

知识介绍

分子印迹聚合物研究:从小分子到生物大分子

王 虹, 孙 彦*

(天津大学化工学院, 生物化工系, 天津 300072)

摘要: 分子印迹技术是一项制备功能聚合物材料的方法, 其对印迹分子的专一性选择识别能力引起了人们的广泛关注。随着方法的基本确立和技术的逐渐成熟, 其应用领域和范围不断扩大。本文在总结以往研究结果的基础上, 对迄今为止进展相对缓慢的生物大分子印迹研究予以了特别关注, 对相关的水环境下的分子识别问题进行了仔细的讨论, 认真的分析了生物大分子印迹研究工作的难点和不利因素, 对分子印迹技术的未来发展和应用前景进行了展望。

关键词: 分子印迹; 分子识别; 聚合物; 作用性质

近年来, 采用分子印迹技术(Molecular imprinting technology)制备功能聚合物材料的方法取得了长足的进展, 其应用领域和范围不断扩大, 所印迹的分子种类也在不断增多。作为一种制备聚合物材料的方法, 其最大特点在于, 通过该方法获得的分子印迹聚合物(Molecularly imprinted polymers, MIPs), 对特定的印迹分子具有很高的识别能力和选择性^{1~4}。与超分子化学方法不同, 采用分子印迹技术可以省去许多不必要且十分烦琐的有机合成步骤, 方便地将印迹分子的几何形状、大小和作用点位精确地“印迹”在高分子材料上, 从而直接得到与印迹分子在结构和形态上存在高度互补关系的分子印迹聚合物。

1 分子印迹技术的原理、概念与基本问题

1.1 分子印迹原理与聚合物的制备

分子印迹技术是人们对生命体内分子识别现象进行不断研究与探索这一认识过程的必然结果, 其原理可以简单归结为对自然界中“抗体—抗原”概念的具体学习与应用; 通过该原理制备的聚合物材料, 对所选择的印迹分子具有特定的“记忆”能力。通常, 印迹聚合物的制备会包括以下一些基本步骤: 首先, 在聚合反应前, 单体与印迹分子都要预先经过一个所谓的分子“组装”过程, 作用双方通过一定的连接方式较为牢固地结合在一起, 然后再启动反应, 进行下一步的交联聚合。这样, 在除去印迹分子后得到的印迹聚合物上, 就留下了对印迹分子具有相当高的专一选择性的结合位点。图 1 即为上述制备过程的示意图。

从原材料上看, 制备印迹聚合物所用的化合物与合成一般聚合物时没有什么区别, 合成出的聚合物也有无机聚合物和有机聚合物之分。其中, Wulff 等采用无机硅胶所作的工作可以称为是无机印迹聚合物研究方面的一个典型代表(见图 2)^{15~17}。不过从现今已发表过的结果来看, 以有机物为基底的聚合物材料还是占了绝大多数, 而且其技术发展相对来说也比较成熟。制备有机印迹聚合物常用的单体主要是一些烯类化合物, 如丙烯酸(丙烯酸酯)系列化合物、丙烯酰胺以及苯乙烯系列化合物等; 采用的交联剂主要为各种二烯、二胺以及二醛等双官能团以及少数三官能团类化合物等。不过, 由于交联剂的种类和用

基金项目: 国家杰出青年科学基金(20025617);

作者简介: 王虹(1962—), 男, 安徽人, 博士, 研究方向为功能高分子材料;

* 通信联系人。

去除印迹分子, 得到分子印迹聚合物的方法。它的显著优点是能在聚合过程中很好地保持结合基团的精确空间排列, 从而为以后的选择性识别建立坚实的基础。而在非共价印迹方式中, 单体与印迹分子之间预先进行自组织排列, 两者以离子键、氢键、van der Waals 力、 $\pi-\pi$ 及疏水相互作用等非共价形式形成弱相互作用; 待聚合反应完成, 这种结合作用模式被固定下来后, 印迹分子再用简单的洗脱方法除去以得到所要的印迹聚合物。由于在单体与印迹分子之间形成的常常是一种多点协调、强度较弱的相互作用, 因此它具有结合容易、解离容易、可逆性好、达到平衡快的优点。

比较而言, 前者在热力学上具有明显的优势, 而后者则以动力学见长。同时, 由于共价键所具有的方向性特征, 前者具有较强的分子识别能力, 选择性和专一性都比较高, 因而在对这方面要求较高的催化、外消旋体的拆分研究等领域应用较多^[1, 2, 13~20]; 而对一些强调速度的场合, 如色谱分析、模拟酶的研究、传感材料的制备等, 可逆性地结合、解离较快的后者显然更为适用^[3, 4, 20~38]; 两者的适用领域既有不同, 也有重叠。目前比较一致的看法是, 结合共价作用的高选择性、识别专一性, 改善材料的传质效果^[39~41], 制备具有速度优势的非共价结合方式的印迹聚合物材料, 应当成为今后的研究重点, 本文在下面的讨论因而主要也是围绕非共价作用方式来进行的。

1.3 印迹聚合物对印迹分子识别时的环境影响及识别作用性质

由于印迹聚合物对印迹分子的识别作用深受周围环境的影响, 因此对相关环境因素的考察就显得十分重要。早期的研究工作主要集中在非水的有机环境中, 常用的介质包括各种非极性的烷烃以及一些极性有机化合物, 如甲醇、乙腈、氯仿等^[1~4, 42]。大量的实验结果表明, 通过改变作用环境的极性, 调节溶剂的组成成分, 可以对印迹聚合物的识别效果、亲和性和选择性产生有效的影响, 体系的亲和能力和选择性遵循一定的作用规律, 对其控制和掌握比较容易。随着分子印迹聚合物的研究重点从油溶性的有机小分子转移到水溶性化合物, 特别是生物大分子, 水环境下(包括含水的有机环境下)的分子识别问题已日益引起人们的关注^[43~50]。与有机介质不同的是, 由于水分子的参与, 水环境下的分子识别问题要复杂得多, 水溶液的组成、pH 值、溶液中盐的离子强度、极性有机溶剂的加入、比例和种类等, 均会对作用双方产生显著的影响。

单体或是印迹分子的化学性质, 如酸性、碱性, 亲水性、疏水性等, 也会在具体的识别行为中, 比如说亲和性、选择性、吸附量等方面体现出来。对不同的印迹体系, 印迹聚合物与印迹分子间相互作用的类型和强度也会不一样。从作用性质上看, 以非共价方式结合的分子印迹聚合物材料在对印迹分子的识别过程中主要涉及一些弱相互作用。按照作用能量的大小排列, 对识别作用影响最大的首先要算是静电相互作用, 即常说的离子键。与其余几种相比, 静电相互作用的键能是最大的, 其数量级与共价作用相似。强度排在第二的是分子间形成的氢键, 其键能比普通的化学键要弱, 一般仅有 $12 \sim 34 \text{ kJ/mol}$ 。但是当形成氢键的 N、O、C、H 等原子排在一战线时, 其键能可以达到最大, 约为 33 kJ , 这就是常说的氢键的方向性。排在第三的是 van der Waals 力, 一种普遍存在于分子间的弱相互作用, 分为偶极-偶极相互作用, 偶极-诱导偶极相互作用, 瞬时偶极间的相互作用三种。至于所谓的疏水相互作用, 严格地讲, 它不应该被算作是一种力, 因为这些疏水基团或是疏水区域间的彼此挨靠, 不过是它们为了避开水介质这个大环境而被迫聚集在一起的一个自然趋势。

就具体的印迹体系而言, 影响识别的一些因素往往是同时存在的, 除了印迹分子和聚合物本身以外, 分子识别作用的发生环境对整个印迹体系的最终表现始终有着至关重要的影响, 而若干种弱相互作用也往往会结合在一起共同达成印迹聚合物对印迹分子的综合识别效果。

例如, Piletsky 等就曾报道, 以苯丙氨酸为印迹分子构成的印迹体系中, 可以通过 β -环糊精的疏水空腔和邻近的磺酸基团协调配合, 以静电和疏水两种弱相互作用结合的方式对印迹分子产生良好的识别效果(见图 3)^[43]。

Sellergren 小组则以三嗪系列除草剂为研究对象, 通过色谱手段, 详细考察了印迹分子的结构特征和作用环境在分子识别现象中所起的作用^[44]; 结果表明, 在他们研究的聚合体系中, 当流动相中水含量较少时, 聚合物的选择性随印迹分子的碱性增强而增强; 而当流动相中水含量较多时, 体系对印迹分子的亲

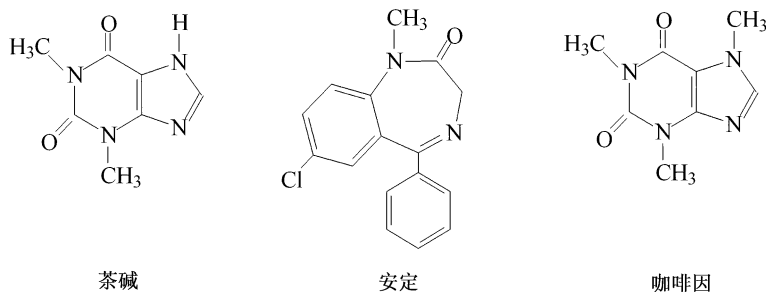


图 5 Mosbach 等对茶碱、安定和咖啡因所做的分子印迹研究

Figure 5 Molecular imprinting studies on theophylline, diazepam and caffeine made by Vlatakis G, Andersson L I, Müller R and Mosbach K

Arnold 和 Dhal 等利用 Cu^{2+} 的配位作用, 将一种可聚合的次氨基二乙酸与含咪唑基的化合物结合在一起, 成功地制备了能对印迹的咪唑化合物进行分子识别的所谓表面印迹聚合物^[10, 11], 试图找到一种通过操纵聚合物上功能基团的精确空间排列来有效识别蛋白质上咪唑基的方法(见图 6)。

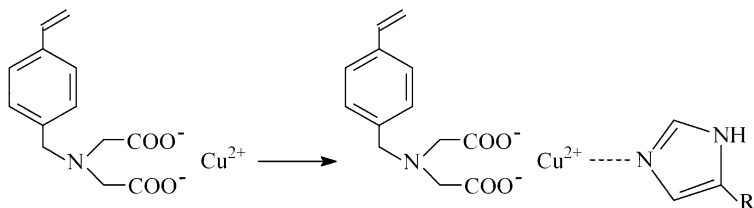


图 6 含咪唑基化合物与 Cu^{2+} 配合物相互作用示意图

Figure 6 Bonding of imidazole-containing compound with Cu^{2+} complex

1996 和 1997 年, 瑞典 Uppsala 大学的 Hjertén 等通过研究发现^[55, 56], 以血红蛋白、细胞色素 C、转铁蛋白等为印迹分子, 丙烯酰胺 (Acrylamide) 为单体, 亚甲基双丙烯酰胺 (*N, N'*-methylenebisacrylamide) 为交联剂, 可以制备出对印迹蛋白具有一定识别效果的印迹聚合物。1996 年, Aheme 等采用细菌 (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*) 为印迹物, 经过精心设计和多步处理, 首次实现了对整个细胞的印迹^[39], 这也是迄今人们所进行过的分子量最大的单个生物体的印迹尝试。1999 年, Shi 等报道, 他们采用射频辉光放电等离子沉积 (Radio-frequency glow-discharge plasma deposition, RFGD) 的方法, 成功地在多糖表面上实现了对白蛋白 (Albumin)、免疫球蛋白 G (Immunoglobulin G)、溶菌酶 (Lysozyme) 以及核糖核酸酶 (Ribonuclease) 等蛋白质的印迹^[38], 所制备的多糖表面对印迹蛋白显示了较好的识别效果, 为水溶性生物大分子的印迹研究提供了一种不同的思路。

这几种方法的一个共同之处就是, 为了尽可能完整地将具有一定构象的生物大分子印迹下来, 同时也是为了以后精确识别作用的顺利实现, 聚合过程中都注意尽量避免破坏印迹大分子的三维结构, 聚合物与印迹大分子间的结合作用采用的都是金属离子配位作用方式(见图 6)或是比较温和的非共价结合方式(见图 7)。

3.2 目前存在的问题

从上述结果来看, 尽管对生物大分子的印迹研究已取得了一定的进展, 但这些方法大多没有什么普适性, 方法本身也不太成熟, 制备过程比较烦琐^[58, 59], 迄今研究过的对象也比较少; 一些基本的研究思路和实验手段都还处于摸索阶段, 实验结果的重现性差, 水环境下的识别机理也不清楚^[55, 56], 聚合体系的选择具有一定的难度。

3.2.1 热力学上的困难 首先, 出于热力学上的考虑, 为了准确地“记忆”下印迹分子的形状, 所选的印迹分子必须具有一定的刚性, 其在印迹过程中的构象形式应尽量保持不变或变化较小, 这对于形成具有良好识别能力的作用点位是十分重要的^[60]; 单从这一点上看, 与结构刚性的有机小分子相比, 水溶性的生物大分子具有明显的先天不足, 其柔软的结构和多变的构象对聚合过程提出了苛刻的要求, 因为通常

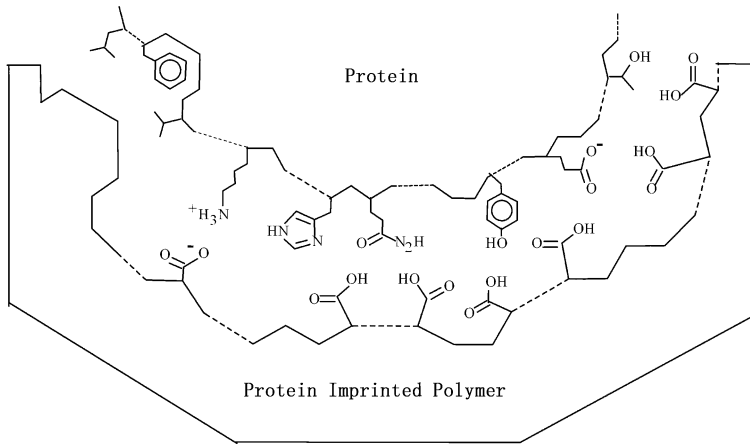


图 7 蛋白质分子印迹示意图

Figure 7 Schematic representation of protein imprinting

的烯类单体在打开双键时所释放的大量反应热,将会直接破坏生物大分子的三维结构和稳定性。

3.2.2 溶解度上的要求 聚合前的预组织过程要求印迹分子与单体之间要有充分的接触机会和作用环境,以便各相关基团能为将来的特定识别作用取得必要的空间排列和组合方式,因此要求印迹分子在单体和交联剂中或是包含单体与交联剂的溶剂体系中具有一定的溶解度;而众所周知的是,在常见的各种用于聚合的烯类单体中,可供挑选的能与水溶性的生物大分子具有良好互溶效果的单体是不多的,而可供选择的交联剂则更少;因此,寻找或是合成与水溶性生物大分子具有良好互溶效果的单体和交联剂,是制备理想印迹聚合物材料的一个基本前提。

3.2.3 作用环境对识别效果的影响 由于生物体内高度特异性的分子识别作用大多是在水介质中进行的,因此水环境中的分子识别作用一直是各相关领域里的热门研究课题,长久以来为人们所广泛关注^[61~67];但是,由于影响识别作用的因素数目众多且互相牵连,致使对该问题的深入研究相当困难。因此,如何在没有成熟理论或是大量经验数据支持的情况下,有效地实现水环境下的生物大分子与印迹聚合物之间的特异性识别作用,规避不利因素的影响,设计合理的聚合物结构,营造有利于识别作用发挥的局部微环境,是摆在生物大分子印迹研究面前的一个无法回避的问题。

3.2.4 氢键作用的发挥 在采用弱相互作用方式的几种识别模式中,氢键扮演着十分重要的角色。与静电相互作用、van der Waals 力和疏水作用相比,由于具有的一定的方向性,氢键的识别选择性要明显地高于前三者。因此,如何协调几种非共价作用模式,充分发挥氢键所具有的较强分子识别能力,是值得深入研究的课题。事实上,自然界中高度有序的 DNA 三维结构,就是氢键作用向人们所展示的一个杰作。但是,对绝大多数的人工合成识别材料来说,当分子识别的环境必须选择在水介质中时,那么由于水分子的强大水合能力,氢键在水环境中的作用效能通常会被大大削弱。

根据已经发表文献,如果要想加强水环境中氢键的效能,通常有两个方法可以采用^[69]。一是通过协同作用来克服周围水分子的不利影响,二是改变作用点位附近的局部微环境,以创造出一个有利于氢键发挥其作用的外部氛围。事实上,有关的研究表明,在许多生命体系中,水分子甚至可以成为大量水环境下实现分子识别的有利因素^[65, 68, 69]。

因此,加强水环境下分子识别现象的研究,理清印迹分子-水-聚合物三者之间的复杂作用关系,对制备水环境下的高选择性印迹聚合物材料,有着十分重要的意义。

4 分子印迹聚合物的研究及应用前景

从 1972 年 Wulff 的开创性工作开始,人们对分子印迹聚合物所做的系统性研究已有四十多年的历史,印迹对象已由最早的有机和无机物小分子发展到现在的生物大分子,识别作用的发生环境也从当初的有机相扩展至今天的水介质,其中不少印迹体系的识别机制和作用特征已为人们基本掌握。

从目前的发展趋势看,人们有理由相信,随着对各种不同特征分子识别体系的深入研究和作用规律的逐步掌握,研究者们今后会在众多领域探索一些崭新的聚合体系、印迹方法^[70,71],而对生物大分子的印迹研究,水环境下具有良好分子识别效果的印迹体系的开发以及高容量印迹聚合物的制备,相信会成为下一阶段人们关注的重点。

参考文献:

- [1] Wulff G, Sarhan A. *Angew Chem Int Ed Engl*, 1972, 11: 341.
- [2] Wulff G, Sarhan A, Zabrocki K. *Tetrahedron Lett*, 1973, 4329.
- [3] Sellergren B, Lepistö M, Mosbach K. *J Am Chem Soc*, 1988, 110: 5853.
- [4] Vlatakis G, Andersson L I, Müller R, Mosbach K. *Nature*, 1993, 361: 645.
- [5] Wulff G, Heide B, Helfmeier G. *J Am Chem Soc*, 1986, 108: 1089.
- [6] Wulff G, Heide B, Helfmeier G. *React Polym Ion Exch Sorbents*, 1986, 6: 299.
- [7] Katz A, Davis M E. *Nature*, 2000, 403: 286.
- [8] Fujii Y, Kikuchi K, Matsutani K, et al. *Chem Lett*, 1984, 1487.
- [9] Fujii Y, Matsutani K, Kikuchi K. *J Chem Soc, Chem Commun*, 1985, 415.
- [10] Dhal P K, Arnold F H. *J Am Chem Soc*, 1991, 113: 7417.
- [11] Dhal P K, Arnold F H. *Macromolecules*, 1992, 25: 7051.
- [12] Vidyasankar S, Ru M, Arnold F H. *J Chromatogr A*, 1997, 775: 51.
- [13] Wulff G, Vesper W, Grobe-Einsler R, Sarhan A. *Makromol Chem*, 1977, 187: 2799.
- [14] Wulff G, Grobe-Einsler R, Vesper W, Sarhan A. *Makromol Chem*, 1977, 187: 2817.
- [15] Wulff G, Akelah A. *Makromol Chem*, 1978, 179: 2647.
- [16] Wulff G, Vesper W. *J Chromatogr*, 1978, 167: 171.
- [17] Wulff G, Best W, Akelah A. *React Polym Ion Exch Sorbents*, 1984, 2: 167.
- [18] Wulff G, Schauhoff S. *J Org Chem*, 1991, 56: 395.
- [19] Wulff G. *Chem Rev*, 2002, 102: 1.
- [20] Wulff G. *Angew Chem Int Ed Engl*, 1995, 34: 1812.
- [21] Andersson L I, Mandenius C F, Mosbach K. *Tetrahedron Lett*, 1988, 29: 5437.
- [22] Shea K J, Spivak D A, Sellergren B. *J Am Chem Soc*, 1993, 115: 3368.
- [23] Kempe M, Mosbach K. *Tetrahedron Lett*, 1995, 36: 3563.
- [24] Gläd M, Reinholdsson P, Mosbach K. *React Polym*, 1995, 25: 47.
- [25] Kempe M, Mosbach K. *J Chromatogr A*, 1995, 691: 317.
- [26] Mayes A G, Mosbach K. *Anal Chem*, 1996, 68: 3769.
- [27] Piletsky S A, Piletskaya E V, Yano K, et al. *Anal Lett*, 1996, 29(2): 157.
- [28] Ansell R J, Mosbach K. *J Chromatogr A*, 1997, 787: 55.
- [29] Schweitz L, Andersson L I, Nilsson S. *J Chromatogr A*, 1997, 792: 401.
- [30] Cheong S-H, Rachkov A E, Park J-K, et al. *J Polym Sci, Part A: Polym Chem*, 1998, 36: 1725.
- [31] Haginaka J, Sarbe H. *Chem Lett*, 1998, 1089.
- [32] Brüggemann O, Haupt K, Ye L, et al. *J Chromatogr A*, 2000, 889: 15.
- [33] Matsui J, Fujiwara K, Ugata S, Takeuchi T. *J Chromatogr A*, 2000, 889: 25.
- [34] Berggren C, Bayouth S, Sherrington D, Ensing K. *J Chromatogr A*, 2000, 889: 105.
- [35] Martin P, Wilson I D, Jones G R. *J Chromatogr A*, 2000, 889: 143.
- [36] Dickert F L, Hayden O. *Adv Mater*, 2000, 12(4): 311.
- [37] Buchmeiser M R. *J Chromatogr A*, 2001, 918: 233.
- [38] Quaglia M, Chenon K, Hall A J, et al. *J Am Chem Soc*, 2001, 123: 2146.
- [39] Sellergren B, Shea K J. *J Chromatogr A*, 1995, 690: 29.
- [40] Sajonz P, Kele M, Zhong G, et al. *J Chromatogr A*, 1998, 810: 1.
- [41] Miyabe K, Guiochon G. *Biotechnol Prog*, 2000, 16: 617.
- [42] Yu C, Mosbach K. *J Org Chem*, 1997, 62: 4057.
- [43] Piletsky S A, Andersson H S, Nicholls I A. *Macromolecules*, 1999, 32: 633.
- [44] Dauwe C, Sellergren B. *J Chromatogr A*, 1996, 753: 191.
- [45] Nicholls I A, Ramström O, Mosbach K. *J Chromatogr A*, 1995, 691: 349.
- [46] Rachkov A, Minoura N. *J Chromatogr A*, 2000, 889: 111.

- [47] Andersson L I, Müller R, Vlatakis G, Mosbach K. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92: 4788.
- [48] Andersson L I. Anal Chem, 1996, 68: 111.
- [49] Haupt K, Dzgoev A, Mosbach K. Anal Chem, 1998, 70: 628.
- [50] Benglund J, Lindblad C, Nicholls I A, Mosbach K. Anal Commun, 1998, 35: 3.
- [51] Piletsky S A, Alcock S, A. Tumer P F. Trends Biotechnol, 2001, 19: 9.
- [52] Glad M, Norbø O, Selberg B, et al. J Chromatogr, 1985, 347: 11.
- [53] Kempe M, Glad M, Mosbach K. J Mol Recogn, 1995, 8: 35.
- [54] Venton D L, Gudipati E. Biochim Biophys Acta, 1995, 1250: 117.
- [55] Liao J-L, Wang Y, Hjerf n S. Chromatographia, 1996, 42: 259.
- [56] Hjerf n S, Liao J-L, Nakazato K, et al. Chromatographia, 1997, 44: 227.
- [57] Hinayama K, Burow M, Monkawa Y, Minoura N. Chem Lett, 1998, 731.
- [58] Shi H, Tsai W -B, Garrison M D, et al. Nature, 1999, 398: 593.
- [59] Aherne A, Alexander C, Payne M J, et al. J Am Chem Soc, 1996, 118: 8771.
- [60] Nicholls I A. Chem Lett, 1995, 1035.
- [61] Wenz G. Angew Chem Int Ed Engl, 1994, 33: 803.
- [62] Lehn J-M. Angew Chem Int Ed Engl, 1990, 29: 1304.
- [63] Cram D J. Nature, 1992, 29: 356.
- [64] Abbott N L, Folkers J P, Whiteside G M. Science, 1992, 257: 1380.
- [65] Lemieux R U. Acc Chem Res, 1996, 29: 373.
- [66] Ariga K, Kunitake T. Acc Chem Res, 1998, 31: 371.
- [67] Asanuma H, Hishiyama T, Komiyama M. Chem Lett, 1998, 1087.
- [68] Rand R P. Science, 1992, 256: 618.
- [69] Colombo M F, Rau D C, Parsegian V A. Science, 1992, 256: 655.
- [70] Whitcombe M J, Rodriguez M E, Villar P, Vulson E N. J Am Chem Soc, 1995, 117: 7105.
- [71] D' Souza S M, Alexander C, Carr S W, et al. Nature, 1999, 398: 312.

Advances in Molecularly Imprinted Polymers: From Small Molecules Towards Biological Macromolecules

WANG Hong, SUN Yan

(*Department of Biochemical Engineering, School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China*)

Abstract: Molecularly imprinted polymers (MIPs) have attracted many attentions from chemists and biologists. Their fairly high affinity and selectivity to the print molecules made them potential materials that might be widely used in many different disciplines. In this article, a brief review over the development of molecular imprinting technology was given, and special attentions were gone to both the preparation of biological macromolecule imprinted polymers and the phenomenon of molecular recognition happened in aqueous media with imprinted polymer. Although some difficulties still existed in the study of molecularly imprinted polymer, more achievements would be made in the near future.

Key words: Molecular imprinting; Molecular recognition; Polymer; Interaction property