶剂化能量关系(Linear solvation energy relationship, LSER)模型广泛用于各种色谱体系的溶质保留机制研究^[6~8]以及正辛醇水分配系数^[7]和药物体内透膜过程的预测^[9,10]。通过方程系数间的比较,可以发现不同分配体系的相似性,选择合适的色谱体系用于药物膜通透性的筛选^[7,11]。本研究采用 LSER 模型,对应用大豆磷脂制备的微乳体系进行 MEEKC 分离时的溶质保留机制进行研究,比较了不同磷脂构成比、不同油相及油相含量对 LSER 方程系数的影响,同时将磷脂微乳体系与其它表面活性剂构成的微乳或胶束体系进行了比较,拟阐明磷脂类成分和油相组分在微乳分离体系中的作用,为进一步应用磷脂类微乳电动色谱体系进行药物膜通透性的预测提供理论依据。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

Beckman P/ACE MDQ 毛细管电泳仪、DAD 检测器(美国 Beckman 公司);弹性石英毛细管柱(河北

2016-09-28 收稿;2017-01-20 接受

本文系国家自然科学基金项目(No. 81202501)资助

* E-mail: 13831197270@163.com

永年光导纤维厂, 60 cm×50 μm, (id), 有效长度 50 cm);Malvern Zetasizer Nano ZS90 型激光粒度散射仪(英国 Malvern 公司);KQ-3200B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);BP211D 电子分析天平(德国赛多利斯公司);pH-3C 型 pH 计(上海雷磁仪器厂)

十二烷基硫酸钠(石家庄市拜昂生物技术有限公司);聚凝胺(PB, 美国 Sigma 公司);葡聚糖硫酸盐(DS, 美国 Sigma 公司);大豆磷脂(注射级, 上海太伟药业股份有限公司);胆酸钠(美国 Sigma 公司, BioXtra ≥ 99%);脱氧胆酸钠(Sigma-Aldrich 公司);十七氟辛烷磺酸四乙基铵盐(Aldrich 公司);十六烷三甲基溴化铵、十二烷基苯(Sigma 公司);肉豆蔻酸异丙酯(上海源叶生物科技有限公司);正丁醇、正辛醇、正庚烷(分析纯, 天津市永大化学试剂有限公司);全氟辛基磺酸钾(Aldrich 公司);二甲基亚砜(DMSO, 分析纯, 天津市标准科技有限公司);甲醇(色谱纯, 天津市康科德科技有限公司);实验用水为某品牌纯净水。

待测化合物见表 1, 其中间二甲苯、对二甲苯由河北科技大学提供, 其余均由河北医科大学药学院提供。

2.2 微乳和化合物储备液的制备

优化的微乳处方构成见表 2。称取适量的表面活性剂于密封性容器内, 用水相(20 mmol/L NaH₂PO₄)溶解, 依次加入助表面活性剂、油相, 混匀、超声 30 min, 室温静置(12 h 以上)至微乳溶液摇晃后仍澄清, 表明形成稳定微乳, 最后用饱和 NaOH 调至所需 pH 值, 备用, 使用前用 0.45 μm 滤膜过滤。

根据 Vitha 等^[12]对建立溶剂化方程的溶质集合筛选提出的指导原则, 共收集了 26 个具有不同结构特征的小分子中性化合物及其 Abraham 分子描述符(见表 1), 分别用甲醇溶解, 配制成 3 ~ 100 mg/mL 储备液, 进样前用微乳液稀释至 0.1 ~ 3 mg/mL。

1 mL 微乳液中加入 6 μL 苯甲酰胺甲醇溶液(30 mg/mL)、6 μL 邻甲苯胺甲醇溶液(100 mg/mL)、4 μL 2-萘酚甲醇溶液(100 mg/mL)和 6 μL 电渗流标记物 DMSO、4 μL 微乳标记物十二烷基苯, 作为标准混合液。

表 1 待测化合物及其 Abraham 分子描述符^[7]
Table 1 Compounds and their Abraham descriptors^[7]

化合物 Compounds	Abraham 分子描述符 Abraham molecular descriptors				
	特征体积 Characteristics volume (V)	偶极/极化率 Dipole/polarizability (S)	氢键碱度 Hydrogen- bond basicity (B)	氢键酸度 Hydrogen-bond acidity (A)	摩尔折射率 Molar refraction (E)
苯胺 Aniline	0.816	0.96	0.41	0.26	0.955
苯乙酮 Acetophenone	1.014	1.01	0.48	0	0.818
喹啉 Quinoline	1.044	0.97	0.54	0	1.268
对二甲苯 <i>p</i> -Xylene	0.998	0.52	0.16	0	0.613
甲苯 Toluene	0.857	0.52	0.14	0	0.600
乙酰苯胺 Acetanilide	1.113	1.40	0.69	0.50	0.870
苯 Benzene	0.716	0.52	0.14	0	0.610
苯甲醇 Benzyl alcohol	0.916	0.87	0.56	0.33	0.803
氯苯 Chlorobenzane	0.839	0.65	0.07	0	0.718
间苯二酚 Resorcinol	0.834	1.00	0.58	1.10	0.980
硝基苯 Nitrobenzene	0.891	1.11	0.28	0	0.871
苯甲醚 Methyl phenyl ether	0.916	0.75	0.29	0	0.708
邻甲苯胺 <i>o</i> -Toluidine	0.975	0.90	0.59	0.23	0.970
邻苯二甲酸二乙酯 Diethyl phthalate	1.711	1.40	0.88	0	0.729
4-硝基苯胺 4-Nitroaniline	0.973	1.91	0.38	0.42	1.220
吡啶 Pyridine	0.675	0.84	0.52	0	0.631
苯甲酰胺 Benzamide	0.973	1.50	0.67	0.49	0.990
二苯甲酮 Benzophenone	1.481	1.50	0.50	0	1.447
间二甲苯 <i>m</i> -Xylene	1.000	0.52	0.16	0	0.623
2-萘酚 2-Naphthol	1.144	1.08	0.40	0.61	1.520

续表 1(Continued to Table 1)

化合物 Compounds	Abraham 分子描述符 Abraham molecular descriptors				
	特征体积 Characteristics volume (V)	偶极/极化率 Dipole/polarizability (S)	氢键碱度 Hydrogen- bond basicity (B)	氢键酸度 Hydrogen-bond acidity (A)	摩尔折射率 Molar refraction (E)
溴苯 Bromobenzene	0.891	0.73	0.09	0	0.882
苯甲醛 Benzaldehyde	0.873	1.00	0.39	0	0.820
儿茶酚 Catechol	0.834	1.10	0.47	0.88	0.970
对苯二酚 Hydroquinone	0.834	1.00	0.60	1.16	1.000
硫脲 Thiourea	0.57	0.70	0.86	0.78	0.640
1,2-二氯苯 1,2-Dichlorobenzene	0.961	0.78	0.04	0	0.872
最大值 Max value	1.711	1.91	0.88	1.16	1.520
最小值 Min value	0.570	0.52	0.04	0	0.600

2.3 保留因子的测定

2.3.1 毛细管预处理 (1)毛细管活化 用甲醇冲洗新管 3 min, 再依次用水冲洗 0.5min、0.1 mol/L HCl 冲洗 15 min、水冲洗 0.5 min、1 mol/L NaOH 冲洗 15 min。(2)毛细管涂层 毛细管活化后静置 30 min, 先用 5% PB 溶液冲洗 20 min, 静置 20 min 后, 再用 3% DS 溶液冲洗 20 min, 静置 30 min, 使用前用水冲洗 5 min 即可。

2.3.2 测定条件 毛细管柱总长度 60 cm(有效长度 50 cm, 内径 50 μm), ±20 kV 恒压分离, 检测波长 208 nm, 压力进样(0.8 psi, 8 s), 柱温 25℃。

2.3.3 不同 MEEKC 体系下保留因子的测定与计算 阴离子型微乳(表 2 中 ME1-ME16)采用+20 kV 电压, 阳离子型微乳(表 2 中 ME17)采用-20 kV 电压分离, 柱温 25℃。保留因子 k 按下式计算^[13]:

$$k = \frac{(t_s - t_{\text{EOF}})/t_{\text{EOF}}}{(t_{\text{ME}} - t_s)/t_{\text{ME}}} = \frac{t_s - t_{\text{EOF}}}{t_{\text{EOF}}(1 - t_s/t_{\text{ME}})}$$

(1)

式中, t_s , t_{EOF} , t_{ME} 分别代表待测溶质、电渗流和微乳的迁移时间, t_{EOF} 为样品中 DMSO 迁移时间, t_{ME} 为样品中十二烷基苯迁移时间。

2.3.4 保留因子与 Abraham 描述符间 LSER 的建立 LSER 理论是基于腔穴模型, 解释溶质在两相间转移^[14], LSER 方程一般描述如下:

$$\text{SP} = c + vV + eE + sS + bB + aA$$

(2)

SP 作为给定系统的一种溶剂化性能, 例如溶剂的保留行为的对数($\lg k$)、正辛醇/水分配系数($\lg P$)、稳态血脑药物浓度比($\lg B$)等; 方程中的大写字母是 Abraham 溶质描述符, E 表示摩尔折射率, S 表示溶质偶极/极化率, B 和 A 分别表示有效氢键碱度和酸度, V 代表特征体积; 小写字母 e , s , a , b 和 v 是通过多元线性回归得到的各个变量的系数, 反映了给定系统的性质即溶剂化参数对系统的贡献大小, 其中 e 代表分配系统中的溶质分子与溶剂的 π 或 n 电子的作用; s 反映系统两相间的偶极/极化率; b 和 a 分别代表系统的有效氢键碱度和酸度; v 代表系统的空穴的形成能力或内聚能; 常数 c 是方程的截距, 由溶质和系统间恒定的相互作用产生, 如相体积比。

本研究将不同微乳体系下测得的 26 个化合物的保留因子($\lg k$)与 Abraham 描述符间建立了 LSER 方程。

3 结果与讨论

3.1 微乳体系构成

通过改变表面活性剂及油相的种类和浓度制备的稳定微乳处方组成见表 2。

文献[15]报道, 制备微乳时各组分的加入顺序会影响微乳的形成, 但是本实验发现, 超声和静置有助于微乳的形成, 即使改变组分的加入顺序, 仍能够形成稳定的微乳体系。微乳制备和保存都应在密封的容器内进行, 以防止油相和丁醇等成分的挥发影响微乳的构成。运行 MEEKC 时, 洗脱时间窗

表 2 微乳组成
Table 2 Composition of test microemulsion

微乳 Microemulsion	组成比例 Components and percentages (% , w/w)			
	表面活性剂 Surfactant	正丁醇 <i>n</i> -Butanol	油相 Oil	缓冲液 Buffer
ME1	1.56/1.50 (SP/SDS)	7.5	0 (heptane)	89.44
ME2	1.56/1.50 (SP/SDS)	7.5	0.5 (heptane)	88.94
ME3	1.56/1.50 (SP/SDS)	7.5	1.0 (heptane)	88.44
ME4	2.00/3.50 (SP/SC)	6.0	0 (octanol)	88.50
ME5	2.00/3.50 (SP/SC)	6.0	0.7 (octanol)	87.80
ME6	2.00/3.50 (SP/SC)	6.0	1.5 (octanol)	87.00
ME7	2.00/3.50 (SP/SC)	6.0	0.7 (IPM)	87.80
ME8	0.54/1.66 (PFOS-K/SDC)	8.5	—	89.30
ME9	1.61/1.66/1.56 (PFOS-K/SDC/SP)	9.0	—	86.17
ME10	1.61/0.58 (PFOS-K/SDS)	8.5	—	89.31
ME11	3.22/0.58 (PFOS-K/SDS)	9.2	—	87.00
ME12	1.61/1.15 (PFOS-K/SDS)	9.5	—	87.74
ME13	1.89/0.58 (PFOS-NH ₄ /SDS)	7.0		90.53
ME14	1.89/0.58 (PFOS-NH ₄ /SDS)	7.0 *	—	90.53
ME15 ^b	3.30 (SDS)	7.5	—	89.20
ME16 ^b	3.30 (SDS)	6.6	1.6 (heptane)	88.50
ME17	1.46 (CTAB)	7.5	—	91.04

* : 7.0% 乙腈; b: 只用 5% PB 涂层; SP: 大豆磷脂; SDS: 十二烷基硫酸钠; SC: 胆酸钠; PFOS-K: 全氟辛基磺酸钾; SDC: 脱氧胆酸钠; PFOS-NH₄: 十七氟辛烷磺酸四乙基铵盐; CTAB: 十六烷三甲基溴化铵; IPM: 肉豆蔻酸异丙酯。
* : 7% acetonitrile; b: capillary coating only with 5% PB, SP: soybean phospholipids; SDS: sodium dodecyl sulfate; SC: sodium cholate; PFOS-K: potassium perfluorooctadecyl sulfonate; SDC: sodium deoxycholate; PFOS-NH₄: tetraethylammonium perfluorooctadecyl sulfonate; CTAB: hexadecyltrimethyl ammonium bromide; IPM: isopropyl myristate.

口的大小与微乳中助表面活性剂及表面活性剂的浓度相关, 本研究控制时间窗都在 20 min 以上, 以保证洗脱窗内能够容纳较多的溶质。

3.2 微乳稳定性

通过外观、粒径和电位变化考察了微乳的稳定性, 部分检测结果见表 3。从表中粒径和 Zeta 电位值可知, 微乳室温存放 30 天, 粒径和表面电位无明显变化。

3.3 溶质保留时间和保留因子重现性

以 ME5 为电动色谱流动相, 用标准混合液进样, 考察动态涂层条件

下溶质保留时间的重复性, 图 1 是典型的色谱图。结果表明, 应用文献[16]报道的涂层方法(见 2.3.1 节毛细管涂层), 使用同批次微乳液, 连续测定 3 天, 总进样 60 针(每针运行时间在 20 min 以上), 化合物的迁移时间 RSD<2.5%。随着进样针数的增加和进样时间的延长, 迁移时间 RSD 变大, 原因可能是样品在毛细管内壁的吸附或涂层有损坏。因此测定样品过程中, 需要用标准混合溶液进行重复性检测, 如标准样品的迁移时间出现较大偏差, 则需对毛细管进行冲洗; 冲洗后无改善则需重新涂层处理, 以确保溶质迁移时间的重复性。从表 4 可见, 各被测物保留时间与保留因子测定的重复性均良好。但为了保证保留因子测定的准确性, 每个样品溶液中都加入 DMSO 和十二烷基苯, 以尽量减少迁移时间变化带来的保留因子测定误差。

表 3 微乳液滴的粒径和 Zeta 电位
Table 3 Size and Zeta potential of microemulsion droplets

系统 Systems	0 day		30 day	
	液滴粒径 Droplet size (nm)	Zeta 电位 Zeta potential (mV)	液滴粒径 Droplet size (nm)	Zeta 电位 Zeta potential (mV)
ME1	5.93	-13.4	6.01	-13.7
ME2	5.90	-13.7	5.83	-14.6
ME3	6.23	-14.8	6.11	-15.1
ME4	4.16	-14.2	3.87	-14.8
ME5	4.14	-14.9	4.52	-11.9
ME6	8.12	-13.8	8.20	-13.1
ME8	3.35	-3.69	3.40	-3.33
ME9	5.22	-13.2	5.06	-13.6
ME13	3.24	-11.9	3.38	-16.0
ME16	3.99	-15.5	3.76	-18.2
ME17	4.23	7.55	4.41	5.54

3.4 不同微乳体系下的 LSER 方程

收集 26 个不同结构的小分子中性化合物,以表 2 中的微乳体系作为分离介质,测定溶质的保留因子,用 SPSS 19.0 进行保留因子与溶质描述符间的多元线性回归,建立 LSER 方程,结果见表 5。

总体上看,实验中得出的各个微乳电动色谱体系的 LSER 方程系数都比较接近,其中 v 和 b 的系数绝对值较大,表明溶质的体积和氢键碱性对溶质保留贡献较大。 v 绝对值较大表明体系中油滴形成腔穴对溶质保留所需能量低于水相; b 值为负值表明微乳氢键碱性小于缓冲液,随着溶质氢键碱性的增加将不利于溶质进入假固定相中。 a 值在各体系 LSER 方程中大部分为负值且接近于 0,表明溶剂氢键受体能力在油水两相间的性能相似; s 和 e 的绝对值较小,表明在溶质保留机制中偶极/极化率和溶质分子与溶剂的 π 或 n 电子的作用较弱^[7,17]。

微乳相对于胶束溶液来说,主要不同在于加入了表面活性剂和油相^[18],本研究系统比较了不同油相种类和含量对体系特征的影响。从表 5

表 4 同批次微乳保留时间和保留因子测定的重复性

Table 4 Inter-day precision of retention time and retention factors in microemulsion electrokinetic chromatography (MEEKC) for the same batch of microemulsion

化合物 Compounds	保留时间 Retention time (min)	精密度 RSD (%)	保留因子 Retention factors (k)	精密度 RSD (%, $n=3$)
二甲基亚砷 DMSO	11.863	0.04	—	
苯甲酰胺 Benzamide	15.685	0.27	0.560	0.72
邻甲苯胺 <i>o</i> -Toluidine	19.486	0.39	1.360	1.48
2-萘酚 2-Naphthol	33.535	2.28	19.64	0.48
十二烷基苯 Dodecylbenzene	36.969	2.59	—	

表 5 各 MEEKC 系统的 LSER 方程系数

Table 5 Coefficients of linear sdvation energy relationship (LSER) equations for MEEKC system

微乳 Microemulsion	油相 Oil	LSER 方程系数 Coefficients of LSER equations					相关系数 Correlation coefficient (r^2)
		v	s	b	a	e	
ME1	0%	2.649	-0.208	-3.108	0.084	-0.007	0.922
ME2	0.5% heptane	2.420	-0.080	-2.968	-0.010	-0.112	0.937
ME3	1.0% heptane	2.296	-0.139	-2.832	-0.072	-0.011	0.934
ME4	0%	2.166	-0.048	-2.851	0.123	0.021	0.921
ME5	0.7% octanol	2.413	-0.056	-2.962	0.140	-0.011	0.924
ME6	1.5% octanol	2.472	-0.075	-3.071	0.116	-0.051	0.929
ME7	0.7% IPM	2.316	-0.048	-3.019	0.092	-0.112	0.922
ME8	0%	1.974	-0.068	-2.247	0.005	-0.019	0.948
ME9	0%	2.401	-0.080	-2.811	-0.002	-0.202	0.941
ME10	0%	2.215	-0.046	-2.359	-0.301	-0.195	0.953
ME11	0%	2.677	-0.009	-2.872	-0.225	-0.138	0.926
ME12	0%	2.237	-0.079	-2.505	-0.172	-0.186	0.955
ME13	0%	2.937	0.021	-3.209	-0.111	-0.051	0.903
ME14	0%	2.407	-0.111	-2.341	-0.113	0.012	0.947
ME15	0%	2.274	-0.080	-2.662	-0.139	-0.110	0.951
ME16	1.6% heptane	2.413	-0.183	-2.858	-0.172	-0.147	0.932
ME17	0%	2.270	-0.101	-2.774	0.148	0.040	0.958

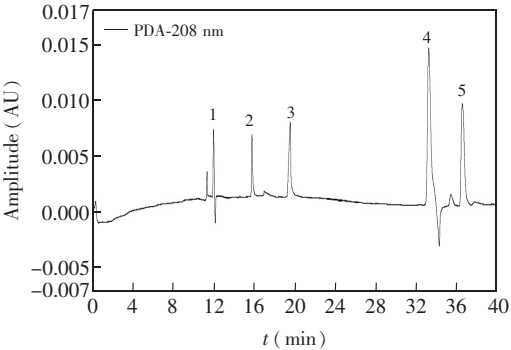


图 1 ME5 作为分离介质检测 3 种化合物的典型色谱图
Fig. 1 Representative chromatogram of three test compounds in ME5 system

1. dimethylsulfoxide (DMSO); 2. Benzamide; 3. *o*-Toluidine; 4. 2-Naphthol; 5. Dodecylbenzene.

中 ME1 ~ ME3, ME4 ~ ME6 体系的 LSER 方程可见, 在其它组成不变的情况下, 庚烷从 0 到 1.0%, 辛醇从 0 到 1.5%, LSER 系数没有明显变化。从 ME2, ME5, ME7 的方程系数可见, 不同油相种类(庚烷、辛醇、IPM)对体系特征也无影响。这些结果表明油相对 MEEKC 测定中性化合物的分离选择性没有明显影响。若待测化合物有一定的解离性, 则其分离选择性可能与油相有关^[2]。助表面活性剂一般为短链醇, 它的加入可以改变微乳液滴的表面电荷密度和微乳结构的刚性, 有利于溶质的溶解和洗脱^[10]。

表面活性剂的种类直接影响微乳的表面特性。SDS 是 MEEKC 系统常用的表面活性剂, 本实验对以大豆磷脂和碳氟表面活性剂作为表面活性剂的新型微乳体系的溶剂化特征进行了研究(ME1, ME4, ME8, ME17)。结果表明, 大豆磷脂的加入, 没有改变微乳体系的基本特征。而据文献[19,20]报道, 在碳氟表面活性剂构成的胶束溶液中, 因碳原子上的所有氢原子被氟原子取代, 在溶质分配行为中氢键酸度作用贡献增加, 甚至强于氢键碱度, 与 SDS 胶束体系中氢键酸度贡献很小的结果显著不同。但本研究未得到一致结果, 在 PFOS-K 或 PFOS-NH₄形成的微乳体系中, 依然是氢键碱度的作用突出。这可能是因为本研究 PFOS-K 或 PFOS-NH₄体系中加入了 SDS、SDC 和丁醇等, 而 SDS 和 SDC 的氢键碱度作用贡献较大。

此外, 本实验还发现, 阳离子型表面活性剂 CTAB 建立的 MEEKC 体系的 LSER 方程系数与阴离子型表面活性剂构成 MEEKC 体系(ME1-ME9)相比也无较大差异, 表明微乳液滴只是作为一个相对于水相极性较弱的假固定相, 其表面电荷性质不影响中性化合物的分离选择性。

3.5 与文献报道的其它色谱系统的比较

其它应用 LSER 模型研究溶质保留机制的色谱系统有磷脂膜色谱、胶束、微乳电动色谱系统等^[21~27], 本研究应用 Lázaro 等提出的矢量距离法^[28]比较了所建新型 MEEKC 系统与其它色谱系统间的接近程度。距离参数 *d* 的计算方法如下方程:

$$p_u = p / \sqrt{v^2 + s^2 + b^2 + a^2 + e^2} \tag{3}$$

$$d = \sqrt{(v_{ui} - v_{uj})^2 + (s_{ui} - s_{uj})^2 + (b_{ui} - b_{uj})^2 + (a_{ui} - a_{uj})^2 + (e_{ui} - e_{uj})^2} \tag{4}$$

其中, *p* 代表 *v*, *s*, *e*, *b*, *a* 中的任一系数, *u* 代表标准化, *i* 和 *j* 指待比较的两系统。本研究建立的体系与文献[13 ~ 19]报道的常见系统的比较见表 6。

表 6 各系统 LSER 方程系数间的矢量距离 *d*
Table 6 Vector distances (*d*) of LSER equation coefficients between two selected systems

系统 System	矢量距离 Vector distance (<i>d</i>)							
	ME3	ME5	ME7	ME8	ME9	ME13	ME16	ME17
ME3	0.000							
ME5	0.061	0.000						
ME7	0.063	0.041	0.000					
ME8	0.048	0.052	0.074	0.000				
ME9	0.063	0.068	0.064	0.050	0.000			
ME13	0.074	0.087	0.103	0.044	0.066	0.000		
ME16	0.050	0.098	0.092	0.066	0.055	0.075	0.000	
ME17	0.064	0.020	0.056	0.056	0.081	0.096	0.104	0.000
lg <i>P</i> ^[13]	0.248	0.263	0.292	0.238	0.271	0.256	0.253	0.247
Alkane/water ^[13]	0.512	0.569	0.566	0.535	0.544	0.524	0.491	0.566
IAM (pH=7.0) ^[14]	0.357	0.338	0.375	0.340	0.383	0.362	0.388	0.320
IAM (pH=7.4) ^[15]	0.152	0.120	0.161	0.122	0.163	0.142	0.184	0.108
MEKC-SDS ^[16]	0.363	0.374	0.404	0.332	0.359	0.319	0.352	0.367
MEEKC-SDS ^[17]	0.204	0.224	0.251	0.192	0.222	0.205	0.203	0.211
MLC-SDS(C8) ^[18]	0.485	0.528	0.528	0.518	0.534	0.535	0.489	0.516
MLC-CTAB-C8 ^[18]	0.509	0.531	0.531	0.540	0.555	0.572	0.526	0.516
MLC-SDS-C18 ^[19]	0.336	0.387	0.393	0.360	0.381	0.366	0.330	0.377

根据文献[6,29]报道, 系统间的距离 *d*<0.25, 表明两系统特征较相似。从表 6 可见, 所建立的各种微乳体系彼此间距离 *d*<0.1, 说明彼此间特征相近。所建微乳体系与正辛醇/水分配系数(lg*P*)、

MEEKC-SDS 和磷脂膜色谱 (pH 7.4) 系统间的 d 值均约为 0.25, 表明 MEEKC、磷脂膜色谱与正辛醇-水系统所测得的亲脂性参数一致, 表明 MEEKC 是预测 $\lg P$ 值的实用工具^[7]。本研究中所用的磷脂微乳体系与其它 MEEKC 体系相比, 基线稳定性更好, 分离能力更强。

4 结论

对于本研究测定的中性化合物, 无论是在大豆磷脂、SDS、CTAB, 还是碳氟类表面活性剂制备的微乳电动态谱中, 所得保留因子的 LSER 方程的基本特征相似, 都是 v 和 b 较大, 即溶质的体积和氢键碱度对其在微乳中的保留影响较大, 前者利于保留, 后者减弱保留。各体系之间距离也非常接近, 说明表面活性剂类型和油相组成对中性溶质在微乳体系中的保留选择性均无明显影响。若不考虑油相对微乳液滴刚性结构的影响, 微乳体系或许可以称为助表面活性剂修饰的胶束体系。

References

- 1 Chang C W, Chen Y C, Liu C Y. *Electrophoresis*, **2015**, 36(21): 2745–2753
- 2 Xiao W, Zhang Q, Chen C, Zhang Q H, Hu Y J, Xia Z N, Yang F Q. *J. Pharm. Sci.*, **2016**, 54(9): 1678–1686
- 3 Buchberger W. *Method Mol. Biol.*, **2016**, 1483: 91–109
- 4 Lucangioli S E, Kenndler E, Carlucci A, Tripodi V P, Scioscia S L, Carducci C N. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2003**, 33(5): 871–878
- 5 Lucangioli S E, Carducci C N, Scioscia S L, Carlucci A, Bregni C, Kenndler E. *Electrophoresis*, **2003**, 24(6): 984–991
- 6 Li L X, Yang J R, Huang H Z, Xu L Y, Gao C K, Li N. *Biomed. Chromatogr.*, **2016**, 30(7): 996–1006
- 7 Subirats X, Yuan H P, Chaves V, Marzal N, Rosés M. *Electrophoresis*, **2016**, 37(14): 2010–2016
- 8 Janicka M. *J. Chromatogr. Sci.*, **2014**, 52(7): 676–684
- 9 Baynes R E, Xia X R, Vijay V, Vijay J E. *SAR QSAR Environ. Res.*, **2008**, 19(7-8): 615–630
- 10 Stepnik K E, Malinowska I. *J. Chromatogr. A*, **2013**, 1286: 127–136
- 11 Liu J F, Sun J, Sui X F, Wang Y J, Hou Y N, He Z G. *J. Chromatogr. A*, **2008**, 1198–1199: 164–172
- 12 Vitha M, Carr P W. *J. Chromatogr. A*, **2006** 1126(1-2): 143–194
- 13 Jiang Z J, Reilly J, Everatt B, Briard E. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2011**, 54(4): 722–729
- 14 Lesellier. E. *J. Chromatogr. A*, **2015**, 1389: 49–64
- 15 Liu J F, Sun J, Wang Y J, Li H Y, Sui X F, Li Y, He Z G. *Asian J. Pharmaceut. Sci.*, **2008**, 3(4): 158–167
- 16 Katayama H, Ishihama Y, Asakawa N. *Anal. Chem.*, **1998**, 70(11): 2254–2260
- 17 LI Jie, SUN Jin, HE Zhong-Gui. *Acta Pharmaceutica Sinica*, **2007**, 42(1): 13–18
李洁, 孙进, 何仲贵. *药学报*, **2007**, 42(1): 13–18
- 18 LIU Jian-Fang, SUI Xiao-Fan, SUN Jin, WANG Yong-jun, HE Zhong-Gui. *J. Anal. Chem.*, **2008**, 36(12): 1742–1748
刘建芳, 隋晓璠, 孙进, 王永军, 何仲贵. *分析化学*, **2008**, 36(12): 1742–1748
- 19 Esaka Y, Rin F, Kobayashi M, Osako R, Murakami H, Uno B. *J. Chromatogr. A*, **2014**, 1385(2): 261–268
- 20 Fuguet E, Ràfols C, Bosch E, Rosés M, Abraham M H. *J. Chromatogr. A*, **2001**, 907(1-2): 257–265
- 21 Abraham M H, Chadha H S, Whiting G S, Mitchell R C. *J. Pharm. Sci.*, **1994**, 83(8): 1085–1100
- 22 Li J, Sun J, Cui S M, He Z G. *J. Chromatogr. A*, **2006**, 1132(1-2): 174–182
- 23 Valko K, Du C M, Bevan C D, Reynolds D P, Abraham M H. *J. Pharm. Sci.*, **2000**, 89(8): 1085–1096
- 24 Trone M D, Khaledi M G. *Anal. Chem.*, **1999**, 71(7): 1270–1277
- 25 Abraham M H, Treiner C, Rosés M, Rafols C, Ishihama Y. *J. Chromatogr. A*, **1996**, 752(1-2): 243–249
- 26 García M A, Vitha M F, Sandquist J, Mulville K, Marina M L. *J. Chromatogr. A*, **2001**, 918(1): 1–11
- 27 García M A, Vitha M F, Marina M L. *J. Liq. Chrom. Rel. Technol.*, **2000**, 23(6): 873–895
- 28 Lázaro E, Ràfols C, Abraham M H, Rosés M. *J. Med. Chem.*, **2006**, 49(16): 4861–4870
- 29 Poole S K, Poole C F. *J. Chromatogr. A*, **2008**, 1182(1): 1–24

Study on Quantitative Structure-Retention Relationships of Microemulsion Electrokinetic Chromatography Using Phospholipids as Surfactant

SONG Jing¹, ZHENG Yuan², HUO Chang-Hong¹, LIU Jian-Fang^{*1,3}

¹(Department of Graduate School, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

²(Department of Pharmacy, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China)

³(Department of Pharmacy, Bethune International Peace Hospital, Shijiazhuang 050082, China)

Abstract Some new types of microemulsion using phospholipids as the main surfactant were prepared for electrokinetic chromatography and the quantitative structure-retention relationship of neutral solutes in these microemulsion electrokinetic chromatography (MEEKC) systems was studied by solvation parameters model. By using dynamic coating capillary, and with dimethyl sulfoxide (DMSO) and dodecyl benzene as the marker of electroosmotic flow and microemulsion droplets, a total of 17 kinds of stable microemulsions containing soybean phospholipids or other surfactants were prepared and the linear solvation energy relationship equations were developed for these MEEKC systems with 26 small neutral compounds. The coefficients of linear solvation energy relationship (LSER) equations were used to evaluate the similarity of two MEEKC systems. Results indicated that LSER characteristics of phospholipids-MEEKC systems were similar to those of other microemulsion systems. The volume and hydrogen bond basicity of solutes were mostly contributed to the retention in MEEKC. The different types and concentration of oil phase had no evident influence on the retention.

Keywords Microemulsion electrokinetic chromatography; Soybean phospholipids; Retention indice; Linear solvation energy relationship

(Received 28 September 2016; accepted 20 January 2017)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81202501)

2017 (第十一届) 中国科学仪器发展年会在南京召开

仪器信息网讯 2017 年 4 月 24 日,中国科学仪器行业的“达沃斯论坛”——2017 (第十一届)中国科学仪器发展年会 (ACCSI 2017) 在南京国际青年会议酒店召开,会议主题为“融合与发展”。据悉,ACCSI 首次走进历史名城南京。ACCSI 2017 借助十年的品牌积淀,发挥南京的区位优势,吸引了来自“政、产、学、研、用”等方面的 1000 余位高端人士与会。

本届年会由中国仪器仪表行业协会、中国仪器仪表学会、仪器信息网 (www. instrument. com. cn) 联合主办,中国仪器仪表学会分析仪器分会、首都科技条件平台、南京市产品质量监督检验院、我要测 (www. woyaoce. cn)、仪品汇 (www. yph. cn)、江苏省分析测试协会协办。

第十一届中国科学仪器发展年会首次走出首都,走进古都金陵,得到了南京新港国家高新技术产业园管理委员会等政府机构的大力支持。年会开幕前,南京市市政府副秘书长周宁、江苏出入境检验检疫局副局长卢艳光、江苏省质量技术监督局副局长邱少敏、南京市质监局局长孙宁、南京大学陈洪渊院士、中国检验检疫科学研究院庞国芳院士、原科技部条财司司长王顺昌、原质检总局检验司副司长曹喆、中国仪器仪表行业协会高级顾问闫增序一行在仪器信息网及我要测网 CEO 唐海霞的陪同下参观了仪器厂商展位,就科学仪器行业技术、产品和市场等话题展开实地调研与交流。

Preparation, Characteristics and Cell Imaging of Fluorescent Nanoparticles Based on Grafted Poly(acrylic acid)

LIAO Xiao-Yan¹, LIANG Shu-Cai^{*1}, LIU Yu-Ping², ZHANG Jing-Ya², YAN Guo-Ping^{*2}

¹(College of Pharmacy, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

²(School of Materials Science and Engineering, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430074, China)

Abstract Polyacrylic acid was firstly grafted by *N*-amino-4-*N*-methylpiperazine-1,8-naphthlimide (AMN) to prepare a amphiphilic polymer, which was self-assembled in water producing nanoparticles called as PAAMN. Then the morphology, structure and fluorescence properties of PAAMN were investigated by various methods including transmission electron microscopy, dynamic light scattering, ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis), nuclear magnetic resonance spectroscopy (HNMR) and fluorescence spectroscopy. MTT assay was carried out to assess the cell compatibility of PAAMN. Finally, the fluorescence from PAAMN self and HeLa cells incubated with PAAMN was observed by fluorescence microscope. The results revealed that PAAMN had spherical structure, in which naphthlimide fluorophores were immobilized in the polyacrylic acid matrix with the degree of substitution of 4.1%. Under the physiological pH condition, PAAMN excited at 390 nm could emit strong and stable fluorescence at 534 nm. In the range of pH 4.0 – 10.0, its excitation and emission wavelengths had no obvious change. The fluorescence intensity of PAAMN increased with the decrease of pH values, but the pH sensitivity of PAAMN was much lower than that of AMN. PAAMN had good cell compatibility. From the pictures of fluorescence imaging, it was found that both PAAMN self and cells-engulfed PAAMN could emit green fluorescence upon excited at 390 nm, indicating the potential of the developed nanoparticle for cell imaging.

Keywords Fluorescent nanoparticle; Polyacrylic acid; Naphthalimide; Self-assembly; Cell imaging

(Received 14 October 2016; accepted 25 January 2017)

This work was supported by the National Natural Foundation of China (No. 20905059).

(上接 661 页)

大会报告环节,中国国家认证认可监督管理委员会法律部主任刘仲书对认证认可检验检测发展“十三五”规划进行了解读。中国仪器仪表行业协会高级顾问闫增序分析总结了 2016 年中国科学仪器行业发展状况,并就 2017 年行业发展做出预测。南京大学陈洪渊院士介绍了生命科学的前沿技术与发展机遇。中国检验检疫科学研究院庞国芳院士则介绍了食品安全检测新技术,并对未来发展趋势进行了展望。仪器信息网产业研究部主任江炜则基于大量的市场调研数据,给出了 2017 年及未来科学仪器市场的需求所在。

24 日下午,ACCSI 2017 结合行业热点、企业需要、用户需求等话题,开设了食品快检技术及应用发展论坛、材料检测技术论坛、生命科学仪器与检测方法创新论坛、国产科学仪器研发成果转化研讨会、环境监测/检测新技术及其热点应用论坛、科学仪器及检测行业资本峰会、分析试剂的发展与应用论坛、检验检测产业峰会等八大分论坛,为与会的专家、企业家、用户提供了更全面、更便利的交流沟通平台。

24 日晚上,ACCSI 2017 还将举办年度仪器及检测风云榜颁奖盛典,现场颁布“2016 年度科学仪器优秀新产品”奖、“2016 年度科学仪器行业绿色仪器”奖、“2016 科学仪器行业最具影响力厂商”、“2016 科学仪器行业年度人物”、第四届“科学仪器研发特别贡献奖”、“2016 科学仪器行业最具成长潜力企业”等多项大奖。

关于本届年会各项内容的详细报道,敬请关注仪器信息网的后续报道。