

双酚 A 的分子烙印聚合物的制备和结合特性的研究^{*}

许志锋, 刘 岚, 邓芹英

(中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

摘 要: 使用了不同的功能单体和致孔剂, 制备了一系列的以双酚 A 为模板的分子烙印聚合物。发现以 2-Vpy 做功能单体, 以甲苯做致孔剂的分子烙印聚合物对底物有很好的结合能力。在不同的致孔剂中, 双酚 A 与功能单体形成复合物而导致它的质子的化学位移的变化幅度不同, 表明形成的复合物的稳定程度不同, 相对应的分子烙印聚合物的选择性结合底物的能力不同。Scatchard 方程研究表明在研究的浓度范围内在聚合物中形成了一类等价的结合位点, 结合位点对模板分子的最大表观结合量为 $148.1 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$; 结合位点的平衡离解常数 2.81 mmol/L 。研究表明, 改变溶解底物的溶剂, 会严重影响聚合物对底物的结合能力。

关键词: 分子烙印; 双酚 A; 2-乙烯吡啶; 结合能力; 化学位移

中图分类号: O657.32 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2005) 03-0053-05

分子烙印 (molecular imprinting) 是在聚合物中为特定的分子 (模板分子) 生成具有识别位点的孔穴的技术。分子烙印聚合物 (molecular imprinting polymers, 简称为 MIPs) 具有类似酶对底物、抗体对抗原的识别能力。与它们相比, 还具有性质稳定, 制备更容易等优点。MIPs 在作为色谱固定相、固相吸附剂、化学反应催化剂、传感器材料等方面初步显示出其具有巨大的应用前景^[1-6]。由于 MIPs 对模板分子的特异性结合能力受到多种因素的影响, 如功能单体的选择和用量、致孔剂的选择、聚合方法、操作条件等。所以, 对给定的模板分子, 为获得高识别能力的 MIPs, 广泛尝试多种功能单体和致孔剂往往还是必不可少的步骤。在选择致孔剂中, 功能单体与模板分子相互作用并生成复合物是 MIP 具有分子识别能力的基础^[7]。而功能单体与模板分子相互作用生成复合物后模板分子的质子的化学位移会发生改变, 所以, 进行核磁共振氢谱的研究可以提供功能单体与模板分子相互作用的情况的信息, 为快速寻找合适的功能单体和致孔剂提供理论依据和指导^[8]。

双酚 A 是一种环境内分泌干扰物^[9, 10], 但是它的应用越来越广泛, 它对人类的危害已引起人们的重视, 快速地检测它在环境中存在情况就变得非常重要。本文以双酚 A 为模板制备了对它有高度选择性结合能力的 MIPs, 研究了 MIPs 对底物的结合性质。用核磁共振氢谱研究了功能单体与模板分

子在不同致孔剂中的相互作用, 发现这种相互作用越大, 形成的复合物越稳定, 烙印效果越好。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

乙二醇二甲基丙烯酸酯 (EDMA, 江苏安利化工厂生产), 用前用 $w = 10\%$ 的 NaOH 溶液, 饱和 NaCl 溶液洗涤以除去阻聚剂, 用 MgSO_4 干燥后减压蒸馏。2-乙烯吡啶 (2-Vpy, Acros 公司产品), 用前减压蒸馏除去阻聚剂。双酚 A (衡阳化工厂提供), 偶氮二异丁腈 (AIBN), 丙烯酰胺 (AM), 用前重结晶。氘代试剂 Pyridine- d_5 ($w = 99\%$, Aldrich), Acetonitrile- d_3 ($w = 99.8\%$, Cambridge Isotope Laboratories Inc.), Benzene- d_6 ($w = 99.5\%$, Chemalog Chemical Dynamics Corporation), chloroform- d ($w \geq 99.8\%$, Aldrich)。其它试剂均为广州化学试剂厂产品。

Mercury plus300 NMR 仪 (美国 varian 公司), UV2100 型紫外可见分光光度计 (上海尤尼柯仪器有限公司), HY-4 型调速振荡器 (富华电器有限公司), C-86 型恒温水浴锅 (广州越秀医疗器械厂)。

1.2 聚合物的合成

以双酚 A 为模板, 制备了一系列的 MIPs, 其制备聚合物的组成见表 1。以 P_6 为例, 其制备方法如下: 将模板分子双酚 A 0.114 g (0.5 mmol), 2-Vpy 0.210 g (2.0 mmol), 甲苯 5 mL 加入 50 mL

* 收稿日期: 2004-10-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20202015); 教育部博士点基金资助项目 (20020558026)

作者简介: 许志锋 (1971 年生), 男, 博士生; 通讯联系人: 邓芹英; E-mail: ceslglk@zsu.edu.cn

表 1 制备分子烙印聚合物的原料组成¹⁾

Tab 1 The chemical composition for making molecular imprinted polymers

MIPs	单体	$r(\text{烙印分子}) :$	致孔剂
		$r(\text{单体}) : r(\text{交联剂})$	
P ₁	AM	1 : 4 : 20	氯仿
P ₂	2-Vpy	1 : 4 : 20	氯仿
P ₃	AM	1 : 4 : 20	乙腈
P ₄	2-Vpy	1 : 4 : 20	乙腈
P ₅	AM	1 : 4 : 20	甲苯
P ₆	2-Vpy	1 : 4 : 20	甲苯
P ₇	AM	1 : 4 : 20	苯
P ₈	2-Vpy	1 : 4 : 20	苯

1) 烙印分子为 Bisphenol A; 交联剂为 EDMA

的安路瓶中震荡 1.0 h 使模板分子与功能单体充分作用后, 加入 EDMA 1.98 g (10.0 mmol), AIBN 23 mg, 通氮气 10 min, 真空封管, 于 60 ℃水浴中热引发反应 24.0 h 得到块状固体。将固体用研钵磨碎后过标准筛 (90 μm) 后放入索氏提取器中用甲醇/乙酸 (体积比为 9 : 1) 连续抽提 72.0 h 除去模板分子, 再用甲醇反复洗涤洗去乙酸。用丙酮反复沉降除去过细粒子, 在 60 ℃用真空干燥器干燥至恒质量。MIPs 的烙印过程如图 1 所示。合成相对应的空白聚合物 NP₁, NP₂, NP₃, NP₄, NP₅, NP₆, NP₇, NP₈: 除了原料中不加模板分子外, 其余步骤同上。

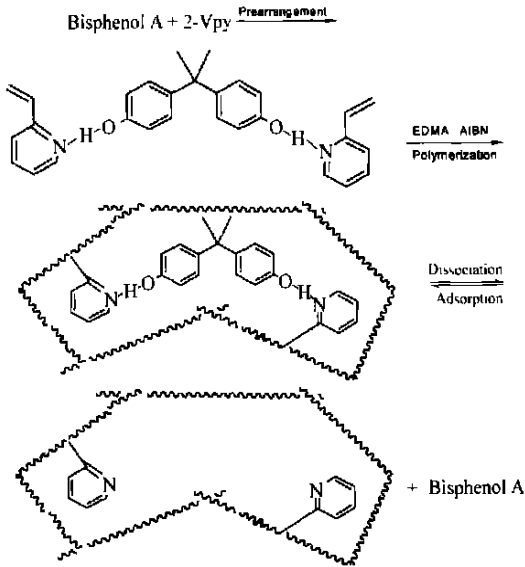


图 1 分子烙印过程示意图

Fig 1 Schematic illustration of the molecular imprinting procedure

1.3 平衡吸附量的测定

称取烙印或空白聚合物 20.0 mg 于锥形瓶中,

加入各底物的溶液, 密封后在室温 (约 30 ℃) 振荡 6.0 h, 用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 取滤液稀释至适当浓度后进行光度分析, 测定各底物的平衡浓度。根据底物吸附前后浓度的变化, 计算吸附量。

1.4 UV 法分析双酚 A 与功能单体 2-Vpy 的作用

固定双酚 A 的浓度为 0.10 mmol/L, 加入不同浓度的 2-Vpy 溶液, 振荡后放置 30 min, 以相应的相同浓度的 2-Vpy 溶液做参比—扫描吸收光谱。

1.5 NMR 谱研究双酚 A 与功能单体 2-Vpy 的作用

分别以 Acetonitrile d₃, Benzene d₆, chloroform d 做溶剂 (以 TMS 做内标), 测定浓度为 30 mmol/L 的双酚 A 的质子的化学位移值。再用 25 μL 的进样器分别加入氘代吡啶 Pyridine d₅, 使氘代吡啶的初始浓度为 120 mmol/L, 振荡 10 min 后, 测定双酚 A 的质子的化学位移值。

2 结果与讨论

2.1 功能单体、致孔剂的选择

双酚 A 含有 2 个酚羟基, 选择 2 个含碱性功能基的 AM、2-Vpy 做功能单体, 氯仿、甲苯、乙腈和苯做致孔剂, EDMA 做交联剂分别合成了烙印聚合物 P₁, P₂, P₃, P₄, P₅, P₆, P₇, P₈ 及空白聚合物 NP₁, NP₂, NP₃, NP₄, NP₅, NP₆, NP₇, NP₈。用结合实验测定了它们对模板分子的吸附量, 结果见表 2。

从表 2 中可以看出, ①以 2-Vpy 做功能单体, 以甲苯做致孔剂的 P₆ 对模板分子的吸附量与其空白聚合物 NP₆ 对模板分子的非特异性吸附量的差值最大, 意味着 P₆ 对模板分子的特异性吸附最大; ②以氯仿、甲苯和苯这 3 种溶剂做致孔剂的 MIPs 都有较好的烙印效果, 而不管以 AM 还是 2-Vpy 做功能单体, CH₃CN 都不能做致孔剂; ③以 AM 做功能单体, 与 2-Vpy 相比, 其空白聚合物 NP 对模板分子的吸附较大, 非特异性结合大, 所以对双酚 A, 2-Vpy 是更好的功能单体。

在非共价分子烙印中, 在一定的溶剂 (致孔剂) 中, 功能单体与模板分子必须有足够强的相互作用, 这样在聚合前的混合物中功能单体与模板分子可以自组装成为复合物, 并且生成的复合物越稳定, 浓度就越大, 聚合后在聚合物中产生的具有识别位点的孔穴就越多, 烙印效果就越好。当功能单体与模板分子以氢键为主要作用力时, 通常要选择极性低, 形成氢键能力弱 (指作为氢供体和氢受体的能力弱) 的溶剂做致孔剂。与氯仿、甲苯、苯相

表 2 烙印聚合物和空白聚合物对底物的吸附量

Tah 2 Adsorption quantities of MIPs and NPs

MIP	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₆	P ₇	P ₈
$Q_{MIP}/(\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1})$	61.04	56.70	0	12.4	60.47	54.50	55.12	52.79
$Q_{NP}/(\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1})$	41.30	26.55	0	5.64	38.65	21.75	33.45	20.85
$Q_{MIP}-Q_{NP}/(\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1})$	19.74	30.15	0	6.76	21.82	32.75	21.67	30.94

1) NP 为空白聚合物; 溶液起始浓度为 2.0 mmol/L; 体积为 3 mL; 聚合物质量为 20.0 mg; 结合时间为 6.0 h; 温度为 31.0 ℃

比较, 乙腈有一定的形成氢键能力, 与双酚 A 的酚羟基能形成一定强度的氢键 (乙腈作为氢受体), 因而阻碍双酚 A 与功能单体的相互作用。为了进一步研究在聚合前的混合物中不同致孔剂对功能单体 2-VPy 与双酚 A 之间形成复合物的影响, 以氘代试剂 CDCl₃、C₆D₆、CD₃CN 分别代替 CHCl₃、C₆H₆、CH₃CN。为研究的简便和谱图的清晰, 以氘代吡啶 C₅D₅N 代替功能单体 2-VPy, 并且使它的浓度是双酚 A 的 4 倍 (与聚合前的混合物一样)。用核磁共振氢谱分别测定了在 CDCl₃、C₆D₆、CD₃CN 中, 双酚 A 中的质子的化学位移值在加入 C₅D₅N 前后的变化。其数据列于表 3 中, 几个典型的谱图见图 2。

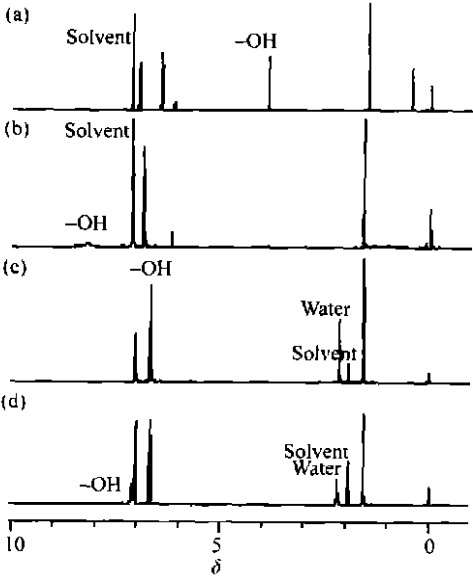


图 2 加入 C₅D₅N 前后双酚 A 在 C₆D₆ 和 CD₃CN 中的氢谱

Fig 2 The ¹H NMR spectra of bisphenol A related to the addition of pyridine-*d*₅ in C₆D₆ and CD₃CN

(a) C₆D₆ + Bisphenol A; (b) C₆D₆ + Bisphenol A + C₅D₅N;
(c) CD₃CN + Bisphenol A; (d) CD₃CN + Bisphenol A + C₅D₅N

双酚 A 主要依靠它的羟基与 C₅D₅N 的氮原子的氢键作用形成复合物。羟基的质子形成氢键后应该移向低场。从表 3 和图 2 中可以看出, 在 C₆D₆ 中这种移动是 4.313, 而在 CD₃CN 中移动了 0.443

(在 CDCl₃ 中未检测到该活泼氢的信号)。另外, 除了活泼氢, 双酚 A 与 C₅D₅N 形成复合物后它的其它质子的化学位移也发生不同程度的移动, 表 3 中可以看出, 不同溶剂中移动幅度是 C₆D₆ > CDCl₃ > CD₃CN。这些结果都表明, 在 C₆D₆ 中双酚 A 与 C₅D₅N 的相互作用最强, 形成的复合物最稳定, 导致双酚 A 的质子在形成复合物前后化学位移变化最大。而在 CD₃CN 中它们也有相互作用, 但要弱得多。所以用苯做致孔剂合成的 P₈, 对模板分子有很好选择性, 而乙腈不是合适的致孔剂。

通过紫外光谱法^[11]的研究可以进一步证明双酚 A 与 2-VPy 在甲苯中的相互作用。固定双酚 A 的起始浓度不变, 加入不同浓度的 2-VPy 溶液, 以相应浓度的 2-VPy 溶液做参比扫描双酚 A 的吸收光谱如图 3 所示。图 3 表明, 随着加进的 2-VPy 溶液的浓度的增加, 双酚 A 的吸收峰形发生的变化, 吸收强度降低。

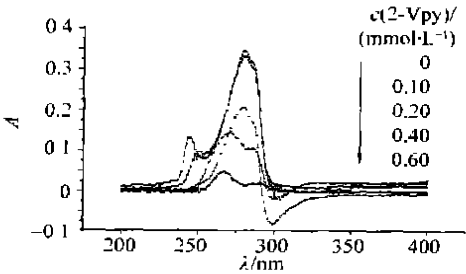


图 3 25 ℃甲苯中 2-VPy 存在下双酚 A 的吸收光谱

Fig 3 Absorption spectra of bisphenol A in the presence of 2-VPy in toluene

2.2 P₆ 对底物的结合特性

在双酚 A 的浓度为 0~3.0 mmol/L 范围内, 测定了 P₆ 对底物的吸附等温线如图 4 所示, 为了对比吸附性质, 同时也测定了 NP₆ 对底物的吸附等温线。由图可见, 随着起始浓度的增加, P₆ 和 NP₆ 的吸附量都增大, 但是 P₆ 的吸附量总是显著大于 NP₆。

将获得的数据用于 Scatchard 分析:

$$Q/[\text{Bisphenol A}] = (Q_{\text{max}} - Q)/K_d$$

表 3 加入 C₅D₅N 前后双酚 A 质子化学位移值的变化 Δδ

Tah 3 The change in NMR shift of the bisphenol A protons in response to the addition of pyridine-d₅

溶剂	O H			Ar H			C H ₃		
	A	B	Δ δ	A	B	Δ δ	A	B	Δ δ
CDCl ₃	ND	ND		7.142~6.740	7.074~6.727	0.07~0.01	1.665	1.614	0.051
C ₆ D ₆	3.886	8.199	4.313	7.000~6.441	7.141~6.814	0.37~0.14	1.505	1.604	0.100
CD ₃ CN	6.657	7.100	0.443	7.060~6.657	7.052~6.648	0.009~0.008	1.581	1.573	0.008

1) A: 加入 C₅D₅N 之前; B: 加入 C₅D₅N 之后; ND: 无测量

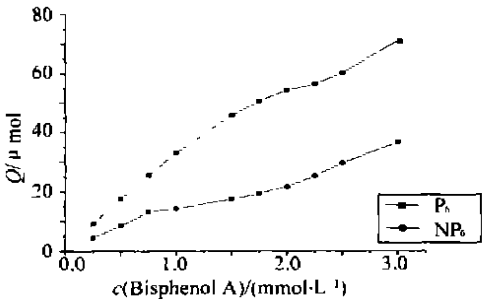


图 4 P₆ 和 NP₆ 对底物的吸附等温线
Fig. 4 Binding isotherms of P₆ and NP₆

P₆ 和 NP₆ 的质量为 20.0 mg, 底物起始浓度为 2.0 mmol/L;
体积为 3.0 mL, 结合时间为 6.0 h, 温度为 31 ℃

其中, Q 是双酚 A 平衡结合量, $[Bisphenol\ A]$ 是双酚 A 的平衡浓度, K_d 是结合位点的平衡离解常数, Q_{max} 是结合位点的最大表观结合量。由 $Q/[Bisphenol\ A]$ 对 Q 作图得到图 5。在 Scatchard 图中, $Q/[Bisphenol\ A]$ 对 Q 是线性关系, 表明 P₆ 对双酚 A 的结合位点是等价的, 其线性方程为:

$$Q/[Bisphenol\ A] = -0.355Q + 52.58$$
$$r = 0.977$$

由它的斜率和截距可求得, 结合位点的平衡离解常数为 2.81 mmol/L, 最大表观结合常数为 148.1 μmol·g⁻¹。

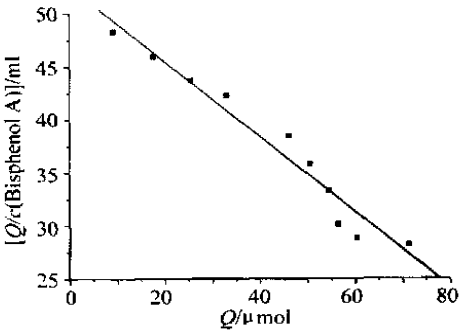


图 5 评价 P₆ 结合性质的 Scatchard 曲线
Fig. 5 Scatchard plot analysis of the binding nature of P₆

2.3 溶剂对吸附能力的影响

用结合实验来研究 MIPs 对底物的吸附时, 溶解底物所用的溶剂是一个重要的影响因素。把模板分子双酚 A 分别溶解在 CH₂Cl₂、CH₃CN 和 CH₃OH

中, 加入烙印聚合物 P₂、P₆ 和空白聚合物 NP₂、NP₆, 在 CH₂Cl₂ 溶剂中, 它们对双酚 A 的吸附量分别为 51.52, 28.38, 33.54, 24.10 μmol·g⁻¹, 而在 CH₃CN 和 CH₃OH 溶剂中, 其吸附量均为 0。即当用 CH₃CN 和 CH₃OH 做溶剂时, P₂、P₆ 对模板分子都没有结合能力。CH₃OH 和 CH₃CN 都有形成氢键能力, 能与聚合物孔穴中的识别位点的功能基或模板分子相结合, 而使功能基失去结合模板分子的能力。另外, CH₃OH 和 CH₃CN 对聚合物的溶胀能力与致孔剂 CHCl₃、C₆H₅CH₃ 也不同, 由于溶胀效果不同, 改变溶剂往往就会改变聚合物的形态和网络结构, 因而孔穴中识别位点的功能基的相对位置、孔穴形状都会发生改变。这样赖以进行分子识别的空间匹配、基团互补的孔穴就不复存在, 聚合物也会失去分子识别能力^[12]。CH₂Cl₂ 的极性、形成氢键的能力与致孔剂 CHCl₃ 差不多, 其溶胀效果与 CHCl₃ 可能也相差不大, 所以, 在 CH₂Cl₂ 中, 以 CHCl₃ 做致孔剂的分子烙印聚合物 P₂ 还具有较好的结合底物的能力。P₆ 在 CH₂Cl₂ 中特异性结合底物能力的降低则主要因为 C₆H₅CH₃ 和 CH₂Cl₂ 的溶胀能力的不同。由此可见, 溶解底物所用的最合适的溶剂就是制备该 MIP 时用的致孔剂。

参考文献:

[1] ANDERSSON L I. Selective solid-phase extraction of bio- and environmental samples using molecularly imprinted polymers [J]. Bioseparation, 2002, 10: 353—364.

[2] HAGINAKA J. HPLC-based bioseparations using molecularly imprinted polymers[J]. Bioseparation, 2002, 10: 337—351.

[3] WU L Q, LI Y Z. Picolinamide-Cu(Ac)₂ imprinted polymer with high potential for recognition of picolinamide—copper acetate complex[J]. Analytica Chimica Acta, 2003, 482: 175—181.

[4] ALEXANDER C, DAVIDSON L, HAYES W. Imprinted polymers: artificial molecular recognition materials with applications in sythesis and catalysis[J]. Tetrahedron, 2003, 59: 2025—2057.

[5] ZHENG N, FU Q, LI Y Z, et al. Chromatographic characterization of sulfonamide imprinted polymers [J]. Microchemical J, 2001, 69: 153—158.

[6] ZHU Q Z, HAUPT K, KNOPP D, et al. Molecularly im-
printing ploymer for metsulfuron-methyl and its birfing
characteristics for sulfonylurea herbicides [J] Analytica
Chimica Acta, 2002, 468: 217— 227.

[7] SVENSON J, KARLSSON J G, NICHOLLS I A. ¹H Nuclear
magnetic resonance study of the molecular imprinting of
(—) -nicotine: template self -association, a molecular basis for
cooperative ligand binding[J] . Jⁿ Chromatography A, 2004,
1024, 39— 44.

[8] IDZIAK I, BENREBOUH A, DESCHAMPS F. Simple NMR
experiments as a means to predict the performance of an anti-
17 α ethynylestradiol molecularly imprinted polymer [J] .
Analytica Chimica Acta, 2001, 435 : 137— 140.

[9] 邓茂先, 吴德生, 詹立. 环境雌激素双酚 A 的生殖毒理
研究[J] . 环境与健康杂志, 2001, 18(3): 134— 137.

[10] 逢兵, 吴向东, 任道风, 等. 双酚 A 对大鼠辜丸 Leyding
细胞的毒性作用[J] . 卫生毒理学杂志, 2000, 14(3):
173— 174.

[11] LU Y, LI C H, ZHANG H S et al. Study on the
mechanism of chiral recognition with molecularly imprinted
polymers[J] . Analytica Chimica Acta, 2003, 489: 33— 43.

[12] MOSBACH K, YU C. Influence of mobile phase composition
and cross-linking density on the enantiomeric recognition
properties of molecularly imprinted polymers [J] . J
Chromatography A, 2000, 888: 63— 72.

The Preparation and Binding Characteristic
of Bisphenol A Imprinted Polymers

XU Zhi feng, LIU Lan, DENG Qin ying

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat -sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: A series of bisphenol A imprinted polymers were prepared using different functional monomers and porogens. The result shown that the polymer prepared by using 2 vinylpyridine as the functional monomer and toluene as the porogen exhibited a higher binding capacity for bisphenol A. Complexes formed between bisphenol A and functional monomer which lead to the change of chemical shift of ¹H NMR spectrum. The change extenge extend altered with different porogens. This means that the stability of the complex was different, which result in different selectively binding capability between substrate and molecular imprinting polymer (MIP). Scatchard analysis showed that one equal class of binding sites was formed in the imprinted polymer under the studied concentration range. The dissociation constant and the apparent maximum number of the binding sites were 2.81 mmol/L and 148.1 μ mol $\cdot$ g⁻¹, respectively. It was observed that the change of the solvent would influence the binding capacity of the polymers greatly.

Key words: molecular imprinting; bisphenol A; 2 vinylpyridine; binding capacity; chemical shift

(上接第 52 页)

Synthesis of Acridone Derivatives and Their Electrical Characters

TAN Song de¹, CHEN Wen hua¹, SONG Ji guo², XU Zun te¹

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat -sen University, Guangzhou 510275, China;

2. School of Physics and Engineering, Sun Yat -sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Seven acridone derivatives were prepared from substituted phenyl amines and o -chlorophylgomic acid. Their electron affinities, measured by cyclic voltammetry, indicated that all these acridone derivatives had higher electron affinities and were easier to be reduced than a typical electron transfer material, 2-(4 biphenyl) -5 -(t butylphenyl) -1, 3, 4 oxadiazole (PBD).

Key words: acridone derivatives; synthesis; cyclic voltammetry