



УДК 543.054

## Влияние растворителя на сорбционные свойства полимеров с молекулярными отпечатками кверцетина

Кудринская В.А., Дмитриенко С.Г.

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва*

Поступила в редакцию 14.09.2009 г.

### Аннотация

Методом термической радикальной полимеризации на основе акриламида были синтезированы полимеры с молекулярными отпечатками кверцетина. Установлено, что варьирование растворителя как на стадии синтеза, так и на стадии сорбции оказывает сильное влияние на способность полимеров с молекулярными отпечатками к повторному связыванию кверцетина.

**Ключевые слова:** молекулярный импринтинг, акриламид, растворитель, кверцетин, сорбция

Molecularly imprinted polymers for quercetin based on acrylamide have been synthesized by the method of thermal radical polymerization. It has been established that the variation of the solvent on the synthesis stage and on the sorption stage influenced on the ability of the molecularly imprinted polymers to rebind quercetin.

**Keywords:** molecular imprinting, acrylamide, solvent, quercetin, sorption

### Введение

Полимеры с молекулярными отпечатками (ПМО) – перспективные материалы для селективной твердофазной экстракции различных органических соединений. Техника молекулярного импринтинга заключается в получении полимеров, в структуре которых присутствуют участки (отпечатки), способные к комплементарным взаимодействиям с молекулами, использованными в качестве темплатов при синтезе таких полимеров [1, 2].

Методика получения полимеров с молекулярными отпечатками в случае нековалентного импринтинга включает в себя несколько стадий: подготовку смеси функциональный мономер – темплат, во время которой происходит образование предполимеризационных комплексов между молекулами мономера и темплата, полимеризацию в присутствии сшивающего агента, удаление целевых молекул темплата из полимерной сетки многократной жидкостной экстракцией органическими растворителями. Характеристикой “качества” ПМО является способность к селективному повторному связыванию молекул темплата [1, 3].

Селективность и эффективность ПМО зависят от различных факторов [4, 5], варьируемых как на стадии синтеза полимеров (состав предполимеризационной

смеси, условия проведения полимеризации), так и на стадии сорбции (растворитель, состав и pH раствора).

В настоящей работе был осуществлен синтез новых полимеров с молекулярными отпечатками кверцетина (Q) и проведено изучение влияния растворителя на сорбционные свойства этих полимеров. Основная цель работы заключалась в получении полимеров, обладающих лучшей способностью к распознаванию целевой молекулы-темплата – кверцетина – природного антиоксиданта, который вводят в состав многих лекарственных препаратов и биологически активных добавок.

## Эксперимент

**Объекты исследования, реагенты и аппаратура.** В качестве темплата – молекулы, с которой предполагалось получить отпечатки, – использовали кверцетин (дигидрат, “Sigma”, 98%). В качестве функционального мономера при синтезе ПМО и полимеров сравнения (ПС) применяли акриламид (ч.д.а.). Сшивающим агентом служил этиленгликольдиметакрилат (“Acros”, 98%, stabilized). Инициатором реакции полимеризации был 2,2'-азобисизобутиронитрил (ч.д.а.). В качестве растворителей использовали ацетон (о.с.ч.), диметилсульфоксид (х.ч.), тетрагидрофуран (х.ч.) и ионную жидкость этилсульфат 1-этил-3-метилимидазолия (“Merck”, 99%).

Объектом исследования сорбции служил кверцетин. Исходные 0,01 – 0,001 М растворы этого соединения готовили растворением его точных навесок в ацетоне. Рабочие растворы готовили разбавлением исходных непосредственно перед использованием. Гидроксид натрия (ч.д.а.), метанол (х.ч.) и уксусную кислоту (х.ч.) использовали в работе без дополнительной очистки.

Спектры поглощения и оптические плотности растворов регистрировали на спектрофотометре СФ-103 (“Аквилон”, Россия).

**Синтез полимеров с молекулярными отпечатками.** Полимеры с отпечатками кверцетина синтезировали методом нековалентного импринтинга по механизму радикальной блочной полимеризации [6, 7]. К раствору кверцетина в соответствующем количестве выбранного растворителя (табл. 1) прибавляли акриламид и помещали раствор в холодильник на 1 ч. Различие в объемах растворителей обусловлено различной растворимостью кверцетина в них. Затем в раствор добавляли этиленгликольдиметакрилат и необходимое количество 2,2'-азобисизобутиронитрила (табл. 1). Мешающее воздействие кислорода исключали, проводя синтез в инертной атмосфере аргона (реакционную смесь продували аргоном в течение 15 мин). Полимеризацию проводили в течение 24 ч в термостате “MLW U2c” при температуре 60°C. Полимер сравнения получали аналогично, но в отсутствие кверцетина. Полученные полимеры растирали в агатовой ступке, просеивали на лабораторных ситах и отбирали фракцию с размером частиц 250 – 400 мкм. Для удаления кверцетина из сорбентов использовали ацетон и смеси 0,1 М гидроксид натрия – метанол (9:1 и 1:9) или уксусная кислота – метанол (1:9), контроль над удалением кверцетина из ПМО осуществляли спектрофотометрически. Затем полимеры высушивали на воздухе.

В табл. 1 перечислены синтезированные полимеры и компоненты, использованные для их синтеза.

Таблица 1. Компоненты, использованные для синтеза полимеров с молекулярными отпечатками (ПМО) и полимеров сравнения (ПС). ЭГДМА – этиленгликольдиметакрилат, АИБН – 2,2'-азобисизобутиронитрил, ДМСО – диметилсульфоксид, ТГФ – тетрагидрофуран, ЭСЭМИ – этилсульфат 1-этил-3-метилимидазолия

Полимер	Кверцетин, ммоль	Акриламид, ммоль	ЭГДМА, ммоль	АИБН, ммоль	Растворитель, мл
ПМО <sub>1</sub> ПС <sub>1</sub>	1 –	2 2	10 10	0,12 0,12	Ацетон, 17
ПМО <sub>2</sub> ПС <sub>2</sub>	1 –	2 2	10 10	0,72 0,72	ДМСО, 8,5
ПМО <sub>3</sub> ПС <sub>3</sub>	1 –	2 2	10 10	0,72 0,72	ТГФ, 10
ПМО <sub>4</sub> ПС <sub>4</sub>	1 –	2 2	10 10	0,36 0,36	ЭСЭМИ, 17

**Методика проведения сорбционных экспериментов.** Сорбцию соединений проводили в статическом режиме. В пробирку с притертой пробкой, в которой находился исследуемый раствор, помещали навеску сорбента (0,02 г) и встряхивали 1 ч до установления сорбционного равновесия.

Равновесные концентрации соединений определяли спектрофотометрически. Значения степеней извлечения ( $R$ , %) и коэффициентов распределения ( $D$ ) рассчитывали по следующим уравнениям:

$$R, \% = \frac{c_0 - c}{c_0} \cdot 100$$

$$D = \frac{R, \%}{(100 - R, \%)} \cdot \frac{V}{m}$$

где  $c_0$  – концентрация определяемого соединения в исходном растворе до сорбции,  $c$  – концентрация в растворе после сорбции,  $V$  – объем анализируемого раствора (мл),  $m$  – масса сорбента (г).

При оценке сорбционных свойств сравнивали не только степени извлечения и коэффициенты распределения, но и значения импринтинг-факторов ( $IF$ ), которые рассчитывали как отношение коэффициента распределения сорбируемого соединения при использовании полимера с отпечатками ( $D_{ПМО}$ ) к коэффициенту распределения этого соединения в случае полимера сравнения ( $D_{ПС}$ ):

$$IF = \frac{D_{ПМО}}{D_{ПС}}$$

## Результаты и их обсуждение

**Удаление темплата из полимерной сетки.** Важным этапом получения ПМО является удаление молекул темплата из полимерной сетки многократной экстракцией органическими растворителями. В табл. 2 приведены степени извлечения кверцетина из полимера с молекулярными отпечатками кверцетина (ПМО<sub>1</sub>) при его промывании ацетоном, смесями гидроксида натрия с метанолом и смесью метанол – уксусная кислота. Видно, что ацетон и смеси гидроксида натрия с

метанолом оказались наиболее эффективными растворителями для удаления кверцетина. В дальнейшей работе для удаления темплата был выбран ацетон.

Таблица 2. Степени извлечения ( $R$ , %) кверцетина при отмывке полимера с молекулярными отпечатками кверцетина (ПМО<sub>1</sub>) от темплата.  $V$  – объем растворителя.  $m = 0,010 \pm 0,001$  г, время контакта фаз – 15 мин

Растворитель	$V$ , мл	15	15	15	$\Sigma$ 45
Ацетон		97,0	2,1	0,1	$\Sigma$ 99,2
0,1 М NaOH:MeOH = 9:1		92,0	7,4	< 0,1	$\Sigma$ 99,4
0,1 М NaOH:MeOH = 1:9		92,2	5,4	1,6	$\Sigma$ 99,1
CH <sub>3</sub> COOH:MeOH = 1:9		83,0	4,4	0,4	$\Sigma$ 87,8

***Влияние природы растворителя, используемого на стадии синтеза, на сорбционные свойства полимеров с молекулярными отпечатками кверцетина.***

Селективность и эффективность ПМО зависят от природы растворителя, используемого при их синтезе. Наиболее подходящими растворителями для молекулярного импринтинга считаются растворители с низкой диэлектрической проницаемостью (толуол, дихлорметан, хлороформ, ацетонитрил, метанол). В этих растворителях нековалентные взаимодействия мономер – темплат оказываются более сильными, чем в полярных растворителях, что в конечном итоге приводит к получению полимеров, обладающих лучшей способностью к молекулярному распознаванию. Однако, в случае использования кверцетина в качестве темплата, применение традиционных растворителей для синтеза ПМО оказывается невозможным вследствие низкой растворимости кверцетина в них. Поэтому в данной работе для выявления связи между природой растворителя компонентов предполимеризационной смеси и способностью ПМО к повторному связыванию темплата были синтезированы четыре пары полимеров на основе акриламида с использованием ацетона, диметилсульфоксида (ДМСО), тетрагидрофурана (ТГФ) и ионной жидкости этилсульфата 1-этил-3-метилимидазолия (ЭСЭМИ) в качестве растворителей (табл. 1).

Удельную поверхность полимеров определяли из низкотемпературной адсорбции азота методом тепловой десорбции (табл. 3). Установлено, что удельная поверхность ПМО и соответствующих ПС зависит от природы растворителя, используемого на стадии синтеза этих полимеров, что, вероятно, связано с их различной порообразовательной способностью.

Из сравнения экспериментальных данных видно, что способность ПМО к повторному связыванию кверцетина также зависит от природы растворителя: лучшей способностью к молекулярному распознаванию кверцетина обладает полимер, синтезированный в ацетоне ( $IF = 6,0$ ). Полимеры с молекулярными отпечатками кверцетина, синтезированные в ДМСО и в ТГФ, так же эффективно извлекают кверцетин, как и полимер, синтезированный в ацетоне ( $R_{\text{ПМО}} = 80\%$ ), но не способны к молекулярному распознаванию кверцетина (значения  $IF$  равны 1,3 и 1,0 соответственно). Отсутствие корреляции между сорбционной способностью полимеров и их удельной поверхностью, по-видимому, связано с тем, что в структуре этих полимеров присутствуют поры, размер которых меньше размера молекул кверцетина. Полимер, синтезированный в ионной жидкости, менее эффективно извлекает кверцетин, чем полимеры, синтезированные в других растворителях, и не способен к молекулярному распознаванию кверцетина ( $IF = 1,1$ ).

Таблица 3. Удельная поверхность ( $S_{уд}$ ), степени извлечения ( $R$ ), коэффициенты распределения ( $D$ ) кверцетина на полимерах с молекулярными отпечатками (ПМО) этого соединения и полимерах сравнения (ПС) и значения импринтинг-факторов ( $IF$ ).  $c_Q = 2 \cdot 10^{-5}$  М, растворитель – ацетон:вода = 1:4 (об.),  $V = 5$  мл,  $m = 0,020 \pm 0,001$  г,  $t = 60$  мин,  $n = 3$ ,  $P = 0,95$

Сорбент	$S_{уд}$ , м <sup>2</sup> /г	$R$ , %	$D \cdot 10^{-2}$	$IF = D_{ПМО}/D_{ПС}$
ПМО <sub>1</sub>	395	80 ± 5	10,0 ± 0,7	6,0
ПС <sub>1</sub>	389	40 ± 5	1,7 ± 0,3	
ПМО <sub>2</sub>	916	80 ± 3	10,0 ± 0,4	1,3
ПС <sub>2</sub>	527	76 ± 3	7,9 ± 0,4	
ПМО <sub>3</sub>	934	80 ± 5	10,0 ± 0,7	1,0
ПС <sub>3</sub>	591	80 ± 5	10,0 ± 0,7	
ПМО <sub>4</sub>	180	65 ± 5	4,6 ± 0,4	1,1
ПС <sub>4</sub>	172	63 ± 5	4,3 ± 0,4	

**Влияние природы растворителя, используемого на стадии сорбции, на сорбционные свойства полимеров с молекулярными отпечатками кверцетина.** Одним из факторов, влияющих на сорбционные свойства ПМО, является природа растворителя, используемого на стадии сорбции. При изучении сорбции кверцетина из смешанных водно-ацетоновых растворов оказалось, что увеличение объемной концентрации ацетона в смеси ацетон – вода приводит к уменьшению способности полимеров к распознаванию целевой молекулы-темплата (табл. 4). По-видимому, это можно объяснить тем, что в повторное связывание кверцетина с полимером существенный вклад вносят гидрофобные взаимодействия.

Таблица 4. Степени извлечения ( $R$ ), коэффициенты распределения ( $D$ ) кверцетина на полимере с молекулярными отпечатками этого соединения (ПМО<sub>1</sub>) и соответствующем полимере сравнения (ПС<sub>1</sub>) и значения импринтинг-факторов ( $IF$ ) при сорбции кверцетина из смесей ацетон – вода.  $c_Q = 2 \cdot 10^{-5}$  М,  $V = 5$  мл,  $m = 0,020 \pm 0,001$  г,  $t = 60$  мин,  $n = 3$ ,  $P = 0,95$

$c$ (ацетон), об. %	$R_{ПМО}$ , %	$R_{ПС}$ , %	$D_{ПМО} \cdot 10^{-2}$	$D_{ПС} \cdot 10^{-2}$	$IF$
100	4,0 ± 0,5	0,80 ± 0,05	0,10 ± 0,02	0,020 ± 0,002	5,0
20	80 ± 5	40 ± 5	10,0 ± 0,7	1,7 ± 0,3	6,0
2,5	91 ± 6	60 ± 5	25 ± 2	3,8 ± 0,4	6,7
1	97 ± 6	73 ± 5	81 ± 5	6,8 ± 0,5	12,0

## Заключение

Установлено, что варьирование природы растворителя как на стадии синтеза, так и на стадии сорбции оказывает сильное влияние на способность полимеров с молекулярными отпечатками к повторному связыванию кверцетина. Из всех изученных систем лучшей способностью к распознаванию целевой молекулы-темплата обладает полимер, синтезированный в ацетоне, при этом наибольшие значения импринтинг-фактора достигаются при проведении сорбции кверцетина из смесей ацетон – вода с высоким содержанием воды.

## Список литературы

1. Alexander C., Andersson H. S., Andersson L. I., Ansell R. J., Kirsch N., Nicholls I. A., O'Mahony J., Whitcombe M. J. Molecular imprinting science and technology: a survey of the literature for the years up to and including 2003. // *J. Mol. Recognit.* 2006. V. 19. P. 106-180.
2. Лисичкин Г. В., Крутяков Ю. А. Материалы с молекулярными отпечатками: синтез, свойства, применение. // *Усп. хим.* 2006. Т. 75. С. 998-1017.
3. Гендриксон О. Д., Жердев А. В., Дзантиев Б. Б. Молекулярно импринтированные полимеры и их применение в биохимическом анализе. // *Усп. биол. хим.* 2006. Т. 46. С. 149-192.
4. Кудринская В. А., Дмитриенко С. Г., Золотов Ю. А. Синтез и исследование сорбционных свойств полимеров с молекулярными отпечатками кверцетина. // *Вест. Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия.* 2009. Т. 50. № 3. С. 156-163.
5. O'Mahony J., Molinelli A., Nolan K., Smyth M. R., Mizaikoff B. Anatomy of successful imprint: analyzing the recognition mechanisms of a molecularly imprinted polymer for quercetin. // *Biosensors and Bioelectronics.* 2006. V. 21. P. 1383-1392.
6. Xie J., Zhu L., Luo H., Zhou L., Li C., Xu X. Direct extraction of specific pharmacophoric flavonoids from ginkgo leaves using a molecularly imprinted polymer for quercetin. // *J. Chromatogr. A.* 2001. V. 934. P. 1-11.
7. Molinelli A., Weiss R., Mizaikoff B. Advanced solid phase extraction using molecularly imprinted polymers for the determination of quercetin in red wine. // *J. Agric. Food Chem.* 2002. V. 50. P. 1804-1808.

---

**Кудринская Вера Александровна** – аспирантка 3 г/о кафедры аналитической химии химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, тел. (495) 939-46-08

**Дмитриенко Станислава Григорьевна** – д.х.н., профессор кафедры аналитической химии химического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва

**Kudrinskaya Vera A.** – post-graduate student, 3<sup>rd</sup> year of studies, chair of analytical chemistry of Chemistry department of M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow

**Dmitrienko Stanislava G.** – D. Sc., professor of the chair of analytical chemistry of Chemistry department of M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, e-mail: dmitrienko@analyt.chem.msu.ru