

分子印迹技术

卢彦兵 翁 健 徐伟箭*

(湖南大学化学化工学院, 长沙, 410082)

提要 分子印迹是国外近几十年才发展起来的一种新的研究方法, 它主要是利用所合成的印迹高分子内含有的特殊结构对所使用的印迹分子的高选择性来进行各方面研究。目前, 在手性分离、催化、传感器方面分子印迹的研究已取得了突破性进展。

关键词 分子印迹, 印迹分子, 印迹高分子, 选择性

前言

70 年代, Wulff 等人^[1,2]利用新的方法合成出了几种高分子, 对糖类和氨基酸衍生物具有较高的选择性, 被用作高效液相色谱(HPLC)的固相填充物。这种新的方法, 被称为分子印迹。经过短短的二十几年, 分子印迹技术得到了广泛的发展。

分子印迹合成高分子的基本方法如下: 在合成高分子前, 将某个特殊物质(称为印迹分子)加入与之发生化学作用的功能单体中, 然后再加入交联剂、引发剂进行聚合反应, 形成一高度交联的固态高分子, 接着利用化学或物理方法将印迹分子从高分子中移去, 这样在分子内部便形成了大量的空腔结构, 它们的形状以及空腔内各官能团的位置都与所使用的印迹分子互补, 可以与印迹分子发生特殊作用。分子印迹技术正是利用这一特性进行各方面研究工作的。印迹分子与功能单体之间的化学作用可分为共价键与非共价键作用两种, 其中在研究中应用较多的是非共价键作用, 它又可以分为离子键作用、疏水作用、氢键作用等几种。

在印迹高分子的合成过程中, 功能单体的选择是非常重要的, 它不但要可以与交联剂进行共聚合反应, 而且分子内必须要具有能与印迹分子发生化学作用的结构单元。常用的几种功能单体(图 1)中, 最常用的功能单体是 α 甲基丙烯酸, 它分子内除具有一个碳碳双键外, 还具有一个羧基, 可以以离子键作用与胺发生作用, 也可以以氢键作用与酰胺、氨基甲酸酯和羧基化合物发生作用。

在几种常用的交联剂^[3]中, 二甲基丙烯酸乙二醇酯(EDMA)是最常用的交联剂, 它分子内具有两个乙烯基, 在聚合反应中可以形成网状高分子, 从而使高分子被处理后出现的空腔形状固定。

利用分子印迹技术, 已经合成出了 20 多大类化合物的印迹高分子, 如氨基酸及其衍生物^[4~21]、甘油酸及其衍生物^[22,23]、染料^[24,26]、芳酮^[27,28]、多肽^[10,19]、二胺^[25,29,30]等。这些印迹高分子主要用作高效液相色谱中的固定相, 对合成过程中所使用的印迹分子进行选择, 从而实现混合物特别是结构相近的手性化合物的分离。另外, 根据某些印迹高分子表现出来的特殊性能, 也可以应用于抗体仿生、酶催化及生物传感器领域。近几年来, 人们又应用分子印迹技术对控制遗传的基因进行研究, 也取得了不同程度的进展。

1 印迹高分子的合成

卢彦兵 1976 年 5 月出生, 河南鄢陵人。1993 年 9 月考入湖南大学化学化工学院化工工艺专业, 1997 年 6 月毕业, 免试攻读本校化学化工学院精细化工专业研究业, 师从徐伟箭副教授。从事精细及功能高分子的合成与应用等方面的研究开发工作。

* 通信联系人。

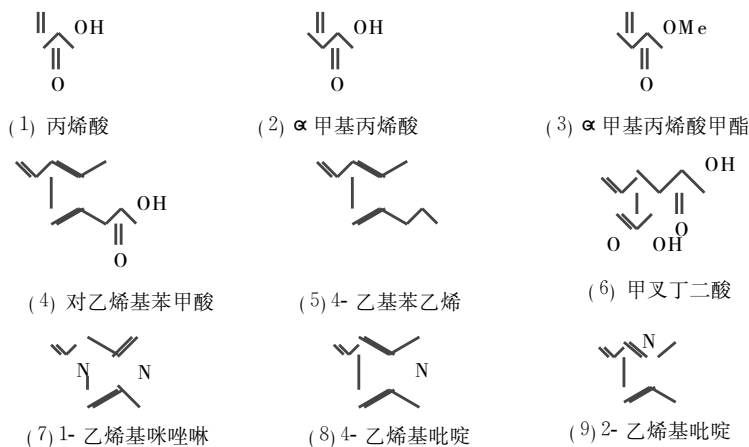


图 1 常用的功能单体

为一个比较完整的体系,在研究过程中使用较多的是下述热引发聚合反应过程。

在聚合反应前,将功能单体与印迹分子溶于溶剂内,然后加入交联剂和热引发剂,升高反应体系温度进行聚合反应。反应一段时间(一般为 24h,使聚合反应充分)后,取出聚合物,用研钵研碎,然后用极性溶剂洗涤,洗脱聚合反应前加入的印迹分子。再将印迹高分子进行真空干燥、研磨、筛分至需要的粒径。

O'Shannessy 等人^[7]在研究中发现,以偶氮二异庚腈为热引发剂合成的印迹高分子的选择性等性能比以偶氮二异丁腈为热引发剂合成的印迹高分子要好。对比二者的差异,O'Shannessy 等人引入光引发聚合反应,即以光引发剂取代热引发剂,在低温用紫外光线照射反应体系引发聚合反应。这样,反应体系可以控制在 0°C 左右的低温下进行。用这种方法,合成出了性能更好的印迹高分子,这说明聚合温度愈低,合成出的印迹高分子性能愈好。同时,他们在研究中还发现不同的溶剂对合成出的印迹高分子也有不同的影响,以氯仿为溶剂合成出的印迹高分子性能比以乙腈为溶剂合成出的印迹高分子要好一些。

在前面的制备过程中,聚合反应后形成的是高度交联的网状固态物,要进行研磨、洗涤、干燥、筛分等后处理过程。这就存在一些弊端,一方面,可能会造成合成的印迹高分子的损失,这对价格昂贵的原料来说是不可忽视的;另一方面,人工或机械研磨会造成粒径的分布不均,虽经过筛分,仍会存在一个较大的分布,对实验结果造成一定的影响。Svec 和 Frechet 二人^[31]发现了一种新的聚合方法,合成出的高分子可直接应用于高效液相色谱分析。接着,Matsui 等人^[16]和 Sellergren^[32]将这种方法应用于分子印迹领域,发现合成出的印迹高分子对预先加入的印迹分子仍具有可观的选择性。

2 印迹高分子的性能测试

在合成出印迹高分子之后,要对它进行测试,以确定合成出的物质是否具有所需要的性质。通常采用以下几种方法进行高分子的性能测试。

2.1 高效液相色谱分析

这是分子印迹中最常用的测试方法,将筛分过的印迹高分子装填入色谱柱内,用洗提液进行洗提,然后将印迹分子溶液或印迹分子与其它化合物的混合液注射入色谱柱,从扫描仪所显示的不同

图像来确定印迹高分子对印迹分子是否具有选择性以及选择性的大小。

洗提液通常是乙腈、氯仿、庚烷等的纯溶液或它们与冰乙酸的混合溶液。O. Ramström 等人^[17]在研究中采用了 11 种洗提液,对印迹高分子进行处理,以确定不同洗提液对实验结果的影响。

2.2 电势测定法

这种方法是 Mosbach 等人提出来的^[11],它主要是利用流动电位原理,当液体沿固体表面流动时,会产生流动电位,液体浓度的变化将影响流动电位的大小。因此,根据所测定的流动电位的大小,可以得知液相浓度的大小,在特定条件下就可以确定液相内溶质与固相之间的亲合作用的大小。

将印迹高分子装入流通池,用印迹分子溶液或印迹分子与其它化合物的混合液进行洗涤,通过与流通池两端相连的电位计读数的变化来确定高分子对印迹分子是否具有选择性以及选择性的大小。

利用高效液相色谱分析的前提条件是被测定物要有确定的紫外吸收,若一物质没有确定的紫外吸收,便不能进行高效液相色谱分析。而电势测定法则没有这种限制,因此它具有比高效液相色谱更宽的使用范围。

2.3 傅氏变换红外光谱法和核磁共振法

利用这两种方法,可以确定在洗脱了印迹分子之后,印迹高分子内留有与印迹分子相互作用的结构单元^[6,33],但是我们不能确定印迹高分子对所用的印迹分子的选择性的大小,因此近些年来,该两法的应用不多。

3 印迹高分子的应用

3.1 手性分离方面

手性分离是分子印迹研究中最活跃的领域。随着有机化学的深入研究,人们发现并合成出了越来越多的手性物质,而且这些物质在日常生活中如医药、农业等方面具有广泛的应用。但手性物质与其对映体不能应用普通的分离方法如过滤、萃取、精馏等进行,只能寻求新的方法。分子印迹技术的出现,为解决这个问题提供了一条新的途径。

利用合成的印迹高分子对所使用的印迹分子的选择性,将印迹高分子用作高效液相色谱的固定相,以进行印迹分子与其它物质的分离,这在实验室条件下已经获得成功,并且经过多年的研究,可进行分离的物质也增加了许多。大部分印迹高分子的合成目的是进行所用印迹分子的分离。但到目前为止,还未出现将分子印迹应用于工业上的报道。

3.2 催化方面

科学家们早就试图合成具有选择催化性能的人工高分子,但一直没有成功。分子印迹在抗体仿生方面取得突破性进展^[34]后,人们开始考虑一种新的途径,即利用分子印迹技术的特点,将各种催化官能基团引入高分子内部。Mosbach 等人曾报道过具有催化活性的印迹高分子的合成^[35,36]。在实验中,他们以 *P*-硝基苯酚甲基膦酸酯与 *P*-硝基苯乙酸酯水解反应的中间活性体为印迹分子,合成出一种印迹高分子,可以加速 *P*-硝基苯乙酸酯水解为 *P*-硝基苯酚和乙酸盐的反应。最近,在 4-氟代-4-硝基苯基-2-丁酮的 HF 的 β -消去反应中,也合成出了具有催化活性的印迹高分子^[37,38]。

3.3 传感器方面

近些年来,生物传感器的发展比较迅速,已广泛地应用在了医药、生化、环保等方面。但是由于生物传感器感应物质的不稳定(如温度、化学试剂的影响)以及在某些条件下缺乏适当的感应物质,使生物传感器的进一步推广受到了很大限制。利用分子印迹技术,可以合成出稳定的,对某种物质

有特殊作用的高分子。将这些物质应用于传感器之中,可以弥补生物感应物质的不足之处^[39~43]。这方面的研究工作已取得了突破性进展。Mingidi 等人^[44]已利用印迹高分子作感应物质,制出了一种传感器,用于印迹分子的检测。

作为一种新的研究方法,分子印迹技术具有广阔的发展前途。它的应用也会随着时间的推移而不断地扩大和深入。

4 参考文献

- 1 Wulff G, Sarhan A, Zabrocki K. *Tetrahedron Lett*, 1973, 44: 4329~4332
- 2 Wulff G, Schauhoff S. *J Org Chem*, 1991, 56(1): 395~400
- 3 Kempe M, Mosbach K. *J Chromatogr A*, 1995, 694: 3~13
- 4 Wulff G, Vietmeier. *Makromol Chem*, 1989, 190: 1717~1721
- 5 Sellergren B, Ekberg B, Mosbach K. *J Chromatogr*, 1985, 347: 1~10
- 6 Sellergren B, Lepisto M, Mosbach K. *J Am Chem Soc*, 1988, 110(17): 5853~5860
- 7 O'Shannessy D J, Ekberg B, Mosbach K. *Anal Biochem*, 1989, 177: 144~149
- 8 O'Shannessy D J, Ekberg B, Andersson L I et al. *J Chromatogr*, 1989, 470: 391~398
- 9 Lepistö M, Sellergren B. *J Org Chem*, 1989, 54: 6010~6012
- 10 Andersson L I, et al. *J Chromatogr*, 1990, 512: 166~177
- 11 Andersson L I, Miyabayashi A, Mosbach K, et al. *J Chromatogr*, 1990, 516: 323~331
- 12 Andersson L I, Mosbach K. *J Chromatogr*, 1990, 516: 313~322
- 13 Kempe M, Mosbach K. *Anal Lett*, 1991, 24(7): 1137~1145
- 14 Sellergren B, Shea K J. *J Chromatogr A*, 1993, 654: 17~28
- 15 Hedberg E, Winquist F, Lundström I, et al. *Sens Act A*, 1993, 37~38: 796~799
- 16 Matsui J, Kato T, Takeuchi T, et al. *Anal Chem*, 1993, 65: 2223~2224
- 17 Ramström O, Andersson L I, Mosbach K. *J Org Chem*, 1993, 58(26): 7562~7564
- 18 Vidyasankar S, Ru M, Arnold F H. *J Chromatogr A*, 1997, 775: 51~63
- 19 Nicholls I A, Ramström O, Mosbach K. *J Chromatogr A*, 1995, 691: 349~353
- 20 Nilsson K G I, Sakauchi K, Gemeiner P, et al. *J Chromatogr A*, 1995, 707: 199~203
- 21 Kempe M, Mosbach K. *J Chromatogr A*, 1995, 691: 317~323
- 22 Wulff G, Sarhan A, Gimpel J, et al. *Chem Ber*, 1974, 107: 3364~3371
- 23 Sarhan A, Wulff G. *Makromol Chem*, 1982, 183: 85~92
- 24 Glad M, Norrlov O, Sellergren B, et al. *J Chromatogr*, 1985, 347: 11~23
- 25 Arshady R, Mosbach K. *Makromol Chem*, 1981, 182: 687~692
- 26 Norrlov O, Glad M, Mosbach K. *J Chromatogr*, 1984, 229: 29~41
- 27 Shea K J, Dougherty T K. *J Am Chem Soc*, 1986, 108(5): 1091~1093
- 28 Shea K J, Sasaki D Y. *J Am Chem Soc*, 1989, 111: 3442~3445
- 29 Dunkin I R, Lenfeld J, Sherrington D C. *Polymer*, 1994, 34(1): 77~84
- 30 Hosoya K, Yoshizako K, Shirasu Y, et al. *J Chromatogr A*, 1996, 728: 139~147
- 31 Svec F, Frechet J M J. *Anal Chem*, 1992, 64: 820~822
- 32 Sellergren B. *J Chromatogr A*, 1994, 673: 133~141
- 33 Shea K J, Sasaki D Y. *J Am Chem Soc*, 1991, 113(11): 4109~4120
- 34 Vlatakis G, et al. *Nature*, 1993, 361: 368~374
- 35 Robinson D K, Mosbach K. *J Chem Soc Chem Commun*, 1989, 14: 969~970
- 36 Leonhardt A, Mosbach K. *React Polym*, 1987, 6: 285~291
- 37 Beach J V, Shea K J. *J Am Chem Soc*, 1994, 116(1): 379~380
- 38 M. Uler R, et al. *Makromol Chem Rapid Commun*, 1993, 14: 637~638

- 39 Piletsky S A, Parhometz Y P, Lavryk N V, et al. *Sens Act B*, 1994, 18~19: 629~631
- 40 Nilsson K, Lindell J, Norrlov O, et al. *J Chromatogr A*, 1994, 680: 57~61
- 41 Kempe M, Mosbach K. *Tetrahedron Lett*, 1995, 36(20): 3563~3566
- 42 Kriz D, Mosbach K. *Anal Chim Acta*, 1995, 300: 71~75
- 43 Mastui J, Nicholls I A, Takeuchi T, et al. *Anal Chim Acta*, 1996, 335: 71~77
- 44 Mingdi Y, Martin N W, John F W K, et al. *US*, 5587273. 1996

Molecularly Imprinting Technique

Lu Yanbing, Weng Jian, Xu Weijian

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Hu Nan University, Changsha 410082)

Summary Molecular imprinting is a new research method developed in recent several decades. It counts mostly on the high selectivity that the special constructions in the imprinted polymer showed to the imprint molecule that is used. Recently, impressive progress has been achieved in the areas as chiral separation, catalysis, sensor.

Key words Molecular imprinting, Imprint molecule, Imprinted polymer, Selectivity

1999 年及部分 1999 年以后由中国化学会主办的国际会议

- 1 第六届太平洋地区高分子会议(6th Pacific Polymer Conference)于 1999 年 12 月 7~11 日在广州举行。
联系人:中国科学院化学所 金熹高,电话:010-62564829,传真:010-62569564。电子信箱:jinxg@infoc3.icas.ac.cn。邮编:100080
主题:1) 高分子的合成与反应;2) 高分子的结构与性质;3) 高分子掺合物及复合材料;4) 功能高分子;5) 生物和药物高分子;6) 高分子工程。
- 2 第五届亚洲分析科学大会(The Fifth Asian Conference on Analytical Science)将于 1999 年 5 月 4~7 日在厦门举行
联系人:厦门大学化学系 黄本立 电话:0592-2186401,邮编:361005
主题:会议将就近年来分析科学最新发展动态进行学术交流,并将分为 10 个专题,分别为原子光谱、色谱与分离科学、电分析化学、分子光谱、化学计量学、质谱、生物分析、环境分析、表面分析、分析化学的教学与教育。
- 3 第七届国际电分析化学研讨会(The Seventh International Seminar on Electroanalytical Chemistry)将于 1999 年 10 月 21~24 日在长春举行
联系人:中国科学院长春应用化学研究所 汪尔康 电话:0431-5689711 邮编:130022
- 4 IUPAC 第十九届国际金属有机化学讨论会将于 2000 年 7 月在上海举行
- 5 IUPAC 高分子学术讨论会(IUPAC Macro2002)将于 2002 年在北京举行
- 6 第十七届国际拉曼光谱会议(17th International Conference on Raman Spectroscopy)将于 2000 年在北京举行,将由中国化学会与北京大学联合举办

(中国化学会办公室)