

Касимова Э.Дж.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ОТПЕЧАТКОВ ПОЛИМЕРА

E.Dj. Kasymova

USE OF THE MOLECULAR IMPRINTED POLYMERS

УДК: 543 + 547. 992

Дан общий обзор применения и использования молекулярных отпечатков, моделирования разработанных методик синтеза, а также действия молекулярных отпечатков полимера.

It is given general review of the using and use molecular imprinted, modeling methods of syntheses, as well as actions molecular imprinted polymers.

Молекулярные полимерные отпечатки можно использовать для разделения энантиомеров. Энантиомеры представляют материалы синтезированные из "упорядоченных чистых молекул". Из этих соединений синтезируют препараты, такие как напроксен (противовоспалительное действие) [1], тимолол (бета-блокатор) [2], никотин [3].

Извлечение может быть определено через коэффициент извлечения, который зависит только от времени удержания двух энантиомеров или коэффициента растворимости R_s . Извлечение тем лучше, чем выше показатели этих факторов. Высокая избирательность была получена в энантиомерной смеси дипептид Ы-ацетил-Трп-РЬе-О-Ме (не ковалентная система,

$R_s=17,8$) [4] и для рацемической смеси М-(3,5-динитробензол)- ϵ -метилбензиламин. На рис. 1 представлены два материала различной морфологии, которые описаны в работах [5]. Если вода используется в качестве растворителя, то образуются слабые взаимодействия (водородные связи), которые уменьшают их прочность. При некоторых условиях синтеза и использования материалов с регулируемой структурой ("бисер") дает высокий коэффициент извлечения. Молекулярные отпечатки полимера успешно использовали для тонкослойной хроматографии [6] и капиллярного электрофореза [7]. Интенсивно развивается направление извлечения в твердой фазе (рис.2).

Во многих областях существует потребность, именно в таких материалах, т. е. избирательное разделение и обогащение анализируемых веществ, например, анализ лекарственных, пищевых, промышленных продуктов. Это было продемонстрировано во многих случаях извлечения на отпечатках полимера, которые дают высокие результаты, чем стандартные технологии, такие как разделение жидкость - жидкость или разделение на фазы C_{18} . На рис. 3 рассмотрен пример извлечения самеридина, анальгетика из сыворотки человеческого организма [8].

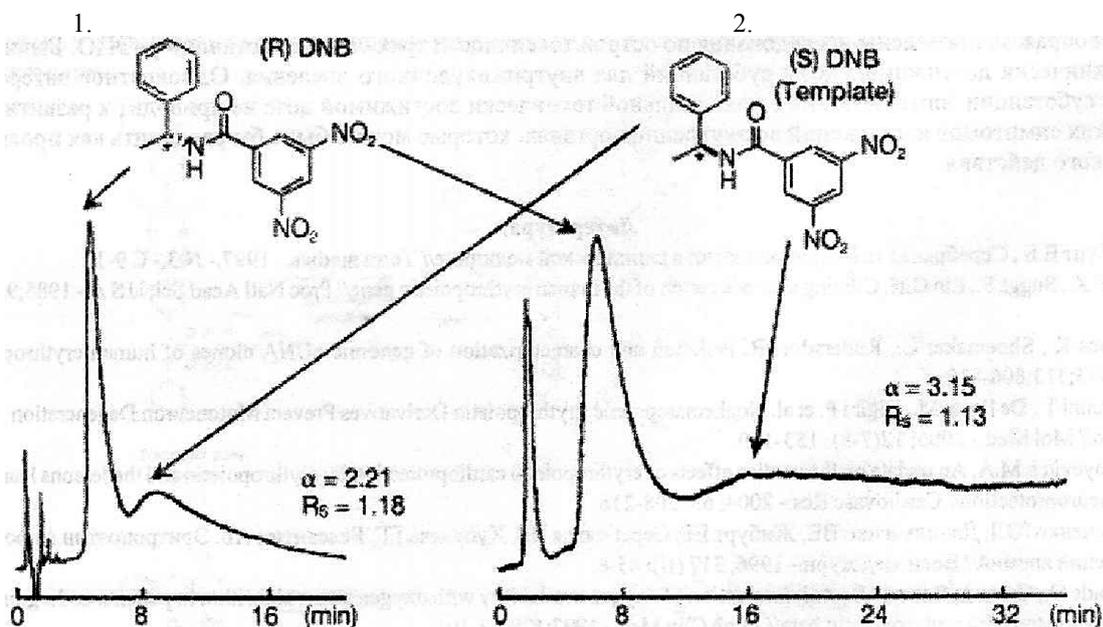


Рис.1. Хроматографическое извлечение двух энантиомеров Н-(3,5-динитробензоил)- ϵ -метилбензиламин (DNB) на отпечатках в сетке вокруг (S)- (DNB).

d г
Arable

Column psted withMiP

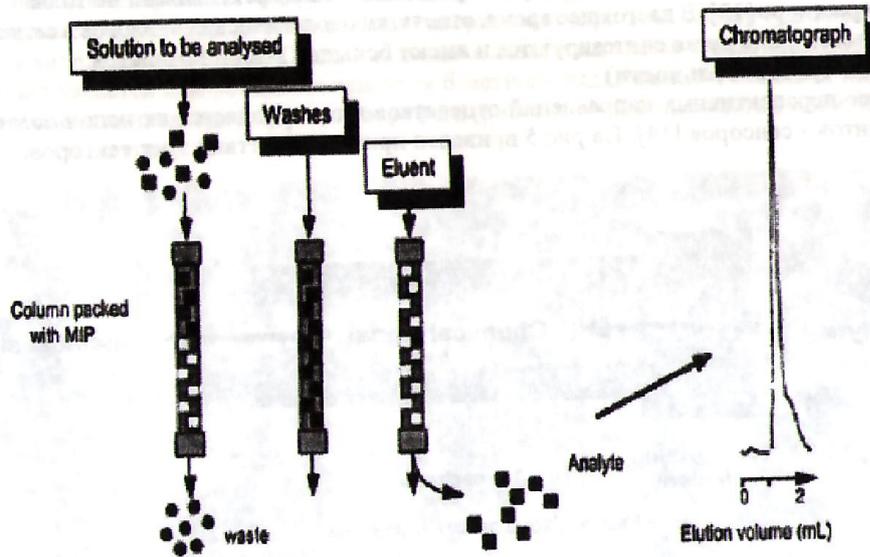


Рис.2. Схема извлечения отпечатков в сетках для растворов.

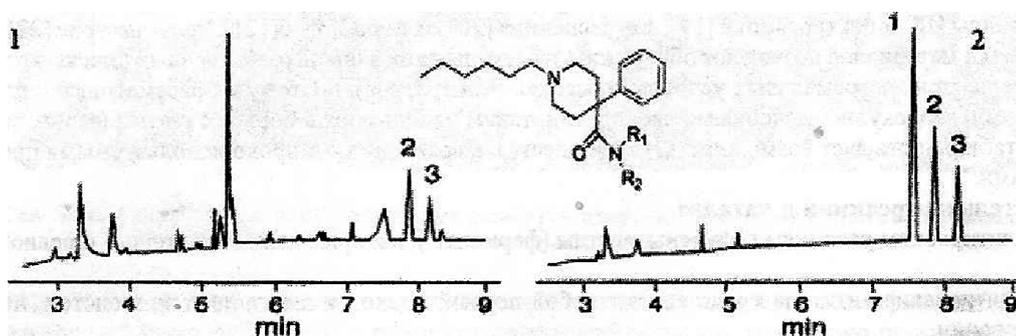
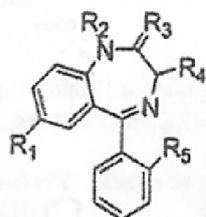


Рис. 3. Газо-фазовая хроматограмма извлечения человеческой плазмы; 1- после стандартного разделения жидкость-жидкость; 2- после извлечения водной фазы с отпечатков полимера.

Подготовка аналогов антитела

Недавние исследования показали эффективность антител и искусственных рецепторов в использовании их в терапевтических целях, благодаря молекулярным отпечаткам [10, 11]. Например, диазепам (транквилизатор) и теофелин (бронхорасширитель) являются темплатами, где было установлено, что селективность антител падает почти до нуля при реакциях сшивания с соответствующими веществами (рис.4) [12].



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Diazepam	Cl	Me	O	H	H
Desmethyldiazepam	Cl	H	O	H	H
Clonazepam	NO ₂	H	O	H	Cl
Lorazepam	Cl	H	O	OH	Cl
Alprazolam	Cl		H	H	H

Ligand in competition	Cross-reactivity (%)	
	MIP	Antibody
Diazepam	100	100
Desmethyldiazepam	27	32
Clonazepam	9	5
Lorazepam	4	1
Alprazolam	2	1

Рис. 4. Сорбция различных бензодиазепинов на отпечатках в сетке.

Также синтезированы рецепторы для морфина, которые являются эффективными не только в органических средах, но и в водном растворе [13]. В настоящее время, отпечатки биологических аналогов в сетке более стабильны (химически, физически), они легко синтезируются и имеют большой выбор темплатов.

Сенсоры (датчики чувствительности)

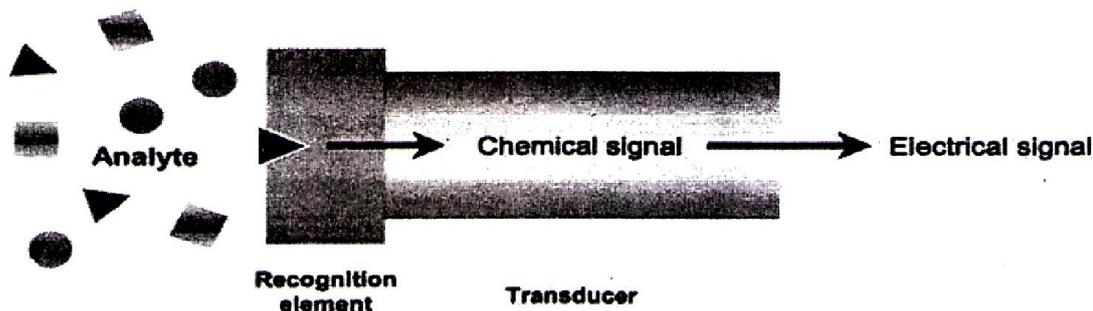


Рис. 5. Схема действия сенсора.

Молекулярные отпечатки полимера находятся в контакте с сенсорами, которые преобразуют химический или физический сигналы, полученные при адсорбции аналита. В эксперименте использованы различные методы: эллипсометрия [15], электрический потенциал [16], кондуктометрия [17], пьезоэлектрическая микрогравиметрия [18], затухающие волны ИК - спектроскопия [19], флуоресценция [20], амперометрия [21], вольтметрия [22], pH - метрия [23]. Отпечатки материалов позволяют обнаружить молекулы даже в очень разбавленных смесях, которые находятся в комплексе при экстремальных условиях (высокая температура), поэтому их рассматривали для использования с ионами. Молекулы с лечебными свойствами, также используют в борьбе с газами (зарин, земан) [24]. Их высокая стабильность дает возможность преимущества, в сравнении с широко используемыми природными биомолекулами.

Стереоизбирательные реакции и катализ

Благодаря каталитическим реакциям получены ферменты (ферменты), которые являются стерео- и редиоизбирательными.

Абзимы и каталитические антитела представляют собой первый подход к имитации таких систем, но они сложны в использовании.

Многие исследовательские группы пытались применить избирательность молекулярных отпечатков полимеров в подготовке аналогов фермента с каталитической активностью [25-32]. Один из методов заключается в подготовке молекулярных отпечатков полимеров - темплата со структурой подобной этому субстрату. Функциональные группы, которые играют каталитическую роль в отпечатывании мест молекулы - "гость", благодаря взаимодействию с функциональными группами. На рис. 6 (2) [33,34] представлен катализ дегидрофторирования на α -флюорокетоне.

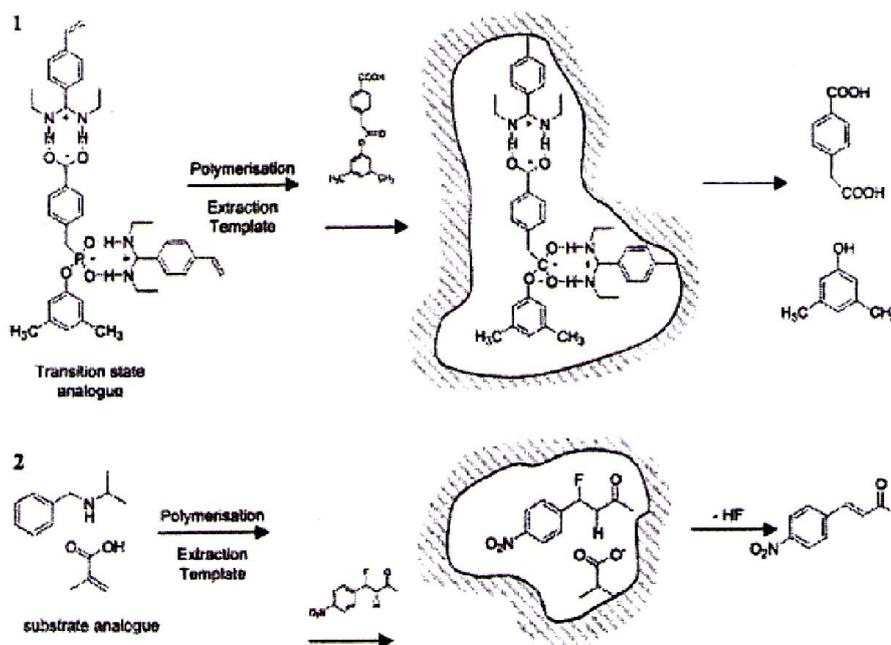


Рис. 6. Молекулярные отпечатки полимеров, используемые в катализе: 1 - гидролиз эфиров; 2- дегидролиз.

Карбоксильные каталитические группы расположены в более благоприятном положении, благодаря взаимодействию с аминной структурой. В результате каталитическая реакция является очень эффективной: субстрат, который введен реагирует в 600 раз быстрее, чем в реакциях растворов. Полученные значения каталитических антител (в 1600 раз больше) [35].

Наиболее широко используются методы, которые включают синтез сетки вокруг структуры аналога на переходном этапе реакции. Отпечаткам мест соответствуют конформации субстратов на переходном этапе. Как темплат, для гидролиза эфиров использовали производные фосфонатов [36,37]. Отпечатки в сетке определенного типа - эстераз можно получить - в результате каталитической активности. На рис.7 (1) представлены молекулярные отпечатки полимера, где скорость реакции увеличивается в 100 раз по отношению к реакции без катализатора и кинетики типа Михаэлиса - Ментена, также наблюдается присутствие ингибитора, благодаря аналогам переходного этапа [38].

Описаны реакции типа Дильса - Олдера [39,40], альдольная конденсация [41] и изомеризация бензи-сахарозов [42]. Помимо каталитической роли молекулярные отпечатки полимера используются в стерео- избирательных [43, 44] или региоизбирательных реакциях [45]. На рис. 7 представлен стероид с тремя гидроксильными группами, которые избирательно ацетилюют один из гидроксильных, а другие маскируются, благодаря взаимодействию с отпечатками сетки [46].

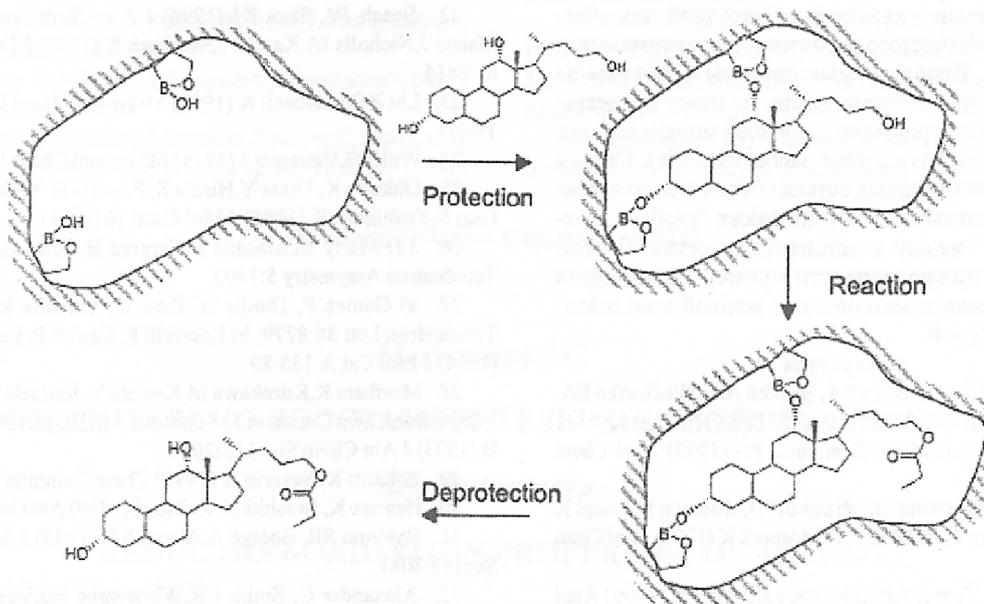


Рис. 7. Примеры региоизбирательных реакций: молекулярные отпечатки полимера, ацетилюющие гидроксильную группу стероида, другие гидроксильные группы маскируются.

В заключении отметим, что разработаны методики моделирования действия молекулярных отпечатков полимера [47]. Каталитическая активность молекулярных отпечатков полимера в протеиновых системах значительно ниже, пока они не могут конкурировать с их биологическими аналогами. Их высокая химическая стабильность и возможность использования в органических фазах дает перспективное будущее.

Метод молекулярного распознавания (молекулярный импринтинг) охватывает широкий спектр применения. В сравнении с альтернативными методами этот метод представляет ряд преимуществ: рентабельность; механическая, тепловая, химическая стойкости; длительный срок действия [48]. Хотя, существует ряд факторов ограничивающих развитие этих материалов. В системах, основанных на не ковалентных связях, необходимо вводить большой избыток функционального мономера для формирования комплекса. В результате образуются случайные распределения отпечатков, как дополнение к активным местам (полостям). Это приводит к весьма неоднородному распознаванию отпечатков, снижению отпечатков в сетке (низкой способности, снижению специфичности и т. д.). В настоящее время, для решения этой проблемы, разработаны новые мономеры с более высоким сродством к молекуле - "гость" [49,50]. Кроме того, перенос молекулярных отпечатков полимеров в среде создает ряд определенных проблем, связанных с различными типами взаимодействий [51].

Недостаток молекулярных отпечатков полимеров связан с введением большого количества вещества для сшивания (около 80-90%) что дает искажение структуры полимера [17,52]. В результате из-за жесткости сетки затрудняется извлечение и повторная вставка темплата - отпечатанных полостей, из-за чего резко уменьшаются свойства материала [17]. Разработаны различные "поверхности отпечатывания" материалов, которые зарегистрированы, однако их возможности оказались очень низкими [53]. Предложены некоторые перспективные материалы с определенной жесткостью, которая сохраняет целостность распознавания мест, оставаясь при этом достаточно гибким, для повышения передачи молекул и оптимизации взаимодействий "хозяин - гость" [54].

Гидрофобные алкильные цепи направлены во внутрь пленки, в то время, как гидрофильные охватывают две поверхности этой пленки [55]. Фосфо- липиды ориентируют свои цепи перпендикулярно к пленке [56]. Белки, которые вставлены в двухслойность являются более гидрофобными и зависят от гидрофильности аминокислот полипептидной цепи. Гидрофильные части находятся в бислое, а гидрофобные части выступают с наружи. Эта структура мембраны остается когерентной: различные молекулы приводят ее в движение при

взаимодействии между ними для поддержания целостности структуры. Супрамолекулярная организация является достаточной для обеспечения специфического распознавания оптимальных позиций [57]. Используемые системы основаны на супрамолекулярной организации, поэтому представляет интерес альтернативные методы молекулярного импринтинга (молекулярное распознавание). Связь в стандартных полимерных сетках обеспечивается, благодаря ковалентным связям, но также "слабым взаимодействиям" между компонентами сетки. В этом направлении можно привести пример полимерных гелей 2-Д пленки и материалы с жидкой кристаллической структурой.

Литература:

1. Sergeeva TA, Piletsky SA, Brovko AA, Slinchenko EA, Sergeeva LM, Panasyuk TL, Elskaya A V (1999) *Analyst* 124:331
2. Malitesta C, Losito I, Zambonin PG (1999) *Anal Chem* 71:1366
3. Jakusch M, Janotta M, Mizaikoff B, Mosbach K, Haupt K (1999) *Anal Chem* 71:4786 Kriz D, Mosbach K (1995) *Anal Chim Acta* 300:71
4. Kruger S, Turner APF, Mosbach K, Haupt K (1999) *Anal Chem* 71:3698
5. Chen GH, Guan ZB, Chen CT, Fu LT, Sundaresan V, Arnold FH (1997) *Nature Biotechnol* 15:354
6. Jenkins AL, Uy OM, Murray GM (1999) *Anal Chem* 71:373
7. Hasserodt J (1999) *Synlett* 12:2007
8. a) Whitcombe MJ, Alexander C, Vulfson EN (2000) *Synlett* 6:911; b) Ramstrum O, Mosbach K (1999) *Curr Opin Chem Biol* 3:759; c) Liu Q, Zhou Y, Liu Y Chin J (1999) *Anal Chem* 1341; d) Davis ME, Katz A, Ahmad WR (1996) *Chem Mater* 8:1820
9. a) Wulff G, Gross T, Schunfeld R (1997) *Angew Chem Int Ed Engl* 36:1962; b) Wulff G (2002) *Chem Rev* 102(1): 1
10. a) Ohkubo K, Urata Y, Honda Y, Nakashima Y, Yoshinaga K (1994) *Polymer* 35:5372; b) Ohkubo K, Funakoshi Y, Urata Y, Hiraota S, Usui S, Sagawa T (1995) *J Chem Soc Chem Commun* 2143
11. Sellergren B, Karmalkar RN, Shea KJ (2000) *J Org Chem* 65:4009
12. Leonhardt A, Mosbach K (1987) *React Polym Ion Exch Sorbents* 6:285
13. a) Karmalkar RN, Kulkarni MG, Mashelkar RA (1996) *Macromolecules* 29:1366; b) Lele BS, Kulkarni MG, Mashelkar RA (1999) *React Funct Polym* 40:215; c) Lele BS, Kulkarni MG, Mashelkar RA (1999) *React Funct Polym* 39:37 Kawanami Y, Yunoki T, Nakamura A, Fujii K, Yamuuchi H, Masuda K (1999) *H, Masuda K* (1999)
14. Toorisaka E, Yoshida M, Uezu K, Goto M, Furusaki S (1999) *Chem Lett* 387
15. Leonhardt A, Mosbach K (1987) *React Polym* 6:285
16. Ohkubo K, Urata Y, Hirota S, Honda Y, Sagawa T (1994) *J Mol Catal* 87:L21. Ohkubo K, Urata Y, Hirota S, Funakoshi Y, Sagawa T, Usui S, Yoshinaga K (1995) *J Mol*
17. Catal A *Chem* 101:L111 Kawanami Y, Yunoki T, Nakamura A, Fujii K, Umamo K, Yamuuchi H, Masuda K (1999)
18. *J Mol Cat A* 145:107 Liu XC, Mosbach K (1997) *Macromol Rapid Commun* 18:609
19. Santora BP, Larsen AO, Gagnfi MR (1998) *Organometallics* 17:3138
20. Damen J, Neckers DC (1980) *J Am Chem Soc* 102:3265
21. Miller R, Andersson LI, Mosbach K (1993) *Makromol Chem Rapid Commun* 14:637
22. Beach JV, Shea KJ (1994) *J Am Chem Soc* 116:379 Matsui J, Nicholls IA, Karube I, Mosbach K (1996) *J Org Chem* 61:5414
23. Liu XC, Mosbach K (1998) *Macromol Rapid Commun* 19:671
24. Wulff G, Vietneier J (1989) *Makromol Chem* 190:1727
25. Ohkubo K, Urata Y, Hirota S, Funakoshi Y, Sagawa T, Usui S, Yoshinaga K (1995) *J Mol Catal* 101:L111
26. J.D. Marty M, Mauzac Sellergren B, Shea KJ (1994) *Tetrahedron Assymetry* 5:1403
- a) Gamez P, Dunjic B, Pinel C, Lemaire M (1995) *Tetrahedron Lett* 36:8779; b) Locatelli F, Gamez P, Lemaire M *J Mol Cat A* 135:89
27. Morihara K, Kurokawa M, Kamata Y, Shinada T (1992) *J Chem Soc Chem Commun* 358 Bystmm SE, Bmje A, Akermark B (1993) *J Am Chem Soc* 115:2081
28. Polborn K, Severin K (1999) *Chem Commun* 2481 Hamase K, Iwashita K, Zaitso K (1999) *Anal Sci* 15:411 Bystmm SE, Boerge A, Akernah B (1993) *J Am Chem Soc* 115:2081 Alexander C, Smith CR, Whitcombe MJ, Vulfson EN *J Am Chem Soc* 121:6640
29. Braco L, Dabulis K, Klibanov AM (1990) *Proc Natl Acad Sci USA* 87:274
33. a) Wulff G, Sarhan A (1978) US Patent 4,111,863; b) Wulff G, Sarhan A (1978) US Patent 4,127,730; c) Mosbach K, Nilsson KGI (1983) US Patent 4,415,665; d) Larsson PO, Mosbach K, Borchert A (1985) US Patent 4,532,232; e) Nilsson K, Mosbach K (1990) US Patent 4,935,365; f) Nilsson K, Mosbach K (1991) US Patent 5,015,576; g) Mosbach K (1992) US Patent 5,110,833; h) Arnold FH, Dhal P, Shnek D, Plunkett S (1994) US Patent 5,310,648; i) Douglas A, Shea KJ (1994) US Patent 5,321,102; j) Afeyan NB, Varady L, Regnier F (1994) US Patent 5,372,719; k) Domb AJ (1997) US Patent 5,630,978; l) Mosbach K, Cormack PAG, Ramstrum O, Haupt K (1999) US Patent 5,994,110 Ramstrum O, Ansell RJ (1998) *Chirality* 10:195
34. a) Enoki T, Tanaka K, Watanabe T, Oya T, Sakiyama T, Takeota Y, Ito K, Wang G, Annaka M, Hara K, Du R, Chuang J, Wasserman K, Grosberg AY, Masamune S, Tanaka T (2000) *Phys Rev Lett* 85:5000; b) Alvarez-Lorenzo C, Guney O, Oya T, Sakai Y, Kobayashi M, Enoki T, Takeoka Y, Ishibashi T, Kuroda K, Tanaka K, Wang G, Grosberg AY, Masamune S, Tanaka T (2001) *J Chem Phys* 114:2812; c) Alvarez-Lorenzo C, Hiratani H, Tanaka K, Standi K, Grosberg AY, Tanaka T (2001) *Langmuir* 17:3616
35. Byrne ME, Park K, Peppas NA (2002) *Adv Drug Deliv Rev* 54:149
37. Lahav M, Katz E, Doron A, Patolsky F, Willner I (1999) *J Am Chem Soc* 121:862
38. Miyahara T, Kurihara K (2000) *Chem Lett* 1356
39. Davis FJ (1993) *J Mater Chem* 3:551
40. de Gennes PG (1971) *Mol Cryst Liq Cryst* 12:193
41. Zentel R (1986) *Liq Cryst* 1:589 Davis FJ, Mitchell GR (1987) *Polymer Commun* 28:8
42. Wulff G, Schmidt H, Witt H, Zentel R (1994) *Angew Chem Int Ed Engl* 33:188
43. Roberts PMS, Mitchell GR, Davis FJ (1997) *Mol Cryst Liq Cryst* 299:223

44. Brand HR, Finkelmann H (1998) Physical properties of liquid crystalline elastomers. In: Demus, Goodby, Gray, Spiess (eds) Handbook of liquid crystals VIII, vol. 3, chap V, p S277. Wiley-VCH, UK
45. Marty JD, Tizra M, Mauzac M, Rico-Lattes I, Lattes A (1999) *Macromolecules* 32:8674
46. Marty JD, Mauzac M, Fournier C, Rico-Lattes I, Lattes A (2002) *Liq Cryst* 29:529
47. Marty JD, Labadie L, Mauzac M, Fournier C, Rico-Lattes I, Lattes A (2004) *Mol Cryst Liq Cryst* 415:1-10; a) Rosenberg JE, Flodin P (1986) *Macromolecules* 20:1518
48. O'Shannessy DJ, Ekberg B, Mosbach K (1989) *Anal Biochem* 177:144; b) Andersson LI, Mosbach K (1990) *J Chromatogr* 516:313
49. Carter SR, Rimmer S (2002) *Adv Mater* 14(9):667
50. Hart BR, Shea KJ (2002) *Macromolecules* 35:6192
51. Andersson LI, Moller R, Vlatakis G, Mosbach K (1995) *Proc Natl Acad Sci USA* 92:4788
52. Sellergren B (1989) *Makromol Chem* 190:2703; b) Sellergren B, Shea KJ (1993) *J Chromatogr* 635:31; c) Wulff G, Gross T, Schunfeld R, Schrader T, Kirsten C (1997) Molecular and ionic recognition with imprinted polymers. ACS Symposium Series 703, p 82
54. Kriz D, Ramstmm O, Svensson A, Mosbach K (1995) *Anal Chem* 67:2142; b) Al-Kindy S, Badia R, Diaz-Garcia ME (2002) *Anal Lett* 35:1763
55. Wulff G, Zabrocki K, Hohn J (1978) *Angew Chem Int Ed Engl* 17:535; b) Wulff G (1993) *Makromol Chem Makromol Symp* 70/71:285; c) Wulff G, Schmidt H, Witt H, Zentel R (1994) *Angew Chem Int Ed Engl* 33:188
56. Andersson LI, Ekberg B, Mosbach K (1993) Bioseparation and catalysis in molecularly

Рецензент: к.хим.н. Сарымсаков Ш.С.
