

doi:10.3969/j.issn.2095-0411.2021.02.004



开放科学标识码
(OSID)

手性识别技术研究进展

孔 泳¹, 赵倩倩¹, 杨嘉佩¹, 尹争志², 吴大同¹, 陶永新¹

(1. 常州大学 石油化工学院, 江苏 常州 213164; 2. 嘉兴学院 生物与化学工程学院, 浙江 嘉兴 314001)

摘要:手性在自然界中无处不在, 手性对映体的理化性质极其相似, 但手性对映体特别是手性药物在生理活性等方面却表现出明显的差异, 因此, 有关手性对映体的手性识别对分析化学和生命科学的研究都具有重要的意义。近年来, 虽然有关手性识别技术的研究越来越多, 但开发快速灵敏、操作简单的手性识别技术仍是一项重要且具有挑战性的任务。首先总结了已被广泛认可的 3 种手性识别机理, 接着结合本课题组的研究工作对一些常见的手性识别技术进行了归纳和总结, 分析了已有手性识别技术的优缺点, 为开发新型高效的手性识别技术提供了思路。

关键词:手性; 对映异构体; 手性识别机理; 手性识别技术

中图分类号: O 657

文献标志码: A

文章编号: 2095-0411(2021)02-0024-13

Progress on Chiral Recognition Techniques

KONG Yong¹, ZHAO Qianqian¹, YANG Jiapei¹, YIN Zhengzhi², WU Datong¹, TAO Yongxin¹

(1. School of Petrochemical Engineering, Changzhou University, Changzhou 213164, China;
2. College of Biological, Chemical Sciences and Engineering, Jiaxing University, Jiaxing 314001, China)

Abstract: Chirality is ubiquitous in nature. Enantiomers have highly similar physicochemical properties, however, enantiomers especially chiral drugs behave rather differently in physiological activity. Therefore, it is of significant importance in analytical chemistry and life sciences for the chiral recognition of enantiomers. Although more and more attention has been paid to the development of chiral recognition techniques in recent years, it is still an important and challenging task to develop novel chiral recognition technologies which is rapid, sensitive and simple to operate. In this paper, we first reviewed the widely accepted three mechanisms of chiral recognition, and then summarized some common chiral recognition techniques including those reported by our group and outlined the advantages and limits of these known chiral recognition techniques, which is important for further development of high-efficient chiral recognition techniques.

收稿日期: 2020-08-02。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21775013); 浙江省自然科学基金资助项目(LY18B050005)。

作者简介: 孔泳(1976—), 男, 江苏泰州人, 博士, 教授。E-mail: yzkongyong@cczu.edu.cn

引用本文: 孔泳, 赵倩倩, 杨嘉佩, 等. 手性识别技术研究进展[J]. 常州大学学报(自然科学版), 2021, 33(2): 24-

Key words: chirality; enantiomers; chiral recognition mechanisms; chiral recognition techniques

手性即不对称性,如同左右手的关系,互为镜像但无法叠合在一起。作为自然界的本质特征,小到手性分子、DNA 螺旋结构,大到植物蔓藤的攀爬特点、大气气旋的方向乃至整个宇宙空间,手性现象在自然界中无处不在,体现了大自然的复杂性和特殊性。

手性识别在医药、食品、农业、材料、化学等领域都具有重要的作用。例如,在医药领域中,许多药物都具有手性,然而不同构型的药物对映体的药效往往存在着较大的差异,一种对映体对疾病的治疗是有效的,但另一种可能不仅没有任何的疗效,甚至还对机体起副作用;在食品领域中,食物中的手性组分与人体中的多种手性物质如酶、蛋白质、肽等可能存在着多种相互作用,不同的手性对映体会以不同的方式产生相互作用,从而在色泽、口感等方面表现出不同的性质;在农业领域中,以杀菌剂为例,对于康唑类杀真菌剂,烯唑醇和烯效唑的 *R*-对映体显示出比其 *S*-对映体更强的杀真菌活性,而 *S*-对映体则能够更好地促进植物的生长;在材料领域中,对手性材料的特殊性质进行分析,可以设计和制备出新型的功能性手性材料;而在化学领域中,许多研究者们致力于合成手性专一的产物,从零维的手性量子点到三维的空间不对称手性分子,都离不开手性识别这一主题。上述在多个领域中的实例充分说明发展简单、快速、有效的手性识别技术具有极其重要的意义。目前,常用的手性识别技术主要包括色谱法、光谱法、质谱法以及传感器法等。本文首先对普遍认可的3种手性识别机理进行了介绍,接着综述了多种手性识别技术的研究进展,最后对手性识别这一领域的发展进行了展望。

1 手性识别机理

不同的手性识别材料对手性对映体通常具有不同的识别效果,这是由于手性识别材料与对映体之间会产生不同的相互作用。目前,被广泛认可的手性识别材料与对映体之间的作用机理大致可以分为3类:①手性配体交换^[1-3];②超分子作用^[4-7];③分子印迹^[8-10]。手性配体交换的基本原理是基于金属离子、配体、手性对映体3者之间会形成具有结构稳定性差异的三元金属配合物。例如 CHEN 等^[1]以 Cu^{2+} 为金属离子,采用 *L*-半胱氨酸(*L*-Cys)自组装金电极识别色氨酸(Trp)对映体。使用密度泛函理论进行分子模拟(图1),结果表明 $[(\text{L-Cys})\text{Cu}(\text{II})(\text{D-Trp})]$ 和 $[(\text{L-Cys})\text{Cu}(\text{II})(\text{L-Trp})]$ 配合物之间的能量差为33.09 kJ/mol。由于 $[(\text{L-Cys})\text{Cu}(\text{II})(\text{D-Trp})]$ 具有较低的能量, Cu^{2+} 和 *L*-Cys 能够与 *D*-Trp 形成更加稳定的配合物,从而实现对 Trp 对映体的有效识别。超分子作用是利用手性识别材料与对映体之间产生不同的超分子作用力来进行手性识别,本课题组制备了一种基于马铃薯淀粉/聚-*L*-谷氨酸的复合材料^[5],该复合材料能够与 *D*-Trp 形成更加稳定的分子间氢键,从而实现对 Trp 对映体的识别。课题组还构建了一种基于苯丙氨酸二肽(FF)和草酸(OA)的手性平台^[7],FF

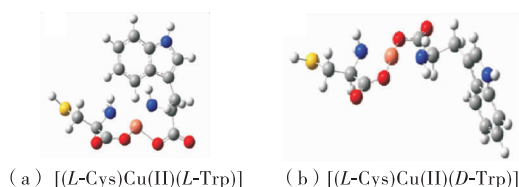


图1 杂化密度泛函理论优化复合物的空间构型

Fig.1 The geometries optimized by the hybrid density functional theory method

提供了手性位点,而 OA 的诱导作用则可成功破坏 FF 的分子间固有氢键,使其暴露出更多的手性位点,从而更加有利于与手性对映体通过超分子作用进行结合。分子印迹机理的原理是先将模板分子结合到聚合物内,待模板分子脱除后,聚合物基质中将会留下与模板分子在三维空间上完全匹配的空腔,从而对类似构型的目标分子进行识别。本课题组将 *L*-Cys 作为模板分子,通过强共价 Au—S 键将其结合在二氧化硅/金纳米粒子($\text{SiO}_2/\text{AuNPs}$)复合材料上,再在掺杂 *L*-Cys 的 $\text{SiO}_2/\text{AuNPs}$ 的表面包覆一层 SiO_2 ,经高温煅烧脱除 *L*-Cys 模板分子,得到类似“三明治”结构的分子印迹 $\text{SiO}_2/\text{AuNPs}/\text{SiO}_2$ 复合

材料(图 2),对 Cys 异构体具有较好的识别效果^[9]。

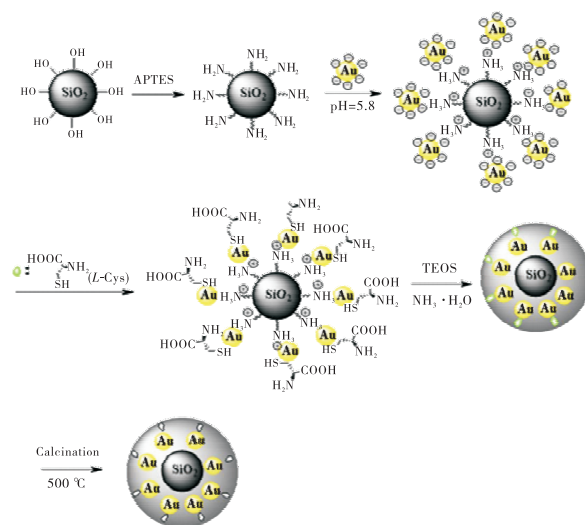


图 2 分子印迹 $\text{SiO}_2/\text{AuNPs}/\text{SiO}_2$ 复合材料制备示意图

Fig.2 Schematic showing the preparation of imprinted $\text{SiO}_2/\text{AuNPs}/\text{SiO}_2$ composites

2 手性识别技术

2.1 色谱法

色谱法是发展较早的一类手性分析方法,采用色谱法进行手性分离需要将手性试剂与对映体结合从而转换成具有理化性质差异的非对映异构体,利用非对映异构体具有不同的保留时间而实现手性分离。使用保留因子(k)、选择因子(α)、分离因子(R_s)等参数可以对色谱的手性识别能力进行评估^[11]。此外,可以根据对映异构体的峰面积比值计算对映体过量(计算式为 $([L] - [D]) / ([L] + [D])$)。图 3 是分离对映异构体的典型色谱图,KUANG 等^[12]将三维手性金属有机框架用作高效液相色谱的固定相,己烷/异丙醇作为流动相,在 25 °C 时,以 1 mL/min 的流速进行分离,其中(−)-布洛芬先被分离出来,然后(+)-布洛芬仅在 6 min 之内即可达到较高的选择因子($\alpha = 2.4$)和分离因子($R_s = 4.1$)。常见的手性色谱分离包括高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱法(GC)、毛细管电泳法(CE)及超临界流体色谱法(SFC)等。

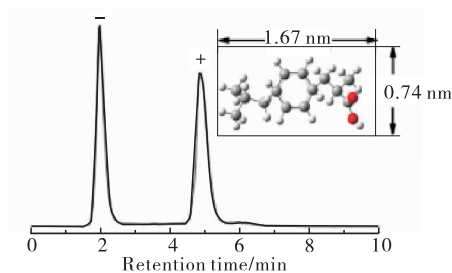


图 3 HPLC 分离±-布洛芬

Fig.3 Schematic diagram of separation of \pm -ibuprofen by HPLC

2.1.1 高效液相色谱法

HPLC 用于手性测试领域具有较高的分离性能和灵敏度,主要分为手性固定相法、手性流动相添加法、柱前衍生化法。

1) 手性固定相法

手性固定相法在手性对映体分离中应用较为广泛,将手性试剂通过化学反应或直接涂覆到固定相上即得到具有手性的固定相,利用手性固定相能够与对映体间产生不同的相互作用来实现分离。HPLC 经常使用到的手性固定相包括“Pirkle”型^[13-15],“Pirkle”型手性固定相是 20 世纪 80 年代由

PIRKLE 小组研究提出的,由末端含有一 NH_2 的键合硅胶与含一 COOH ,一 $\text{N}=\text{C}=\text{O}$ 等基团的手性试剂发生缩合反应制得。基于多糖及其衍生物^[16-18]的手性固定相一直受到研究者的广泛青睐,虽然天然多糖能够识别对映异构体,但是其识别能力不足以用作 HPLC 的手性固定相,所以通常将其进行衍生化提高它的手性拆分能力。蛋白质类^[19-20]表面上有较多的手性位点,能够与分析物之间发生多重相互作用,因此基于蛋白质型的手性固定相通常具有较高的分离效率。环糊精及其衍生物^[21-23]具有独特的空腔结构,可以对客体小分子进行包结,空腔外壁上大量的一 OH 可以与多数手性异构体发生氢键作用从而实现手性识别。此外还有冠醚类^[24-25]、手性聚合物类^[26-27]、大环抗生素类^[28-30]等。手性固定相法具有较大的特异性,固定相的种类会对对映体的分离度产生较大的影响,因此,开发新型手性固定相,从而解决不同类型手性对映体的拆分具有重大的意义。

2) 手性流动相添加法

手性流动相添加法是将手性试剂溶解到 HPLC 的流动相中,而固定相是非手性的。环糊精类手性流动相添加剂^[31-33]由于价廉易得,应用最为广泛。HU 等^[33]将羧甲基- β -环糊精添加到流动相甲醇和 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液的混合物中,有效地分离了 8 个手性茚满酮和四氢萘酮衍生物,还深入讨论了柱温对对映体分离的影响,通过热力学数据的计算推断出对映体分离的推动力主要来源于疏水作用和氢键作用。

3) 柱前衍生化法

柱前衍生化法顾名思义指在柱前对对映体进行衍生化,形成非对映异构体后,再利用 HPLC 进行分离。这种方法对手性试剂和衍生化条件要求较高,因此难以实现。

2.1.2 气相色谱法

GC 是分析稳定性高、易挥发手性化合物的一种常见方法,已被广泛应用于手性分离^[34-39]。近年来,手性多孔材料如金属-有机框架(MOFs)、分子笼等逐渐被用作 GC 的手性固定相。由于手性多孔材料具有较大的体积,会产生较强的扩散阻力,影响分离效果,因此一般不采用填充柱,而选取柱效较高的毛细管柱。XIE 等^[39]将手性大环配体与 Zn^{2+} 自组装合成了手性金属-有机笼,并将其涂渍在 GC 的毛细管柱上,对醇、二醇、环氧化物、醚、卤代烃和酯等各种外消旋物实现了很好的拆分。

2.1.3 毛细管电泳法

CE^[40-45]法利用电场力的作用实现手性分离,具有分离效能高、成本低、操作简单等优点。JIANG 等^[44]将以 Cu^{2+} 为中心离子,手性氨基酰胺离子液体为配体的手性试剂通过虹吸添加到石英毛细管柱中,并以 +16 kV 的电压进行分离,建了一种手性配体交换的 CE 技术。手性对映体与手性试剂会形成热力学稳定性不同的三元配合物,在电场力的驱动下,这些三元配合物的移动速度会产生差异,从而能够对氨基酸对映体实现分离。HONG 等^[42]采用席夫碱法^[46],将牛血清白蛋白修饰在亲和型毛细管电泳的硅胶整体柱上,对色氨酸和部分药物对映体实现了基线分离。

2.1.4 超临界流体色谱法

SFC 流动相为超临界流体,一般以超临界 CO_2 为主,从这个角度来看,SFC 具有分离量大、分离速度快、绿色环保等优点^[47]。SEGAWA 等^[48]将基于纤维素的手性固定相用于分离甲基苯丙胺(MA)对映体,此外,还分别采用了 SFC,GC 对含有 R-MA 的样品进行了测定,结果非常吻合,说明了手性 SFC 的准确性。WEST 等^[49]采用 SFC 法,将多个基于多糖的手性试剂作为手性固定相, CO_2 - CH_3OH 作为流动相,对多种手性亚砷化合物进行手性检测,其中以氯代纤维素的识别效果最佳。

色谱法既能对对映体进行检测还能够实现有效分离,灵敏度较高,但是设备较为昂贵,分离成本总体较高。

2.2 光谱法

光谱法用于手性识别主要包括圆二色光谱法(CD),核磁共振光谱法(NMR),紫外-可见光谱法(UV-Vis)等,近年来得到了较快发展。

2.2.1 圆二色光谱法

手性物质对不同方向上的圆偏振光的吸收存在差异的现象被称为圆二色性。将吸收系数之差对波长作图就可以得到 CD 图,CD 不仅能够获取手性分子三维空间构型的相关信息,超分子骨架的扭曲、螺旋结构等周期性结构也能在 CD 上得到反馈。曹石等^[50]对不同构型的手性席夫碱金属络合物进行了 CD 法的测试,如图 4 所示,*R*-构型的席夫碱金属络合物在短波长呈现出正的 Cotton 效应,而 *S*-构型的席夫碱金属络合物在短波长呈现出较负的 Cotton 效应。本课题组通过 CD 对过氧化聚吡咯和(+)-樟脑磺酸进行了表征,发现掺杂了(+)-樟脑磺酸的过氧化聚吡咯的圆二色性明显增强,说明了制备的材料具有典型的手性结构^[51]。BENTLEY 等^[52]将联苯酚与金属络合,采用 CD 法能够对氨基酸、氨基醇、 α -羟基酸等手性物质进行检测和识别。LYNCH 等^[53]利用带有氨基酸或胺配体的 Fe 或 Cu 配合物的化学计量比和结构会随溶剂条件的不同而改变这一现象,绘制了对映体组成和椭圆率之间的标准曲线。将 FeCl_3 和 CuCl_2 分别与酒石酸、顺式氨基茛满醇对映体混合搅拌 1 h,然后进行 CD 分析,不需要使用发色配体就可以对对映体进行定量分析。

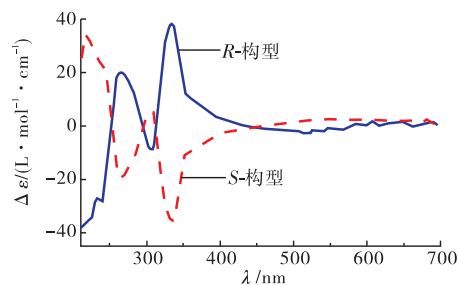


图 4 席夫碱金属络合物对映体的 CD 图

Fig.4 CD spectra of enantiomers of Schiff base metal complexes

2.2.2 核磁共振光谱法

NMR 主要通过手性试剂分别与对映异构体之间形成非对映异构体,依据非对映异构体在 NMR 上化学位移或峰面积会发生改变这一现象来进行手性识别。BOMBELLI 等^[54]采用了 NMR 研究了 N-十二烷基-L-脯氨酸钠形成的手性胶束对二肽的识别效果,还进一步探讨了手性胶束与二肽对映体之间相互作用的差异。DODZIUK 等^[55]采用 NMR 识别环糊精及环糊精复合物的对映体,不仅可以确定所研究的主-客体复合物的化学计量比和它们的结合常数,而且可以确定主体材料中氢原子之间的空间关系。WU 等^[56]利用 NMR 探讨了亲水性离子液体与苯丙氨酸(Phe)对映体之间的相互作用,结果表明 *D*-Phe 与离子液体结合后其发生了化学位移(图 5),造成这种化学位移的原因是 *D*-Phe 与离子液体分子间相互作用的不同影响了一CH—基团和一CH₂—基团的迁移。CHEN 等^[57]将手性双核 μ -羟基钡配合物(BPHP)用作 NMR 识别氨基醇、氨基酰胺、氨基酸、扁桃酸、二醇、二胺和单胺,利用 BPHP 中具有较强碱性的桥梁—OH 能够与上述手性对映体的酸性质子反应脱去 H₂O,失去质子带负电的手性对映体会与钡形成稳定性不同的手性单钡配合物,最终获得的不同构型对映异构体化学位移具有较大的差异。

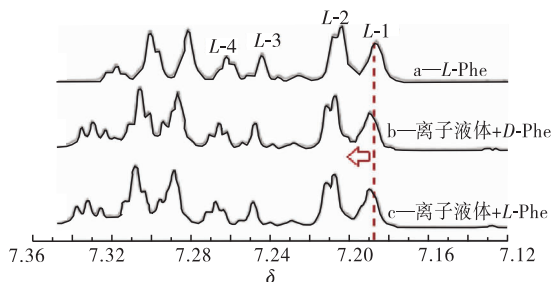


图 5 不同材料在 D₂O 溶液中的部分 ¹H NMR 谱

Fig.5 Partial ¹H NMR spectra of different materials in D₂O solution

2.2.3 紫外-可见光谱法

UV-Vis 通常被作为一个辅助手段来研究手性材料对对映体的识别^[58-60]。本课题组通过酰胺化反应制备了羧甲基纤维素-壳聚糖(CMC-CS)复合材料^[58],并采用 UV-Vis 技术对该复合材料与 Trp 对映体之间的作用进行了表征。从图 6 中可以看出 Trp 对映体分别与复合材料结合后其特征峰吸收强度发生了不同的变化,*D*-Trp 与复合材料结合后,溶液中剩余 *D*-Trp 的紫外吸收强度大幅度降低,说明该复合材料能够更好地与 *D*-Trp 结合。WU 等^[59]将基于 *S*-苯基氨基酸衍生物的手性离子液体用于可视化识别多种对映异构体,采用 UV-Vis 进一步分析了在 Trp 对映体识别过程中颜色的变化。 Cu^{2+} 和离子液体在 805 nm 处会出现一个较弱的吸收峰,推测是由于 Cu^{2+} 与离子液体产生了一个较弱的配位作用。当加入 *D*-Trp 时,805 nm 处的吸收峰明显增强,而当加入 *L*-Trp 后,805 nm 处的峰会消失,在 610 nm 处会出现新的吸收峰。结果表明,底物能够与 *L*-Trp 通过共价键结合

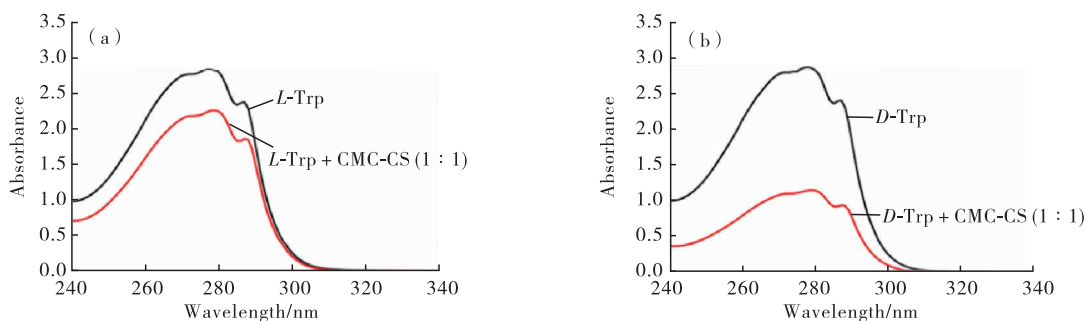


图 6 0.5 mmol/L *L*-Trp, *D*-Trp 与 2 mg/mL CMC-CS 相互作用前后的紫外吸收光谱

Fig.6 UV spectra of 0.5 mmol/L *L*-Trp and *D*-Trp before and after their inclusion complexation with 2 mg/mL CMC-CS

2.3 质谱法

质谱(MS)虽然广泛运用在各个领域,但由于受到传统的 MS 电离方式的限制,很少被用于手性对映体的识别,自 1977 年 MS 法被成功应用于手性识别二烷基酒石酸盐异构体以来,MS 法在手性识别领域才受到了越来越多的关注^[61-65]。GARCIA 等^[61]使用对映体标记法,采用电喷雾质谱对缩醛聚醚的手性识别性能进行了研究。CHENG 等^[62]通过加入 α -和 β -环糊精,构建了一个手性环境,并采用电喷雾质谱,有效地识别了多种氨基酸对映体。WANG 等^[64]合成了一对苯基醛探针(1-(*S*)-¹H 和氘代标记的 2-(*R*)-²D),以 1:1 的比例与氨基酸发生缩合反应生成一对亚胺异构体,由于具有立体动力学选择性,异构体的出峰位置会出现差异,如图 7 所示。在 MS 中可以观察到不同构型异构体的特征峰强度具有较大的差异,可以得出结论:*L*-Phe 更容易和探针 1-(*S*)-¹H 反应;*D*-Phe 更容易和探针 2-(*R*)-²D 反应。由于 MS 可以对微量样品进行分析,因此在手性领域具有广泛的应用前景。

2.4 传感器法

传感器法利用手性材料与对映体相互作用后会发生部分理化性质的改变,这些变化能够按一定规律转变为光信号、电信号等信息输出,常见的手性传感器包括光学传感器、质量传感器和电化学手性传感器。

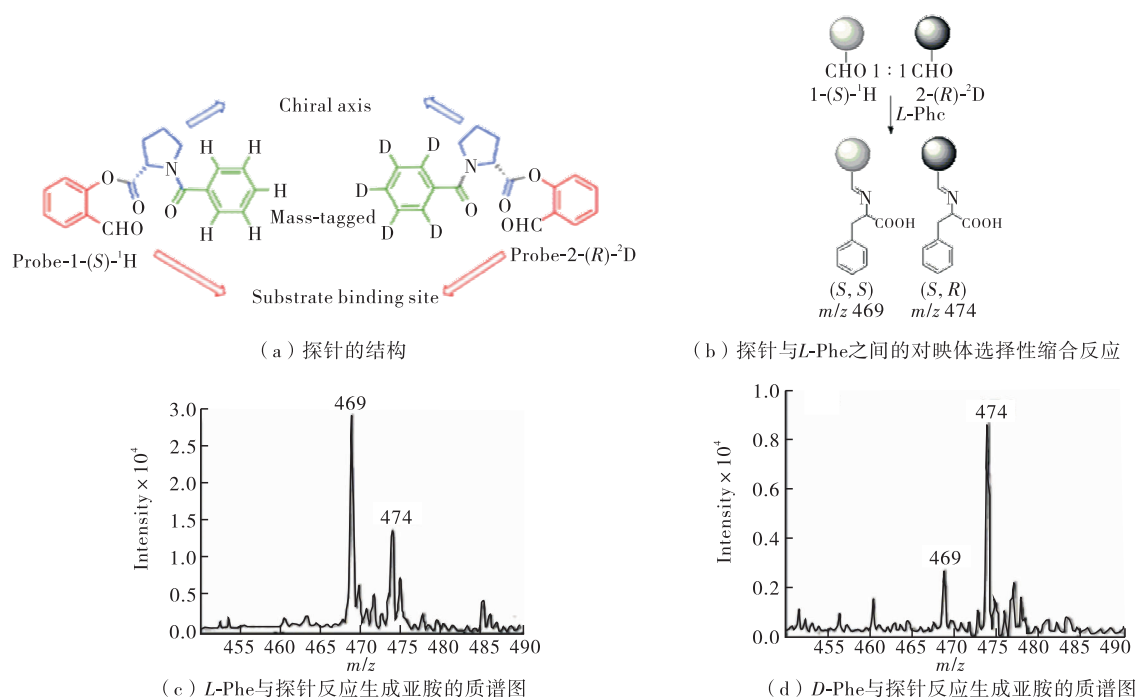


图7 手性苄基醛探针通过质谱法识别氨基酸对映体

Fig.7 Identification of amino acid enantiomers with chiral benzylaldehyde probe by mass spectrometry

2.4.1 光学传感器

荧光传感器是光学传感器中最为常见的一种,具有较高的选择性并且可以进行实时分析。荧光传感器利用手性试剂与对映体之间能够产生不同的相互作用,从而使手性试剂的荧光强度发生改变^[66-71]。四苯乙炔是常见的荧光载体,ZHANG等^[66]将1,2-环己二胺、四苯乙炔及硫脲相结合制备了具有手性的光学传感器,能够较好地识别酸性手性对映体。本课题组将新型的具有荧光手性的聚离子液体用作荧光传感器,用于测定Phe和Trp的浓度,当使用该荧光传感器处理不同构型的外消旋物时,表现出了不同的荧光强度,有助于快速进行对映体的识别^[68]。已有团队^[69-71]报道了手性荧光探针分子(S)-1,(S,S)-2,(S,S)-3在Zn²⁺的存在下,能够对氨基酸等手性对映体产生不同的荧光响应(图8)。

2.4.2 质量传感器

石英晶体微天平(QCM)是一种常见的手性质量传感器,利用电极表面质量发生变化时会引起石英晶体的振动频率发生改变这一原理,可以把手性试剂修饰在电极上,利用手性试剂与对映体之间不同的相互作用会造成质量差异这一性质,从而在测定手性化合物的纯度同时也能够实现手性对映体的识别^[72-74],这一方法具有较高的选择性和灵敏度。本课题组以L-Trp作为模板分子,采用电沉积的方法合成了聚吡咯(PPy),并进一步过氧化除去模板分子得到L-Trp印迹的过氧化聚吡咯(OPPy)膜^[72]。在这项研究中,采用了QCM技术来表征OPPy对Trp对映体的富集。如图9所示,当加入L-Trp时,

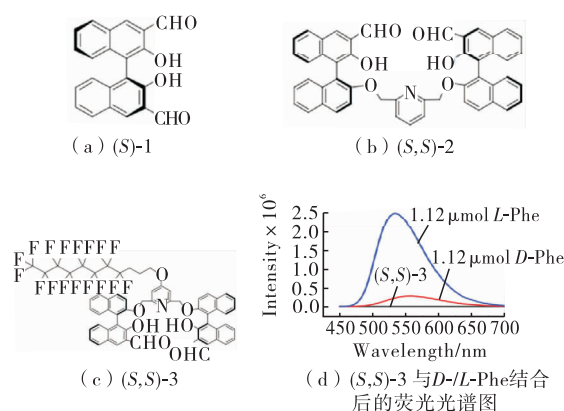


图8 手性荧光探针分子及其在荧光手性识别中的运用

Fig.8 Chiral fluorescent probe molecules and its application in fluorescence chiral recognition

QCM 中晶体的频率下降较快,而加入 *D*-Trp 时频率几乎没有变化,进一步证明了 *L*-Trp 印迹的 OPPy 可以用来有效识别 Trp 对映体。SU 等^[73] 将人血清蛋白、牛血清蛋白作为手性试剂,分别修饰在石英晶片上,在线监测了血清蛋白与5种对映异构体分子之间的相互作用。

2.4.3 电化学传感器

近年来,将电化学传感器与手性识别相结合是一大研究热点^[75],主要利用传感器能与对映异构体之间产生不同的电化学响应信号来进行手性识别,不仅操作简单、成本较低而且可以进行实时检测。根据电化学响应信号的不同,可以将电化学传感器分为以下3类。

1) 电位型手性传感器

将手性识别材料与对映体作用后,吉布斯自由能会发生改变,进而改变电位。电位型手性传感器^[76-79]主要利用传感器与对映体间产生不同的电位信号进行手性识别,通常使用差分脉冲伏安法(DPV)、循环伏安法(CV)等电化学方法来实现。NIE 等^[77]将 Cys 修饰在玻碳电极(GCE)表面制备了电化学手性传感器,分别在含有 *L*-和 *D*-酪氨酸(Tyr)的溶液中进行测试。从 DPV 图中可观察到 *L*-和 *D*-Tyr 具有不同的氧化峰电位(E_p),实现了对 Tyr 的有效识别(图 10)。本课题组采用电沉积的方法制备了具有立体选择性的石墨烯量子点(GQDs)-壳聚糖(CS)复合膜^[78],采用 DPV 对 Trp 对映体进行测试,Trp 对映体的氧化峰电位存在较大的差值($E_{D-Trp}/E_{L-Trp} = 80 \text{ mV}$)。

2) 电流型手性传感器

手性识别材料与对映体发生作用后,修饰电极表面电子传输速率也会发生改变,电流型手性传感器是利用电流响应的不同来实现识别的^[79-83]。电流型手性传感器的运用相对较为广泛,本课题组采用 CV 法在 GCE 表面沉积了聚 *L*-谷氨酸(*L*-Glu),将 β -CD 与 *L*-Glu 通过氢键作用进行组装得到修饰电极^[79],分别置于 Trp 对映体溶液中进行 DPV 测试,不同对映体的氧化峰电流有明显的差异($I_{L-Trp}/I_{D-Trp} = 2.30$)。还采用电化学法制备分子印迹 OPPy-AuNPs 修饰电极^[80],利用 CV 研究3种不同的修饰电极对于 Cys 对映体的电化学识别。从 CV 图可观察到将分子印迹 OPPy-AuNPs 修饰在 GCE 上, *L*-(a 线)和 *D*-Cys(b 线)峰电流比最大,可实现对 Cys 对映体的有效识别(图 11)。最近课题组通过酰胺化反应制备了牛血清白蛋白(BSA)和 GQDs 的复合物^[83],用于构建电化学手性传感平台,酰胺键的形成扩展了 BSA 的三维空间结构,使其暴露出更多的手性位点,采用 DPV 法,通过峰电流差异对 Trp 对映体进行了有效识别。

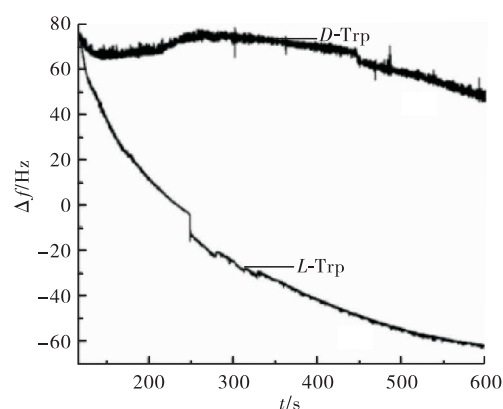


图9 QCM 频率与加入 2 mmol/L 的 *L*-Trp 和 *D*-Trp 时间变化关系曲线

Fig.9 Frequency changes of QCM with the addition of 2 mmol/L *L*-Trp and *D*-Trp

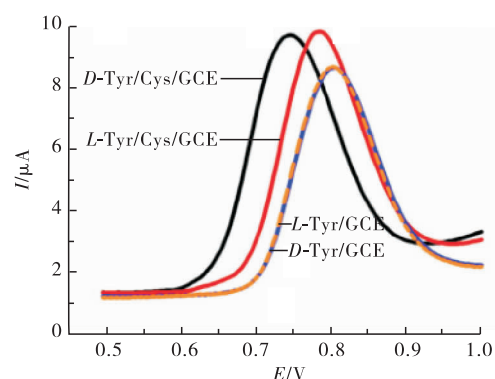


图 10 不同材料的 DPV 图

Fig.10 DPV of different materials

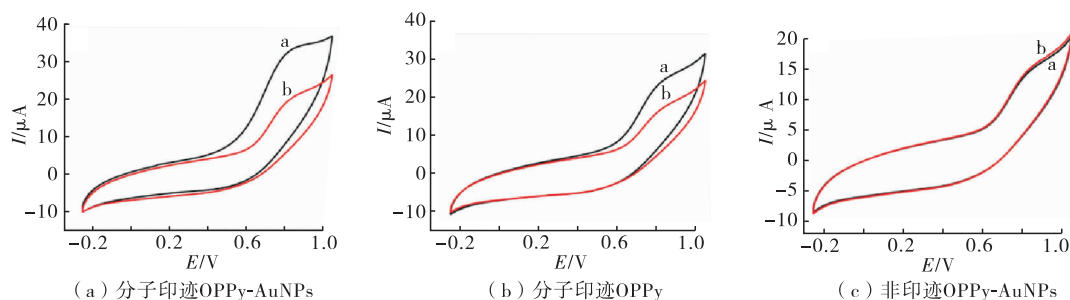


图 11 半胱氨酸对映体与不同修饰电极结合后的 CV 图

Fig.11 CV of Cys enantiomers rebound to different modified electrodes

3) 电阻型手性传感器

电阻型手性传感器是材料与手性对映体之间产生作用后,利用电荷转移电阻的差异来进行手性识别的^[2,84-86]。电阻型手性传感器的研究并不多,LEWIS 小组^[84]证明可以根据炭黑-聚合物复合探测器电阻响应的差异来识别气相中的对映体。HUANG 等^[85]利用电化学交流阻抗技术,实现了基于纳米结构的复合物对赖氨酸(Lys)对映体的选择性识别。由于纳米复合材料与 Lys 对映体之间存在着不同的相互作用,Lys 对映体在 $\text{pH} = 7.0$ 时带正电,*D*-Lys 更容易结合到纳米复合材料表面,所以修饰电极上可以存在更多的正电荷,从而使电子转移电阻更小,实现 Lys 对映体的识别。

3 结 论

手性识别这一研究领域,具有较好的发展前景,目前研究者们已经综合运用了各项技术来进行手性识别,而这些识别技术的关键是找到合适的手性识别材料,因此今后的研究方向可以集中在提高手性识别材料性能上,包括以下两方面:①提高手性材料的稳定性;②扩大手性材料的识别范围。手性识别材料对手性对映体的识别往往具有很大的特异性,是否可以通过一些手段(如改性、修饰等)使其能够识别不同类型的手性化合物,提高实用性将成为研究重点。

参考文献:

- [1]CHEN Q, ZHOU J, HAN Q, et al. Electrochemical enantioselective recognition of tryptophane enantiomers based on chiral ligand exchange[J]. Colloids Surf B, 2012, 92: 130-135.
- [2]BAO L P, DAI J Y, YANG L, et al. Electrochemical recognition of tyrosine enantiomers based on chiral ligand exchange with sodium alginate as the chiral selector[J]. J Electrochem Soc, 2015, 162(7): H486-H491.
- [3]WANG F, GONG W C, WANG L L, et al. Selective recognition of *D*-tryptophan from *D/L*-tryptophan mixtures in the presence of Cu(II) by electropolymerized *L*-lysine film[J]. Anal Biochem, 2016, 492: 30-33.
- [4]TAO Y X, GU X G, DENG L H, et al. Chiral recognition of *D*-tryptophan by confining high-energy water molecules inside the cavity of copper-modified β -cyclodextrin[J]. J Phys Chem C, 2015, 119(15): 8183-8190.
- [5]BAO L P, TAO Y X, GU X G, et al. Potato starch as a highly enantioselective system for temperature-dependent electrochemical recognition of tryptophan isomers[J]. Electrochem Commun, 2016, 64: 21-25.
- [6]TAO Y X, GU X G, YANG B Z, et al. Electrochemical enantioselective recognition in a highly ordered self-assembly framework[J]. Anal Chem, 2017, 89(3): 1900-1906.
- [7]GUO L L, YANG B Z, WU D T, et al. Chiral sensing platform based on the self-assemblies of diphenylalanine and oxalic acid[J]. Anal Chem, 2018, 90(8): 5451-5458.
- [8]KONG Y, NI J H, WANG W C, et al. Enantioselective recognition of amino acids based on molecularly imprinted

- polyaniline electrode column[J]. *Electrochim Acta*, 2011, 56(11): 4070-4074.
- [9]ZHANG J, TAN W S, TAO Y X, et al. A novel electrochemical chiral interface based on sandwich-structured molecularly imprinted $\text{SiO}_2/\text{AuNPs}/\text{SiO}_2$ for enantioselective recognition of cysteine isomers[J]. *Electrochem Commun*, 2018, 86: 57-62.
- [10]ZHAO Q Q, YANG J P, ZHANG J, et al. Single-template molecularly imprinted chiral sensor for simultaneous recognition of alanine and tyrosine enantiomers[J]. *Anal Chem*, 2019, 91(19): 12546-12552.
- [11]OKAMOTO Y, IKAI T. Chiral HPLC for efficient resolution of enantiomers[J]. *Chem Soc Rev*, 2008, 37(12): 2593-2608.
- [12]KUANG X, MA Y, SU H, et al. High-performance liquid chromatographic enantioseparation of racemic drugs based on homochiral metal-organic framework[J]. *Anal Chem*, 2014, 86(2): 1277-1281.
- [13]PIRKLE W H, HYUN M H, TSIPOURAS A, et al. A rational approach to the design of highly effective chiral stationary phases for the liquid chromatographic separation of enantiomers[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 1984, 2(2): 173-181.
- [14]HAN H K, HONG J H, CAREY J R, et al. Chiral recognition using a conformationally rigid chiral stationary phase derived from α -amino- ϵ -carprolactam[J]. *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 2014, 37(19): 2725-2732.
- [15]YU J, RYOO D H, LEE J M, et al. Synthesis and application of C_2 and C_3 symmetric (*R*)-phenylglycinol derived chiral stationary phases[J]. *Chirality*, 2016, 28(3): 186-191.
- [16]IKAI T, YAMAMOTO C, KAMIGAITO M, et al. Immobilized polysaccharide-based chiral stationary phases for HPLC[J]. *Polym J*, 2006, 38(2): 91-108.
- [17]CHANKVETADZE B. Recent developments on polysaccharide-based chiral stationary phases for liquid-phase separation of enantiomers[J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1269: 26-51.
- [18]BEZHITASHVILI L, BARDAVELIDZE A, ORDJONIKIDZE T, et al. Effect of pore-size optimization on the performance of polysaccharide-based superficially porous chiral stationary phases for the separation of enantiomers in high-performance liquid chromatography[J]. *J Chromatogr A*, 2017, 1482: 32-38.
- [19]ALLENMARK S, BOMGREN B, BOREN H. Direct liquid chromatographic separation of enantiomers on immobilized protein stationary phases: III. optical resolution of a series of *N*-aroyl *D*, *L*-amino acids by high-performance liquid chromatography on bovine serum albumin covalently bound to silica[J]. *J Chromatogr A*, 1983, 264: 63-68.
- [20]PFAUNMILLER E L, HARTMANN M, DUPPER C M, et al. Optimization of human serum albumin monoliths for chiral separations and high-performance affinity chromatography[J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1269: 198-207.
- [21]HE L, BEESLEY T E. Applications of enantiomeric gas chromatography: a review[J]. *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 2005, 28(7/8): 1075-1114.
- [22]ZHOU J, PEI W J, ZHENG X X, et al. Preparation and enantioseparation characteristics of a novel β -cyclodextrin derivative chiral stationary phase in high-performance liquid chromatography[J]. *J Chromatogr Sci*, 2014, 53(5): 676-679.
- [23]ZHOU J, YANG B, TANG J, et al. A cationic cyclodextrin clicked bilayer chiral stationary phase for versatile chiral separation in HPLC[J]. *New J Chem*, 2018, 42(5): 3526-3533.
- [24]DOTSEVI G, SOGAH Y, CRAM D J. Chromatographic optical resolution through chiral complexation of amino ester salts by a host covalently bound to silica gel[J]. *J Am Chem Soc*, 1975, 97(5): 1259-1261.
- [25]HYUN M H. Liquid chromatographic enantioseparations on crown ether-based chiral stationary phases[J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1467: 19-32.
- [26]HROBONOVA K, LOMENOVA A. Molecularly imprinted polymer as stationary phase for HPLC separation of phenylalanine enantiomers[J]. *Monatsh Chem*, 2018, 149(5): 939-946.
- [27]SHEN H F, DU G H, LIU K Y, et al. Synthesis and evaluation of pseudopeptide chiral stationary phases for enantioselective resolution[J]. *J Chromatogr A*, 2017, 1521: 53-62.

- [28] ARMSTRONG D W, TANG Y, CHEN S, et al. Macrocyclic antibiotics as a new class of chiral selectors for liquid chromatography[J]. *Anal Chem*, 1994, 66(9): 1473-1484.
- [29] HEFNAWY M M, ASIRI Y A, AL-ZOMAN N Z, et al. Stereoselective HPLC analysis of tertatolol in rat plasma using macrocyclic antibiotic chiral stationary phase[J]. *Chirality*, 2011, 23(4): 333-338.
- [30] ILISZ I, BERKECZ R, PETER A. HPLC separation of amino acid enantiomers and small peptides on macrocyclic antibiotic-based chiral stationary phases: a review[J]. *J Sep Sci*, 2006, 29(10): 1305-1321.
- [31] 张虎, 沈芒芒, 童胜强, 等. 高效液相色谱手性流动相添加法拆分阿卓乳酸对映体[J]. *色谱*, 2014, 32(6): 612-615.
- [32] TONG S Q, ZHANG H, SHEN M M, et al. Enantioseparation of mandelic acid derivatives by high performance liquid chromatography with substituted β -cyclodextrin as chiral mobile phase additive and evaluation of inclusion complex formation[J]. *J Chromatogr B*, 2014, 962: 44-51.
- [33] HU X Y, GUO X, SUN S, et al. Enantioseparation of nine indanone and tetralone derivatives by HPLC using carboxymethyl- β -cyclodextrin as the mobile phase additive[J]. *Chirality*, 2017, 29(1): 38-47.
- [34] 陶国忠, 郭耘, 卢冠忠, 等. 乳酸乙酯对映体和丙酮酸乙酯混合物的气相色谱分析[J]. *分析化学*, 2007, 35(3): 447-450.
- [35] CHEN L J, REISS P S, CHONG S Y, et al. Separation of rare gases and chiral molecules by selective binding in porous organic cages[J]. *Nat Mater*, 2014, 13(10): 954-960.
- [36] DONG J Q, LIU Y, CUI Y. Chiral porous organic frameworks for asymmetric heterogeneous catalysis and gas chromatographic separation[J]. *Chem Commun*, 2014, 50(95): 14949-14952.
- [37] ZHANG J H, XIE S M, CHEN L, et al. Homochiral porous organic cage with high selectivity for the separation of racemates in gas chromatography[J]. *Anal Chem*, 2015, 87(15): 7817-7824.
- [38] ZHENG D D, WANG L, YANG T, et al. A porous metal-organic framework $[\text{Zn}_2(\text{bdc})(L\text{-lac})]$ as a coating material for capillary columns of gas chromatography[J]. *Inorg Chem*, 2017, 56(18): 11043-11049.
- [39] XIE S M, FU N, LI L, et al. Homochiral metal-organic cage for gas chromatographic separations[J]. *Anal Chem*, 2018, 90(15): 9182-9188.
- [40] LU J Y, YE F G, ZHANG A Z, et al. Preparation and characterization of silica monolith modified with bovine serum albumin-gold nanoparticles conjugates and its use as chiral stationary phases for capillary electrochromatography[J]. *J Sep Sci*, 2011, 34(16/17): 2329-2336.
- [41] CONTINO A, MACCARRONE G, REMELLI M. Exploiting thermodynamic data to optimize the enantioseparation of underivatized amino acids in ligand exchange capillary electrophoresis[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2013, 405(2/3): 951-959.
- [42] HONG T T, ZHENG Y, HU W W, et al. Preparation and evaluation of bovine serum albumin immobilized chiral monolithic column for affinity capillary electrochromatography[J]. *Anal Biochem*, 2014, 464: 43-50.
- [43] 袁瑞娟, 王雄飞, 詹雪艳, 等. 磺酸化 β -环糊精聚合物的合成及其在毛细管电泳手性拆分中的应用[J]. *分析化学*, 2013, 41(4): 559-564.
- [44] JIANG J F, MU X Y, QIAO J, et al. New chiral ligand exchange capillary electrophoresis system with chiral amino amide ionic liquids as ligands[J]. *Talanta*, 2017, 175: 451-456.
- [45] ZHANG Q, ZHANG J, XUE S, et al. Enhanced enantioselectivity of native- α -cyclodextrins by the synergy of chiral ionic liquids in capillary electrophoresis[J]. *J Sep Sci*, 2018, 41(24): 4525-4532.
- [46] MALLIK R, JIANG T, HAGE D S. High-performance affinity monolith chromatography: development and evaluation of human serum albumin columns[J]. *Anal Chem*, 2004, 76(23): 7013-7022.
- [47] GERYK R, KALIKOVA K, SCHMID M G, et al. Enantioselective separation of biologically active basic compounds in ultra-performance supercritical fluid chromatography[J]. *Anal Chim Acta*, 2016, 932: 98-105.
- [48] SEGAWA H, IWATA Y T, YAMAMURO T, et al. Enantioseparation of methamphetamine by supercritical fluid

- chromatography with cellulose-based packed column[J]. *Forensic Sci Int*, 2017, 273: 39-44.
- [49] WEST C, KONJARIA M L, SHASHVIASHVILI N, et al. Enantioseparation of novel chiral sulfoxides on chlorinated polysaccharide stationary phases in supercritical fluid chromatography[J]. *J Chromatogr A*, 2017, 1499: 174-182.
- [50] 曹石, 曾丽丽, 谢菁, 等. 席夫碱 Cu(II) 络合物的超分子螺旋手性及其手性光谱[J]. *物理化学学报*, 2017, 33(12): 2480-2490.
- [51] YANG J P, YU Y, WU D T, et al. Coinduction of a chiral microenvironment in polypyrrole by overoxidation and camphorsulfonic acid for electrochemical chirality sensing[J]. *Anal Chem*, 2018, 90(15): 9551-9558.
- [52] BENTLEY K W, NAM Y G, MURPHY J M, et al. Chirality sensing of amines, diamines, amino acids, amino alcohols, and α -hydroxy acids with a single probe[J]. *J Am Chem Soc*, 2013, 135(48): 18052-18055.
- [53] LYNCH C C, ZEUS A, WOLF C. Chiroptical sensing of unprotected amino acids, hydroxy acids, amino alcohols, amines and carboxylic acids with metal salts[J]. *Chem Commun*, 2019, 55(44): 6297-6300.
- [54] BOMBELLI C, BOROCCHI S, LUPI F, et al. Chiral recognition of dipeptides in a biomembrane model[J]. *J Am Chem Soc*, 2004, 126(41): 13354-13362.
- [55] DODZIUK H, KOZMINSKI W, EJCHART A. NMR studies of chiral recognition by cyclodextrins[J]. *Chirality*, 2004, 16(2): 90-105.
- [56] WU D T, ZHOU Y, CAI P F, et al. Specific cooperative effect for the enantiomeric separation of amino acids using aqueous two-phase systems with task-specific ionic liquids[J]. *J Chromatogr A*, 2015, 1395: 65-72.
- [57] CHEN Z X, YANG M X, SUN Z F, et al. Chiral discrimination by a binuclear Pd complex sensor using ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ NMR[J]. *Anal Chem*, 2019, 91(22): 14591-14596.
- [58] BAO L P, CHEN X H, YANG B Z, et al. Construction of electrochemical chiral interfaces with integrated polysaccharides via amidation[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8(33): 21710-21720.
- [59] WU D T, YIN Q H, CAI P F, et al. Enhancement of visual chiral sensing via an anion-binding approach: novel ionic liquids as the chiral selectors[J]. *Anal Chim Acta*, 2017, 962: 97-103.
- [60] WU S S, YIN Z Z, WU D T, et al. Chiral enantioselective assemblies induced from achiral porphyrin by *L*- and *D*-lysine[J]. *Langmuir*, 2019, 35(51): 16761-16769.
- [61] GARCIA C, GUYOT J, JEMINET G, et al. Chiral recognition properties of spiroacetal polyethers using electrospray ionisation mass spectrometry[J]. *Tetrahedron Lett*, 1999, 40(27): 4997-5000.
- [62] CHENG Y, HERCULES D M. Measurement of chiral complexes of cyclodextrins and amino acids by electrospray ionization time of flight mass spectrometry[J]. *J Mass Spectrom*, 2001, 36(7): 834-836.
- [63] WANG L, CHAI Y F, NI Z Q, et al. Qualitative and quantitative analysis of enantiomers by mass spectrometry: application of a simple chiral chloride probe via rapid in-situ reaction[J]. *Anal Chim Acta*, 2014, 809: 104-108.
- [64] WANG L, JIN Z, WANG X Y, et al. Pair of stereodynamic chiral benzylic aldehyde probes for determination of absolute configuration of amino acid residues in peptides by mass spectrometry[J]. *Anal Chem*, 2017, 89(22): 11902-11907.
- [65] YU X Y, YAO Z P. Chiral differentiation of amino acids through binuclear copper bound tetramers by ion mobility mass spectrometry[J]. *Anal Chim Acta*, 2017, 981: 62-70.
- [66] ZHANG X Y, CHEN S X, XU P, et al. Synthesis of new chiral fluorescent sensors and their applications in enantioselective discrimination[J]. *Tetrahedron Lett*, 2017, 58(29): 2850-2855.
- [67] KAWAI M, HOSHI A, NISHIYABU R, et al. Fluorescent chirality recognition by simple boronate ensembles with aggregation-induced emission capability[J]. *Chem Commun*, 2017, 53(73): 10144-10147.
- [68] WU D T, YU Y, ZHANG J, et al. Chiral poly(ionic liquid) with nonconjugated backbone as a fluorescent enantioselective sensor for phenylalaninol and tryptophan[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10(27): 23362-23368.
- [69] HUANG Z, YU S S, WEN K L, et al. Zn(II) promoted dramatic enhancement in the enantioselective fluorescent

- recognition of functional chiral amines by a chiral aldehyde[J]. Chem Sci, 2014, 5(9): 3457-3462.
- [70] ZHU Y Y, WU X D, GU S X, et al. Free amino acid recognition: a bisbinaphthyl-based fluorescent probe with high enantioselectivity[J]. J Am Chem Soc, 2018, 141(1): 175-181.
- [71] ZHU Y Y, WU X D, ABED M, et al. Biphasic enantioselective fluorescent recognition of amino acids by a fluorophilic probe[J]. Chem Eur J, 2019, 25(33): 7866-7873.
- [72] KONG Y, ZHAO W, YAO S P, et al. Molecularly imprinted polypyrrole prepared by electrodeposition for the selective recognition of tryptophan enantiomers[J]. J Appl Polym Sci, 2010, 115(4): 1952-1957.
- [73] SU W C, ZHANG W G, ZHANG S, et al. A novel strategy for rapid real-time chiral discrimination of enantiomers using serum albumin functionalized QCM biosensor[J]. Biosens Bioelectron, 2009, 25(2): 488-492.
- [74] TEMEL F, ERDEMIR S, TABAKCI B, et al. Selective chiral recognition of alanine enantiomers by chiral calix [4] arene coated quartz crystal microbalance sensors[J]. Anal Bioanal Chem, 2019, 411(12): 2675-2685.
- [75] ZHU G B, KINGSFORD O J, YI Y H, et al. Recent advances in electrochemical chiral recognition[J]. J Electrochem Soc, 2019, 166(6): H205-H217.
- [76] MATSUNAGA M, UENO T, NAKANISHI T, et al. Enantioselective potential response of a human serum albumin-modified ITO electrode for tryptophan[J]. Electrochem Commun, 2008, 10(12): 1844-1846.
- [77] NIE R Q, BO X J, WANG H, et al. Chiral electrochemical sensing for tyrosine enantiomers on glassy carbon electrode modified with cysteic acid[J]. Electrochem Commun, 2013, 27: 112-115.
- [78] OU J, TAO Y X, XUE J J, et al. Electrochemical enantiorecognition of tryptophan enantiomers based on graphene quantum dots-chitosan composite film[J]. Electrochem Commun, 2015, 57: 5-9.
- [79] TAO Y X, DAI J Y, KONG Y, et al. Temperature-sensitive electrochemical recognition of tryptophan enantiomers based on β -cyclodextrin self-assembled on poly (*L*-glutamic acid)[J]. Anal Chem, 2014, 86(5): 2633-2639.
- [80] GU J W, DAI H X, KONG Y, et al. Chiral electrochemical recognition of cysteine enantiomers with molecularly imprinted overoxidized polypyrrole-Au nanoparticles[J]. Synth Met, 2016, 222: 137-143.
- [81] YU Y, TAO Y X, YANG B Z, et al. Smart chiral sensing platform with alterable enantioselectivity[J]. Anal Chem, 2017, 89(23): 12930-12937.
- [82] WU D T, YANG J P, PENG Y G, et al. Highly enantioselective recognition of various acids using polymerized chiral ionic liquid as electrode modifies[J]. Sens Actuators B, 2019, 282: 164-170.
- [83] YE Q M, GUO L L, WU D T, et al. Covalent functionalization of bovine serum albumin with graphene quantum dots for stereospecific molecular recognition[J]. Anal Chem, 2019, 91(18): 11864-11871.
- [84] SEVERIN E J, SANNER R D, DOLEMAN B J, et al. Differential detection of enantiomeric gaseous analytes using carbon black-chiral polymer composite, chemically sensitive resistors[J]. Anal Chem, 1998, 70(7): 1440-1443.
- [85] HUANG Y H, GUO D M, ZHANG Q, et al. Chiral sensing for electrochemical impedance spectroscopy recognition of lysine enantiomers based on a nanostructured composite[J]. RSC Adv, 2014, 4(63): 33457-33461.
- [86] DING S S, CAO S M, ZHU A W, et al. Wettability switching of electrode for signal amplification: conversion of conformational change of stimuli-responsive polymer into enhanced electrochemical chiral analysis[J]. Anal Chem, 2016, 88(24): 12219-12226.

(责任编辑:谭晓荷)