

## (2-甲基丙烯酰胺)乙氧基-2-甲基丙烯酸乙二醇单酯基质 分子印迹手性分离介质的合成与表征

苏立强<sup>1</sup> 王远<sup>1</sup> 韩爽<sup>1</sup> 张维冰<sup>\*1,2</sup>

<sup>1</sup>(齐齐哈尔大学化学与化学工程学院 齐齐哈尔 161006) <sup>2</sup>(华东理工大学化学与分子工程学院,上海 200237)

**摘 要** 通过甲基丙烯酰氯和二甘醇胺反应设计合成了一种交联剂(2-甲基丙烯酰胺)乙氧基-2-甲基丙烯酸乙二醇单酯,以自行合成的(2-甲基丙烯酰胺)乙氧基-2-甲基丙烯酸乙二醇单酯为交联剂,丙烯酰胺为功能单体,合成了一种用于手性分离的 *N*-叔丁氧羰酰-*L*-色氨酸(*N*-Boc-*L*-Trp, *N*-[(*tert*-butoxy) carbonyl]-tryptophan) 的分子印迹聚合物。评价了该分子印迹聚合物作为高效液相色谱柱填料对 *N*-叔丁氧羰酰-色氨酸(*N*-Boc-Trp) 的手性拆分能力。结果表明:当检测波长为 280 nm,流动相为 *V*(甲醇):*V*(水) = 80:20,流速 0.8 mL/min 时,该填料实现了对 *N*-Boc-Trp 外消旋混合物的手性拆分,显示出良好的选择识别性能。

**关键词** 合成,分子印迹聚合物,高效液相色谱

### 1 引言

分子印迹聚合物(molecularly imprinted polymers, MIPs)具有对特定分子(印迹分子)高度专一的预定选择性和对不同分子的多样性以及制备简单、稳定性好、可重复使用等优点,成为近年来人们关注的热点<sup>[1]</sup>。在传统的印迹聚合物制备过程中,必须同时加入功能单体和交联剂两种组分。功能单体提供特定的官能团结构,依靠氢键作用、离子作用或者静电作用等作用力与模板分子形成配合物。现有的功能单体和交联剂的种类及数量都十分有限,很大程度上限制了分子印迹技术的发展。

Spivak 等<sup>[2-4]</sup>合成出一系列新型单体,这些单体不仅具有传统意义上交联剂的功能,还具备部分、甚至全部功能单体的功能。他们将其应用于印迹合成多种氨基酸衍生物的 MIPs,取得很好的手性拆分效果。本研究采用甲基丙烯酰氯和二甘醇胺合成(2-甲基丙烯酰胺)乙氧基-2-甲基丙烯酸乙二醇单酯(MEOMA),将其作为交联剂应用于 *N*-叔丁氧羰酰-*L*-色氨酸的手性印迹聚合物制备,考查其手性拆分性能。

### 2 实验部分

#### 2.1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(UV230<sup>+</sup>紫外可变波长检测器, P230 高压恒流泵,大连依利特分析仪器有限公司);Echrom 2000 色谱工作站(大连依利特分析仪器有限公司);R-201 旋转蒸发器(上海申胜生物技术有限公司);DF-II 集热磁力加热搅拌器(江苏省金坛市医疗仪器厂);FT-IR-17 红外光谱仪(美国 Nicolet 公司);AM-400 型核磁共振波谱仪(Bruker 公司)。二甘醇胺(分析纯,德国 ABCR 试剂公司);*N*-叔丁氧羰酰-*L*-色氨酸(*N*-Boc-*L*-Trp)、*N*-叔丁氧羰酰-*D*-色氨酸(*N*-Boc-*D*-Trp)、*N*-叔丁氧羰酰-*D, L*-色氨酸(*N*-Boc-*D, L*-Trp)均为 Fluka 试剂有限公司;丙烯酰胺(分析纯,天津市凯通化学试剂有限公司);乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA, 东京化成工业株式会社);偶氮二异丁腈(AIBN, 分析纯,北京化工厂)。所用试剂均为分析纯,使用前做干燥除水处理。

#### 2.2 MEOMA 的合成及产物提纯处理

将三颈瓶固定在冰水浴中,加入 80 mL 二氯甲烷及 7.2896 g 二甘醇胺,准确称取 14.9761 g 三乙胺,装进恒压滴定漏斗,在旋转搅拌下逐滴缓慢加入三颈瓶中。再将装有 15.4660 g 甲基丙烯酰氯的恒压漏斗插入三颈瓶一侧口,缓慢逐滴加入,控温 0 °C,溶液逐渐变为棕黄色,滴加完毕后温度升至 40 °C,保持此温度进行反应。

2008-04-12 收稿;2008-07-10 接受

本文系国家自然科学基金(No. 20675083)、黑龙江省教育厅基金(No. 11511435)和齐齐哈尔市科技技术项目(No. GG06-19)资助

\* E-mail: slq202@163.com

用薄层色谱法确定反应进程, 30 h 后反应完成。对反应液减压过滤, 保留棕色滤液。以 0.5 mol/L  $\text{NaHCO}_3$  (3 × 20 mL) 和 0.5 mol/L 柠檬酸钠 (3 × 20 mL) 溶液为萃取剂, 萃取滤液 3 ~ 4 次。萃取液被进一步真空干燥 72 h, 得黄色粘稠液体, 进一步采用硅胶柱层析进行分离纯化。以  $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{正己烷}) = 50:50$  为洗脱液, 收集目标馏分, 真空干燥, 最后得到易溶于二氯甲烷、三氯甲烷、正己烷、乙酸乙酯、甲醇, 但难溶于水的产物。

### 2.3 MIPs 的合成

称取 0.1522 g (0.5 mmol) 模板分子 *N*-Boc-*L*-Trp 和 0.1422 g (2 mmol) 功能单体丙烯酰胺, 溶于 4 mL 乙腈中, 放置过夜, 使模板分子与功能单体充分作用, 加入引发剂 (AIBN) 0.0200 g, 及 MEOMA 2.4130 g (10 mmol) 作为交联剂。超声振荡约 15 min 后, 置于安培瓶中, 抽真空、充氮气反复 10 次后密封。在 60 °C 恒温水浴中聚合反应 48 h, 得浅黄色坚固的棒状固体聚合物。

将聚合物在研钵中充分研磨后, 过粒径为 0.05 mm 标准筛。粉末产物置于索氏提取器中回流提取 24 h, 除去模板分子。提取液组成:  $V(\text{甲醇}):V(\text{乙酸溶液}) = 90:10$ 。提取后的粉末在 60 °C 下恒温真空干燥 24 h, 以除去残留的甲醇和乙酸, 进一步采用丙酮反复沉降, 除去细末后, 备用。

### 2.4 *N*-Boc-*L*-Trp 分子印迹聚合物色谱评价

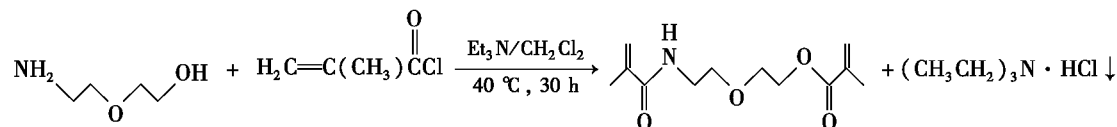
甲醇作为匀浆液, 采用低压湿法装柱 (250 mm × 4.6 mm)。该聚合物固定相色谱柱记为 P。制备非印迹聚合物时, 除不加模板分子, 无需进行索氏提取外, 其它步骤相同, 制备的聚合物固定相色谱柱记为 P<sup>0</sup>。

分别以不同配比的甲醇-水为色谱流动相; 流速: 0.8 mL/min; 进样: 10 μL; 检测波长: 280 nm。

## 3 结果与讨论

### 3.1 MEOMA 反应条件选择

甲基丙烯酰氯和二甘醇胺合成(2-甲基丙烯酰胺)乙氧基-2-甲基丙烯酸乙二醇单酯的反应方程式为:



参照文献[4], 经过单因素条件实验最终确定酰化试剂甲基丙烯酰氯与反应基体二甘醇胺物质的量的比例为 2.5:1。甲基丙烯酰氯的加入量较大, 目的是使二甘醇胺充分反应, 以提高产率。严格控制三乙胺与甲基丙烯酰氯的摩尔数比为 1:1, 使反应过程中产生的 HCl 与三乙胺充分结合, 便于最后去除。

以薄层色谱跟踪反应物二甘醇胺量的变化确定反应终点。反应开始时, 以  $V(\text{甲醇}):V(\text{二氯甲烷}) = 95:5$  二元混合溶液为展开剂, 在硅胶板上对二甘醇胺纯样 (二氯甲烷溶解后) 和反应初始混合液进行对照点板, 碘显色。反应过程中多次重复对照点板, 观察二甘醇胺含量变化。随着反应的进行, 反应混合液中二甘醇胺的含量逐渐减少, 显色逐渐变淡。完全消退后, 认为二甘醇胺已经反应完全。最后确定的反应时间为 30 h。

### 3.2 MEOMA 的分离提纯

反应完成后, 减压过滤除去固体杂质三乙胺盐酸盐。因为由于三乙胺盐酸盐在二氯甲烷中也有较高的溶解度, 因此需要将可溶性盐等萃取出来。

采用硅胶柱层析分离纯化 MEOMA。在柱色谱分离过程中, 洗脱剂的选择直接影响了分离和提纯的效果。通过薄层色谱确定合适的展开剂组成为  $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{正己烷}) = 50:50$  的混合试剂。

薄层色谱展开后得到 3 个样品点, 取各斑点样品进行红外光谱及核磁共振波谱定性, 确定中间比移值为 0.41 的组分是目标物。以硅胶为吸附剂,  $V(\text{乙酸乙酯}):V(\text{正己烷}) = 50:50$  的混合溶液为洗脱剂, 进行柱层析分离。按时间顺序将流出物分别收集到不同样品瓶中, 利用薄层色谱中各组分的比移值, 确定目标组分的流出时间。收集馏分, 进行下一步聚合物合成实验。

### 3.3 分子印迹聚合物色谱评价

3.3.1 MEOMA 为交联剂的聚合物的色谱评价 采用用高效液相色谱评价 *N*-Boc-*L*-Trp 分子印迹聚

合物的手性分离选择性。色谱流动相组成为含20%水的甲醇溶液,图1中给出了实际分离谱图。

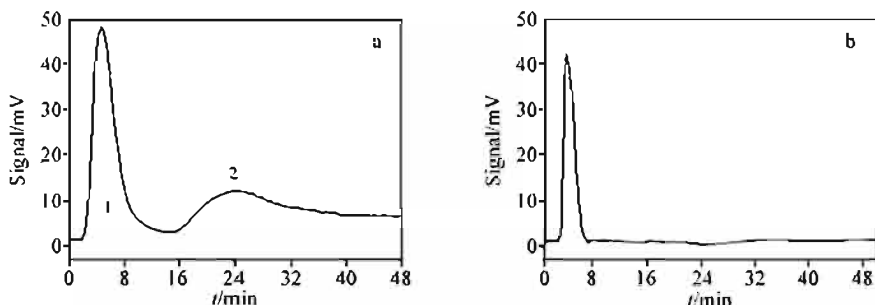


图1 *N*-Boc-*L*-Trp 分子印迹聚合物在不同柱上的分离情况

Fig. 1 Separation of *N*-[(*tert*-butoxy) carbonyl]-*L*-tryptophan (*N*-Boc-*L*-Trp) MIPs in columns P and P<sup>0</sup>

a. 印迹柱 P (column P), b. 非印迹柱 P<sup>0</sup> (column P<sup>0</sup>). 1. *N*-Boc-*D*-Trp; 2. *N*-Boc-*L*-Trp.

从图1中可以看出,制得的 *N*-Boc-*L*-Trp 分子印迹聚合物对 *N*-Boc-Trp 的外消旋混合物显示出良好的手性拆分能力,达到基线分离。选择性因子为2.83。

**3.3.2 MEOMA 与 EGDMA 为交联剂性能比较** 采用 MEOMA 为交联剂制备的 *N*-Boc-*L*-Trp 分子印迹聚合物对 *N*-叔丁氧羰酰色氨酸的外消旋混合物显示出良好的手性拆分能力,选择性因子达2.83,基线分离。文献[5]采用 EGDMA 为交联剂,制备的 *N*-Boc-*L*-Trp 的印迹聚合物,选择性因子为2.318,未能达到基线分离。本实验制备的印迹分离介质性能略优于后者,其原因在于合成条件的不同。

## References

- 1 Wulff G. *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, 1995, 34(4): 1812 ~ 1816
- 2 Simon R, Houck S, Spivak D A. *Anal. Chim. Acta*, 2005, 542(1): 104 ~ 110
- 3 Sibrian-Vazquez M, Spivak D A. *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126(25): 7827 ~ 7833
- 4 Sibrian-Vazquez M, Spivak D A. *Macromolecules*, 2003, 36(14): 5105 ~ 5113
- 5 Sun Rui-Fen(孙瑞丰), Luo Hui(罗晖), Sui Hong-Yan(隋洪艳), Shen Zhong-Yao(沈忠耀). *The Chinese Journal of Process Engineering(过程工程学报)*, 2003, 3(2): 165 ~ 170

## Synthesis and Characterization of 2-(Methacryloylamino) ethoxyl-2-methacrylate Ethandiol Ester Matrix Molecular Imprinting Chiral Separation Medium

SU Li-Qiang<sup>1</sup>, WANG Yuan<sup>1</sup>, HAN Shuang<sup>1</sup>, ZHANG Wei-Bing<sup>\*1,2</sup>

<sup>1</sup>(College of Chemistry and Chemical Engineering, Qiqihar University, Qiqihar 161006)

<sup>2</sup>(East China University of Science and Technology, Shanghai 200237)

**Abstract** A new cross-linking monomer 2-(methacryloylamino) ethoxyl-2-methacrylate ethandiol ester was designed, synthesized by methacryloyl chloride and 2-(2-aminoethoxy) ethanol. A kind of molecular imprinting polymers (MIPs) of *N*-[(*tert*-butoxy) carbonyl]-*L*-tryptophan (*N*-Boc-*L*-Trp) for chiral separation were synthesized using the 2-(methacryloylamino) ethoxyl-2-methacrylate ethandiol ester as cross-linking monomer and acrylamide as function monomer. The chiral separation capability of this MIPs to *N*-BOC-tryptophan (*N*-Boc-Trp) was evaluated when it worked as a HPLC column filling. The experimental results showed that the chiral separation of *N*-Boc-Trp racemic mixture was performed by this MIPs and shown an excellent selective distinguish ability when detector wavelength is 280 nm, mobile phase is methanol/water (80:20, v/v) and flow rate is 0.8 mL/min.

**Keywords** Synthesis, molecular imprinting polymers, high performance liquid chromatography

(Received 12 April 2008; accepted 10 July 2008)