

文章编号:1673-0062(2012)01-0068-06

功能化 β -环糊精包合 L-苯丙氨酸印迹聚合物的制备及性能分析

伍瑜雯,刘慧君*,纪学珍,张小军,刘秀云

(南华大学 化学化工学院,湖南 衡阳 421001)

摘要:文中建立了一种新型的 L-苯丙氨酸(L-Phe)印迹聚合物的制备方法,采用饱和水溶液重结晶法制备功能化 β -环糊精-L-苯丙氨酸包合物,通过紫外分光光度法、傅里叶红外光谱、热重-差示扫描量热分析法等检测手段对包合物进行表征.首次在包合物研究基础上加入辅助功能单体、交联剂、复合光引发剂在混合有机相中制备了 L-苯丙氨酸分子印迹聚合物并且能够成功洗脱进行再吸附.结果表明,常温下每 20 mg 包合印迹聚合物、未包合印迹聚合物以及非印迹聚合物的饱和吸附量分别为 179.3 $\mu\text{mol/g}$ 、146.36 $\mu\text{mol/g}$ 和 64.65 $\mu\text{mol/g}$.

关键词:L-苯丙氨酸; β -环糊精;包合物;印迹聚合物

中图分类号:O63

文献标识码:A

Preparation and Performance Analysis of the Molecular Imprinted Polymers Based on Acryloyl- β -Cyclodextrin(β -CD)-L-phenylalanine Inclusion Compound

WU Yu-wen, LIU Hui-jun*, JI Xue-zhen, ZHANG Xiao-jun, LIU Xiu-yun

(College of Chemistry and Chemical Engineering, University of South China, Hengyang, Hunan 421001)

Abstract: A novel L-phenylalanine Imprinted Polymers was prepared using acryloyl- β -cyclodextrin (β -CD) -L-phenylalanine inclusion compound, with saturated aqueous solution method. The inclusion compound was characterized by UV, FT-IR, TG-DSC. Based on the research inclusion compound, L-phenylalanine Imprinted Polymers was prepared with function monomer, crosslinker and photo initiator, from which the aim molecular can be removed successfully and be absorbed again. The results show that the saturated adsorption capacity was 179.3 $\mu\text{mol/g}$, 146.36 $\mu\text{mol/g}$ and 64.65 $\mu\text{mol/g}$ in each 20 mg inclusion

收稿日期:2011-12-07

基金项目:国家自然科学基金资助项目(20707008);湖南省自然科学基金资助项目(07JJ5004);湖南省科技厅基金资助项目(2011GK3191);南华大学研究生科研创新基金资助项目(2011XCX06)

作者简介:伍瑜雯(1986-),女,湖南永州人,南华大学化学化工学院硕士研究生.主要研究方向:食品与药品分析.

* 通讯作者

complex imprinted polymer, molecular imprinted polymer and non-imprinted polymer in room temperature.

key words: L-phenylalanine; β -cyclodextrin; inclusion compound; imprinted polymers

分子印迹技术是利用所合成的聚合物内部含有特殊的结构对使用过的印迹分子的高度选择和识别性能进行各种研究的一门技术,所获得的识别位点对特定的分子具有特异的亲和力、选择性以及高度交联结构,常用于特制的色谱分离介质^[14]、手性分离^[5-6]、仿生传感器^[7-8]、电化学^[9-10]、催化等方面。

β -环糊精(β -CD)作为一类典型的主体分子,由于其外部亲水、内部疏水(空腔尺寸为0.78 nm)的特殊性质,在超分子化学领域以及药物分离有着极为广泛的应用,且由于 β -CD外部富含羟基,研究人员可根据需要对 β -CD进行改性,与客体分子分子包含后,更能改善客体分子的物理化学性能。

Zhifeng Xu^[11]等人对环糊精分子印迹的吸附机理做了深入研究,以诺氟沙星分子为模板,双甲基丙烯酸氧基- β -环糊精(BMA- β -CD)和2-(二乙氨基)-甲基丙烯酸乙酯(DEAEM)为功能单体,共聚合成了环糊精分子印迹聚合物。其研究表明与仅用BMA- β -CD或DEAEM分别作为功能单体聚合而成的分子印迹产物相比,在水溶液中其对诺氟沙星表现出了更高的亲合力和选择性。故在环糊精分子印迹聚合物中,疏水作用和电性的联合作用是提高聚合物吸附性能的关键因素。早在1999年,Pelistkey^[12]工作小组用二甲基丙磺酸酐酶与酰化 β -CD作为双功能单体印迹了苯丙氨酸分子,率先采用了多个功能单体在有机溶剂中制备了印迹聚合物,使聚合物与模板分子作用力加强,选择专一性提升。Wei Zhang^[13]等人用丙烯酰化环糊精和丙烯酰胺作为功能单体水相合成牛血红蛋白表面印迹聚合物,并在与牛血清白蛋白等竞争实验中体现了高选择性。

由于环糊精与目标分子结合主要作用为疏水作用,在有机溶剂中不能很好地发挥其作用,故课题组建立了一种先将合成的 β -CD衍生物与L-苯丙氨酸在水中形成较为稳定的包合物,在加入辅助功能单体丙烯酰胺(AM)混合有机相制备L-苯丙氨酸分子印迹聚合物的新方法,在改变功能单体作用力环境对目标分子的影响(混合有机相制备聚合物水相吸附)进行一些探索,并通过热重-差示扫描量热法、红外光谱的方法对聚合物的合成以及洗脱进行表征,得到常温下每20 mg包含

印迹聚合物饱和吸附量为179.3 $\mu\text{mol/g}$ 的结果。对环糊精衍生物作为功能单体对目标分子进行包含后应用于分子印迹水相识别做出新的尝试。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

日本岛津公司 Shimadu IRPrestige-21 红外光谱仪;德国耐驰仪器制造有限公司 STA449CJupiter 综合热分析仪;上海天美科学仪器有限公司 UV-Vis 8500 紫外/可见分光光度计;上海实验仪器厂有限公司 ZKF040 真空干燥箱;金坛市杰瑞尔电器有限公司 JB-3 定时恒温磁力搅拌器。

L-苯丙氨酸(L-Phe):分析纯,上海阿拉丁试剂有限公司; β -环糊精(β -CD):分析纯,天津科密欧化学试剂有限公司;丙烯酰氯(AC):化学纯,山东中瑞化工科技有限公司;丙烯酰胺(AM):分析纯,上海阿拉丁试剂有限公司;乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA):分析纯,上海西域有限公司;异丙基硫杂蒽酮(ITX):分析纯,美国第一化学公司;4-(二甲基氨基)苯甲酸乙酯(EDBA):分析纯,美国第一化学公司等。

EGDMA在使用前先真空蒸馏除去阻聚剂,异丙基硫杂蒽酮(ITX)和4-(二甲基氨基)苯甲酸乙酯(EDBA)复合光引发剂1:1比例用丙酮作为溶剂配制浓度为0.002 5 mol/L。

1.2 实验方法及步骤

1.2.1 酰化 β -环糊精(A- β -CD)的制备

具体操作如下^[12]:准确称取 β -CD 6.810 g溶于含有4滴吡啶且置于冰水中的无水乙醚于烧瓶中,搅拌下逐滴加入1.12 mL 丙烯酰氯,溶液逐渐升温至室温后继续搅拌反应16 h。反应结束后减压蒸馏得到白色固体,用乙醇进行重结晶后60℃真空干燥后置于充满 N_2 干燥皿中备用。

1.2.2 酰化 β -环糊精-L-苯丙氨酸包合物的制备

配备一系列A- β -CD(每个A- β -CD中约含有两个碳碳双键^[12])与L-Phe物质的量比例分别为6:0、6:1、6:2、6:3、6:4、6:5、6:6浓度级别为 10^{-5} mol/L的溶液,静置6 h后用紫外分光光度法进行波长扫描测定样品间饱和作用的吸光度变化,结合 Benesi-Hildebrand 方程^[14],确定最佳包含比例,如图1。

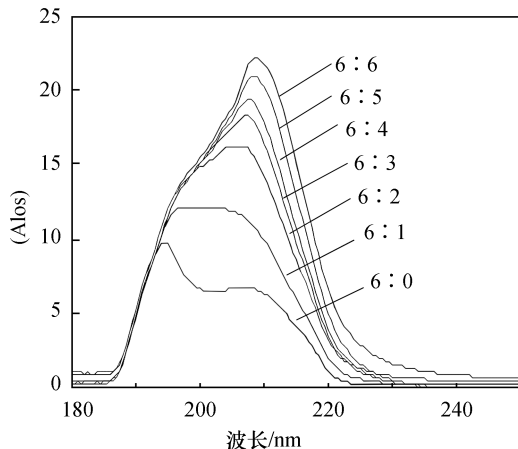


图1 L-Phe 和 A-β-CD 水溶液的紫外吸收光谱

Fig.1 UV absorption spectra of L-Phe and A-β-CD system in solution L-Phe:0.06 mmol/L; A-β-CD:0 ~ 0.06 mmol/L

称取 3.00 g A-β-CD 与 0.416 7 g L-Phe 搅拌溶于约 60 mL 二次重蒸水于烧杯中,将该烧杯置于恒温水浴 60℃ 下进行缓慢蒸发包合 12 h,再将所形成饱和溶液置于 4℃ 冷藏过夜,生成白色结晶体,迅速取出进行真空抽滤,所得产品常温真空干燥 8 h 后置于充满 N₂ 的干燥皿中备用.取少量包合物(IC)、A-β-CD、A-β-CD 与 L-Phe 比例为 1:1 物理混合物(PM)分别用 KBr 混合研磨压片做红外光谱分析(图 2),热重-差示扫描量热分析(TG-DSC),测定条件为室温 30℃,测定气氛 N₂,升温速率 5℃/min,扫描范围 35 ~ 330℃(图 3、图 4).

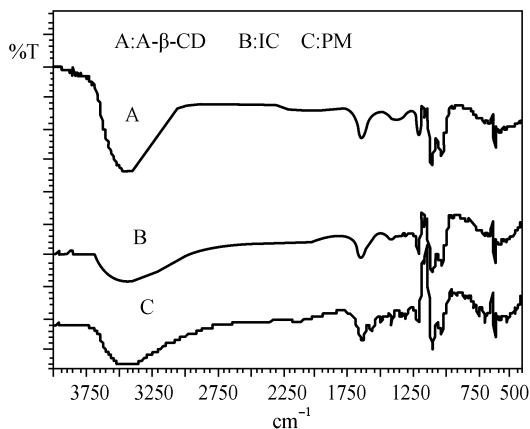


图2 试样的红外光谱图

Fig.2 The infrared spectra of samples

1.2.3 聚合物的制备

印迹聚合物制备(ICIP):称取酰化 β-环糊精-

L-苯丙氨酸包合物 1.4 g(约 1 mmol),0.284 3 g 丙烯酰胺溶于约 40 mL 甲醇溶液(甲醇/水为 2:1)中,整个体系静置 3 h 后加入用含有 4 mL EGDMA 甲醇溶液,加入复合光引发剂 1 mL,将反应器通氮气 25 min 后置于 0℃ 365 nm 紫外光照射聚合 48 h.将制得聚合物用醋酸/甲醇比例为 1:1 溶液反复洗涤至抽滤液紫外检测 L-苯丙氨酸含量吸光度接近零,将聚合物置于 80℃ 真空干燥 24 h.

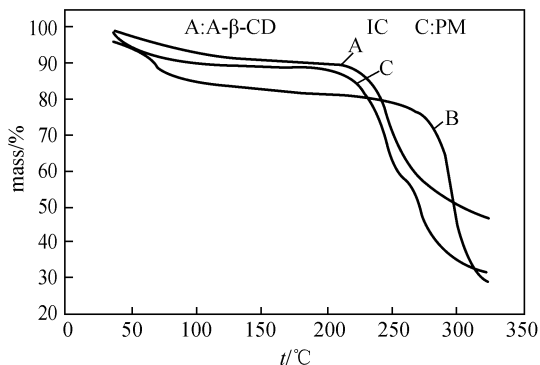


图3 A-β-CD、A-β-CD/L-Phe 包合物 IC 以及 A-β-CD/L-Phe 物理混合物 PMTG 曲线图

Fig.3 TG curves of A-β-CD、A-β-CD/L-Phe inclusion compound and physical mixture of A-β-CD and L-Phe

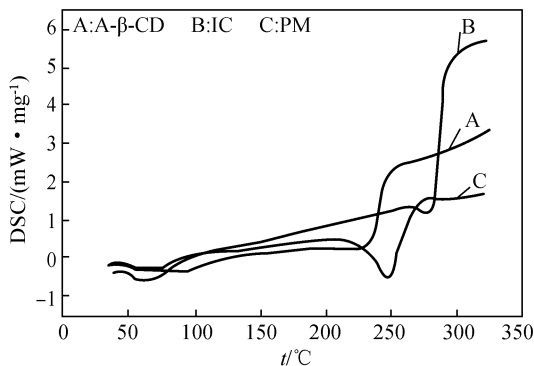


图4 A-β-CD、A-β-CD/L-Phe 包合物 IC 以及 A-β-CD/L-PhePM 物理混合物 DSC 曲线图

Fig.4 DSC curves of A-β-CD、A-β-CD/L-Phe inclusion compound and physical mixture of A-β-CD and L-Phe

非印迹聚合物制备(NIP):不加入包合物而单独加入酰化酰化 β-环糊精 1.3 g,其余制备方法如上.

所得聚合物用 KBr 混合研磨压片做红外光谱分析如图 5.

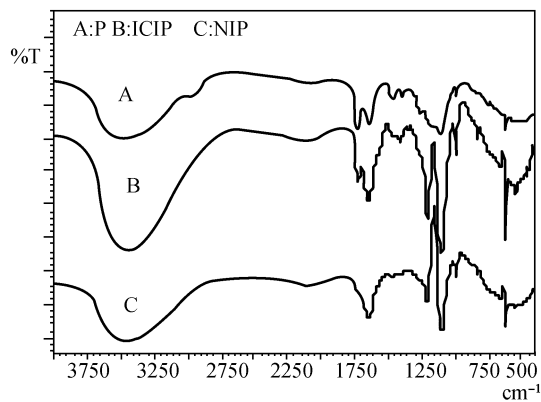


图 5 聚合物的红外谱图

Fig. 5 IR spectra of polymers

对比聚合物制备 (MIP): 加入未包合的 L-Phe 1 mmol 与 A- β -CD 1 mmol 作为模板分子和功能单体, 其余制备方法与印迹聚合物一致。

1.2.4 饱和吸附容量

准备称取一组 20 mg 的 ICIP、NIP 和 MIP 于具塞锥形瓶中, 分别加入 10 mL 不同浓度的 L-Phe 水溶液, 测量常温下聚合物对 L-Phe 的吸附情况 (振荡吸附 60 min)。按照下列公式计算吸附容量 Q :

$$Q = (C_0 - C_e) \frac{V}{W} \quad (1)$$

式中 C_0 、 C_e 分别代表的是 L-Phe 的初始浓度和平衡浓度 ($\mu\text{mol/L}$), V 是加入 L-Phe 溶液的体积 (L), W 是印迹聚合物的加入量 (g), 如图 6。

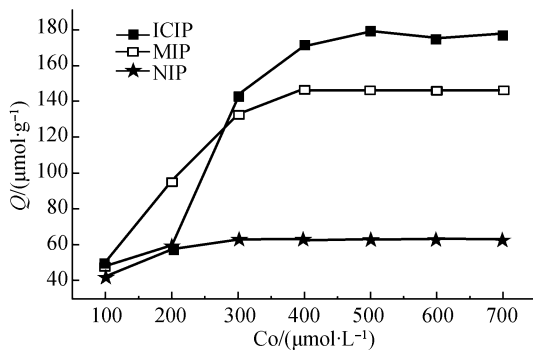


图 6 聚合物的吸附容量

Fig. 6 Adsorption capacity of the polymers

2 结果与讨论

如图 1 所示, 采用摩尔比例法在固定 L-Phe 浓度, 加入不同量 A- β -CD 使吸光度有所变化, 并且在比例为 6:6 (即 1:1) 时, 吸光度达到最大值,

再增加 A- β -CD 的比例, 吸光度无明显增加且有降低趋势, 其原因可能是因为 L-Phe 部分基团被 A- β -CD 空腔包合之后, 共轭结构上的电子云云离域受到限制, 电子云发生变化的缘故。将体系中的环糊精与 L-Phe 浓度可结合 Benesi-Hildebrand 方程得出环糊精和客体分子形成 1:1 包合物, 故选取最佳包合比例为 1:1。

A- β -CD 以及两者的混合物和包合物红光谱图见图 2, 通过比较可得出以下信息: 1) 形成的包合物 (IC) 的红外吸收峰与 A- β -CD 及其混合物 (PM) 的红外吸收峰存在着一定的差异; 2) 包合物的红外吸收峰与混合物及 A- β -CD 红外吸收峰相比, 部分峰强度减弱, 这是由于主客体之间是通过范德华力、氢键、偶极-偶极等弱作用结合, 没有形成新的化学键, 因而没有引起键的断裂而使吸收峰发生外移; 3) 由于苯环进入 A- β -CD 内腔中环振动受到抑制, 在 1600 cm^{-1} 附近的苯环振动吸收峰, 形成包合物峰形减弱甚至不见。由此表明 A- β -CD 和 L-苯丙氨酸发生包合作用, 并形成了包合物。

结合图 3 和图 4, 可以看出三种样品在 $50 \sim 100^\circ\text{C}$ 都出现第一次失重, 对应的 70°C 左右出现了吸热峰, 应分别为脱去空腔内和吸附水的缘故, 而 A- β -CD 在 250°C 左右、A- β -CD/L-Phe 物理混合物在 250°C 以及 270°C 左右, A- β -CD/L-Phe 包合物在 290°C 左右均有失重现象, 所对应的 A- β -CD 以及 A- β -CD/L-Phe 物理混合物在 250°C 左右有放热峰, 而 A- β -CD/L-Phe 包合物的放热峰则出现在 280°C , 这些现象的出现因为 A- β -CD 的熔点在 250°C 左右, L-Phe 的熔点在 270°C 左右, 物理混合对于这两种性质都有所体现, 而经过包结作用以后的两种物质熔点提高, 稳定性增强也从侧面证明包合物的形成并且形成的包合物热稳定性较好。

图 5 聚合物的红外谱图, 由图可见未洗脱模板分子的聚合物 P (图谱 A)、洗脱模板分子后的聚合物 ICIP (图谱 B)、非印迹聚合物 NIP (图谱 C) 图谱的基本骨架相似。洗脱 L-Phe 的聚合物和 NIP 出现的主要特征峰以及指纹区峰形相近, 与图谱 B、C 相比, 除共有的各功能单体酰化环糊精、丙烯酰胺, 交联剂二甲基丙烯酸乙二醇酯应有特征峰以外, 图谱 A 在 2991 cm^{-1} 新增一处吸收峰, 758 cm^{-1} 处也有弱吸收峰, 并且在 1726 cm^{-1} 处的峰明显强于其它两图谱, 应分别模板分子 L-

Phe 中 N-H 伸缩吸收峰、苯环的 C-H 弯曲振动^[15]以及羧基负离子吸收峰,由此可以推测,L-Phe 与功能单体通过疏水键、静电作用等作用进行组装,

成功形成聚合物,并在除去模板分子后,形成具有立体结构的空穴和功能基准确排布的聚合物,L-Phe 印迹聚合物机理见图 7.

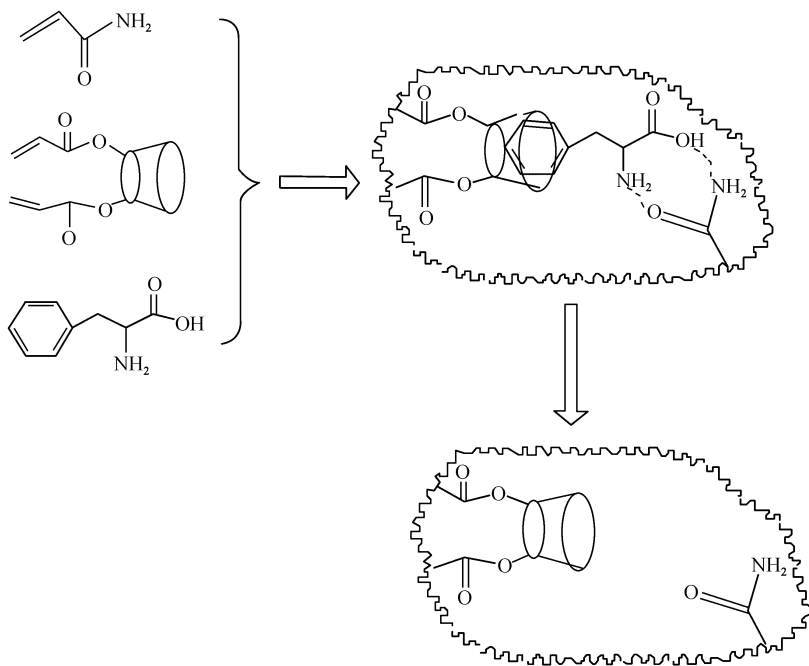


图 7 L-Phe 印迹聚合物机理示意图

Fig. 7 Schematic representation of the preparation of L-Phe imprinted polymer

从图 6 中聚合物的等温吸附线可得,各聚合物的吸附量随着溶液初始浓度的增大都有所增加,并在一定浓度下趋于吸附平衡状态.其中经过包合的 L-Phe 聚合物 ICIP 最大吸附量为 $179.3 \mu\text{mol/g}$,未经包合的 L-Phe 聚合物 MIP 对比物的最大吸附量为 $146.36 \mu\text{mol/g}$,而非印迹聚合物 NIP 的最大吸附量为 $64.45 \mu\text{mol/g}$,包合印迹聚合物对 L-Phe 的最大吸附量是非印迹聚合物的 2.78 倍,与未包合的印迹聚合物的最大吸附量相比也多出 22.5%.

3 结 论

用饱和水溶液方法制备了 A- β -CD 与 L-Phe 的包合物,并在包合物的基础上将其应用于 L-Phe 分子印迹聚合物的制备,在改变功能单体作用力环境对目标分子的影响进行一些探索,对环糊精衍生物作为功能单体对目标分子进行包合后应用于分子印迹水相识别做出新的尝试.结果表明,包合物应用制备分子印迹聚合物能够将目标分子成功洗脱并可进行再次吸附,最大吸附量为

$179.3 \mu\text{mol/g}$,比未包合的印迹聚合物多 22.5%,与非印迹聚合物相比较也具有较好的识别选择性,同时经过包合后的印迹聚合物得吸附性能也有所提升.

参考文献:

- [1] Liu Hanmao, Liu Chunhai, Yang Xiaojing, et al. Uniformly sized [beta]-cyclodextrin molecularly imprinted microspheres prepared by a novel surface imprinting technique for ursolic acid [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2008, 628 (1): 87-94.
- [2] Zhang Jingjing, Shen Xinghai, Chen Qingde. Separation Processes in the presence of cyclodextrins using molecular imprinting technology and ionic liquid cooperating approach [J]. *Current Organic Chemistry*, 2011, 15 (1): 1-12.
- [3] Akiyama T, Hishiya T, Asanuma H, et al. Molecular imprinting of cyclodextrin on silica-gel support for the stationary phase of high-performance-liquid-chromatography [J]. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 2001, 41 (1-4): 149-153.

(上接第 72 页)

- [4] Song S, Shirasaka K, Katayama M, et al. Recognition of solution structures of peptides by molecularly imprinted cyclodextrin polymers[J]. *Macromolecules*, 2007, 40(10): 3530-3532.
- [5] Qin Lei, He Xiwen, Li Wenyou, et al. Molecularly imprinted polymer prepared with bonded β -cyclodextrin and acrylamide on functionalized silica gel for selective recognition of tryptophan in aqueous media[J]. *Journal of Chromatography A*, 2008, 1187(1/2): 94-102.
- [6] 吴洪, 赵艳艳, 喻应霞. 分子印迹壳聚糖膜分离手性苯丙氨酸[J]. *功能高分子学报*, 2007, 19(3): 262-267.
- [7] 潘勇, 伍智仲, 曹丙庆, 等. 声表面波 β -CD 巯基衍生物传感器检测 DMMP 的研究[J]. *化学传感器*, 2008, 28(1): 58-62.
- [8] Metilda P, rasad K, Hosoya R K, et al. Ion imprinted polymer based sensor for monitoring toxic uranium in environmental samples[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 582(1): 147-153.
- [9] Mazzotta E, Malitesta C. Electrochemical detection of the toxic organohalide 2, 4-DB using a Co-porphyrin based electrosynthesized molecularly imprinted polymer[J]. *Sensors and Actuators B*, 2010, 148(1): 185-194.
- [10] Yang D, Ju M, Maeda A, et al. Design of highly efficient receptor sites by combination of cyclodextrin units and molecular cavity in TiO_2 ultrathin layer[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2006, 22(3): 388-392.
- [11] Xu Zhifeng, Kuang Daizhi, Liu Lan, et al. Selective adsorption of norfloxacin in aqueous media by an imprinted polymer based on hydrophobic and electrostatic interactions[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2007, 45(1): 54-61.
- [12] Piletsky S, Andersson H, Nicholls A. Combined hydrophobic and electrostatic interaction-based recognition in molecularly imprinted polymers[J]. *Macromolecules*, 1999, 32(3): 633-636.
- [13] Zhang Wei, Qin Lei, Chen Runrun, et al. Protein imprinted polymer using acryloyl- β -cyclodextrin and acrylamide as monomers[J]. *Applied Surface Science*, 2010, 256(9): 3000-3005.
- [14] Benesi H, Hildebrand J. A spectrophotometric investigation of the interaction of Iodine with aromatic hydrocarbons[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1949, 71(8): 2703-2707.
- [15] He Qun, Chang Xijun, Wu Qiong, et al. Synthesis and applications of surface-grafted Th(IV)-imprinted polymers for selective solid-phase extraction of thorium(IV)[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 605(2): 192-197.