

[研究简报]

三甲氧基苄啞分子印迹整体柱的 制备及色谱性能

刘祥军, 刘吉众, 赵睿, 刘国詮, 陈义
(北京分子科学国家实验室, 中国科学院化学研究所, 北京 100080)

关键词 分子印迹聚合物; 整体柱; 三甲氧基苄啞

中图分类号 O657.32

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2007)10-1878-03

将分子印迹技术^[1~6]与整体柱技术相结合, 在色谱柱中原位聚合所制备的分子印迹整体柱^[7,8]不仅具有分子印迹聚合物(Molecularly imprinted polymer, MIP)优异的分子识别性能, 而且具有整体柱(Monolith)的高效、高通量及低背压等特点, 同时也克服了常规本体聚合制备MIP的分离效率低、研磨筛分费时费力、粒子不规则及印迹位点在研磨过程中受损等缺点, 因而在分子印迹领域受到了越来越广泛的关注. 三甲氧基苄啞(TMP)是一种常用的抗菌增效剂, 可增强多种药物如磺胺、青霉素、红霉素及庆大霉素的抗菌作用, 其中最常用的是与磺胺类药物组成复方制剂, 目前在兽药中应用十分广泛.

本文选择甲基丙烯酸为功能单体、甲基丙烯酸乙二醇双酯为交联剂, 制备了三甲氧基苄啞分子印迹整体柱, 对整体柱材料的形貌进行了表征, 并且研究了TMP和5种磺胺类药物在分子印迹整体柱上的色谱行为.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器 三甲氧基苄啞(TMP)由山东寿光富康药物有限公司赠送, 磺胺甲噁唑(SMZ)、磺胺二甲基嘧啶(SM₂)、磺胺噻唑(ST)、磺胺嘧啶(SD)和磺胺(SN)均购自中国药品生物制品检定所, 甲基丙烯酸(MAA)和偶氮二异丁腈(AIBN)购自北京化工厂, 甲基丙烯酸乙二醇双酯(EDMA)购自Sigma公司, 乙腈为色谱纯, 购自Honeywell公司, 色谱纯甲醇购自天津康科德科技有限公司, 水为三次蒸馏水, 其它均为市售分析纯试剂.

日立D-7000系列高效液相色谱仪; 日立S-4300扫描电子显微镜(SEM).

1.2 分子印迹整体柱的制备 将0.1 mmol TMP、1.0 mmol MAA、5 mmol EDMA和10 mg AIBN溶于0.5 mL三氯甲烷和2.5 mL十二醇的混合溶液中, 向混合物中通入N₂气5 min, 以除去溶解的O₂气, 然后直接填装到70 mm × 5.0 mm(i. d.)的不锈钢色谱柱中, 两端密封, 在55 °C水浴中聚合反应24 h. 聚合结束后, 安装上柱头柱尾, 分别以甲醇-乙酸的混合溶液(体积比4:1)以及甲醇冲洗色谱柱, 以除去模板分子和制孔剂. 非印迹聚合物(Non-imprinted polymer, NIP)整体柱的制备除不加模板分子外其余条件相同.

1.3 色谱性能研究 将制备的TMP-MIP整体柱及其相应的NIP整体柱进行色谱性能研究, 分别考察了不同流动相条件下模板分子的保留行为, 其中保留因子为

$$k = (t_R - t_0) / t_0$$

式中, 死时间(t_0)为丙酮的保留时间, 印迹因子由 $IF = k_{MIP} / k_{NIP}$ 计算得到. 进一步研究了整体柱的通透性, 考察了流速对整体柱背压的影响, 并采用扫描电子显微镜考察了整体柱的内部形貌.

收稿日期: 2007-03-05.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 20575072, 20435030)资助.

联系人简介: 赵睿, 女, 博士, 研究员, 主要从事高选择性分离分析研究. E-mail: zhaorui@iccas.ac.cn

2 结果与讨论

2.1 流动相中乙酸含量对印迹效果的影响 采用非共价键法获得的分子印迹聚合物主要通过空穴、氢键以及 π - π 相互作用等作用力对模板分子进行识别, 为了获得更好的识别效果, 考察了不同乙酸含量的乙腈为流动相对分子印迹整体柱色谱行为的影响。

研究表明, 当流动相为 100% (体积分数, 下同) 的乙腈或 99% 的乙腈 + 1% 的乙酸时, 模板分子 TMP 在印迹整体柱上有非常强的保留, 60 min 仍然没有出现色谱峰。随着乙酸含量的增加, TMP 在印迹柱上的保留逐渐降低。当采用 97% 乙腈 + 3% 乙酸作为流动相时, TMP 的保留时间为 16.92 min, 而当乙酸的体积分数达到 5% 时, TMP 在印迹柱上的保留时间迅速降到了 8.19 min。这是因为乙酸的存在会竞争性地抑制印迹整体柱对模板分子的识别作用, 从而导致对模板分子的保留越来越弱。

进一步研究发现, 当采用 95% 乙腈 + 5% 乙酸为流动相时, 模板分子 TMP 在相应的非印迹柱上几乎没有保留, 保留因子仅仅为 0.22, 而在印迹柱上的保留因子为 2.26, 印迹因子 $IF = 2.26/0.22 = 10.3$, 表明所获得的 TMP 分子印迹整体柱对模板分子 TMP 具有优异的分子识别能力和亲水性。

2.2 选择性研究 TMP 作为目前应用得非常广泛的磺胺增效剂, 被添加在很多磺胺类的药物中。为考察此印迹整体柱对模板分子的选择性, 选择常用的 5 种磺胺[磺胺甲基噁唑(SMZ)、磺胺二甲基嘧啶(SM₂)、磺胺嘧啶(SD)、磺胺噻唑(ST)和磺胺(SN)]为考察对象, 分别研究了它们在 TMP-MIP 整体柱上的保留行为, 色谱分离图见图 1。从图 1 中可明显看到, 5 种磺胺类药物在分子印迹整体柱上几乎没有保留, 模板分子 TMP 与它们得到了基线分离, 表明 TMP-MIP 分子印迹整体柱对模板分子具有非常好的亲和性和选择性。

2.3 流速对背压的影响 整体柱具有通透性好、背压低、高效和高通量等优点, 为高效、快速分离分析提供了可能。本研究中考察了不同流速对 TMP-MIP 整体柱背压的影响。图 2 为流速-压力曲线, 由图 2 可见, 当流速达到 9.0 mL/min, 压力仅为 11.1 MPa 时, 没有出现柱床压塌的现象; 当流速降回 0.5 mL/min 时, 压力也随之降到 0.5 MPa。表明此分子印迹整体柱具有非常好的通透性, 可以在高流速下使用。

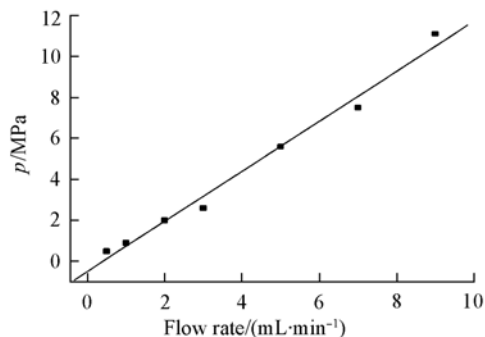


Fig. 2 Relationship between flow rate and backpressure of TMP-MIP

2.4 分子印迹整体柱的形貌表征 为进一步考察分子印迹整体柱的通透性, 采用扫描电子显微镜研究了整体柱的内部形貌。图 3 为所获得的分子印迹整体柱的 SEM 图, 可以清晰地看出, 所制备的分子印迹整体柱具有多孔性结构, 不仅具有微米级的通孔, 而且具有纳米级的微孔, 这种结构既保证了良好的流通性和低背压, 又保证了对模板分子的优异识别能力。

综上所述, 利用整体柱技术, 在色谱柱中原位聚合直接制备了三甲氧基苄啉的分子印迹聚合物整

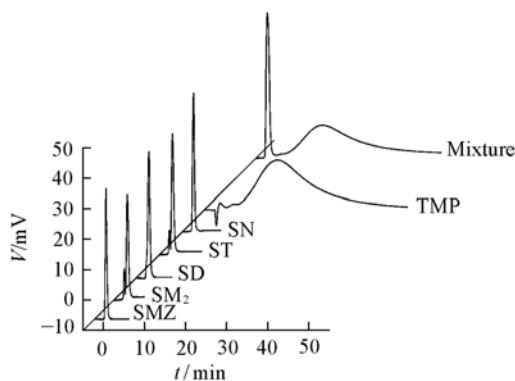


Fig. 1 Chromatogram of TMP and five sulfonamides on the monolithic TMP-MIP

HPLC conditions: mobile phase: 97% acetonitrile + 3% acetic acid; flow rate: 0.5 mL/min; detection wavelength: 247 nm.

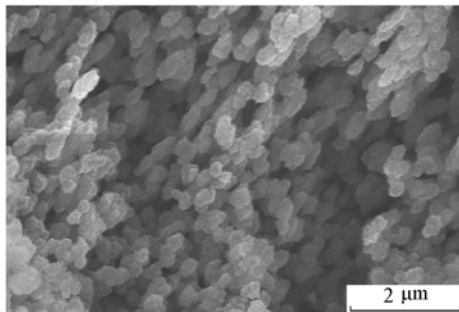


Fig. 3 SEM image of resultant monolithic MIP

体柱, 此整体柱具有良好的通透性, 可以在高流速下使用, 同时对模板分子具有特异的亲和性和选择性, 印迹因子(IF)达到了10.3, 而相应的磺胺类药物在印迹柱上没有保留, 此印迹整体柱可望用于实际样品中三甲氧基苄啉的富集检测及含量测定.

参 考 文 献

- [1] JIANG Zhong-Yi (姜忠义), WU Hong (吴洪). *Molecular Imprinting Technique(分子印迹技术)*[M], Beijing: Chemical Industry Press, 2003
- [2] Haupt K., Mosbach K.. *Chem. Rev.* [J], 2000, **100**: 2495—2504
- [3] Wulff G.. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* [J], 1995, **34**: 1812—1832
- [4] WANG Jun(王俊), LÜ Tian(吕恬), ZHAO Mei-Ping(赵美萍), *et al.*. *Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)* [J], 2006, **27**(8): 1566—1569
- [5] Hu S. G., Li L., He X. W.. *Anal. Chim. Acta*[J], 2005, **537**: 215—222
- [6] WANG Jin-Cheng(王金成), XU Qing(徐青), XUE Xing-Ya(薛兴亚), *et al.*. *Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)* [J], 2006, **27**(7): 1227—1231
- [7] Matsui J., Kato T., Takeuchi T., *et al.*. *Anal. Chem.* [J], 1993, **65**: 2223—2224
- [8] Liu X. J., Ouyang C. B., Zhao R., *et al.*. *Anal. Chim. Acta*[J], 2006, **571**: 235—241

Preparation of Molecularly Imprinted Monolith for Trimethoprim Molecule and Its Chromatographic Property

LIU Xiang-Jun, LIU Ji-Zhong, ZHAO Rui*, LIU Guo-Quan, CHEN Yi
(*Beijing National Laboratory for Molecular Sciences, Institute of Chemistry,
Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China*)

Abstract A monolithic molecularly imprinted polymer (monolithic MIP) for trimethoprim (TMP) was prepared by *in situ* polymerization method as the HPLC stationary phase. Methacrylic acid(MAA) and ethylene glycol dimethacrylate(EDMA) were used as functional monomer and cross-linker, respectively. The obtained MIP monoliths were characterized by high performance liquid chromatography and scanning electron microscope. The SEM analysis result clearly shows that many macropores and flow-through pores were embedded in the network skeleton of the TMP-imprinted monolith, which allowed the mobile phase to flow through the monolithic MIPs with a very low flow resistance. When the flow rate was high to 9.0 mL/min, the backpressure was only 11.1 MPa. Moreover, the imprinting factor was up to 10.3, which demonstrates that the obtained monolithic MIP showed a strong affinity and selectivity to the template molecule.

Keywords Molecularly imprinted polymer; Monolith; Trimethoprim

(Ed.: A, G)