

分子烙印技术在分析化学中的应用^{*}

游 静 陈淑莲 王国俊^{**} 陆豪杰

(中国科学院兰州化学物理研究所 兰州 730000)

摘 要:分子烙印技术是一种制备具有特定选择性和亲合性的分子识别材料的技术。它在烙印分子存在的情况下,功能性单体与交联剂共聚制得高交联的聚合物网络,移去烙印分子后就得到了对烙印分子具有分子记忆效应的分子烙印聚合物。它在分析化学、催化和有机合成等领域都具有应用价值。该文主要介绍了烙印聚合物在分析化学中的应用研究,着重于它在色谱技术中的应用,尤其是在毛细管电色谱中的应用。最后对该技术的发展前景进行了讨论。

关键词:分子烙印技术;分子烙印聚合物;色谱固定相;毛细管电色谱

中图分类号:O657.72

文献标识码:A

文章编号:1006-3757(1999)04-0193-09

分子烙印技术(Molecular Imprinting Technique, MIT)是选用能与烙印分子产生特定相互作用的功能性单体,在烙印分子周围与交联剂进行聚合,形成三维交联的聚合物网络。通过萃取除去烙印分子,在聚合物网络中形成形态和化学功能团与烙印分子互补的孔穴,它对烙印分子具有特殊的亲

合性。这种对烙印分子具有分子记忆效应的聚合物就称作分子烙印聚合物(Molecular Imprinted Polymer, MIP)。整个聚合过程可分为三步:烙印、聚合和萃取,如图1所示。该技术不需要复杂的多步合成设计过程就可制备具有特定识别点的聚合物,故引起了人们的极大兴趣。

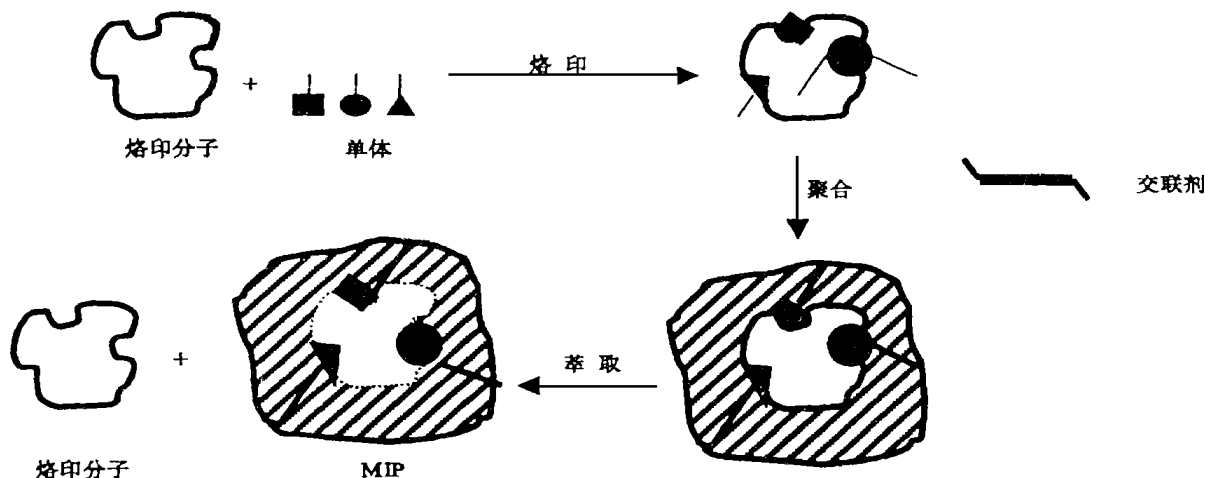


图1 分子烙印聚合物制备过程简图

Fig. 1 The schedule of the preparation of molecular imprinted polymer

^{*} 国家自然科学基金资助项目(29875033)。

^{**} 通讯联系人。

收稿日期: 1999-09-08; 收到修改稿日期: 1999-10-17。

1940年 Pauling^[1]在研究抗体生物合成理论时提出可以制备一种对待测分子“烙印”的材料,以对这种化合物展示强保留的想法。他发现一根多肽链能以多种低能量的构象存在,可能因为一根多肽链中存在不同的烙印分子,故可以折叠形成不同的抗体构型,各自对烙印分子具有特定的亲合性。该假设为以后 MIT 的发展奠定了思想基础。1949年 Dickey^[2]用染料甲基橙作为烙印分子,酸化硅酸盐溶液形成染料烙印胶体,干燥并洗去染料后得到了对甲基橙比乙基橙吸附能力高两倍的吸附材料,而用乙基橙作烙印分子时,结果正好相反。70年代初期, Wulff 等^[3]首次提出“分子烙印技术”这个概念。此后,他们陆续进行了一系列开创性的研究工作。Mosbach 等^[4,5]提出了非共价 MIT 方法并将这项技术运用于色谱固定相的制备。这二十年来分子烙印技术发展极其迅速,在多种领域中展现了独特的魅力。近两年来也引起了国内一些分析工作者的关注^[6~9],制备了手性高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 固定相和固相吸附剂等。

按照功能性单体和烙印分子间作用力的差异,通常把 MIT 分为两类。

共价法,也称预先组织法,烙印分子与单体通过共价键结合,当加入交联剂共聚后,烙印分子通过化学过程从聚合物网络上断开。该聚合物的制备及以后的分子识别过程都依赖于单体与烙印分子之间可逆的共价键。这类聚合物曾用于多种化合物的特定性识别,如糖类及其衍生物^[3,10,11],氨基酸及其衍生物^[12],芳基酮类^[13,14],转铁蛋白^[15],双醛类化合物^[16]和双辅酶 I^[17]等。

非共价法,也称自组装法,烙印分子与单体通过非共价键作用力结合,包括氢键,偶极作用,离子化作用,疏水作用等。该过程模拟生物中的分子间相互作用,故这种分子识别作用是通过多重分子间作用实现的,具有立体效应。尽管共价 MIP 的键合点更均匀,但非共价 MIP 可应用的基团更多,适用性更广,因此实际制备 MIP 过程中使用的多数为非共价法。故下文主要讨论这一类 MIP 的应用发展。

除了这两类基本模式外,另外还有一种技术综合了二者^[18,19],即聚合时单体与烙印分子间作用力是共价键,而在对烙印分子的识别过程中,二者的作用是非共价的。烙印分子胆固醇与单体 4-乙烯基苯碳酸酯共价结合后,通过水解使共价结合部断裂

形成酚羟基,在分子识别中通过氢键结合胆固醇^[19]。最近,用功能性单体与金属离子配位制备 MIP 也得到了发展,主要用于金属离子和蛋白质的分离^[20~25]。由于金属配位作用较强,可以用极性溶剂,而且这种方法的优点是可通过简单地变换金属种类实现对 MIP 亲合能力的调节。

作为一种高选择性的主体分子,MIP 在色谱固定相,高选择性的吸附材料,膜分离技术,模拟抗体的免疫分析,人造传感器,人工催化剂和组合化学筛分等领域中都有着美好的应用前景。

1 MIP 在色谱技术中的应用

1.1 色谱固定相的制备技术

MIP 是一种制备色谱固定相,尤其是制备手性固定相的强有力的技术。它作为色谱固定相已被成功地应用于 HPLC、TLC 和 CE 中。

通常制备 MIP 固定相的方法是整体 (bulk) 聚合,即采用 MIT 生成高交联的聚合物整体后,将其磨碎,并萃取回收烙印化合物,最后筛选合适的聚合物颗粒用来作为色谱固定相。但这样得到的颗粒不规则,从而影响柱效,尤其是对后出峰化合物;同时,由于需要研磨、筛分和填充步骤,过程费时费力。Matsui 等^[26]提出了制备连续整体 MIP 的概念,利用这种方法可以在线制备 MIP-HPLC 柱^[27]。Sellergren^[28]设计了分散聚合制备 MIP 的方法,选择单体可溶而聚合物不溶的分散介质,按照聚合条件的不同可制备不同孔径的微米级球形颗粒的聚集体,该方法可用于在线或离线两种方法制备 MIP 固定相。Mayes 等^[29]提出了悬浮聚合的方法,用与一般有机溶剂皆不互溶的全氟烃作为分散介质,加入特制的聚合物表面活性剂使烙印混合物形成乳液,聚合后得到粒度范围分布窄,形态规则的 MIP 颗粒。另外还可采用 MIP 涂层硅胶等复合材料作为 HPLC 固定相^[15,23,24,30~32]。对于这类新兴的分子烙印技术,Rimmer^[33]专门作了综述,Mayes 等^[34]也讨论了各种聚合技术的优缺点。

烙印分子通常带有多种功能团,如羧基,氨基,羰基和酰基等。选择能与这些基团作用的功能性单体是烙印技术的关键。尽管有多种单体(如乙烯基吡啶 (vinylpyridine, Vpy), *p*-乙烯基苯甲酸,乙烯基咪唑和 2-丙烯酰基-2-甲基-1-丙磺酸等)被采用,但异丁烯酸 (methacrylic acid, MAA) 是最常用的。通常认为它与氨基之间存在离子化作用,同酰基、羧

基、氨基甲酸酯间存在氢键作用。离子化作用强于氢键作用,故当 MIT 过程是通过离子化作用实现时,在识别过程中对烙印分子的选择性一般较强。乙二醇二异丁烯酸酯(ethylene glycol dimethacrylate, EDMA)是最常用的交联剂,但最近研究表明采用有多种键合基团的三羟甲基丙烷三异丁烯酸酯(trimethylolpropane trimethacrylate, TRIM)时,可以增强柱容量和提高 MIP 固定相的选择性和分辨率^[24,35~37]。

1.2 MIP-HPLC 固定相的应用

MIP 应用最广泛的领域是作为 HPLC 的固定相,一类是从结构相似化合物中分离出烙印分子的非手性固定相,另一类是以手性化合物为烙印分子制备的 MIP 手性固定相。

1.2.1 MIP-HPLC 非手性固定相的应用

Matsui^[27]制备的以金鸡纳生物碱类作烙印分子的 MIP 固定相成功分离了金鸡尼丁,金鸡宁,奎宁,奎尼丁。他们采用了 MAA 和 2-(三氟甲基)丙烯酸两种单体,由于后者酸性强,与烙印分子间作用更强,选择性极佳。Baggiani^[38]制备了以茶碱为烙印分子的 MIP 固定相,同时采用迎头色谱和区带色谱考察了 HPLC 流动相组成对分子识别过程的影响,指出在不同的色谱环境中,烙印分子与单体之间表现出不同的作用力。

MIP 的高选择性分离是通过模拟生物中相互作用和利用具有多重键合点的单体来实现的。Yano 等^[39]设计合成了一种新型单体 2,6-双(丙烯酰基)吡啶,它与目标分子间的作用是模拟核苷酸碱基对之间形成多种氢键的情况。他们用四氧嘧啶作烙印分子制得的 MIP 固定相,可将四氧嘧啶从其结构类似物可可碱和胸腺嘧啶中分离出来。他们同时还利用这种单体制备了巴比妥类药物的 MIP 固定相。

1.2.2 MIP-HPLC 手性固定相的应用

色谱直接手性分离是近年来分析科学中最引人注目的疑难领域之一,它的研究方兴未艾。但是常用的手性柱价格极其昂贵,例如一根环糊精 HPLC 柱就需要

10 000 以上。故制备一种有效而价格低廉的手性柱显得格外重要。MIP 同环糊精、冠醚和杯芳烃等相似,都属于主客体化学范畴,常用于手性分离,但 MIP 更有其独特的优点。它在作手性分离中介时,分离选择性,即对映体的出峰顺序可预测,而且, MIP 手性固定相容易制备,价格相对低廉,物理机

械性能良好,使用寿命长,能多次重复使用而不损失其分子记忆效应。

以 S-萘普生为烙印分子,4-Vpy 为单体与 EDMA 交联共聚得的 MIP 手性固定相^[40]成功地分离了外消旋萘普生,并将其从结构类似物酮基布洛芬和异丁基布洛芬中分离出来。烙印分子除了手性碳原子上的羧基与 4-Vpy 间有离子化作用外,手性碳上的芳基和甲基也对分子识别过程具有立体贡献。这正符合了立体选择性中必须具有“三点作用”的原则。

Mosbach 等^[41]曾用整体聚合制备的 MIP 作 HPLC 固定相成功实现了氨基酸衍生物对映体的手性分离。Matsui^[26]则采用了在线制备的连续整体 MIP-HPLC 柱分离了二氨基萘的位置异构体和苯丙氨酸替苯胺(Phenylalanine anilide, PA)对映体,当以 L-PA 作为烙印分子时,分离因子为 1.7,当以 S-PA 为烙印分子时,则分离因子为 1.4。Kempe 等^[31]以 Boc-L-Phe-OH 和 H-L-Phe-OH 为烙印分子,用整体聚合法制备了分离氨基酸对映体的手性固定相,同时利用表面聚合技术在硅胶上涂层 MIP 手性固定相用来分离生物高分子蛋白质,拓宽了 MIP 作为色谱固定相的应用范围。Ramström^[41]以氨基酸衍生物苄氧基碳酰基-L-酪氨酸(Cbz-L-Tyr-OH)为烙印分子,用 MAA 和 2-Vpy 混合单体制得 HPLC 手性固定相,研究了在有机和水溶液流动相中单体和烙印分子间作用力的变化,发现在水溶液中氢键作用被抑制,主要分离机理是离子化和疏水作用。Yu 等^[42]以丙烯酰胺为功能性单体,制得分离氨基酸衍生物对映体的 MIP 手性固定相。依赖疏水作用,这些 MIP 在水溶液中有良好的手性识别能力,随着流动相中水含量和离子强度的增加,分离能力增加,对 Boc-Trp-OH, Cbz-Trp-OH, Ac-Trp-OH, Boc-Tyr-OH, Boc-Phe-OH 和 Cbz-Glu-OH 对映体分离的分辨率分别为 2.15, 2.14, 0.98, 1.98, 0.93 和 0.88。Nicholl 等^[43]以 N-Ac-L-Phe-L-Trp-Ome 为烙印分子制备了分离缩氨酸对映体的手性 HPLC 固定相。对于 DD-, LL-N-Ac-Phe-Trp-Ome 的分离因子可达 3.30,同时他们着重研究了水对分子识别能力的影响以及和分子之间氢键的作用。Chen 等^[44]在以前制备的 D, L-PA 对映体分离的 MIP 手性固定相^[45]的基础上,考察了热处理对 MIP 手性识别能力的影响,进行了热力学和质传递动力学性质的研究。他们发现高温稍能增加质传递能力但同

时会导致分离因子锐减。

Hosoya 等^[46]发现使用手性单体,用外消旋体作为烙印分子制备 MIP 固定相,也具有手性分离能力。用 *N*-(3,5-二硝基苯酰基)- α -甲基苯胺(*N*-(3,5-dinitrobenzoyl)- α -methylbenzylamine, DNB) 作烙印分子,*S*-(-)-*N*-甲基丙烯酰基-1-萘乙胺(*S*-(-)-*N*-methacryloyl-1-naphthylethylamine, *S*-MNA) 作为手性功能单体制备的 MIP,比单独使用 *S*-MNA 作手性选择剂时手性识别能力增强,分离因子从 1.18 增到 1.40,接近用手性的 *S*-DNB 制备的 MIP 的手性识别能力(分离因子为 1.40~1.45)。

MIP 作为手性固定相时,最大的优点就是选择性可以预测,Whitcombe 等^[47]利用热力学分析与计算机模拟相结合,将烙印分子-单体配合物的平衡浓度和参与作用的基团的结合常数及反应物初始浓度相关联,从而预测在不同反应条件下经聚合反应生成的 MIP 的选择能力,真正实现了 MIP 所独有的预测性。

MIP 作为 HPLC 手性固定相,通常分离因子在 1.5~5.0 间,最高的达到了 17.8^[48],这表明 MIP 具有良好的手性识别能力。但是这类固定相最大的缺憾是由于键合点分布不均匀导致柱效低,这可通过新兴的聚合技术,流动相优化,梯度技术以及其它色谱技术的引入而逐步解决。尽管 MIP 在这方面的研究较多,但主要是应用 HPLC 来评价 MIP 的性能,到目前为止,还没有真正利用 MIP 作为 HPLC 固定相对实际样品分析的研究,因此样品基体干扰效应对 MIP 分离的影响还不清楚,有待将来更深入的探讨。

1.3 MIP 在薄层色谱中的应用

MIP 除了通常被用做 HPLC 的固定相外,在其它色谱技术中也得到了应用。Kriz 等^[49]用 *L*-苯丙氨酸酰替苯胺为烙印分子,MAA 为单体,EDMA 为交联剂制备的 MIP 作为薄层色谱手性固定相,成功地分离了 *D,L*-PA 对映体。尽管在这方面的研究极少,但如需要半定量的分离大量的样品时,这项技术将发挥它特有的优点。

1.4 MIP 在毛细管电色谱中的应用

自从 Gassmann^[50]首次报道了利用电泳技术分离手性对映体后,高效毛细管电泳技术在手性分离中展示了雄厚的实力^[51]。1974 年 Pretorius^[52]首次把电场引入色谱分离中,开创了一类新型的色谱分离技术——毛细管电色谱(capillary electrochroma-

tography, CEC)。将 MIP 用作 CEC 固定相,可克服 MIP-HPLC 柱效低的缺点。快速高效 CEC 与有预测能力的高亲和性的 MIP 相结合而成为一种高效高选择性的分离手段,这也是 MIP 技术发展中的重要进展。利用 MIP 进行 CEC 分离的技术包括了离线整体聚合的 MIP 制备填充 CEC 柱和凝胶 CEC 柱;在线聚合制备连续及多孔连续 CEC 柱;分散聚合在线制备 CEC 柱;内壁键合 MIP 涂层的开管 CEC 柱以及将 MIP 加入 CEC 流动相中作为手性添加剂等几种方式,下面将逐一进行讨论。

Lin 等^[53,54]将 *L*-PA 为烙印分子整体聚合制得的 MIP 磨碎并筛选出合适粒度的颗粒与丙烯酰胺凝胶混合填充毛细管柱,制备了以 MIP 为基础的毛细管凝胶亲合电泳柱。该柱除了对 PA 的手性分离外,还可用于对带苯基的氨基酸对映体分离,如苯丙氨酸、酪氨酸和苯基甘氨酸的分辨率分别为 1.45, 1.25 和 1.15。随后,他们^[55]以丹磺酰基-*L*-亮氨酸为烙印分子,MAA 和 2-Vpy 两种混合单体经整体聚合制备的 MIP 填充入毛细管柱,制备了 CEC 填充手性柱并用其分离了一系列丹磺酰基氨基酸,分辨率在 0.56 到 1.20 之间,该柱对非丹磺酰基化合物完全无分离能力,表明化合物的结构是分辨的原因之一。他们还利用这种方法制得了分离苯丙氨酸和 PA 的 MIP 手性 CEC 填充柱^[56],发现用同样 MIP 制备的 CEC 柱分离柱效明显优于 HPLC 柱。

更多 CEC 的 MIP 手性柱的制备则采用了在线聚合技术。Nilsson 等^[57]首先将 MIP 用于 CEC 技术,用分散聚合成功地制备了分离苯甲脒和喷他脒的 MIP-CEC 柱。但是,用 *L*-PA 作烙印分子制备的 MIP 无手性识别能力,其原因可能是由于使用的分散介质为极性溶剂,干扰了分子间的氢键和离子化作用。

Lin 等^[58]以 *L*-PA 为烙印分子在线制备了连续 MIP 整体 CEC 手性柱,但在前处理毛细管内壁时采用了格氏试剂,由于操作条件要求苛刻使该法不易推广。Schweitz 等^[59,60]以 β -肾上腺素功能药物对抗素 *R*-萘心安和 *S*-美托洛尔为烙印分子,用 MAA 和 TRIM 在线共聚制备了 MIP-CEC 柱,其柱对两种对映体的分辨率分别是 1.26 和 1.17。这种方法制备的 CEC 柱是一种超孔的连续 MIP,具有良好的扩散性,可以通过加入 1%~25% 的异辛烷作致孔剂^[61]或严密控制聚合条件^[60]得到。同时,由于 MIP 的高稳定性可以使用高电压而无损于固定相。

因此,该法在 2 min 内能实现基线分离,比以纤维素水解酶 I 为手性选择剂的毛细管凝胶亲合电泳^[61]的分离时间短 10 倍。整个制柱过程可在 3 h 内完成,是目前最成功的 MIP-CEC 技术。采用同样技术以麻醉剂 S-罗比卡因作烙印分子制备的手性 MIP 固定相的 CEC 柱不仅能分离罗比卡因对映体,也能用于其结构类似物甲哌卡因和丁哌卡因的手性分离^[35]。

Br üggemann 等^[62]认为在毛细管内壁键合三维结构的 MIP 厚膜涂层比以连续 MIP 形式填充毛细管效果较好,这样可避免 CEC 过程中气泡的产生。他们考察了 7 种致孔剂和 2 种交联剂对制备 MIP 手性固定相涂层的影响,并以 (S)-2-苯丙酸为烙印分子,反-3-(3-吡啶基)丙烯酸与二乙烯基苯在二甲亚砷溶液中聚合制备了分离苯丙酸对映体的手性 MIP 涂层开管 CEC 柱。

除用 MIP 作手性固定相外,Walsh 等^[63]用以 (S)-萘心安为烙印分子制得的 MIP 作为 CEC 电解质的手性添加剂成功地分离了萘心安对映体。

由于通常应用的手性试剂价格昂贵,手性识别机理未能完全了解,分离选择性不可预测,使用 MIP 可解决这些问题。因此它作为一种新型的手性色谱固定相将会日益受到人们的青睐。为保证 MIP 的高选择性,应该选择最优化的条件,即选择合适的单体种类和浓度,根据分子间作用力的不同和分子溶解性的不同选择致孔剂,如当烙印分子与单体之间是氢键作用时,则应当避免使用具有氢键作用的溶剂,另外通常认为低温光引发聚合制备的 MIP 的选择性高于热引发聚合制备的 MIP^[64]。

2 MIP 在分析领域的其它应用

MIP 除作色谱固定相之外还常用作固相吸附剂、免疫分析中的模拟抗体和传感器材料。

由于 MIP 具有特定的亲合性和极强的选择性,因此可作固相吸附剂和具有高选择性的膜材料,从复杂的生物或环境样品中有选择性地实现样品的富集和净化。用 MIP 作为 SPE 填料可以用于生物样品分析^[65~70]和环境分析^[71]。Matsui 等^[72]用色谱检验表明以除草剂阿特拉津为烙印分子制备的模拟受体,发现它对阿特拉津的保留是非烙印聚合物的 60 倍。用除草剂的容量因子来估算 MIP 的选择性,在所有三嗪类除草剂中对阿特拉津的保留最大,而其余结构不相似除草剂的保留值不超过对阿特拉

津的 1 %,因而预期这类 MIP 在除草剂分析中可作为很好的吸附材料。Muldoon 等^[70]将这种 MIP 用作固相吸附剂对实际生物样品牛肝中的阿特拉津进行净化,并用 HPLC 和酶联免疫分析法 (ELISA) 分别测定,在用 MIP 纯化牛肝样品的氯仿提取液时前后两种方法的回收率分别从 60.9 %和 79.6 %提高到了 88.7 %和 92.8 %。Søllergren^[65]用分散聚合制备的戊双脒的 MIP 作为固相吸附剂对实际尿样中痕量戊双脒纯化,消除了样品中其他成分的干扰,简化了色谱分析。Martin 等^[67]用 rac-萘心安为烙印分子的 MIP 从血清、胆汁和尿液中有效地萃取了萘心安。Zander 等^[69]用尼古丁为烙印分子的 MIP 作固相萃取材料对尼古丁 (nicotine, NIC) 及其氧化产物进行了纯化,再用离线 HPLC 测定。对于检测的四种化合物,尼古丁、myosmine (MYO)、可替宁 (cotinine, COT) 和 β -烟碱烯 (β -nicotyrine, NIC) 在用 MIP 除去干扰物后,三种检测物显示了高回收率,结果分别为 NIC (101 % $\pm$ 4 %), MYO (111 % $\pm$ 6 %), COT (106 % $\pm$ 11 %);但当用 C₁₈ 进行纯化时,仅检出了尼古丁;无纯化步骤时,一种化合物也不能检测到。

Vlatakis 等^[5]指出可以利用化学方法较简便快速的制备高选择性的 MIP 来代替传统的生物抗体,从而避免了从动物体分离抗体或用细菌产生抗体的繁杂工作。他们用茶碱或安定作烙印分子制备了 MIP,并将其用于放射配基分析 (radiolabelled ligand-binding assay, RLBA) 测定了人体血清中的茶碱和安定。该法对茶碱的检测范围宽 (14~224 μ mol/L),对安定的检测线性范围也超过了标准 ELISA 技术 (0.44~28 μ mol/L)。MIP 的专一性也可与天然抗体相媲美,在对茶碱的分析中,交叉反应性仅结构极相似的 3-甲基黄嘌呤为 7 %,而应用天然抗体时则为 2 %,其它结构类似物均无干扰,交叉反应性均小于 1 %。MIP 作为模拟抗体时,另一优点是可以对那类难以产生天然抗体的化合物,如免疫抑制药物、非免疫抗原性物质和小分子化合物都可以制备模拟抗体。Haupt 等^[73]以除草剂 2,4-D 为烙印分子制备了 MIP 模拟抗体,并用于 2,4-D 的 RLBA 分析,在 $3.0 \sim 1.0 \times 10^{-4}$ ng/mL 范围内呈现良好的线性关系。由于大多数 MIP 在有机溶剂中使用,故对于需溶剂预处理样品 (如农残) 的分析特别有利。当用 MIP 的 RLBA 分析三嗪类除草剂时,尽管方法灵敏度比 ELISA 低,但无需将样品转入水相,简化

了分析步骤^[74]。

MIP作为一种高选择性材料还可以用作传感器的制备。用MIP代替生物传感器的生物元件能够得到刚性更好的传感器系统,而且用MIP还可得到没有天然的合适生物选择性材料化合物的高选择传感器。尽管理论上MIP可制得对许多化合物有专一选择性的传感器膜,但由于缺乏将这种键合过程转化为可测量信号的传感机理和方法,目前大多数工作仅局限于研究制备MIP传感器的可能性上。Sreenivasan^[75]以水杨酸为烙印分子,2-羟基乙基异丁烯酸酯与EDMA在甲醇中用⁶⁰Co辐射引发聚合制备了厚度为0.1 mm的MIP膜。他们用该膜对尿液中痕量水杨酸进行了吸附测定,发现在300 μg/mL以下溶液中水杨酸的浓度与吸附量呈线性关系,证明这种MIP材料可用于传感器的制造。Nomura等^[76]同样用HPLC证明了他们以2,4-D为烙印分子制备的MIP具有作为传感器材料的可能性。Kriz等^[77]报道了一种测定吗啡的MIP传感器系统,将MIP颗粒固定在绕铂电极的琼脂糖底材上,并以竞争结合机理用电化学检测法对吗啡进行分析。这种传感器相比与生物传感器更稳定,能承受高温,耐受苛刻的化学环境,使用寿命更长。Levi等^[78]研制了用于氯霉素检测的光学传感器系统,方法是基于分析物在MIP上竞争替代氯霉素-甲基红染料对,后者在460 nm处检测。方法的线性范围宽,(3.0~1.0×10³ μg/mL),他们用此测定了牛血清中的氯霉素含量。

3 MIP在其它领域中的应用

MIP除了在分析领域中得到了广泛应用外,在催化和有机合成领域中也初露锋芒。目前有人将其用作模拟抗体催化剂^[79],作为过渡态类似物,产生键合点,从而降低化学反应的活化能。MIP也可以作为化学反应中的选择性吸附剂,使存在MIP的情况下,热力学不利的反应平衡向产物生成一方移动^[80]。

在有机合成中MIP也可用作吸附剂除去反应副产物,以提高产品纯度。Ye等^[81]在合成天冬甜素时,用anti-β-L, L-N-(benzyloxycarbonyl) aspartylphenylalanine methyl ester(ZAPM)作烙印分子制备的MIP作吸附剂纯化反应粗产品,使产品纯度从59%提高到了96%。另外还可用MIP作为组合化学中的键合底材来对合成的化合物进行筛

选^[80]。

4 展 望

由于MIP具有高稳定性和强选择性,它在许多领域中皆表现不凡,但这并不表明MIP的研究已经相当深入,在各领域中都将进一步研究和应用这项技术。

首先,多数的MIP主要在非极性介质中制备,并且在水溶液中的使用受到了很大的限制,因此利用特殊的分子间作用力,如金属配位键等,在强极性溶剂中制备MIP还需要进一步研究。

其次,将MIP用于生物高分子分析是MIP发展过程中的一个新的里程碑,在这方面工作刚刚起步,需要进行的工作还很多。

第三,目前新出现一种“致孔剂烙印技术”^[31,82],即用结构类似化合物作烙印分子制备MIP用于高毒性,价格昂贵或稳定性差的化合物的分离分析技术。该技术对于MIT在实际生产和商品化的应用中将显示其特有的魅力,因此也是一个新的研究方向。

第四,在MIP作HPLC固定相的研究中如何提高柱效是迫切需要解决的问题,因此新兴的制柱技术的研究也可作为MIP固定相发展的方向。MIP与CEC技术的结合还处于刚起步阶段,在这方面还大有潜力可挖。

第五,由于常用制备MIP的单体种类有限,所以模拟生物体中非共价键多种作用,设计合成新型功能性单体也是MIP技术发展的保障。

最后,由于目前有关MIP的研究工作主要是几个研究小组在进行,都针对于分子烙印技术理论的研究,因此今后还应该在MIP的实际应用方面多做工作,以拓宽其应用面。

另外,最近T. Takeuchi等^[83]借用了组合化学技术制备了含49个单元的三嗪类除草剂的MIP组合库,并用瞬时筛选法与常规筛选法相结合针对MIP的亲合性和选择性进行了筛选。这种高产量组合分子烙印技术简化了条件优化工作,大大提高了MIP的制备效率,将成为MIP制备方法中的一颗璀璨的明珠。

参考文献

- [1] Pauling L. A theory of the structure and process of formation of antibodies[J]. J. Am. Chem. Soc., 1940, 62:2643~2657.
- [2] Dickey F H. The preparation of specific adsorbents[J]. Proc. Natl. Acad. Sci., 1949, 35:227~229.

- [3] Wulff G, Sharhan A, Zabrocki K. Enzyme-analogue built polymers and their use for the resolution of racemates[J]. *Tetrahedron Lett.*, 1973, 14:4329~4332.
- [4] Andersson L I, Sellergren B, Mosbach K. Imprinting of amino acid derivatives in macroporous polymers [J]. *Tetrahedron Lett.*, 1984, 25:5211~5214.
- [5] Vlatakis G, Andersson L I, Müller R, Mosbach K. Drug assay using antibody mimics made by molecular imprinting[J]. *Nature*, 1993, 361:645~647.
- [6] 孟子晖, 王清海, 朱道乾, 周良模. 分子烙印法在手性分离中的应用[J]. *分析化学*, 1997, 25:349~354.
- [7] 孟子晖, 周良模, 王进防, 王清海, 朱道乾. 复合作用分子烙印手性色谱固定相[J]. *分析化学*, 1998, 26:1251~1253.
- [8] Zhou Jie, He Xiwen, Gao Zhi. Enantiomeric recognition of continuous molecularly imprinted polymeric rod prepared by in situ method[J]. *高等学校化学学报*, 1999, 20(增刊):297.
- [9] 周杰, 何锡文. 分子模板聚合物在分析化学中的应用[J]. *分析测试学报*, 1998, 17:87~91.
- [10] Wulff G, Vesper W. Preparation of chromatographic sorbents with chiral cavities for racemic resolution[J]. *J. Chromatogr. A*, 1978, 167:171~186.
- [11] Wulff G, Schauhoff S. Racemic resolution of free sugars with macroporous polymers prepared by molecular imprinting: selectivity dependence on the arrangement of functional groups versus spatial requirements[J]. *J. Org. Chem.*, 1991, 56:395~400.
- [12] Damen J, Neckers D C. On the memory of synthesized vinyl polymers for their origins[J]. *Tetrahedron Lett.*, 1980, 21:1913~1916.
- [13] Shea K J, Sasaki D Y. On the control of microenvironment shape of functionalized network polymers prepared by template polymerization[J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, 111:3442~3444.
- [14] Shea K J, Dougherty T K. Molecular recognition on synthetic amorphous surfaces. The influences of functional group positioning on the effectiveness of molecular recognition[J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 1986, 108:1091~1093.
- [15] Glad M, Norrlof O, Sellergren B, Siegbahn N, Mosbach K. Use of silane monomers for molecular imprinting and enzyme entrapment in polysiloxane-coated porous silica [J]. *J. Chromatogr. A*, 1985, 347:11~23.
- [16] Wulff G, Heide B, Helfmeier G. Molecular recognition through the exact placement of functional groups on rigid matrices via a template approaches [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 1986, 108:1089~1091.
- [17] Norrlof O, Mansson M O, Mosbach K. Improved chromatography: prearranged distances between boronate groups by the molecular imprinting approach[J]. *J. Chromatogr. A*, 1987, 396:374~377.
- [18] Sellergren B, Andersson L. Molecular recognition in macroporous polymers prepared by a substrate analogue imprinting strategy[J]. *J. Org. Chem.*, 1990, 55:3381~3383.
- [19] Whitcombe M J, Rodriguez M E, Villar P, Vulfson E N. A new method for the introduction of recognition site functionality into polymers prepared by molecular imprinting: synthesis and characterization of polymeric receptors for cholesterol [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 1995, 117:7105~7111.
- [20] Mosbach K, Ramström O. Separating enantiomers by molecular imprinting[J]. *Bio/Technology*, 1996, 14:163~170.
- [21] Dhal P K, Arnold F H. Template-mediated synthesis of metal-complexing polymers for molecular recognition [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, 113:7417~7418.
- [22] Matsui J, Nicholls I A, Takeuchi T, Mosbach K, Karube I. Metal ion mediated recognition in molecularly imprinted polymers [J]. *Anal. Chem. Acta*, 1996, 335:71~77.
- [23] Plunkett S D, Arnold F H. Molecularly imprinted polymers on silica: selective supports for high performance ligand exchange chromatography[J]. *J. Chromatogr. A*, 1995, 708:19~29.
- [24] Welch C J. Imprinted brush-type chiral stationary phase[J]. *J. Chromatogr. A*, 1995, 689:189~193.
- [25] Vidyasankar S, Ru M, Arnold F H. Molecularly imprinted ligand-exchange adsorbents for the chiral separation of underivatized amino-acid[J]. *J. Chromatogr. A*, 1997, 775:51~63.
- [26] Matsui J, Kato T, Takeuchi T, Suzuki M, Yokoyama K, Tamiya E, Karube I. Molecular recognition in continuous polymer rods prepared by a molecular imprinting technique [J]. *Anal. Chem.*, 1993, 65:2223~2224.
- [27] Matsui J, Nicholls I A, Takeuchi T. Molecular recognition in cinchona alkaloid molecular imprinted polymer rods[J]. *Anal. Chim. Acta*, 1998, 365:89~93.
- [28] Sellergren B. Imprinted dispersion polymers: a new class of easily accessible affinity stationary phases [J]. *J. Chromatogr. A*, 1994, 673:133~141.
- [29] Mayes A G, Mosbach K. Molecularly imprinted polymer beads: suspension polymerization using a liquid perfluorocarbon as the dispersing phase[J]. *Anal. Chem.*, 1996, 68:3769~3774.
- [30] Narriw O, Glad M, Mosbach K. Acrylic polymer preparations containing recognition sites obtained by imprinting with substrates[J]. *J. Chromatogr. A*, 1984, 299:29~41.
- [31] Kempe M, Mosbach K. Separation of amino acids, peptides and proteins on molecularly imprinted stationary phases[J]. *J. Chromatogr. A*, 1995, 691:317~323.
- [32] Hosoya K, Yoshizako K, Sasaki H, Kimata K, Tanaka N. Molecular recognition towards coplanar PCBs based on the porogen imprinting effects of xylenes[J]. *J. Chromatogr. A*, 1998, 828:91~94.
- [33] Rimmer S. Synthesis of molecular imprinted polymer networks [J]. *Chromatographia*, 1998, 47:470~474.
- [34] Mayes A G, Masbach K. MIP: Useful materials for analytical chemistry[J]. *TrAC*, 1997, 16:321~332.
- [35] Schweitz L, Andersson L I, Nilsson S. Capillary electrochromatography with molecular imprint-based selectivity for enantiomer separation of local anaesthetics[J]. *J. Chromatogr. A*, 1997,

- 792:401~409.
- [36] Kempe M, Mosbach K. Receptor binding mimetics: a novel molecularly imprinted polymer[J]. *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3563~3566.
- [37] Kempe M. Antibody-mimicking polymers as chiral stationary phase in HPLC[J]. *Anal. Chem.*, 1996, 68:1948~1953.
- [38] Baggiani C, Trotta F, Giraudi G, Moraglio G, Vanni A. Chromatographic characterization of a molecular imprinted polymer binding theophylline in aqueous buffers[J]. *J. Chromatogr. A*, 1997, 786:23~29.
- [39] Yano K, Tanabe K, Takeuchi T, Matsui J, Ikebukuro K, Karube I. Molecularly imprinted polymers which mimic multiple hydrogen bonds between nucleotide bases[J]. *Anal. Chim. Acta*, 1998, 363:111~117.
- [40] Kempe M, Mosbach K. Direct resolution of naproxen on a non-covalently molecularly imprinted chiral phase[J]. *J. Chromatogr. A*, 1994, 664:276~279.
- [41] Ramström O, Ye L, Gustavsson P E. Chiral recognition by molecularly imprinted polymers in aqueous media[J]. *Chromatographia*, 1998, 48:197~202.
- [42] Yu C, Ramström O, Mosbach K. Enantiomeric recognition by molecularly imprinted polymers using hydrophobic interactions[J]. *Anal. Lett.*, 1997, 30:2123~2140.
- [43] Nicholls I A, Ramström O, Mosbach K. Insights into the role of the hydrogen bond and hydrophobic effect on recognition in molecular imprinted polymers synthesis peptide receptor mimics[J]. *J. Chromatogr. A*, 1995, 691:349~353.
- [44] Chen Y, Kele M, Sajonz P, Sellergren B, Guiochon G. Influence of thermal annealing on the thermodynamic and mass transfer kinetic properties of D- and L-phenylalanine anilide on imprinted polymeric stationary phase[J]. *Anal. Chem.*, 1999, 71:928~939.
- [45] Sajonz P, Kele M, Zhong G, Sellergren B, Guiochon G. Study of the thermodynamics and mass transfer kinetics of two enantiomers on a polymeric imprinted stationary phase[J]. *J. Chromatogr. A*, 1998, 810:1~17.
- [46] Hosoya K, Shirasu Y, Kimata K, Tanaka N. Molecular imprinted chiral stationary phase prepared with racemic template[J]. *Anal. Chem.*, 1998, 70:943~945.
- [47] Whitcombe M J, Martin L, Vulfson E N. Predicting the selectivity of imprinted polymers[J]. *Chromatographia*, 1998, 47:457~464.
- [48] Ramström O, Nicholls I A, Mosbach K. Synthetic peptide receptor mimics: highly stereoselective recognition in non-covalent molecularly imprinted polymers[J]. *Tetrahedron: Asymmetry*, 1994, 5:649~656.
- [49] Kriz D, Kriz C B, Andersson L I, Mosbach K. Thin-layer chromatography based on the molecular imprinting technique[J]. *Anal. Chem.*, 1994, 66:2636~2639.
- [50] Gassmann E, Kuo J E, Zare R N. Electrokinetic separation of chiral compounds[J]. *Science*, 1985, 230:813~814.
- [51] 俞惟乐, 欧庆瑜. 毛细管气相色谱和分离分析新技术[M]. 北京: 科学出版社, 1999, 476~514.
- [52] Pretorius V, Hopkins B J, Schieke J D. Electro-osmosis a new concept for high-speed liquid chromatography[J]. *J. Chromatogr. A*, 1974, 99:23~30.
- [53] Lin J M, Nakagama T, Uchiyama K, Hobo T. Molecularly imprinted polymer as chiral selector for enantioseparation of amino acids by capillary gel electrophoresis[J]. *Chromatographia*, 1996, 43:585~591.
- [54] Lin J M, Nakagama T, Uchiyama K, Hobo T. Temperature effect on chiral recognition of some amino acids with molecularly imprinted polymer filled capillary electrochromatography[J]. *Biomed. Chromatogr.*, 1997, 11:298~302.
- [55] Lin J M, Uchiyama K, Hobo T. Enantiomeric resolution of dansyl amino acids by capillary electrochromatography based on molecular imprinting method[J]. *Chromatographia*, 1998, 47:625~629.
- [56] Lin J M, Nakagama T, Uchiyama K, Hobo T. Enantioseparation of D,L-phenylalanine by molecular imprinted polymer particles filled capillary electrochromatography[J]. *J. Liq. Chromatogr. & Rel. Technol.*, 1997, 20:1489~1506.
- [57] Nilsson K, Lindell J, Norrén O, Sellergren B. Imprinted polymers as antibody mimetics and new affinity gels for selective separations in capillary electrophoresis[J]. *J. Chromatogr. A*, 1994, 680:57~61.
- [58] Lin J M, Nakagama T, Wu X Z, Uchiyama K, Hobo T. CEC separation of amino-acid enantiomers with molecularly imprinted polymer as chiral recognition agents[J]. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1997, 357:130~132.
- [59] Nilsson S, Schweitz L, Petersson M. Three approaches to enantiomer separation of β -adrenergic antagonists by capillary electrochromatography[J]. *Electrophoresis*, 1997, 18:884~890.
- [60] Schweitz L, Andersson L I, Nilsson S. Capillary electrochromatography with predetermined selectivity obtained through molecular imprinting[J]. *Anal. Chem.*, 1997, 69:1179~1183.
- [61] Ljungberg H, Nilsson S. Protein-based capillary affinity gel electrophoresis for chiral separation of β -adrenergic blockers[J]. *J. Liq. Chromatogr. & Rel. Technol.*, 1995, 18:3685~3698.
- [62] Brüggemann O, Freitag R, Whitcombe M J, Vulfson E N. Comparison of polymer coatings of capillaries for capillary electrophoresis with respect to their applicability to molecular imprinting and electrochromatography[J]. *J. Chromatogr. A*, 1997, 781:43~53.
- [63] Walshe M, Garcia E, Howarth J, Smyth M R, Kelly M T. Separation of the enantiomers of propranolol by incorporation of molecularly imprinted polymer particles as chiral selectors in capillary electrophoresis[J]. *Anal. Commun.*, 1997, 34:119~122.
- [64] O'Shannessy D J, Ekberg B, Mosbach K. Molecular imprinting of amino acid derivatives at low temperature using photolytic ho-

- molysis of azobisnitriles[J]. Anal. Biochem., 1989, 177:144~149.
- [65] Sellergren B. Direct drug determination by selective sample enrichment on an imprinted polymer [J]. Anal. Chem., 1994, 66:1578~1582.
- [66] Berrueta L A, Gallo B, Vicente F. A review of solid phase extraction: basic principles and new developments [J]. Chromatographia, 1995, 40:474~483.
- [67] Martin P, Wilson I D, Morgan D E, Jones G R, Jones K. Evaluation of a molecular-imprinted polymer for use in the solid phase extraction of propranolol from biological fluids[J]. Anal. Commun., 1997, 34:45~47.
- [68] Rashid B A, Briggs R J, Hay J N, Stevenson D. Preliminary evaluation of a molecular imprinted polymer for solid phase extraction of tamoxifen[J]. Anal. Commun., 1997, 34:303~305.
- [69] Zander A, Findlay P, Renner T, Sellergren B, Swietlow A. Analysis of nicotine and its oxidation products in nicotine chewing gum by a molecularly imprinted solid phase extraction[J]. Anal. Chem., 1998, 70:3304~3314.
- [70] Muldoon M T, Stanker L H. Molecularly imprinted solid extraction of atrazine from beef liver extracts [J]. Anal. Chem., 1997, 69:803~808.
- [71] Matsui J, Okada M, Tsuruoka M, Takeuchi T. Solid-phase extraction of a triazine herbicide using a molecularly imprinted synthetic receptor[J]. Anal. Commun., 1997, 34:85~87.
- [72] Matsui J, Miyoshi Y, Doblhoff - Dier O, Takeuchi T. A molecularly imprinted synthetic polymer receptor selective for atrazine [J]. Anal. Chem., 1995, 67:4404~4408.
- [73] Haupt K, Dzgoev A, Mosbach K. Assay system for the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid using a molecularly imprinted polymers as an artificial recognition element [J]. Anal. Chem., 1998, 70:628~631.
- [74] Muldoon M T, Stanker L H. Polymer synthesis and characterization of a molecularly imprinted sorbent assay for atrazine[J]. J. Agric. Food. Chem., 1995, 43:1424~1431.
- [75] Sreenivasan K. On the feasibility of using molecularly imprinted poly (Hema) as a sensor component [J]. Talanta, 1997, 44:1137~1140.
- [76] Nomura Y, Muguruma H, Yano K, Kugimiya A, McNiven S, Ikebukuro K, Karube I. Selective recognition of 2, 4-dichlorophenoxy acetic acid using a molecular imprinted polymer [J]. Anal. Lett., 1998, 31:973~980.
- [77] Kriz D, Mosbach K. Competitive amperometric morphine sensor based on an agarose immobilised molecularly imprinted polymer [J]. Anal. Chim. Acta, 1995, 300:71~75.
- [78] Levi R, McNiven S, Piletsky S A, Cheong S H, Yano K, Karube I. Optical detection of chloramphenicol using molecular imprinted polymer[J]. Anal. Chem., 1997, 69:2017~2021.
- [79] Beach J V, Shea K J. Designed catalysts. A synthetic network polymer that catalyzes the dehydrofluorination of 4-fluoro-(p-nitrophenyl) butan-2-one[J]. J. Am. Chem. Soc., 1994, 116:379~380.
- [80] Ramström O, Ye L, Krook M, Mosbach K. Application of molecularly imprinted materials as selective adsorbents: emphasis on enzymatic equilibrium shifting and library screening [J]. Chromatographia, 1998, 47:465~469.
- [81] Ye L, Ramström O, Mosbach K. Molecularly imprinted polymeric adsorbents for by - products removal[J]. Anal. Chem., 1998, 70:2789~2795.
- [82] Yoshizako K, Hosoya K, Iwakoshi Y, Kimata K, Tanaka N. Porogen imprinting effects[J]. Anal. Chem., 1998, 70:386~389.
- [83] Takeuchi T, Fukuma D, Matsui J. Combinatorial molecular imprinting: An approach to synthetic polymer receptors[J]. Anal. Chem., 1999, 71:285~290.

Molecular Imprinting Technique

YOU Jing CHEN Shulian WANG Guojun LU Haojie

(Lanzhou Institute of Chemical Physics, the Chinese Academy of Sciences Lanzhou 730000)

Abstract :Molecular imprinting technique is a polymerizing technique to produce molecular recognition materials with high selectivity and affinity. Polymerization is occurred between functional monomers and crosslinker around a template. Extraction of the template forms polymer with molecular memory to the template. It has many applications in the fields of analytical chemistry, catalysis and organic synthesis. We describe its applications in analytical chemistry and especially in the area of chromatography. We emphasize in the application in the field of capillary electrochromatography and also discuss the outlook of the technique.

Keywords :molecular imprinting technique ;molecular imprinted polymer ;Chromatographic stationery phase ;capillary electrochromatography

Classifying number :O657. 72