利用分子印迹技术分离植物中的生物碱

艾克白尔·买买提，萨提瓦里地，阿不都拉·阿巴斯*
(新疆大学生命科学与技术学院,新疆 乌鲁木齐 830046)

摘 要：分子印迹技术是制备具有分子识别能力聚合物的技术。它在印迹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，移去印迹分子后就得到了对印迹分子具有分子记忆效应的分子印迹聚合物。作为一种新型的分离介质，在分离、环境分析和催化科学等领域中极具发展潜力。本实验研究了模板分子、功能单体、交联剂、溶剂等对印迹聚合物制备的影响。并对聚合物方法的优势进行了较为详细的讨论。通过紫外光度法研究了模板分子(CF)与功能单体(AA)的相互作用，预测聚合物的选择性和结合机理。

关键词：分子印迹技术；模板分子；功能单体；聚合物的合成

Extraction of Alkaloid from Plants by Molecular Imprinting Technique

AKBAR Mamat, SATIWARDI, ABDULLA Abbas*
(College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China)

Abstract: Molecular imprinting technique (MIT) is a technique to produce molecular recognition polymer materials with high selectivity and affinity. Polymerization occurrs between monomers and cross linker around a template. After removing template polymer with molecular memory to the template is obtained. It has been used in the fields of analytical chemistry, catalysis and organic synthesis. In this study, the effects of template molecule, functuional monomer, cross linking agent, and solvent on the preparation of imprinting polymer were studied. By ultra-violet absorption spectroscopy mutulaction between template molecule and functional monomer was analyzed, and selection and combination mechanism of polymer was predicted.

Key words: molecular imprinting technique; template molecule; functuional monomer; synthetic polymer
中图分类号：Q946.88 文献标识码：A 文章编号：1002-6630(2008)05-0109-03

分子印迹技术是对特定目标分子(即模板分子)制备具有高度亲和性聚合物材料。分子印迹聚合物(MIP)存在与模板分子空间结构互补，官能团相互作用(氢键、离子或范德华力等)的聚合物孔穴 (MIP与模板分子的作用类似于酶和底物的结合，对模板分子具有较强的亲和性及识别能力)。目前，作为固相萃取材料MIP 在分析化学领域已被用于临床药物分析及环境分析前的样品富集，但作为固相提取材料从中草药中直接分离获得具有某种特定药效的化合物成分还未曾被报道过。

若用具有目标药效的活性分子作模板，将制备的分子印迹聚合物作为亲和材料，从中草药中直接分离提取具有该类药效活性组分应具有可行性[1-12]。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

咖啡因(CF，茉莉花茶提取物)、甲基 丙烯酰酸(AA)、二甲基丙烯酸乙二醇酯(EDMA)、偶氮二异丁腈(AIBN)、三氯甲烷、甲醇、乙酸、无水乙醇。

电子天平、恒温磁力搅拌器、氮气发生器、超声波清洗机、真空干燥器、回旋振荡器索氏提取器、反应器、紫外可见光度计、高速冷冻离心机、调速多用振荡器、电子天平、紫外吸收光谱仪、601 超级恒温水浴。

1.2 MIP的合成

咖啡因分子印迹聚合物((简写P)的制备：将0.682g(1mmol/L) 咖啡因溶于适量四氢呋喃中，加入0.2844g(4mmol/L)甲基丙烯酰酸，放置在振荡器上振荡5h，使模板分子和功能单体充分作用，加入1.88ml(20mmol)交联剂EDMA、0.040g引发剂AIBN，充分溶解后，将混合液转入50ml的安瓿瓶中，通氮脱氧10min，在真空状态下密封。然后将密封好的安瓿瓶放入电热恒温水浴锅中，60℃反应24h，得白色坚硬的固体聚合物。将

收稿日期：2007-11-30
作者简介：艾克白尔·买买提(1981-)，男，硕士研究生，主要从事资源植物研究。E-mail：akpar15@163.com
* 通讯作者：阿不都拉·阿巴斯(1951-)男，教授，主要从事资源植物研究。E-mail：abdulla@xju.edu.cn

聚合物粉碎、研磨好后把MIP微粒在索氏抽提器中用一定量的甲醇抽提至272nm处检测不到摸板分子咖啡因的紫外吸收峰，晾干后60℃真空干燥24h，放入干燥器备用。

用同样的方法及条件制备无模板分子的空白聚合物(NMIP)-(P_0)[1,3,9]。

1.3　模板分子与功能单体的相互作用

研究分子印迹聚合物的识别机理与理解分子印迹和识别现象息息相关，分子印迹的基本机理就在于将聚合前反应混合溶液中形成的主-客体分子结构尽可能移入聚合形成的固体聚合母体中，因此研究溶液状态下模板分子与功能单体作用是极其重要的。其结构如图1、2。为了进一步验证CF与AA之间的相互作用(氢键等)原理、预测印迹聚合物的选择性和结合机理，本实验中固定咖啡因浓度，分别加入不同浓度的甲基丙烯酰酸(AA)，使其充分作用后，分别测量其紫外吸附光谱的变化。 如图3所示。

由实验结果发现，随着AA的浓度增加，光谱中最大吸收向长波长移动，并且吸收蜂强度增大。在π→π*跃迁中，由于激发态极性较基态大，当有功能单体存在时，和功能单体生成较强的氢键，能量降低较多，因而导致了最大吸收波红移。这说明AA与模板分子之间的有相互作用。因此可以聚合以AA为功能单体的聚合物MIP[3,8]。

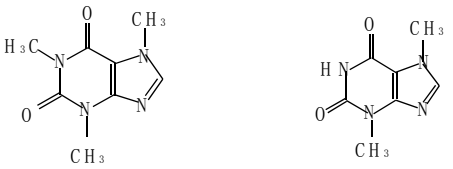


图1　咖啡因分子及其类似物茶碱的结构

Fig.1　Strucures of caffeine and structure of theophylline

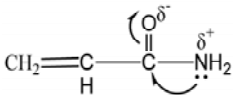


图2　丙烯酰胺分子结构(模板分子)

Fig.2　Structure of acryl amide

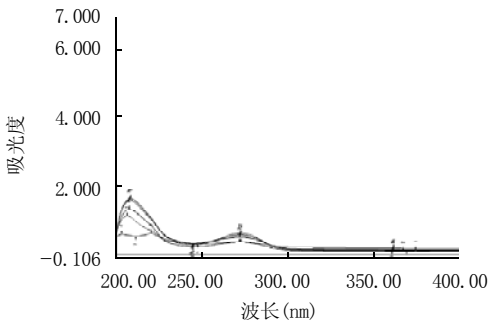


图3　模板分子与功能单体混合液的紫外吸收光谱

Fig.3　Ultraviolet spectrum of template and monomer solvent

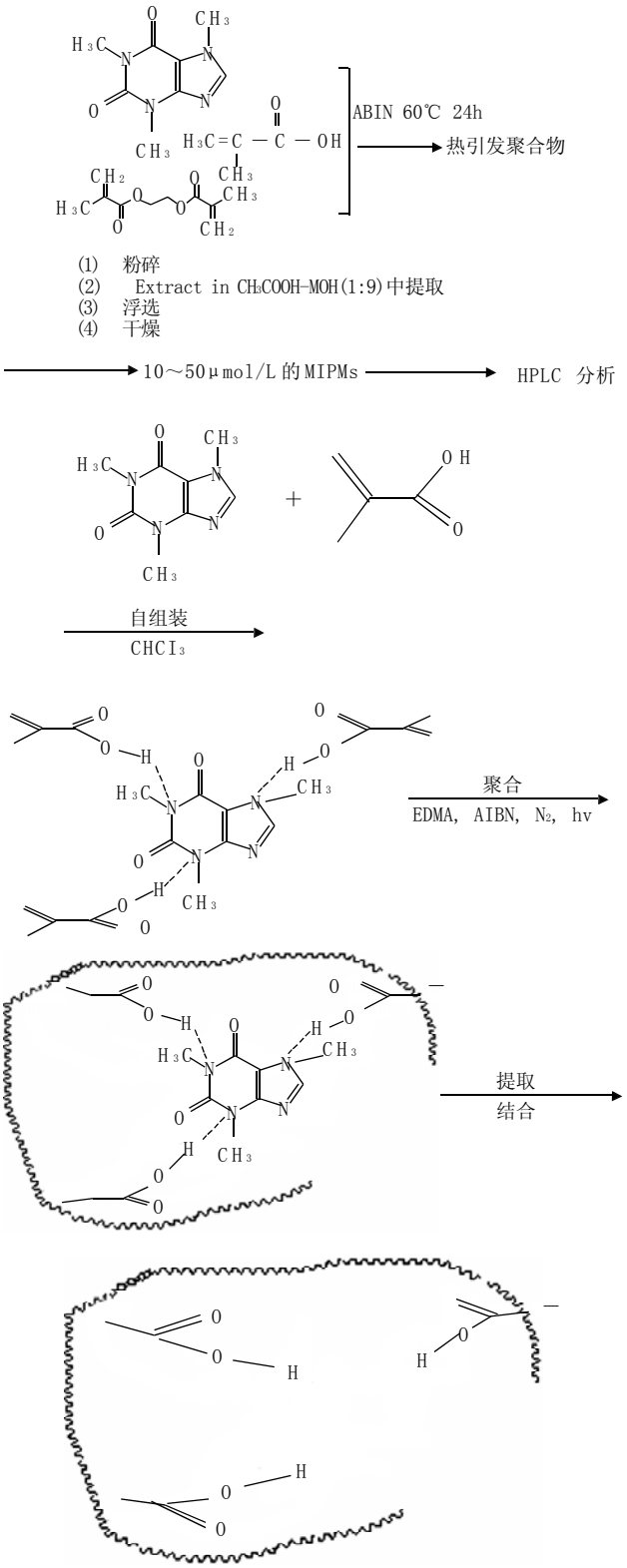


图4　聚合物微球的合成和分析路线

Fig.4　Path of synthesize and analysisi of MIPMs

1.4　MIP的合成路线(原理)

MIP的合成路线见图4。

1.5　分子印迹聚合物的红外分析

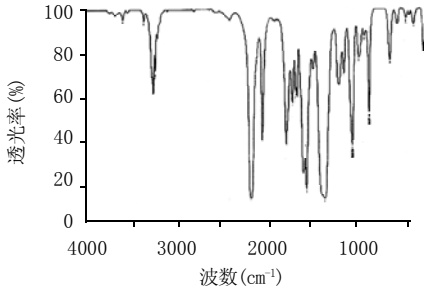


图5 交联剂的红外分析图

Fig.5 Ultrared analysis of cross linker

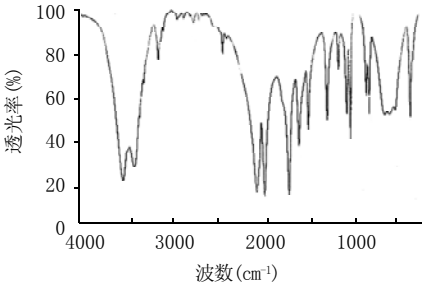


图6 甲基丙烯酰酸的标准红外分析图

Fig.6 Ultrared analysis of monomer

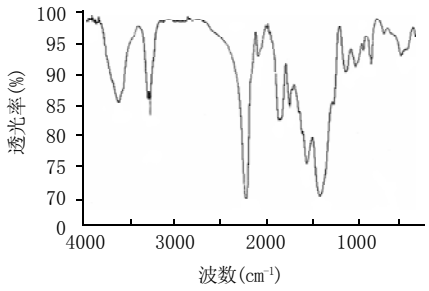


图7 甲基丙烯酰酸印迹聚合物的红外分析图

Fig.7 Ultrared analysis of polymer

根据红外吸收光谱图中吸收峰的位置(峰位)与吸收峰的形状(峰形)吸收峰的强度(峰强)可以获得与分子结构有关的信息。

本实验所用的交联剂二甲基丙烯酸乙二醇酯和功能单体为甲基丙烯酰酸的红外光谱如图5、6所示。由谱图对比可知，图5 中1731.1cm^{-1}附近较强的峰为二甲基丙烯酸乙二醇酯中 C=O 的伸缩振动峰，1638.9cm^{-1}为 C=C 双键的伸缩振动峰；图6中3355.59cm^{-1} 和 3187.83cm^{-1}形成的较宽的峰为酰胺键中N-H的伸缩振动峰；1673.21cm^{-1}为酰胺的伸缩振动峰，1612.84cm^{-1}为C=C双键的伸缩振动峰。交联聚合后，从聚合物的红外吸收谱图7可以看出，1638.3cm^{-1}附近的C=C双键峰很小，说明交联剂和功能单体在本文的制备条件下大部分进行了交联聚合，只有很少部分残留。3430.1cm^{-1}左右较宽的峰则对应为酰胺基团中N-H的不对称伸缩振动峰。1724.6cm^{-1}附近较强的峰为C=O的伸缩振动峰。以上说明经过交联聚的合得到的聚合物确实存在可以同印迹分子相互作用的化学基团，在本实验中为酰胺基官能团为主。

2 结果与分析

2.1 以咖啡因为模板分子，甲基丙烯酰酸为功能单体，二甲基丙烯酸乙二醇酯为交联剂，偶氮二异丁腈为引发剂，溶剂为10ml的三氯甲烷，20mmol的二甲基丙烯酸乙二醇酯，40mg的偶氮二异丁腈采用了传统方法(60℃的恒温水浴)中进行24h聚合。

2.2 紫外分光光度法研究表明，咖啡因与甲基丙烯酰酸之间发生了相互作用，分子印剂聚合物在有机溶剂中有分子识别能力，聚合物与模板分子之间的离子键，氢键起重要作用。以甲基丙烯酰酸为功能单体，胺碘酮为模板分子的聚合物对模板分子咖啡因有高的亲和性和选择性，静态分配系数K_d可达1.06×10^{-2}mol/L，结合位点的最大表观结合常数Q_{max}=100.4μmol。

2.3 分析了丙烯酰胺印迹聚合物的红外谱图，经过对比发现制得的印迹聚合物中C=C双键峰很小，说明功能单体得到了较好的聚合，并且功能键酰胺没有明显变化，这为聚合物特异识别特性创造了条件。

3 结 论

本实验利用一种具有特定分子识别能力的高分子制备技术－分子印迹技术，合成了咖啡因印迹聚合物。研究了模板分子、功能单体、交联剂、溶剂等对印迹聚合物制备的影响。并对聚合物方法的优势进行了较为详细地讨论。通过紫外光度法研究了模板分子与功能单体的相互作用，预测聚合物的选择性和结合机理，同时采用红外光谱分别分析了功能单体、咖啡因分子印迹聚合物的红外光谱图。采用紫外光度法对印迹聚合物的吸附性能和选择性识别能力进行了研究。

参考文献：

[1] 刘慧君. 磺胺类药分子印迹聚会物的合成及其识别性能的研究[D]. 长沙：湖南大学化学化工学院，2004.

[2] 刘亚强，王大伟，周德锋，等. 分子印迹技术的应用研究进展[J]. 渭南师范学院学报，2005，20(2)：43-45；51.

[3] 卢春阳，何海成，马向霞，等. 除草剂青莠定分子印迹聚合物的合成及结合性能研究[J]. 化学学报，2004，62(8)：799-803.

[4] 闰有旺，于汝生. 分子印迹技术及其应用[J]. 化学教学，2005，22(4)：28-30.

[5] 王邃，王永珍，龚国权，等. 罗丹明B分子印迹聚合物的分子识别与结合特性的研究[J]. 兰州大学学报，2003，39(2)：57-60.

[6] 林秋明，何建峰，刘岚，等. 异戊巴比妥分子印迹聚合物的合成和识别性能研究[J]. 分析测试学报，2004，23(3)：43-45.

[7] 卢彦兵，梁志武，项伟中，等. 奎宁分子印迹聚合物的合成与性能研究[J]. 分析科学学报，2000，16(4)：310-313.

[8] 周兴国，陈移妓，李桂玲，等. 潘生丁分子印迹聚合物的合成条件及特性[J]. 武汉大学报，2004，50(6)：687-690.

[9] 林秋明，何建峰，刘岚，等. 美托洛尔分子印迹聚合物识别性能的研究[J]. 中山大学学报，2004，43(5)：51-54.

[10] 张俐，迎伍，建全，等. 分子识别在分离科学中的应用[J]. 食品科技，2002(2)：9-12.

[11] 谭淑珍，李革新，李再全，等. 分子印迹技术的研究与应用[J]. 应用化工，2004，33(4)：4-6；10.

[12] 赵平，冯前进. LB膜技术在生物医学和中医方剂学研究中的应用[J]. 山西中医学院学报，2001，2(1)：28-30.