

Ибраева Ж.Е.

МОЛЕКУЛЯРНО-ИМПРИНТИРОВАННЫЕ ПОЛИМЕРЫ И НЕКОТОРЫЕ ОБЛАСТИ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

Zh. E. Ibraeva

MOLECULARLY IMPRINTED POLYMERS AND SOME AREAS OF THEIR USE

УДК 541.64+ 678.744

В статье рассматриваются методы получения молекулярно импринтированных полимеров и возможности их применения в современной науке и технологии.

Макалада молекула импринтерілген полимерлерді алуу едістері мен олардын замануу ғылым мен технологияда қолдану тесілдері қарастырылған.

This article examines reception methods of molecularly imprinted polymers and opportunities of using them in modern science and technology.

Интенсивное развитие промышленного производства и широкое использование химикатов в различных областях деятельности человека сопровождаются глобальным загрязнением воздуха, почвы, воды всевозможными токсичными веществами, поэтому актуальным остается поиск новых методов очистки и обеззараживания экологических объектов. В последнее десятилетие проявляется большой интерес со стороны специалистов к новому классу синтетических материалов, обладающих распознающей способностью и, соответственно, потенциально высокой избирательностью по отношению к определенным соединениям. Эти материалы получают с помощью метода молекулярных отпечатков (англ. - Molecular imprinting), в научной литературе их называют молекулярно-импринтированными полимерами (МИПы) [1-3].

Общая методика получения МИПов основана на полимеризации функционального и сшивающего мономеров в присутствии молекул-шаблонов. В приведенной ниже схеме (рис.1) можно условно выделить три ключевых стадии.

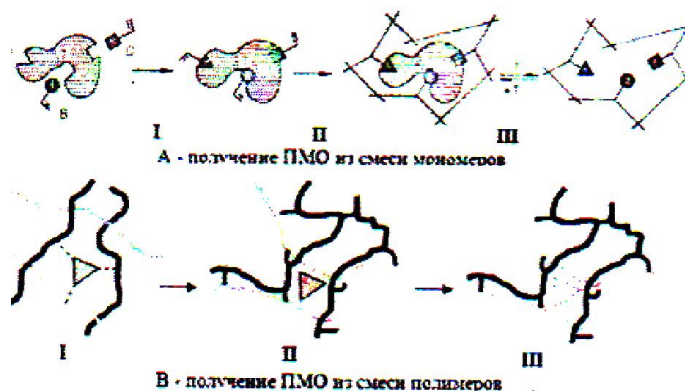


Рисунок 1. Получение полимеров с молекулярными отпечатками или «настроенных» сорбентов

На первой стадии осуществляются взаимодействия мономеров (полимеров) с шаблонным соединением с образованием ассоциата в условиях, когда мономер (функциональные группы полимеров) еще имеют достаточную подвижность. На второй стадии происходит фиксация системы, за счет образования сшитого полимера. И на последней стадии - удаление шаблонного соединения из полимера путем экстракции органическим растворителем или химического разрушения связей, что приводит к возникновению в полимере молекулярных отпечатков - полостей, комплементарных шаблону по размеру, форме и расположению функциональных групп. Благодаря «молекулярной памяти», заложенной в сшитой полимерной решетке, эти участки способны к повторному высокоспецифичному взаимодействию с шаблоном или его структурным аналогом. В настоящее время для синтеза молекулярно импринтированных полимеров широко используется метод полимеризации в массе [4, 5]

Привлекательность импринтированных полимеров для практического использования обусловлена такими их свойствами, как высокая стабильность, простота получения, сопоставимые с природными рецепторами аффинность и селективность.

**Области применения «настроенных» сорбентов
Высокоэффективная жидкостная хроматография**

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) является одним из наиболее универсальных химико-аналитических методов. При рутинном анализе в качестве неподвижной фазы, как правило, используются сорбенты, неспецифически взаимодействующие с компонентами пробы. Однако когда требуется разделить искомое соединение и вещества сходного строения, возникает необходимость в сорбентах, содержащих высокоспецифичные рецепторы. Поскольку модификация неподвижной фазы, необходимая для иммобилизации рецепторов, всегда сопряжена с определенными трудностями, МИПы в качестве хроматографических носителей имеют существенные преимущества по сравнению с традиционными сорбентами. ПМО довольно давно используются в жидкостной хроматографии. В частности, МИП-хроматография оказалась адекватной альтернативой аффинной хроматографии при разделении стереоизомеров [6], т. к. сам принцип молекулярного импринтинга подразумевает энантиоселективность распознавания. Более того, возможно получение МИП-сорбентов для разделения соединений, содержащих несколько хиральных центров, например, дипептидов. МИПы с успехом разделяют изомеры различных углеводов [7]. Показательный пример высокой селективности ПМО-хроматографии - разделение структурно близких р-лактамных антибиотиков. Молекулярный импринтинг позволил получить неподвижные фазы, специфичные для разных р-лактамов, в отличие от традиционных сорбентов, отделяющих Р-лактамные антибиотики только от соединений другой природы. Выбор оптимальной структуры ПМО для использования в качестве хроматографических сорбентов - нетривиальная задача, которая должна специально решаться в каждом конкретном случае. Вследствие сильной гетерогенности участков молекулярного распознавания и низкой емкости полимерного материала качество разделения часто оставляет желать лучшего: число теоретических тарелок порядка 2000-5000 на метр. Основные подходы, используемые для повышения эффективности хроматографии, - оптимизация протокола разделения (варьирование температуры, подбор подвижной фазы, добавление конкурента, градиентное элюирование) и блокировка неспецифических участков связывания полимера. ПМО могут быть успешно использованы в препаративной жидкостной хроматографии, в том числе и для получения оптически чистых изомеров.

Капиллярная электрохроматография и тонкослойная хроматография

Как и в ВЭЖХ, в капиллярной электрохроматографии (КЭХ) МИПы играют роль высокоселективной неподвижной фазы. По сравнению с МИП-ВЭЖХ МИП-КЭХ характеризуется лучшим разрешением, (более 100 000 теоретических тарелок на метр). МИП-сорбент может быть введен в капилляр либо путем набивки, либо, учитывая трудность заполнения, синтезирован непосредственно в капилляре. Приготовление капиллярной колонки занимает всего 2-3 часа, а полученный сорбент стабилен в течение нескольких месяцев. Метод КЭХ с МИП-сорбентами успешно использовался для разделения энантиомеров: р- блокаторов *S*- и *R*-пропранолола, *L*- и *D*- фенилаланина [8].

Тщательно измельченный и смешанный со специальным связующим веществом полимер, нанесенный на твердую подложку, может использоваться в тонкослойной хроматографии для разделения хиральных соединений, например, производных аминокислот. Однако на сегодняшний день эффективность этого метода недостаточна, что проявляется в образовании «размытых» зон, затрудняющем определение *R_f*. Создание подходящих МИП-сорбентов позволит широко применять быстрый и простой метод ТСХ для высокопроизводительного полуколичественного анализа.

Твердофазная экстракция

Необходимость эффективной предварительной очистки и концентрирования проб для МЕДИЦИНского, экологического и пищевого анализа определяет интерес к созданию новых методов твердофазной экстракции (ТФЭ). ТФЭ с использованием МИП предложена для предобработки проб биологических жидкостей - плазмы и сыворотки крови, мочи, желчи, экстракта из печени, - а также питьевой и природной воды, продуктов питания, растительных экстрактов и многих других объектов.

ТФЭ - более быстрый и воспроизводимый метод по сравнению с жидкостной экстракцией, обеспечивающий большую чистоту экстрактов при меньшем расходе растворителей и малом объеме проб. Как стадия пробоподготовки ТФЭ может быть включена в автоматизированный аналитический процесс. Наибольшее число публикаций по применению импринтированных полимеров посвящено именно системам ТФЭ, что обусловлено дешевизной ПМО, их совместимостью с органическими растворителями, устойчивостью в различных средах и высокой избирательностью связывания [9].

Пример ТФЭ с использованием ПМО определение пестицида атразина в печени крупного рогатого скота. После хлороформной экстракции аналит селективно выделяли и концентрировали на колонке, заполненной полимером с молекулярными отпечатками атразина. Затем аналит смывали с сорбента смесью органических растворителей и определяли его количество методами обращенно- фазовой хроматографии и твердофазного иммуоферментного анализа (ИФА). По сравнению с анализом без использования ТФЭ порог детекции снизился с 20 до 5 нг/мл (для ВЭЖХ), а степень извлечения аналита возросла с 79,6 до 92,8% (по данным ИФА). Другие примеры ТФЭ приведены в приложении.

Катализ

Создание каталитически активных импринтированных полимеров представляет не только научный, но и практический интерес и является непростой задачей. Шаблоном для синтеза полимера должно служить соединение, сходное с переходным состоянием трансформируемого субстрата. Действительно, использование шаблона, структурно близкого к субстрату или продукту, приведет к необратимому связыванию, а не к катализу. Так как переходные состояния субстратов крайне неустойчивы, для импринтинга подбираются их стабильные аналоги. Фактически при этом реализуются те же принципы, что и при получении абзимов - каталитических антител [10]. Хотя МИПы не могут конкурировать с природными ферментами по эффективности катализа, совместимость с органическими растворителями, температурная и pH-стабильность являются их безусловными преимуществами.

Органический синтез

МИПы были успешно использованы в синтетических технологиях для сдвига равновесия и удаления побочного продукта с целью повышения выхода и степени чистоты продукта реакции [11]. Например, ферментативный синтез аспартама идет в несколько стадий; исходя из этого, сдвиг равновесия осуществляли введением в реакционную среду полимера, импринтированного одним из промежуточных продуктов. Применение этого подхода позволило увеличить выход синтеза с 15% до 63%, а чистоту продукта - за счет селективной сорбции побочного продукта - с 56% до 96%.

Гидрогелевые «настроенные» сорбенты

Большой практический интерес представляют так называемые «настроенные сорбенты», полученные путем иммобилизации полимерметаллических комплексов на основе линейного полютиленимина (ЛПЭИ) и двухвалентных ионов никеля, кобальта и цинка в матрицу нейтральных гидрогелей (Рис. 2) [12].

Главным преимуществом «настроенных» на определенный тип металла сорбентов заключается в селективном извлечении целевых ионов металлов из их смеси.

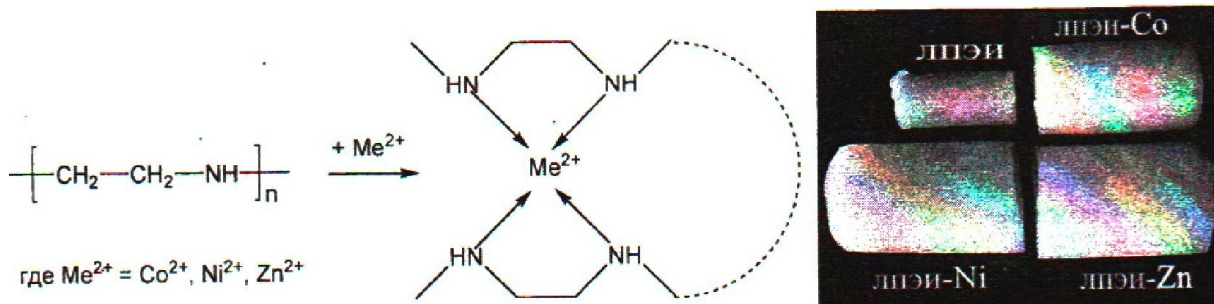


Рисунок 2. «Настроенные» гидрогели на ионы никеля, кобальта и цинка

Это достигается путем вымывания (или выщелачивания) иммобилизованного в матрице гидрогеля иона металла путем обработки минеральной кислотой (Рис. 3). При этом полимерметаллические комплексы разрушаются, а в матрице гидрогеля сохраняется «шаблон», настроенный на иммобилизованный ранее ион металла. «Настроенный» на определенный тип иона металла гидрогелевые матрицы вполне могут быть использованы для селективного извлечения редкоземельных элементов.

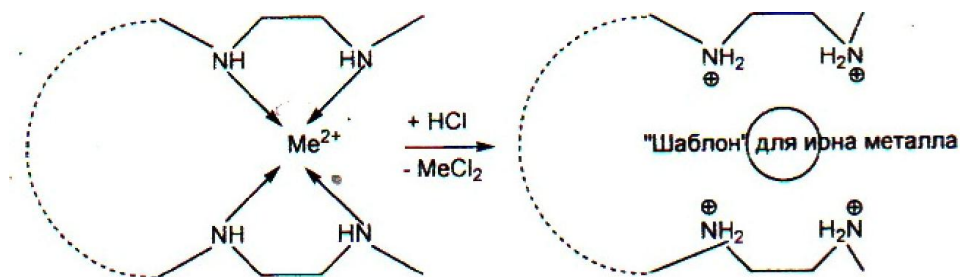


Рисунок 3. Схема образования «шаблона» в матрице гидрогеля

Для получения «настроенного» сорбента методом "in situ" мономерную смесь, состоящую из акриламида (АА) и акриловой кислоты (АК) при исходном соотношении мономерной смеси АА:АК = 3:1 моль/моль, подвергали радикальной сополимеризации в присутствии натриевой соли этилендиамина тетрауксусной кислоты (ЭДТА), инициатора и сшивающего агента по следующей схеме (рис.4):

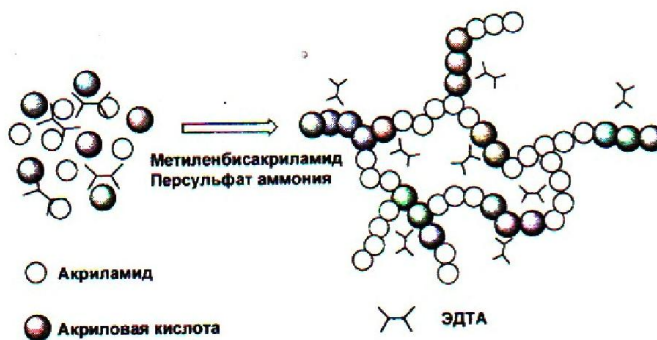


Рисунок 4. Синтез «настроенного» сорбента в условиях “in situ”

В ходе сополимеризации и сшивания мономеров, ЭДТА (шаблон) равномерно распределяется и фиксируется в объеме гидрогелевой матрицы преимущественно из-за образования ионных контактов или водородных связей с функциональными группами сшитых макромолекул.

Сущность метода сорбционной иммобилизации состоит в том, что предварительно полученный и высушенный гидрогелевый образец помещается в водный раствор ЭДТА. В процессе набухания гидрогеля происходит иммобилизация молекулы ЭДТА, как показано на рис. 5.

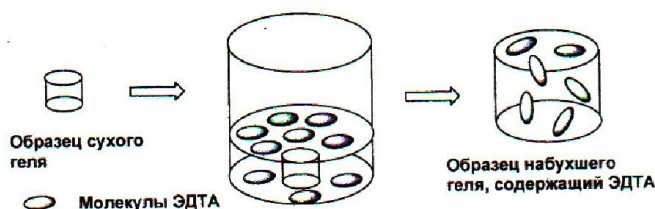


Рисунок 5. Получение гидрогелевых «настроенных» сорбентов сорбционной иммобилизацией

Полученные двумя путями гидрогелевые «настроенные» сорбенты, содержащие в матрице сетки ЭДТА весьма склонны к взаимодействию с ионами переходных металлов с образованием окрашенных полимерметаллических комплексов. Взаимодействие гидрогелей с ионами металлов сопровождается сжатием и окрашиванием образцов в зависимости от природы сорбируемых металлов. В последующих сериях экспериментов осуществлено комплексообразование ЭДТА с определенными ионами металлов, например двух- и трехвалентными ионами железа (Рис.6).

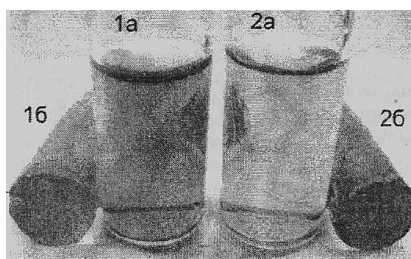


Рисунок 6. Изменение цвета полимер-металлического комплекса в процессе синтеза. 1а - раствор комплекса ЭДТА- Fe^{2+} , 1 б - гидргель, полученный из раствора комплекса ЭДТА- Fe^{2+} , 2а - раствор комплекса ЭДТА- Fe^{3+} , 2б - гидрогель, полученный из раствора комплекса ЭДТА- Fe^{3+} .

Затем путем сополимеризации мономеров (АА и АК) в присутствии комплексов ЭДТА-ионы железа получены гидрогелевые образцы, в объеме которых содержатся ионы металлов. На второй стадии осуществлено удаление иона металла из матрицы сшитого полимера путем обработки минеральной кислотой или перекомплексования более сильным лигандом, чем ЭДТА. По окончании процесса синтеза сшитый полимер представляет собой матрицу, в структуре которой присутствуют трехмерные молекулярные отпечатки (микропоры), настроенные на определенные ионы металлов. Образованные молекулярные отпечатки по форме, размеру, расстоянию между зарядами идентичны (комплементарны) молекуле шаблонного соединения (например, иона металла) и способны повторно связывать (узнавать) эти ионы среди множества других.

Увеличивающееся число публикаций по молекулярному импринтингу свидетельствует о возрастающем интересе исследователей к этой области современной химии, обусловленному, в первую очередь, редким сочетанием уникальных свойств этих материалов с простотой и дешевизной их производства. Актуальным является создание МИП-систем очистки питьевой и сточной воды от пестицидов, эндокринных деструкторов, фенолов и тяжелых металлов.

Литература:

1. Molecularly imprinted polymers. Man-made mimics of antibodies and their application in analytical chemistry / Ed. Sellergren B. Elsevier. - 2001. - 582 P-
2. Гендриксон О.Д., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б. Молекулярно импринтированные полимеры и их применение в биохимическом анализе // Успехи биологической химии. - 2006. - Т.46. - С. 149-192
3. Лисичкин Г.В., Крутяков Ю.А. Материалы с молекулярными отпечатками: синтез, свойства, применение // Успехи химии. - 2006. - Т.75, № 10. - С.998-1017
4. Wulff G. *Angew. // Chem. Int. Ed. Engl.* - 1995. - V. 34.-P. 1812-1832
5. Ansell R.J., Ramström O., Mosbach K. // *Clin.Chem.* - 1996.-V.42.-P. 1506-1512
6. Matsui J., Nicholls I.A., Takeuchi T. // *Tetrahedron: Asymmetry.* - 1996.-V. 7.-P. 1357-1361
7. Nilsson K.G.I., Sakguchi K., Gemeiner P., Mosbach K. // *J. Chromatogr. - Ser.A.* - 1995. - V.707. - 199- 203
8. Lin J.M., Nakagama T., Uchiyama K., Hobo T. // *Chromatographia.* - 1996. - V.43. -P.585-591
9. Hennion M.-C., Miège C., Pichon V., Bouzige M. // *Trends Anal.Chem.* - 1999. -V. 18. - P.219-235
10. Stevenson J.D., Thomas N. R. // *Nat. Prod. Rep.* - 2000.-V. 17. -P.535-577
11. Ramström O., Ye L., Krook M., Mosbach K. // *Chromatographia.* - 1998. - V.47. - P.465-469
12. . New York, Boston, Dordrecht, Tokyo, Moscow, Kluwer Academic/ Plenum Publishers, 2002, 220 p.

Рецензент: д.хим.н., профессор Шаршеналиева З.Ш.