

• 药剂与工艺 •

茶碱分子印迹聚合物微球的合成及其性能研究

蒋旭红, 吴嫦秋, 刘展眉*

仲恺农业工程学院化学与化工学院, 广东 广州 510225

摘要: 目的 制备茶碱分子印迹聚合物微球, 考察模板分子与交联剂的配比、反应时间、溶剂对分子印迹聚合物微球形貌、产率以及性能的影响。方法 以茶碱为模板分子, 丙烯酰胺(AM)为功能单体, 乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA)为交联剂, 采用沉淀聚合法合成分子印迹微球, 采用静态吸附、扫描电镜(SEM)对微球进行表征。结果 当模板分子与交联剂配比为1:16、反应时间为24 h、乙腈为溶剂时, 所制得印迹聚合物微球的形貌和吸附性能较好, 对茶碱与咖啡碱的选择性分离因子 α 为1.74。结论 分子印迹聚合物微球对茶碱分子有特异性吸附和识别能力。

关键词: 沉淀聚合法; 分子印迹聚合物; 茶碱; 丙烯酰胺; 微球; 咖啡碱

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)15-2055-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.15.007

Synthesis of theophylline molecular imprinted polymer microspheres and their properties

JIANG Xu-hong, WU Chang-qiu, LIU Zhan-mei

College of Chemistry and Chemical Engineering, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China

Abstract: **Objective** To synthesize theophylline molecular imprinted polymer (MIP) microspheres. The influences of reaction conditions, including the category of solvent, reaction time, and the ratio of template to the cross-linking agent on the morphology and adsorption properties of MIP microspheres were studied. **Methods** Theophylline MIP microspheres were prepared by precipitation polymerization with theophylline as template and ethyleneglycol dimethacrylate (EGDMA) as cross-linker. The microspheres were characterized by static adsorption and scanning electron microscopy (SEM). **Results** The ratio of template to the cross-linking agent was 1:16, reaction time was 24 h, and acetonitrile was the solvent. The theophylline MIP microspheres were regular microspheres. The MIP microspheres showed the high adsorption capacity and the partition coefficient of the microspheres adsorbing theophylline was 1.74. **Conclusion** Theophylline MIP microspheres have the specific adsorption and recognition capabilities to the theophylline molecules.

Key words: precipitation polymerization; molecular imprinted polymer; theophylline; acrylamide; microsphere; caffeine

分子印迹聚合物(molecular imprinted polymer, MIP)是一类和酶、生物抗体等具有相似特异性识别能力的高分子聚合物, 此外其还具备优异的化学稳定性能^[1-2]。基于上述特点, 近年来, MIP在固相萃取^[3]、色谱分离^[4]、化学和生物传感器^[5]、模拟酶催化剂^[6]等方面得到了广泛应用。

吴浩^[7]利用聚乙烯醇(PVA)包埋环糊精聚合

物, 以戊二醛为交联剂, 采用反相悬浮聚合的方法, 合成了球状茶碱MIP。常怀春等^[8]采用反相悬浮聚合技术, 合成了茶碱分子酚醛吸附树脂微球。黄淑芳等^[9]通过悬浮聚合合成了茶碱分子印迹的大孔磺化聚二乙烯基苯/聚二乙烯基苯互穿聚合物网络珠体。陈移姣等^[10]以咖啡因为模板分子, 采用水溶液悬浮聚合法制备了用于色谱分离(作为HPLC的固定相)

收稿日期: 2013-02-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20976204); 广东省自然科学基金资助项目(s2012010009798)

作者简介: 蒋旭红(1969—), 女, 副教授, 博士, 主要从事功能高分子材料和天然产物的研究。Tel: (020)89003329 E-mail: jiangxh69@163.com

*通信作者 刘展眉 Tel: (020)89003329 E-mail: liuzhanm@21cn.com

网络出版时间: 2013-07-05 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20130705.1542.009.html>

的微米级 MIP 微球。罗勇等^[11]以甲基丙烯酸为功能单体, 乙二醇二甲基丙烯酸酯 (EGDMA) 为交联剂, 制备了基于硅胶表面的茶碱 MIP 微球。以上方法合成 MIP 微球的步骤相对复杂或需加入稳定剂。沉淀聚合法则可以一步合成 MIP 微球且不需要在反应体系中另加稳定剂, 所以组分简单, 易于操作, 得到的 MIP 微球粒径均一、表面干净^[12]。

茶碱 (化学名为 1, 3-二甲基-3, 7-二氢-1*H*-嘌呤-2, 6-二酮) 可松弛支气管平滑肌, 是一种黄嘌呤类抗支气管痉挛药, 具有良好的平喘作用^[13]; 对肥大细胞和嗜碱性粒细胞释放组胺有抑制作用, 具有良好的抗炎性^[14]。同时茶碱也是化学合成咖啡碱的一种重要的中间体, 据报道, 年产 1 000 吨咖啡碱的工厂, 茶碱母液的排放量约为 12 000 吨, 如不加以回收, 一方面会造成严重浪费^[15]; 另一方面, 若直接排放在环境中, 既危害生态系统, 也会威胁人体健康^[16]。本研究以茶碱为模板分子, 丙烯酰胺 (AM) 为功能单体, EGDMA 为交联剂, 2, 2'-偶氮二异丁腈 (AIBN) 为引发剂, 乙腈为溶剂, 采用沉淀聚合法合成了对茶碱分子有特异性吸附、识别性能的 MIP 微球, 用于茶碱的选择性吸附和富集。

1 仪器与材料

SHA—CA 恒温水浴锅, 常州澳华仪器有限公司; UV—2450 紫外可见分光光度计, 日本岛津公司; Hitachi S—4300 扫描电子显微镜 (SEM), 日本日立公司。

茶碱 (分析纯)、甲苯、无水乙醇, 天津市富宇精细化工有限公司; AM、EGDMA、AIBN, 天津市大茂化学试剂厂; 二乙烯基苯 (DVB), 国药集团化学试剂有限公司; 乙腈、甲醇、冰醋酸, 天津市科密欧化学试剂有限公司; 所有试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 茶碱 MIP 微球的制备

取 0.25 mmol 茶碱, 加入 1.0 mmol AM 及 25 mL 乙腈静置 8 h, 再加入 4.0 mmol EGDMA, 50.0 mg

AIBN, 超声脱气 5 min 再通氮脱氧 15 min 后密封, 保持 60 °C 恒温水浴中聚合反应 24 h。将获得的聚合物离心分离, 加入乙醇-冰醋酸溶液 (8:2), 超声分散 5 min 成悬浊液, 振荡 1 h 离心分离, 重复上述过程 5 次。最后用甲醇浸泡 12 h 除去残留乙酸, 将产物置于 40 °C 真空干燥箱中干燥 1 d, 即得茶碱 MIP 微球。茶碱非分子印迹聚合物 (NMIP) 微球的制备除不加模板分子茶碱外方法同上。

2.2 茶碱 MIP 微球制备条件的考察

将干燥的微球粘在双面胶上, 真空中用离子溅射器对微球喷金钼, 然后用扫描电子显微镜 (SEM) 观测微球的形貌, 并从 SEM 图中测量 50~100 个微球的粒径, 计算其平均粒径。

2.2.1 茶碱与交联剂的配比 图 1 为模板分子茶碱与交联剂以不同物质的量比制备的茶碱 MIP 微球的 SEM 图, 从图中可以看出, 当模板分子与交联剂物质的量比为 1:8~1:16 时, 随着交联剂比例的增加, 茶碱 MIP 微球粒径也增大, 微球粒径由 1.0 μm 增至 2.0 μm, 且球形较规则, 然而随着二者比例增加至 1:20 时, MIP 微球发生变形, 彼此粘连程度增加, 逐步向块状聚合物过度。随着交联剂比例的逐渐增大, MIP 微球产率不断增高, 由 1:8 时的 49.2% 增加至 1:20 时的约 100%。

2.2.2 反应时间 在固定其他反应条件不变的前提下, 采用不同的反应时间合成了茶碱 MIP 微球。由图 2 可见反应时间越长, 形成 MIP 微球粒径越大, 形貌越规则。当反应到 20~24 h 时, 微球数目、粒径、形貌趋于稳定。反应时间越长产物的产率也越高, 由 12 h 的 57.0% 增加到 24 h 的 83.8%, 反应到 24 h 后, 几乎不再有增加, 即 24 h 反应已趋于完成。

2.2.3 交联剂 保持其他反应条件不变, 分别以 EGDMA 和 DVB 为交联剂合成了茶碱 MIP 微球。从图 3 可以看出以 EGDMA 为交联剂合成的 MIP 微球较均匀, 但有些粘连, 粒径约为 1~2 μm; 以 DVB 为交联剂合成的则是分散的、均匀性较差, 粒

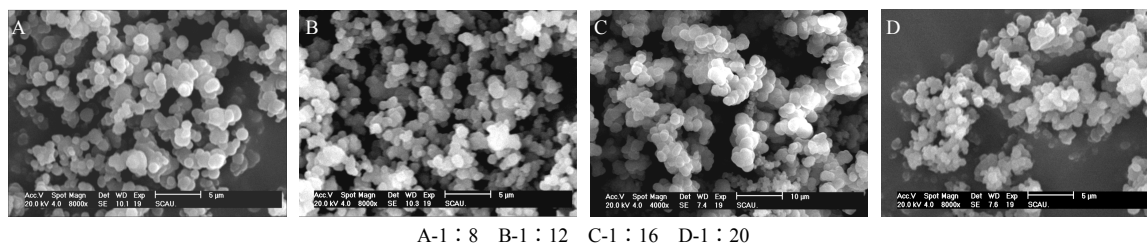
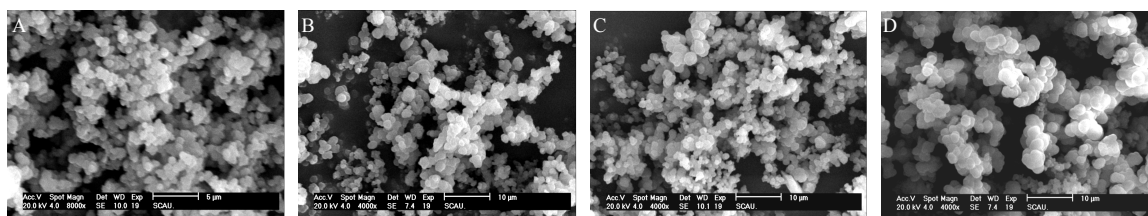


图 1 茶碱与交联剂不同配比所得茶碱 MIP 微球的 SEM 图

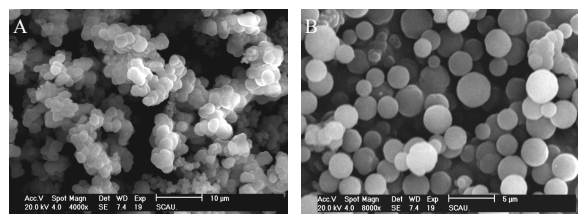
Fig. 1 SEM photographs of theophylline MIP microspheres prepared by various ratios



A-12 h B-16 h C-20 h D-24 h

图2 不同反应时间所得茶碱MIP微球的SEM图

Fig. 2 SEM photographs of theophylline MIP microspheres prepared by different reaction time



A-EGDMA B-DVB

图3 不同交联剂所得茶碱MIP微球的SEM图

Fig. 3 SEM microphotographs of theophylline MIP microspheres prepared with different cross-linking agents

径在1~4 μm的规则MIP微球。不同交联剂对合成聚合物的产率也有较大的影响,以EGDMA为交联剂合成的MIP微球产率为85.0%,以DVB为交联剂合成的MIP微球则为79.5%。

2.3 吸附性能测定

分别配制浓度为1.0、3.0、5.0、7.0、9.0、11.0 mmol/L的茶碱乙腈标准溶液,紫外分光光度计于272 nm测定其吸光度(A)值,以 A 值对茶碱的浓度(C)进行线性回归,得回归方程 $A=0.0886+0.095C$, $r=0.9999$,线性范围1~11 mmol/L。

将30.0 mg茶碱MIP微球放入25 mL磨口锥形瓶中,分别加入3.0 mL不同浓度的茶碱乙腈溶液,室温振荡吸附12 h,离心分离后,取上层清液,用紫外分光光度计于272 nm测定其 A 值,利用标准曲线法计算MIP对茶碱的吸附量。

图4为茶碱MIP微球和NMIP微球对茶碱分子的等温吸附曲线。其中茶碱乙腈溶液的浓度从1.0~10.0 mmol/L。由图4可知,MIP微球对茶碱分子的吸附量要明显高于NMIP微球。

采用不同比例(物质的量比,1:8、1:12、1:16、1:20)模板分子与交联剂制备的MIP微球的吸附性能分别为15.91、18.12、25.71、19.95 mmol/g。可以看到随着交联剂比例的增加,MIP微球对茶碱

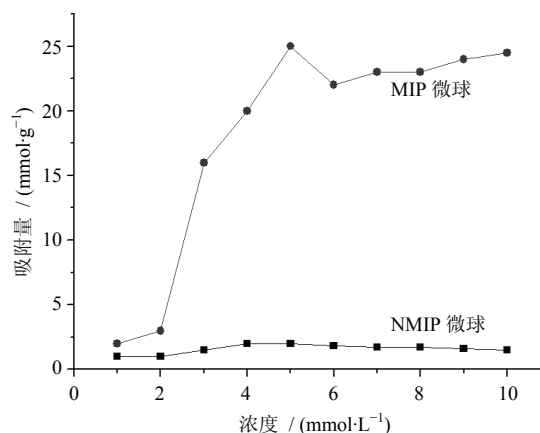


图4 MIP与NMIP对茶碱分子的等温吸附曲线($n=3$)

Fig. 4 Adsorption isotherm of theophylline MIP and NMIP ($n=3$)

的吸附量先增大后减小,在模板分子与交联剂比例为1:16时,吸附量最大,为25.71 μmol/g。

采用不同反应时间(12、16、20、24、30 h)制备的MIP微球吸附量分别为11.02、15.94、23.76、25.32、25.89 μmol/g。随着反应时间的增加,微球的吸附量也增加,开始增加较快,但是到20 h后趋势减缓,24 h后吸附量几乎不再有增加。

分别采用EGDMA和DVB为交联剂合成了茶碱MIP微球,以EGDMA为交联剂的MIP微球吸附量为25.37 μmol/g,明显高于以DVB为交联剂的10.01 μmol/g。

2.4 MIP微球的选择性考察

为了考察MIP微球的选择性识别性能,选用茶碱的结构类似物咖啡碱作为竞争底物,在浓度为5.0 mmol/L的乙腈溶液中进行平衡吸附实验,测定达到平衡时溶液中的目标分子浓度,并计算出分离系数(K_D)及茶碱与咖啡碱的分离因子(α)。 K_D 的定义为 $K_D=c_p/c_s$,其中 c_p (mmol/g)表示聚合物结合底物的浓度, c_s (mmol/L)表示溶液中底物的平衡浓度, α 定义为2种不同底物的分离系数之比,结果

MIP 微球对茶碱和咖啡碱的 K_D 分别为 5.340 L/g 和 3.070 L/g, 分离因子 α 为 1.74; 而 NMIP 微球的 K_D 分别为 0.610 L/g 和 0.551 L/g, 分离因子 α 为 1.11, 这说明与 NMIP 微球相比, MIP 微球对茶碱具有较好的选择性。

3 讨论

MIP 微球对茶碱分子的吸附量要明显高于 NMIP 微球, 说明在印迹过程中, 模板分子在 MIP 微球中留下的印迹空穴及空穴上匹配的活性结合位点决定了 MIP 微球对茶碱模板分子的高度亲合力。

模板分子与交联剂的比例为 1:16 时, 可获得形貌、产率和吸附量都较好的 MIP 微球。这是因为交联剂比例越大, 交联度越高, 形成的聚合物的刚性越好, 越有利于形成球形的聚合物。但是交联剂比例过高, 使得聚合体系的极性减弱, 又会导致微球粘团结块; 同时随着交联剂比例的增加, MIP 微球交联度的进一步增加, 微球更容易从体系中沉降, 单体的转化率也随之增加, 微球的产率也会提高。

对于 MIP 微球吸附量而言, 在交联剂用量较少时, 聚合物交联度不够, 形成的 MIP 微球没有足够的刚性将印迹空穴稳定地固定下来, 在洗脱模板分子后印迹孔穴不能保持其形状而发生变形, 吸附量下降。而在交联剂用量过多时, MIP 则刚性过大不能适度变形, 使得吸附过程中模板分子难以进入印迹位点从而导致吸附量降低; 另外因为交联剂在 MIP 基体中占的比例较大, 增加交联剂用量相当于减少单位质量 MIP 微球中的印迹孔穴的数量, 也会导致微球吸附量减少。

反应时间为 20~24 h 可获得形貌和吸附性能较好的 MIP 微球。这主要是由于反应时间越长, 聚合反应越完全, 颗粒逐渐长大形成有规则的微球, 而当由于印迹容量一定时, 反应时间较短, 印迹反应未完全, MIP 微球的印迹空穴和结合位点未完全形成。反应进行到 24 h 分子印迹反应趋于完成。

以 EGDMA 作为交联剂获得的 MIP 微球较均匀, 这是由于 DVB 中含苯环, 刚性较强, 表面不易溶胀, 形成颗粒大的先沉降, 导致颗粒大小不均匀; 吸附性能也较好, 由于 EGDMA 为交联剂合成的 MIP 微球粒径较小, 比表面积大, 而以 DVB 为交联剂合成的 MIP 微球刚性很大, 影响了分子识别的过程中目标分子扩散进入印迹孔穴, 由此导致以 EGDMA 为交联剂合成的 MIP 微球的吸附量较大。

MIP 微球具有特异性吸附能力, 可选择性识别

茶碱分子。这主要是由于 MIP 微球存在形状上与模板分子茶碱互补、同时又有结合位点相互作用的印迹孔穴, 在两者的共同作用下, MIP 微球便可以选择性地识别茶碱分子。

参考文献

- [1] 朱全红, 冯建涌, 罗佳波. 分子印迹聚合物在中药研究中的应用 [J]. 中草药, 2008, 39(2): 294-297.
- [2] 李小燕, 仝海娟, 雷福厚, 等. 青蒿素分子印迹聚合物分子识别性研究 [J]. 中草药, 2012, 43(4): 795-798.
- [3] Turiel E, Martin-Esteban A. Molecularly imprinted polymers for solid-phase microextraction [J]. *J Sep Sci*, 2009, 32(19): 3278-3284.
- [4] Guan G J, Liu B H, Wang Z Y, *et al.* Imprinting of molecular recognition sites on nanostructures and its applications in chemosensors [J]. *Sensors*, 2008, 8(12): 8291-8320.
- [5] Ye L, Haupt K. Molecularly imprinted polymers as antibody and receptor mimics for assays, sensors and drug discovery [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2004, 378(8): 1887-1897.
- [6] Tada M, Iwasawa Y. Advanced design of catalytically active reaction space at surfaces for selective catalysis [J]. *Coord Chem Rev*, 2007, 251(21/24): 2702-2716.
- [7] 吴浩. 茶碱分子印迹聚合物珠体的合成及分子识别性能研究 [D]. 长沙: 湖南师范大学, 2006.
- [8] 常怀春, 韩光喜, 白珂, 等. 茶碱印迹酚醛吸附树脂的研究 [J]. 高分子学报, 2011(4): 340-346.
- [9] 黄淑芳, 朱卓越. 茶碱分子印迹 PDVB-SO₃H/PDVB IPN 的合成及应用条件探讨 [J]. 湖南科技学院学报, 2008, 29(8): 38-40.
- [10] 陈移姣, 周兴国, 李桂玲. 悬浮聚合法制备咖啡因分子印迹聚合物微球及其性能研究 [J]. 中草药, 2005, 36(5): 692-695.
- [11] 罗勇, 刘岚, 李丽虹, 等. 硅胶表面茶碱分子印迹聚合物的制备和性能研究 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2005, 44(6): 49-53.
- [12] 杜自卫, 刘学涌, 赵小东. TNT 分子印迹聚合物微球的合成与性能研究 [J]. 高分子学报, 2010(3): 360-365.
- [13] 贺金莲. 茶碱类药治疗哮喘作用评价 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2008, 8(3): 176-177.
- [14] Hirose M, Yokoyama H, Iinuma K. Theophylline impairs memory/learning in developing mice [J]. *Brain Dev*, 2004, 26(7): 448-452.
- [15] 胡熙恩. 咖啡因合成的绿色技术 [J]. 清华大学学报: 自然科学版, 2002, 42(5): 638-641.
- [16] 张星璨, 吴兆亮, 傅萍, 等. 泡沫分离水溶液中微量茶碱工艺研究 [J]. 河北工业大学学报, 2012, 41(2): 36-40.