

3-吲哚羧酸的性质对其印迹聚合物印迹效率的影响

张铁莉* 贾俊芳 卢文卜

(唐山师范学院化学系, 唐山 063000)

摘 要 以 3-吲哚丙酸(IPA)和 3-吲哚丁酸(IBA)为模板分子, 4-乙烯基吡啶(4-Vpy)为功能单体, 乙二醇二甲基丙烯酸酯为交联剂, 乙腈为致孔剂, 利用非共价本体聚合法, 制备了印迹聚合物 P(IPA)和 P(IBA), 并用色谱法评价了其分子识别性能。结果表明, P(IPA)和 P(IBA)分别对 IPA 和 IBA 具有分子识别能力, 静电作用在其分子识别过程中起重要作用。此外, 对 P(IPA)、P(IBA)和同样条件下制备的 3-吲哚乙酸(IAA)印迹聚合物 P(IAA)的分子识别能力进行了比较, 乙腈为流动相时, P(IAA)、P(IPA)和 P(IBA)对各自模板分子的印迹因子 IF 值分别为大于 6.00、4.27 和 2.28, 即随着 3-吲哚羧酸羧基碳链的增长, 其印迹效率降低。结果表明, 在 P(IPA)和 P(IBA)中, 分别存在与对应的模板分子互补的印迹空穴; 随着 3-吲哚羧酸酸性的降低, 印迹聚合物的印迹效率降低。

关键词 分子印迹聚合物; 分子识别; 高效液相色谱; 3-吲哚乙酸; 3-吲哚丙酸; 3-吲哚丁酸; 印迹效率

1 引 言

分子印迹聚合物(Molecularly imprinted polymer, MIP)是近年来发展起来的具有分子识别能力的新型功能高分子材料^[1]。MIP 是在模板分子(Template, T)、功能单体(Monomer, M)和交联剂存在下聚合得到的合成聚合物。由于 T 的印迹效应, MIP 中存在与 T 空间构型相匹配的印迹空穴, 即分子识别位点, 因此对 T 具有选择性结合能力。由于 MIP 对目标化合物具有“预定的选择性”, 在各种基于选择性配体结合的应用中, 如: 色谱分离、固相萃取、传感器、模拟抗体结合测定、模拟酶催化等领域, MIP 已显示了广阔的应用前景, 已有综述文章发表^[2~8]。目前, 已成功制备了多种化合物, 如氨基酸、糖类、金属离子、药物分子等的 MIP^[9], 但是由于许多因素会影响 MIP 的分子识别能力^[10], 制备出高选择性的 MIP 较困难。为了根据 T 的结构预测其 MIP 的特异结合能力, 研究 T 的性质对 MIP 分子识别能力的影响一直是 MIP 研究中的热点^[11~14]。本研究以羧基碳链长度不同的 3-吲哚丙酸(3-Indolepropionic acid, IPA)和 3-吲哚丁酸(3-Indolylbutyric acid, IBA)作为模型模板, 以 4-乙烯基吡啶(4-Vinylpyridine, 4-Vpy)为 M, 制备了对应的印迹聚合物 P(IPA)和 P(IBA), 研究了其分子识别特性, 并且通过与同样条件下制备的 3-吲哚乙酸(IAA)印迹聚合物的印迹效率的比较, 阐明了 T 的性质对 MIP 分子识别能力的影响。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

UV2600 分光光度计(上海天美科学仪器有限公司); F-4500 荧光分光光度计(日本日立公司); Agilent HPLC 1200(美国 Agilent 公司), 包括 Agilent 四元泵、Agilent 紫外检测器和 Agilent 20 μ L 进样阀; GSY 型电热恒温水浴锅(北京市医疗设备厂); KQ-250E 型超声波清洗器(唐山市超声仪器有限公司); DZ-4BC 型真空干燥箱(天津市金泰斯特仪器有限公司); FW80 型粉碎机(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司); 0.05 mm 不锈钢筛(浙江省上虞县五金纱筛厂)。3-吲哚甲酸(ICA)、3-吲哚乙酸(IAA)、3-吲哚丙酸(IPA)、3-吲哚丁酸(IBA)均为分析纯(北京化学试剂公司); 4-乙烯基吡啶(4-Vpy, ACROS 公司)使用前减压蒸馏除去阻聚剂; 乙二醇二甲基丙烯酸酯(Ethyleneglycol dimethacrylate, EGD-MA, 分析纯, ACROS 公司)使用前减压蒸馏除去阻聚剂; 甲醇、丙酮和冰乙酸均为国产分析纯; 乙腈

2009-09-27 收稿; 2009-12-04 接受

* E-mail: 3306160@tstc.edu.cn

(MeCN, 色谱纯, ACROS 公司); 偶氮二异丁腈 (2, 2'-Azobisisobutyronitrile, AIBN, 化学纯, 上海试剂四厂), 使用前用乙醇重结晶。

2.2 聚合物的合成

将 1 mmol T (189.2 mg IPA 或 203.2 mg IBA)、4 mmol (0.43 mL) 4-Vpy 加入到 180 mm × 18 mm 硬质玻璃管中, 溶于 10 mL 致孔剂 MeCN 中。为了保证 T 与 4-Vpy 充分作用, 超声 10 min。然后, 加入 20 mmol (3.78 mL) 交联剂 EGDMA 和 20 mg 引发剂 AIBN, 混匀, 通 N₂ 10 min, 液氮条件下真空封管。60 °C 水浴中反应 24 h。将所得的聚合物破碎、研磨、过筛, 得到粒径小于 50 μm 的颗粒, 用丙酮反复沉降聚合物颗粒, 倾泻法除去过细的颗粒后, 于 60 °C 下真空干燥得到对应的印迹聚合物 P(IPA) 和 P(IBA)。相应的空白聚合物 (Blank polymer, BP) 的制备和处理, 除聚合时不加入 T 外, 其余步骤同上。

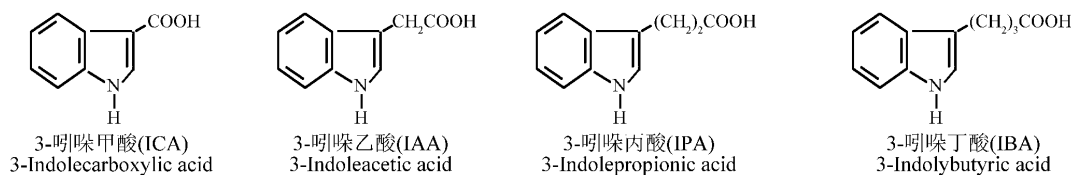
2.3 色谱法评价聚合物的分子识别性能

将聚合物装填于 150 mm × 4.6 mm 不锈钢色谱柱中。以 HAc-CH₃OH (2:8, V/V) 混合溶液为洗脱液, 将印迹聚合物 P(IPA) 和 P(IBA) 中的 T 以及未反应的 4-Vpy、EGDMA 等从聚合物中洗出; 再用 CH₃OH 洗去聚合物上残留的 HAc。BP 的洗脱过程与印迹聚合物相同。然后, 以 1.0 mL/min 的流速测定不同流动相中 T 及其结构类似物在色谱柱中的保留时间 t_R , 并用丙酮测量死时间 t_0 。组分浓度和进样量分别为 0.1 mmol/L 和 20 μL。计算容量因子 $k' = (t_R - t_0) / t_0$ 和相对保留值 $\alpha = k'_i / k'_t$, 其中 k'_t 和 k'_i 分别为 T 和各结构类似物的容量因子。

3 结果与讨论

3.1 色谱法表征印迹聚合物的分子识别特性

在对 MIP 分子识别性质的研究中, 通常选择 T 的结构类似物, 其目的是评价 MIP 对 T 的选择性。另外, 通过比较 MIP 对 T 及其结构类似物的保留情况, 可以为研究 MIP 的分子识别机理提供依据。为了探讨 3-吲哚羧酸分子中羧基取代基的性质对 MIP 分子识别性能的影响, 本研究选择不同碳链长度的吲哚羧酸 (图解 1) 作为 P(IPA) 和 P(IBA) 分子识别性能研究的结合底物。



图解 1 实验用底物的结构式

Scheme 1 Molecular structures of the substrates used

3.1.1 MeCN 流动相中 P(IPA) 和 P(IBA) 的分子识别性能 以 P(IPA) 和 P(IBA) 为固定相填料, 用色谱法对其分子识别性能进行了表征。为了反映由 T 的印迹效应而产生的亲和能力和选择性的提高, 本研究采用印迹因子 (IF) 和选择性因子 (f) 评价 T 的印迹效率。计算公式: $IF = k'_P / k'_{BP}$, $f = \alpha_P / \alpha_{BP}$; 式中 k'_P , α_P 和 k'_{BP} , α_{BP} 分别表示组分在印迹聚合物柱和空白聚合物柱上的容量因子和分离因子。IF 反映了印迹效应使印迹聚合物对 T 的亲和能力的提高程度; f 反映了印迹效应使印迹聚合物对 T 的选择性的提高程度。以乙腈为流动相, 测定了各实验底物在 P(IPA)、P(IBA) 和 BP 上的保留值 (表 1)。

由表 1 可知, P(IPA) 和 P(IBA) 分别对各自的模板分子 IPA 和 IBA 的 IF 值最大, 说明 P(IPA) 和 P(IBA) 分别对 IPA 和 IBA 产生了分子印迹效应。在 P(IPA) 上, 由 IPA 的 k' 和 IF 值远大于其结构类似物的可知, P(IPA) 对 IPA 具有很好的特异结合能力。同样, 在 P(IBA) 上, 由 IBA 的 k' 和 IF 值远大于其结构类似物的可知, P(IBA) 对 IBA 具有较强的特异结合能力。在实验底物中, P(IPA) 和 P(IBA) 分别对各自的模板分子 IPA 和 IBA 的 k' 最大, 而 IPA 和 IBA 是仅相差 1 个亚甲基的同系物, 这充分说明在 P(IPA) 和 P(IBA) 中分别存在与 IPA 和 IBA 互补的印迹空穴。由于 P(IPA) 和 P(IBA) 分别对 IPA 和 IBA 具有选择性结合能力, 有望应用于 IPA 和 IBA 的分离测定。

表 1 乙腈流动相中各底物在 P(IPA)、P(IBA) 和 BP 上的保留值

Table 1 Retentin of substrates on P(IPA) , P(IBA) and blank polymer (BP) in acetonitrile (MeCN) mobile phase

参数 Parameter	3-吲哚甲酸 3-Indolecarboxylic acid (ICA)	3-吲哚乙酸 3-Indoleacetic acid (IAA)	3-吲哚丙酸 3-Indolepropionic acid (IPA)	3-吲哚丁酸 3-Indolylbutyric acid (IBA)
$k'_{P(IPA)}$	4.38	5.07	12.82	4.50
$k'_{P(IBA)}$	3.00	2.59	3.18	6.36
$\alpha_{P(IPA)}$	2.93	2.53	1.00	2.85
$\alpha_{P(IBA)}$	2.12	2.46	2.00	1.00
k'_{BP}	3.85	3.18	3.00	2.80
$\alpha_{BP(IPA)}$	0.78	0.94	1.00	1.07
$\alpha_{BP(IBA)}$	0.73	0.88	0.93	1.00
$IF_{P(IPA)}$	1.14	1.60	4.27	1.61
$IF_{P(IBA)}$	0.78	0.81	1.06	2.28
$f_{P(IPA)}$	3.76	2.68	1.00	2.65
$f_{P(IBA)}$	2.92	2.79	2.15	1.00

流速(Flow rate): 1.0 mL/min; $IF_{P(IPA)} = k'_{P(IPA)} / k'_{BP}$; $f_{P(IPA)} = \alpha_{P(IPA)} / \alpha_{BP(IPA)}$; $IF_{P(IBA)} = k'_{P(IBA)} / k'_{BP}$; $f_{P(IBA)} = \alpha_{P(IBA)} / \alpha_{BP(IBA)}$ 。

3.1.2 MeCN/HAc 流动相中 P(IPA) 和 P(IBA) 的分子识别性能 为了阐明 P(IPA) 和 P(IBA) 的分子识别机理,考察了在流动相 MeCN 中加入少量 HAc 后,各实验底物在 P(IPA)、P(IBA) 和 BP 上的保留值(表 2)。

表 2 MeCN/HAc(99.4:0.6, V/V) 流动相中各底物在 P(IPA)、P(IBA) 和 BP 上的保留

Table 2 Retentin of substrates on P(IPA) , P(IBA) and BP in MeCN/HAc(99.4:0.6, V/V) mobile phase

参数 Parameter	3-吲哚甲酸 3-Indolecarboxylic acid (ICA)	3-吲哚乙酸 3-Indoleacetic acid (IAA)	3-吲哚丙酸 3-Indolepropionic acid (IPA)	3-吲哚丁酸 3-Indolylbutyric acid (IBA)
$k'_{P(IPA)}$	1.26	1.15	2.11	1.13
$k'_{P(IBA)}$	1.37	1.18	1.35	2.05
$\alpha_{P(IPA)}$	1.67	1.83	1.00	1.87
$\alpha_{P(IBA)}$	1.50	1.73	1.51	1.00
k'_{BP}	1.92	1.62	1.59	1.56
$\alpha_{BP(IPA)}$	0.83	0.98	1.00	1.02
$\alpha_{BP(IBA)}$	0.81	0.96	0.98	1.00
$IF_{P(IPA)}$	0.66	0.71	1.33	0.72
$IF_{P(IBA)}$	0.71	0.73	0.85	1.31
$f_{P(IPA)}$	2.02	1.87	1.00	1.83
$f_{P(IBA)}$	1.85	1.80	1.54	1.00

流速(Flow rate): 1.0 mL/min; $IF_{P(IPA)} = k'_{P(IPA)} / k'_{BP}$; $f_{P(IPA)} = \alpha_{P(IPA)} / \alpha_{BP(IPA)}$; $IF_{P(IBA)} = k'_{P(IBA)} / k'_{BP}$; $f_{P(IBA)} = \alpha_{P(IBA)} / \alpha_{BP(IBA)}$ 。

由表 2 可知,乙腈中加入少量 HAc 后,各实验底物在 P(IPA)、P(IBA) 和 BP 上的 k' 值均显著降低, f 值下降(与表 1 比较)。这是由于 HAc 作为酸性配体与各实验底物竞争结合聚合物上的吡啶基团,从而使其 k' 值降低, P(IPA) 和 P(IBA) 的印迹选择性下降。结果表明,静电作用在 P(IPA) 和 P(IBA) 的分子识别过程中起很重要的作用。

3.1.3 混合物溶液的色谱分离 为了直观反映印迹效应使 P(IPA) 对 IPA 特异性结合能力的提高,分别用 P(IPA) 和 BP 为色谱柱填料的印迹柱和空白柱,对相互间仅相差 1~2 个亚甲基的 3 种 3-吲哚羧酸同系物(IAA、IPA 和 IBA) 的混合物溶液进行色谱分离(图 1)。

从图 1a 可见,流动相为 MeCN 时,IAA、IPA 和 IBA 在 BP 上只洗脱出 1 个峰,说明在 BP 上三者不能分离;但在 P(IPA) 上(图 1b),IPA 可以与 IAA、IBA 分离。这是由于 IPA 的印迹效应,在 P(IPA) 中存在与 IPA 互补的印迹空穴, P(IPA) 对 IPA 有特异性结合能力,因此 IPA 与其同系物 IAA、IBA 能得到较好的分离。

3.2 不同吲哚羧酸分子印迹聚合物印迹效率的比较

为了阐明 T 的性质对 MIP 分子识别能力的影响,对 P(IPA)、P(IBA) 和同样条件下制备的 IAA 的印迹聚合物 P(IAA) 的印迹因子和印迹选择性因子进行了比较。乙腈为流动相时, P(IPA) 和 P(IBA) 对各自模板分子 IPA 和 IBA 的印迹因子 IF 值分别为 4.27 和 2.28(见表 1),而 P(IAA) 对 IAA 的 IF 值大

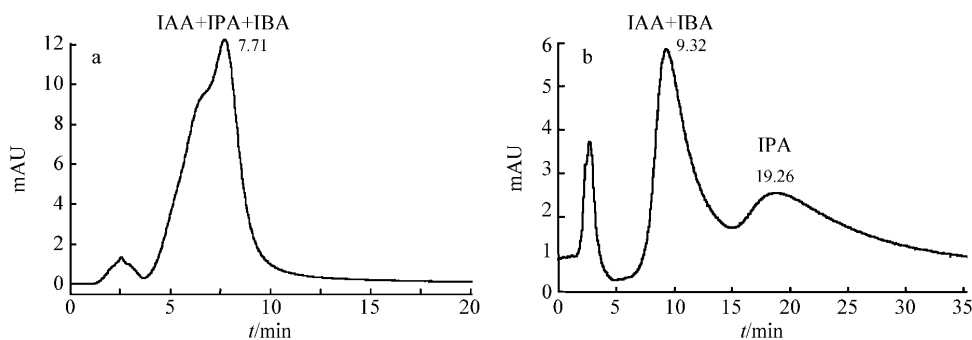


图 1 IAA (0.1 mmol/L)、IPA (0.2 mmol/L) 和 IBA (0.1 mmol/L) 混合物溶液在 BP 柱(a) 和 P(IPA) 柱(b) 上分离的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of the mixture of IAA (0.1 mmol/L), IPA (0.2 mmol/L) and IBA (0.1 mmol/L) on BP column(a) and P(IPA) column(b)

流动相 (Mobile phase): MeCN; 流速 (Flow rate): 1.0 mL/min; 检测波长 (Detection wavelength): 280 nm; 样品体积 (Sample volume): 20 μ L。

于 6 (将另文讨论); 流动相为 MeCN-HAc (99.4:0.6, V/V) 时, P(IAA)、P(IPA) 和 P(IBA) 对各自 T 的印迹因子 IF 值分别为 4.49, 1.33 和 1.31 (表 2)。由 IF 的比较可知, P(IAA)、P(IPA) 和 P(IBA) 对各自 T 的印迹因子随着 3-吡啶羧酸中羧基碳链的增长而下降。此外, 3 种印迹聚合物的印迹选择性因子 (f) 的变化情况与 IF 相似, 即随着 3-吡啶羧酸中羧基碳链的增长, 印迹聚合物的印迹选择性下降。对实验结果的解释如下: IAA、IPA 和 IBA 相互间只相差 1~2 个亚甲基, 随着羧基碳链的增长, 其酸性降低。因此, 它们与碱性的 4-Vpy 的静电作用随着羧基碳链的增长会减弱, 在预聚合混合物溶液中 M-T 复合物的稳定性会随之降低, 因此, 随着 3-吡啶羧酸羧基碳链的增长, 其印迹效率降低, MIP 的分子识别能力下降。

3-吡啶羧酸是一类有机酸, 在预组装过程中, 3-吡啶羧酸分子中的一COOH 可以和碱性功能单体 4-Vpy 中的氮以静电作用结合形成复合物, 加入交联剂并引发聚合后, 复合物被固定在聚合物网络中, 洗脱除掉模板分子后, 聚合物母体中留下了空间形状与 3-吡啶羧酸分子高度匹配、基团排布与之高度互补的立体空穴, 此空穴的三维形状与其中的作用位点可协同影响聚合物的分子识别性质。

References

- 1 WANG Rong-Yan (王荣艳), WANG Pei-Long (王培龙), WANG Jing (王静), WANG Xi-Chang (王锡昌), ZHONG Yao-Guang (钟耀广). *Modern Scientific Instruments (现代科学仪器)*, **2008**, 18(1): 11~16
- 2 OU Jun-Jie (欧俊杰), DONG Jing (董婧), WU Ming-Huo (吴明火), KONG Liang (孔亮), ZOU Han-Fa (邹汉法). *Chinese Journal of Chromatography (色谱)*, **2007**, 25(2): 129~134
- 3 Turiel E, Tadeo J L, Martin-Esteban A. *Anal. Chem.*, **2007**, 79(8): 3099~3104
- 4 Dias A C B, Figueiredo E C, Grassi V, Zagatto E A G, Arruda M A Z. *Talanta*, **2008**, 76(5): 988~996
- 5 ZHANG Qiang (张蔷), XU Mu-Dan (许牡丹). *Food Res. Dev. (食品研究与开发)*, **2005**, 26(1): 128~130
- 6 HU Xiao-Gang (胡小刚), LI Gong-Ke (李攻科). *Chinese J. Anal. Chem. (分析化学)*, **2006**, 34(7): 1035~1041
- 7 Surugiu I, Ye L, Yilmaz E, Dagoes A, Danellsson B, Mosbach K, Haupt, K. *Analyst*, **2000**, 125(1): 13~16
- 8 Tada M, Sasaki T, Iwasawa Y. *J. Mol. Catalysis A: Chemical*, **2003**, 199(1-2): 115~137
- 9 ZHENG Chao (郑超), GAO Ru-Yu (高如瑜), ZHANG Yu-Kun (张玉奎). *Chinese Journal of Chromatography (色谱)*, **2006**, 24(3): 309~314
- 10 ZHENG Xi-Ming (郑细鸣), TU Wei-Ping (涂伟萍). *Materials Rev. (材料导报)*, **2004**, 18(10): 57~59
- 11 SUN Bao-Wei (孙宝维), YANG Min-Li (杨敏莉), LI Yuan-Zong (李元宗), CHANG Wen-Bao (常文保). *Acta Chimica Sinica (化学学报)*, **2003**, 61(6): 878~884
- 12 Dauwe C, Sellergren B. *J. Chromatogr. A*, **1996**, 753(2): 191~200
- 13 Zhang T L, Liu F, Chen W, Wang J, Li, K A. *Anal. Chim. Acta*, **2001**, 450(1-2): 53~61

- 14 SU Li-Qiang(苏立强), WANG Yuan(王远), HAN Shuang(韩爽), ZHANG Wei-Bing(张维冰). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), 1999, 27(12): 1420 ~ 1423

Influence of Properties of Indole-3-Carboxylic Acids on Their Molecular Imprinting Efficiency

ZHANG Tie-Li*, JIA Jun-Fang, LU Wen-Bo

(Department of Chemistry, Tangshan Teachers College, Tangshan 063000)

Abstract Molecular recognition abilities of molecularly imprinted polymers of 3-indolepropionic acid (P(IPA)) and 3-indolybutyric acid(P(IBA)) were prepared using 3-indolepropionic acid and 3-indolybutyric acid as template molecule, respectively, 4-vinylpyridine (4-Vpy) as functional monomer, ethyleneglycol dimethacrylate(EGDMA) as cross-linker and acetonitrile as porogen by bulk non-covalent imprinting technique. The molecular recognition performances were evaluated by high performance liquid chromatography. The results showed that both P(IPA) and P(IBA) exhibited molecular recognition ability for IPA and IBA, respectively, in the mobile phase of acetonitrile. The affinity and specificity of the two polymers reduced in acetonitrile/HAc mobile phase, which proved that electrostatic interaction played an important role in the molecular recognition processes. In addition, the comparison of molecular recognition ability was made among P(IPA), P(IBA) and P(IAA), which was synthesized under the same conditions as P(IPA) and P(IBA) except for the template molecule. The imprinting factors(IF) were larger than 6.00, 4.27 and 2.28 for IAA, IPA and IBA, respectively, in acetonitrile mobile phase, i. e. the imprinting efficiency decreased with the increase of the carbon-number in the indole-3-carboxylic chain. The study confirmed that there were cavities with the shape and orientation of the functional groups complementary to those of IPA and IBA, respectively, in P(IPA) and P(IBA). And the molecular imprinting efficiency reduced with the decrease of the acidity of the indole-3-carboxylic acid.

Keywords Molecularly imprinted polymer; Molecular recognition; High performance liquid chromatography; 3-Indoleacetic acid; 3-Indolepropionic acid; 3-Indolybutyric acid; Imprinting efficiency

(Received 27 September 2009; accepted 4 December 2009)

《超声提取分离》

该书是化学工业出版社的《现代分离科学与技术丛书》之一。利用超声提取分离物质中化学成分已经在在中药材有效成分提取等许多领域得到了广泛的应用。超声提取的特点是提取时间短、提取效率高、方便快捷。该书详述了超声提取分离的基本原理和设备装置;列举了超声波在中草药单味药、复方药、油脂、食品、环保、化工等领域工业提取的应用实例;还从植物细胞入手深入地探讨了超声提取分离的规律性和辅助溶剂提取的基本原理。该书可供该药从事药品和食品生产技术和检测人员及高等院校相关专业师生参考。

该书由郭孝武、冯岳松等编著,化学工业出版社出版,定价48.00元。