论文

金属卟啉分子印迹聚合物的合成与性能研究

曾庆斌^①, 吴健^{①*}, 徐志康^{②*}^① 浙江大学化学系, 杭州 310027^② 浙江大学高分子系, 杭州 310027

*通讯作者, E-mail: xuzk@zju.edu.cn; jianwu@zju.edu.cn

收稿日期: 2010-12-06; 接受日期: 2011-01-20; 网络版发布日期: 2011-04-19

doi: 10.1360/032010-900

摘要 以 5-(4-羟基苯基)-10, 15, 20-三苯基卟啉锌为印迹分子, 4-乙烯基吡啶为功能单体, 乙二醇二甲基丙烯酸酯为交联剂, 合成了具有金属卟啉识别能力的分子印迹聚合物. 紫外可见滴定光谱研究表明, 功能单体与印迹分子在聚合前形成 1:1 的配合物. 通过吸附试验、荧光光谱及斯卡查特分析法, 考察了分子印迹聚合物对锌卟啉化合物的识别性能. 结果表明, 印迹聚合物对结构类似的卟啉化合物具有良好的识别能力, 对印迹分子荧光性能的影响远大于其对应的非印迹聚合物. 在浓度较低时, 印迹聚合物对印迹分子的结合常数和最大结合量分别为: 1.61×10^6 L/mol 和 3.22×10^{-5} mol/g.

关键词分子印迹聚合物
锌卟啉
4-乙烯基吡啶
分子识别

1 引言

分子印迹聚合物是一类对特定目标化合物(印迹分子)具有识别位点和空间匹配结构的功能高分子. 其基本制备方法是由功能单体与印迹分子通过共价或非共价作用形成复合物, 经交联聚合后, 再将印迹分子从聚合物中去除, 从而在聚合物中留下大小、形状及功能基团的空间排列与印迹分子互补的空穴^[1, 2]. 自上世纪七十年代以来, 分子印迹技术引起了人们极大的兴趣与关注, 成为研究分子识别的强有力手段, 在分离纯化^[3, 4]、传感器^[5]以及模拟酶催化^[6]等方面显示出广阔的应用前景.

卟啉是一类广泛存在于自然界的化合物, 如叶绿素、血红素以及细胞色素 P450 等. 鉴于卟啉衍生物重要的化学、光电和生物功能, 人们对它开展了深入的研究, 已被广泛探讨用于电子传导、传感器、分子结合等. 近年来, 卟啉作为功能单体运用于分子印迹的研究也得到了关注^[7-9], 但将其作为印迹分子的研究少见报道. Zimmerman 等^[10, 11]通过酯键在卟啉

环上引入许多支链, 每一个支链末端带有双键, 然后分子内发生交联聚合, 再将酯键水解, 使卟啉分子从聚合物中去除, 得到卟啉分子印迹聚合物. 该方法印迹效果良好, 但其单体合成及聚合反应均较复杂, 成本较高.

本文作者在卟啉合成和功能化研究过程中, 从最基本的 5,10,15,20-四苯基卟啉(TPP)出发, 通过硝化、还原、重氮化及水解等步骤, 合成了 5-(4-硝基苯基)-10,15,20-三苯基卟啉(NTPP)、5-(4-氨基苯基)-10,15,20-三苯基卟啉(ATPP)和 5-(4-羟基苯基)-10,15,20-三苯基卟啉(HTPP), 再用醋酸锌进行插锌反应, 制备了相对应的锌卟啉 ZnTPP、ZnNTPP、ZnATPP 及 ZnHTPP (图 1)^[12, 13], 它们在分子结构上的差别仅限于苯环取代基的不同. 考虑到锌卟啉的轴向配位能力, 我们采用 4-乙烯基吡啶(4-VP)为功能单体, 通过锌卟啉与 4-乙烯基吡啶的配位作用, 获得锌卟啉的分子印迹聚合物(图 2).

采用紫外可见光谱滴定法测定了 4-VP 与各锌卟啉的结合情况, 并以 ZnHTPP 为印迹分子, 制备了相

图1 锌卟啉分子结构式

应的分子印迹聚合物. 通过吸附实验、荧光光谱以及斯卡查特分析法, 考察了印迹聚合物对结构类似的锌卟啉的分子识别性能、对印迹分子荧光性能的影响以及对印迹分子的再结合能力.

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

卟啉化合物参考文献制备并经 ^1H NMR 表征确认^[12, 13]. 4-乙烯基吡啶(4-VP, Acros 公司), 乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA, Acros 公司), 用前经减压蒸馏去除阻聚剂. 偶氮二异丁腈为分析纯, 用前经乙醇重结晶. 氯仿为分析纯, 用前经 P_2O_5 回流处理. 其他试剂均为分析纯, 直接使用.

Bruker DMX500 核磁共振仪; Shimadzu UV-2450 紫外可见光谱仪; Shimadzu RF5301 荧光光谱仪.

2.2 紫外可见光谱滴定法测定功能单体与印迹分子结合常数

在浓度固定的 ZnHTPP 氯仿溶液(2.5 $\mu\text{mol/L}$)中, 加入不同量的 4-VP(浓度为 0~2.5 mmol/L), 配制一系列溶液, 25 $^\circ\text{C}$ 恒温放置 12 h. 测定这一系列溶液的紫外可见吸收光谱. 根据各配合溶液吸光度的变化, 按以下方程得到两者的结合常数^[14].

$$\frac{\Delta A}{[L]} = -K_b \Delta A + K_b \Delta \epsilon l C$$

其中 ΔA 为各配合溶液相对于 ZnHTPP 在其最大吸收波长处吸光度的变化; $[L]$ 为溶液中 4-VP 的浓度; K_b 为结合常数; $\Delta \epsilon$ 为配合反应前后摩尔消光系数的变化; l 为比色皿的长度; C 为 ZnHTPP 的起始浓度.

同样, 我们可以获得其他锌卟啉与 4-VP 的结合常数.

2.3 聚合物的制备

以 ZnHTPP 为印迹分子、4-VP 为功能单体的分子印迹聚合物 PVP(ZnHTPP)按以下方法制备: 将 ZnHTPP、4-VP、EGDMA、AIBN 加入到 5 mL 经 P_2O_5 干燥的氯仿中, 在氮气保护下超声波处理 20 min, 充分排除氧气后密封, 于 50 $^\circ\text{C}$ 水浴振荡反应 24 h, 得到紫色块状聚合物. 产物经研磨和 70 μm 筛分, 再用甲醇索氏提取 4 h, 充分洗去印迹分子及未聚合的单体, 得到分子印迹聚合 PVP(ZnHTPP). 非印迹聚合物 PVP(B) 按同样的方法制备, 只是不加印迹分子. 以苯乙烯(ST) 为单体的相应聚合物按同样的方法制备, 只是将单体由 4-VP 换成 ST(表 1).

图2 以 4-乙烯基吡啶(4-VP)为功能单体, 5-(4-羟基苯基)-10,15,20-三苯基卟啉锌 (ZnHTPP) 为印迹分子制备分子印迹聚合物示意图

表1 印迹与非印迹聚合物的制备

Polymer	ZnHTPP (mg)	4-VP/ST (mg)	EGDMA (mg)	AIBN (mg)
PVP(ZnHTPP)	138	42 ^{a)}	1584	28
PVP(B)	0	42 ^{a)}	1584	28
PST(ZnHTPP)	138	42 ^{b)}	1584	28
PST(B)	0	42 ^{b)}	1584	28

a) PVP(ZnHTPP) 和 PVP(B) 以 4-乙烯基吡啶为功能单体;

b) PST(ZnHTPP) 和 PST(B) 以苯乙烯为单体

2.4 吸附实验

在四种不同的锌卟啉 ZnHTPP、ZnNTPP、ZnATPP、ZnTPP 的二氯甲烷溶液中(5 mL, 50 $\mu\text{mol/L}$), 各加入 5 mg 印迹聚合物 PVP(ZnHTPP), 于 25 $^{\circ}\text{C}$ 振荡吸附 4 h, 经微孔膜过滤, 清液用紫外可见光谱测定锌卟啉含量, 并与其起始浓度对比, 计算出印迹聚合物对各锌卟啉的吸附率. 同样的方法, 测定其他聚合物对各锌卟啉的吸附能力. 此外, 以甲醇为溶剂, 测定了印迹聚合物 PVP(ZnHTPP) 对各种锌卟啉的吸附能力, 并与二氯甲烷溶液进行对比, 考察溶液极性对吸附作用的影响.

2.5 荧光光谱分析

在 8 份相同浓度 ZnHTPP 的二氯甲烷溶液中(10 mL, 1 $\mu\text{mol/L}$), 分别加入不同量的印迹聚合物 PVP(ZnHTPP) (0~6 mg), 于 25 $^{\circ}\text{C}$ 振荡吸附 4 h, 再对混合物用 420 nm 激发, 测定荧光光谱. 未与 PVP(ZnHTPP) 作用的 ZnHTPP 溶液的最大荧光强度设为 I_0 , 与 PVP(ZnHTPP) 作用后, 相同波长处的荧光强度设为 I , 对比作用前后的相对荧光强度 I/I_0 , 考察印迹聚合物的加入对 ZnHTPP 溶液荧光光谱的影响. 作为对比, 也考察了非印迹聚合物 PVP(B) 对 ZnHTPP 溶液荧光强度的影响.

2.6 斯卡查特分析

取 12 份印迹聚合物 PVP(ZnHTPP) (5 mg), 分别加入到不同浓度 ZnHTPP 的二氯甲烷溶液中(0~1 mmol/L). 于 25 $^{\circ}\text{C}$ 振荡吸附 4 h, 经微孔膜过滤, 用紫外可见光谱测定清液中锌卟啉的浓度 $[\text{ZnHTPP}]_f$, 与锌卟啉的起始浓度对比, 计算出印迹聚合物对 ZnHTPP 的吸附量 B , 按下列斯卡查特方程进行分析^[15].

$$\frac{B}{[\text{ZnHTPP}]_f} = K_b (B_{\max} - B)$$

其中 K_b 为结合常数, $B_{\max}$ 为印迹聚合物对 ZnHTPP 的最大吸附量. 通过方程的斜率与斜距可以分别计算出 K_b 和 $B_{\max}$.

3 结果与讨论

3.1 锌卟啉与 4-VP 的相互作用

印迹分子 ZnHTPP 与功能单体 4-VP 的紫外可见滴定光谱如图 3 所示. ZnHTPP 的最大吸收波长为 420 nm, 随着 4-VP 浓度的增加, 配合溶液在 420 nm 处的吸光度逐渐减弱, 而在 428 nm 处的吸光度不断增强, 最终最大吸收波长红移 8 nm, 并出现等吸光点. 将各配合溶液相对于纯 ZnHTPP 溶液在 420 nm 处的吸光度的变化标为 ΔA , 各配合溶液中 4-VP 的浓度标为 $[L]$, 当 4-VP 加入的量远大于 ZnHTPP 时(图 3, e~i), 其浓度 $[L]$ 可以视作等于其起始浓度. 将 ΔA 与 $\Delta A/[L]$ 作图, 得到一直线, 这表明 ZnHTPP 与 4-VP 形成 1:1 的配合物, 直线的斜率等于它们之间的结合常数^[14].

其他锌卟啉与 4-VP 的紫外滴定光谱也有类似的变化. 通过这些紫外可见滴定光谱的测定, 可以得到各锌卟啉与 4-VP 的结合常数, 如表 2 所示. 结果表明, ZnNTPP 与 4-VP 有着最大的结合常数, 这是因为它带有吸电子基团, 降低了卟啉环的电子云密度, 有利于其与 4-VP 之间形成配位键. 而带给电子基团的 ZnATPP 与 4-VP 的结合常数最低.

图3 印迹分子 ZnHTPP(2.5 $\mu\text{mol/L}$)与功能单体 4-VP 在二氯甲烷中的紫外可见光谱滴定图. (a) 0; (b) 2.5; (c) 12.5; (d) 100; (e) 150; (f) 250; (g) 1000; (h) 1500; (i) 2500 $\mu\text{mol/L}$. 内图为 420 nm 处吸光度变化值与 4-VP 浓度关系图

表 2 4-VP 与种锌卟啉的结合常数

Porphyrins	$K_b (\times 10^3 \text{ L/mol})$
ZnHTPP	17.7
ZnATPP	14.7
ZnNTPP	33.9
ZnTPP	18.2

3.2 聚合物对锌卟啉的吸附性能

以 ZnHTPP 为印迹分子、4-VP 为功能单体制备了分子印迹聚合物 PVP(ZnHTPP). 作为对比, 还制备了其对应的非印迹聚合物 PVP(B)、以苯乙烯为单体的相应聚合物 PST(ZnHTPP)和 PST(B). 对于这四种聚合物, 分别考察了它们对不同锌卟啉的吸附率, 结果如图 4 所示.

如图所见, 印迹聚合物 PVP(ZnHTPP)对所有锌卟啉的吸附能力均明显强于其他三种聚合物. 这表明在印迹聚合物中形成了印迹空穴, 有利于锌卟啉进入, 并与聚合物中的吡啶残基形成配位作用. 另一方面, 虽然 4-VP 与 ZnNTPP 的结合常数远大于 ZnHTPP, 但 PVP(ZnHTPP)对 ZnHTPP 的吸附能力远大于 ZnNTPP, 这表明, 印迹聚合物对被吸附分子的吸附能力不仅取决于功能单体与它的结合强弱, 还取决于印迹空穴与被吸附分子的空间结构匹配能力. 对于非印迹聚合物 PVP(B), 由于在制备时没有印迹分子的参与, 未能在聚合物中留下空穴, 它与锌卟啉再结合时只能是随机的配位作用, 因此它对锌卟啉作用较弱, 且它们的吸附率主要取决于 4-VP 与锌卟啉的结合强弱. 而对于以苯乙烯为单体制备的聚合物 PST(ZnHTPP)和 PST(B), 由于缺少与锌卟啉作用

图 4 各聚合物对不同锌卟啉的吸附率. 锌卟啉溶液: 50 $\mu\text{mol/L}$, 5 mL, 聚合物量: 5 mg

的位点, 因此, 它们对锌卟啉的吸附只是较弱的物理吸附作用, 吸附率均很低, 且两种聚合物差异不明显.

为考察介质极性对分子印迹聚合物识别性能的影响, 进行了 PVP(ZnHTPP)在二氯甲烷和甲醇溶液中对锌卟啉的吸附率对比实验, 结果如表 3 所示. 印迹聚合物在甲醇中对各锌卟啉的吸附率远低于在二氯甲烷中的相应值, 表明强极性溶剂不利于 PVP(ZnHTPP)与锌卟啉的相互作用.

3.3 荧光光谱

锌卟啉能与含氮杂环化合物形成稳定的轴向配位, 且其特征的荧光光谱可以灵敏地感应这种作用. 因此, 研究印迹聚合物 PVP(ZnHTPP)对印迹分子 ZnHTPP 溶液荧光光谱的影响, 可以考察它们之间的相互作用, 并与非印迹聚合物进行比较. 如图 5 所示, 采用 420 nm 激发时, ZnHTPP 二氯甲烷溶液在 594 nm 处有最大发射荧光强度. 随着印迹聚合物 PVP(ZnHTPP)的逐渐加入, 其在 594 nm 处的发射强度逐渐减弱, 而在 610 nm 处的发射强度逐渐增强, 最终最大发射波长红移到 610 nm. 非印迹聚合物 PVP(B)对 ZnHTPP 二氯甲烷溶液的荧光光谱有着相

表 3 在二氯甲烷和甲醇溶液中的吸附对比

Solvent	PVP(ZnHTPP)对锌卟啉的吸附率 (%)			
	ZnHTPP	ZnNTPP	ZnATPP	ZnTPP
CH_2Cl_2	80.5	52.7	35.9	39.1
CH_3OH	45.6	36.2	22.5	28

图 5 ZnHTPP 二氯甲烷溶液与 PVP(ZnHTPP)吸附后的荧光光谱. ZnHTPP: 1 $\mu\text{mol/L}$, 10 mL; PVP(ZnHTPP): (a) 0; (b) 0.5; (c) 1; (d) 2; (e) 3; (f) 4; (g) 5; (h) 6 mg

似的影响,但变化程度要小得多. 设 594 nm 处,纯 ZnHTPP 二氯甲烷溶液的荧光强度为 I_0 , 加入印迹聚合物后荧光强度设为 I , 比较相对荧光强度 I/I_0 的变化. 结果如图 6 所示, 印迹聚合物加入后, 印迹分子的相对荧光强度迅速降低, 而非印迹聚合物加入后, 相对荧光强度变化较缓慢. 这说明, 印迹聚合物中留下了与印迹分子结构匹配的空间, 有利于印迹分子进入, 并与功能分子残基形成轴向配位作用. 而对于非印迹聚合物, 因为没有印迹空间, 它与锌卟啉的作用弱得多.

3.4 斯卡查特分析

斯卡查特分析是表征印迹聚合物对印迹分子吸附能力的一种常用方法, 可以得到它们之间的结合常数以及最大结合量. 如图 7 所示, 印迹聚合物

图6 印迹分子 ZnHTPP 与印迹聚合物 PVP(ZnHTPP) (a) 和非印迹聚合物 PVP(B) (b) 吸附后在 594 nm 处的相对荧光强度(λ_{ex} : 420 nm)

图7 印迹聚合物 PVP(ZnHTPP) 对印迹分子 ZnHTPP 的斯卡查特吸附曲线

PVP(ZnHTPP)对印迹分子 ZnHTPP 的斯卡查特图呈非线性关系, 这样的吸附线常见于非共价法制备的分子印迹聚合物, 表明聚合物与印迹分子的作用是非单一的^[15]. 从图可见, 当聚合物对印迹分子吸附量较少时(0~20 $\mu\text{mol/g}$), 斯卡查特吸附图表现为线性关系, 并可计算出这一范围内, 印迹聚合物对印迹分子的结合常数和最大结合量分别为 $1.61 \times 10^6 \text{ L/mol}$ 和 $3.22 \times 10^{-5} \text{ mol/g}$.

4 结论

以 4-VP 为功能单体, ZnHTPP 为印迹分子, 通过配位作用制备了分子印迹聚合物. 吸附试验, 荧光光谱实验及斯卡查特分析表明该印迹聚合物对锌卟啉有着良好的识别能力, 印迹聚合物对印迹分子的荧光性能有着强烈的影响.

致谢 本工作得到国家自然科学基金(50973094 & 50473038)的资助, 特此致谢.

参考文献

- Wulff G. Molecular imprinting in cross-linked materials with the aid of molecular templates—A way towards artificial antibodies. *Angew Chem Int Ed*, 1995, 34: 1812–1832
- Haupt K, Mosbach K. Molecularly imprinted polymers and their use in biomimetic sensors. *Chem Rev*, 2000, 100: 2495–2504
- Wulff G, Minarik MJ. Template imprinted polymers for HPLC separation of racemates. *Liquid Chromatogr*, 1990, 13: 2987–3000
- Stevenson D. Molecular imprinted polymers for solid-phase extraction. *Trends Anal Chem*, 1999, 18: 154–158
- Shoji R, Takeuchi T, Kubo I. Atrazine sensor based on molecularly imprinted polymer-modified gold electrode. *Anal Chem*, 2003, 75: 4882–4886
- Locatelli F, Gamez P, Lemaire M. Molecular imprinting of polymerised catalytic complexes in asymmetric catalysis. *J Mol Catal A: Chem*,

- 1998, 135: 89–98
- 7 Matsui J, Higashi M, Takeuchi T. Molecularly imprinted polymer as 9-ethyladenine receptor having a porphyrin-based recognition center. *J Am Chem Soc*, 2000, 122: 5218–5219
 - 8 Takeuchi T, Mukawa T, Matsui J, Higashi M, Shimizu KD. Molecularly imprinted polymers with metalloporphyrin-based molecular recognition sites coassembled with methacrylic acid. *Anal Chem*, 2001, 73: 3869–3874
 - 9 Lee JD, Greene NT, Rushton GT, Shimizu KD, Hong JI. Carbohydrate recognition by porphyrin-based molecularly imprinted polymers. *Org Lett*, 2005, 7: 963–966
 - 10 Zimmerman SC, Wendland MS, Rakow NA, Zharov I, Suslick KS. Synthetic hosts by monomolecular imprinting inside dendrimers. *Nature*, 2002, 418: 399–403
 - 11 Zimmerman SC, Zharov I, Wendland MS, Rakow NA. Molecular imprinting inside dendrimers. *J Am Chem Soc*, 2003, 125: 13504–13518
 - 12 Wu J, Shi WM, Wu D. Synthesis and photocytotoxicity of nitroxyl radical-substituted porphyrin. *Chem Lett*, 2004, 33: 460–461
 - 13 Wan LS, Wu J, Xu ZK. Porphyrinated nanofibers via copolymerization and electrospinning. *Macromol Rapid Commun*, 2006, 27: 1533–1538
 - 14 Connors, Kenneth A. *Binding Constants: The Measurement of Molecular Complex Stability*. New York: Wiley Press, 1987
 - 15 Yamamura HI, Enna SJ, Kular MJ. *Neurotransmitter Receptor Binding*. New York: Raven Press, 1985

Synthesis and properties of molecularly imprinted polymers for metalloporphyrins

ZENG QingBin¹, WU Jian¹ & XU ZhiKang²

¹ Department of Chemistry, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China

² Department of Polymer Science and Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China

Abstract: A novel kind of molecularly imprinted polymer to the template of 5-(4-hydroxyphenyl)-10,15,20-triphenylporphinatozinc (II) was prepared by using 4-vinylpyridine as the functional monomer and ethylene glycol dimethacrylate as the cross-linker. The interaction between 4-vinylpyridine and the template as well as three other zinc porphyrin analogs was quantitatively investigated with UV-vis titration spectroscopy, and the binding constants were calculated accordingly. Batch rebinding and fluorescence spectrum measurements were applied to characterize the recognition properties of obtained polymers. It was found that the molecularly imprinted polymer showed specific affinity to the template molecule in comparison with other zinc porphyrin analogs. Scatchard analysis on the molecularly imprinted polymer was performed. The association constant and the maximum number of binding sites were estimated to be 1.61×10^6 L/mol and 3.22×10^{-5} mol/g, respectively.

Keywords: molecularly imprinted polymer, zinc porphyrin, 4-vinylpyridine, molecular recognition