

УДК 543.21:542.816:544.6.018.47-036.5

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ИМПРИНТИНГ ПЕНИЦИЛЛИНА V В СЛОЯХ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТОВ, НАНОСИМЫХ НА ТРЕКОВУЮ МЕМБРАНУ

Л.О. Лохова, Д.А. Полянина, М.К. Беклемишев

(кафедра аналитической химии, e-mail: mkb@analyt.chem.msu.ru)

Лавсановые трековые мембраны модифицированы нанесением монослоев полиаллиламина и полиакриловой кислоты из 91–96%-го (об.) этанола в присутствии и в отсутствие пенициллина V. Сорбционная способность и диффузионная проницаемость по отношению к пенициллину V выше для мембран, модифицированных в присутствии этого соединения (импринтированных), что свидетельствует об образовании его молекулярных отпечатков в полиэлектrolитном слое. Отпечатки образуются, если полиэлектrolиты наносят на мембрану из раствора ионной жидкости (тетрафторборат бутиметилимидазолия). Сорбция посторонних соединений импринтированными и неимпринтированными мембранами одинакова, что подтверждает образование селективных молекулярных отпечатков пенициллина V.

Ключевые слова: молекулярный импринтинг, трековые мембраны, полиэлектrolиты, пенициллин V, сорбция, диффузия.

Молекулярный импринтинг давно привлекает исследователей как подход к получению селективных сорбентов и мембран. Импринтинг обычно осуществляют, полимеризуя подходящий мономер после его самоорганизации вокруг частиц темплата [1]. Однако с практической точки зрения было бы удобно получать импринтированные материалы без стадии полимеризации. Известны немногочисленные примеры такого импринтинга – в частности, молекулярные отпечатки низкомолекулярных органических соединений получали в монослоях тиолов на золотой подложке [2, 3], монослоях пептидов на поверхности воды [4], а также в полиэлектrolитных мультислоях (импринтировали порфирина [5] и теофиллина [6] в слоях полиакриловой кислоты и диазополиамина, нарингина [7] и 2,4-дихлорфенола [8] в слоях хитозана, аденозинмонофосфата в слоях хлорида полидиметилдиаллиламмония и полифенилборной кислоты [9]). Полиэлектrolитные слои можно сшивать химически [10] и фотохимически [11, 12], тем самым закрепляя отпечатки.

Если бы с помощью импринтинга в полиэлектrolитные слои удалось получать столь же селективные сорбенты и мембраны, как при традиционном импринтинге, то этот способ получил бы распространение благодаря таким преимуществам, как высокая скорость массообмена, простота и быстрота получения импринтированного материала и, вероятно, вос-

производимость его свойств. Однако до сих пор неясно, сможет ли этот подход стать надежным способом молекулярного импринтинга, поэтому требуются работы в этом направлении. Кроме того, хотя и известны примеры нанесения слоев из водно-органических сред (50%-го метанола [12]), как правило, монослои полиэлектrolитов наносят из водного раствора [13], поэтому вопрос о возможности импринтинга гидрофобных темплатов в полиэлектrolитные слои остается открытым.

Полиэлектrolитные слои должны быть нанесены на подложки, в качестве которых удобно использовать трековые мембраны, представляющие собой лавсановые пленки, облученные тяжелыми ионами с последующим травлением скрытых треков горячим раствором NaOH, что позволяет получать сквозные отверстия нужного размера [14]. Трековые мембраны обладают узким распределением пор по размерам, прочны и совместимы с полимерами и растворителями.

Цель работы – выяснение возможности получения молекулярных отпечатков водонерастворимого темплата (пенициллина V (кислоты)) в слоях полиэлектrolитов, послойно наносимых на трековую мембрану из растворителя с низким содержанием воды. Предварительно требовалось выяснить возможность нанесения полиэлектrolитных слоев на полимерные мембраны из таких сред.

Экспериментальная часть

В качестве подложки для нанесения полиэлектролитов использовали трековые мембраны толщиной 12 мкм с диаметром пор 0,12 мкм, полученные в Лаборатории ядерных реакций им. Г.Н. Флерова Объединенного института ядерных исследований. Мембраны нарезали в виде дисков диаметром 2,5 см. При прокачивании растворов через мембраны последние закрепляли в полипропиленовых шприцевых насадках Millipore и подавали вручную растворитель, используя пластиковый шприц. Нанесение на мембраны полиэлектролитов, а также последующую диффузию соединений проводили в ячейках, представляющих собой такие же шприцевые насадки, но с дополнительно просверленными отверстиями (рис. 1). Объемы исходного и принимающего растворов составляли 1,5 и 1,4 мл соответственно, а рабочая площадь мембраны – 3,8 см².

Для приготовления растворов использовали дистиллированную воду, дополнительно очищенную в установке «Millipore» (18 МОм·см), и 96%-й этанол (медицинский, ОАО «Ферейн»). Использовали пенициллин V (кислота) фирмы «Sigma», гидрохлорид полиаллиламина (ПААГХ, средняя молекулярная масса 58 кДа, рис. 2) и полиакриловую кислоту (ПАК, средняя молекулярная масса 450 кДа) фирмы «Aldrich», ионную жидкость – тетрафторборат бутилметилимидазолия (ИЖ) фирмы «Fluka». Готовили 0,01 М растворы (в расчете на мономер): ПАК (в 96%-м этаноле) и ПААГХ (в 96%-м этаноле с добавкой 5 об.% воды). Как правило, в растворы полиэлектролитов вводили ИЖ (0,1 М).

Полиэлектролиты наносили на мембраны в режиме пассивной диффузии, используя растворы ПААГХ или ПАК в качестве исходных фаз. При этом прини-

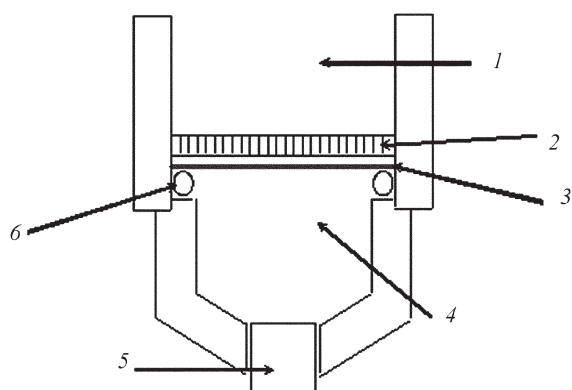


Рис. 1. Схема диффузионной ячейки: 1 – исходный раствор, 2 – пластиковая решетка, 3 – мембрана, 4 – принимающий раствор, 5 – пробка, 6 – уплотнитель

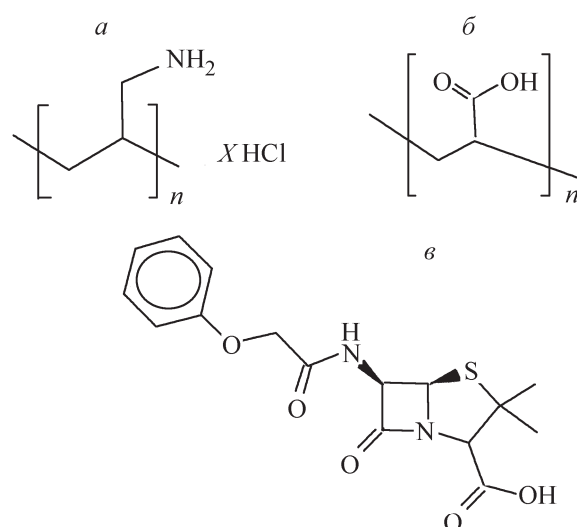


Рис. 2. Структуры использованных соединений: а – полиаллиламин·HCl (ПААГХ), б – полиакриловая кислота (ПАК), в – пенициллин V

мающей фазой был этанол (или этанольный раствор ИЖ, если таковую добавляли в исходную фазу). Поскольку мембраны имеют на поверхности карбоксильные группы, в качестве первого слоя наносили ПААГХ. Мембрану закрепляли в диффузионной ячейке и проводили диффузию в течение 4–60 мин, затем вынимали, промывали в 3 мл этанола в течение 3 мин и вновь помещали в ячейку, используя в качестве исходного раствор ПАК. Диффузию ПАК проводили в течение такого же времени, что и ПААГХ, после чего вновь промывали мембрану. Для получения импринтированных мембран в исходные фазы дополнительно вводили $1 \cdot 10^{-3}$ М пенициллина V. После импринтинга мембраны промывали для удаления темплат путем прокачивания через них 3 мл этанола.

Диффузию веществ через мембраны характеризовали степенью переноса (%), которую рассчитывали как отношение количества вещества в принимающей фазе по отношению к его количеству в исходной фазе до диффузии. Качество молекулярных отпечатков характеризовали импринтинг-фактором, который рассчитывали как отношение степеней переноса темплат через импринтированную и неимпринтированную мембраны в одних и тех же условиях. Сорбцию веществ на мембранах и степень переноса пенициллина V при диффузии контролировали фотометрически, для чего разбавляли раствор в необходимое число раз, регистрировали его УФ-спектр на спектрофотометре «СФ-102» (Россия) и определяли концентрацию по оптической плотности в максимуме поглощения (для пенициллина V – 268 нм, сульфаметоксазола – 270 нм, бензатиновой соли пенициллина G – 258 нм).

Результаты и их обсуждение

Для нанесения полиэлектролитов на поверхность пор трековой мембраны мы использовали диффузию этих полимеров через мембрану (ранее установили, что полиэлектролиты действительно диффундируют в принимающий раствор). Следовало убедиться, что полиэлектролиты удерживаются на поверхности пор. Это не просто показать прямо (проще убедиться в наличии полиэлектролитов на мембране в целом или ее внешней поверхности). Мы использовали для изучения свойств пор скорость фильтрации растворителей. Мембрану помещали в шприцевую насадку и прокачивали чистые растворители (воду и этанол), собирая фильтрат. При малом размере пор (в данном случае 0,12 мкм) скорость вытекания растворителя мало зависит от колебаний величины прикладываемого давления. Оказалось (табл. 1), что скорости фильтрации растворителей резко различаются для модифицированных и немодифицированных мембран. Это заставляет считать, что мембраны, через которые проводили диффузию полиэлектролитов, действительно удерживают в своих порах полиэлектролиты, причем поры перекрыты не полностью (этанол в какой-то степени фильтруется даже через модифицированные мембраны).

Основная задача импринтинга в полиэлектролитные слои – выяснение возможности получения молекулярных отпечатков темплата (пенициллина V). С этой целью модификацию мембраны проводили из растворов, содержащих кроме полиэлектролитов также и темплат. Оказалось, что уже после нанесения единственного бислоя (ПААГХ и ПАК) при времени модифицирования, равном 4 мин, импринтированная и неимпринтированная мембраны приобретают разные свойства. Кривые зависимости диффузии пенициллина через такие мембраны от времени приведены на рис. 3, из которого видно, что импринтированные мембраны более проницаемы по отношению к

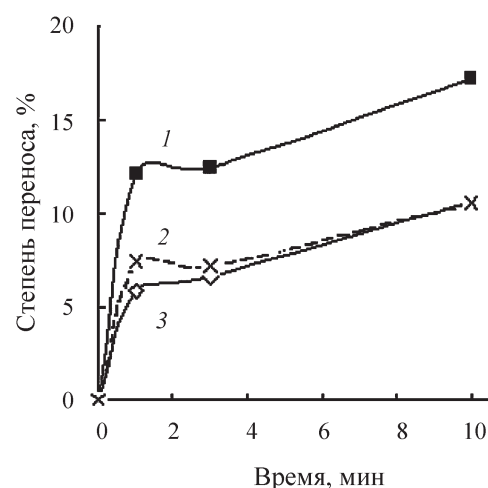


Рис. 3. Степень переноса пенициллина V в зависимости от времени через мембраны: модифицированную полиэлектролитами в присутствии пенициллина V (1), немодифицированную (2) и модифицированную в отсутствие пенициллина (3). Полиэлектролиты наносили на мембрану из 0,01 М раствора в этаноле (91%-го для полиаллиламина и 96%-го для полиакриловой кислоты) в течение 4 мин. Приведены средние значения степени переноса для двух параллельных мембран

темплату при всех изученных временах его диффузии (от 1 до 10 мин), что можно связать с образованием молекулярных отпечатков темплата в полиэлектролитном слое. Увеличение продолжительности нанесения полиэлектролитов (7, 15 и 30 мин) не приводит к улучшению качества отпечатков. При нанесении полиэлектролитов в течение 1 ч образуются непроницаемые по отношению к пенициллину мембраны (вероятно, за такое время поры полностью перекрываются полиэлектролитным комплексом).

Известно, что конформация полиэлектролитов зависит от ионной силы раствора. В связи с этим сорбцию полиэлектролитов из водных растворов обычно проводят в присутствии солей (ионная сила 0,1–2,0 М) [15]. Мы предположили, что при нанесе-

Т а б л и ц а 1

Скорость фильтрации этанола и воды через мембраны

Мембрана	Скорость фильтрации, мл/с	
	этанола	воды
Немодифицированная	0,20	0,05
Контрольная	0,08	0
Импринтированная*	0,06	0

*Импринтированная и неимпринтированная мембраны – мембраны, на которые полиэлектролитные слои наносили в присутствии и в отсутствие пенициллина V соответственно.

нии полиэлектролитов из органического растворителя результаты также будут зависеть от ионной силы. Для создания ионной силы в этаноле мы сочли удобным использовать ионную жидкость. Использовали одну из наиболее доступных ИЖ – тетрафторборат бутилметилимидазолия. ИЖ вводили в растворы как катионного, так и анионного полиэлектролитов при их нанесении на мембрану. В отсутствие ИЖ проницаемость полученной импринтированной мембраны ниже, чем контрольной (рис. 4), тогда как в присутствии ИЖ резко возрастает проницаемость импринтированной мембраны. Таким образом, при формировании молекулярных отпечатков пенициллина V в растворы полиэлектролитов целесообразно вводить ионную жидкость в концентрации порядка 0,1 М.

Образование молекулярных отпечатков темплата изучали также методом сорбции в динамическом режиме, прокачивая через мембраны раствор пенициллина V (рис. 5). Неимпринтированная мембрана не сорбирует пенициллин, тогда как в случае импринтированной мембраны в первых порциях элюата

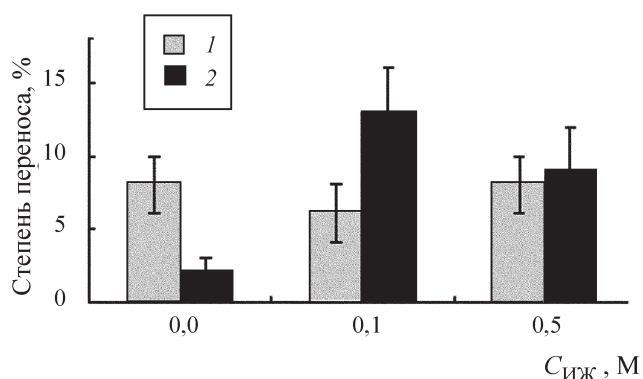


Рис. 4. Влияние концентрации ИЖ, из раствора которой наносили полиэлектролиты, на степень переноса пенициллина V (%) через модифицированные мембраны ($n = 3, P = 0,95$): 1 – неимпринтированные, 2 – импринтированные. Мембраны модифицировали полиэлектролитами в течение 4 мин, продолжительность диффузии пенициллина V составляла 3 мин

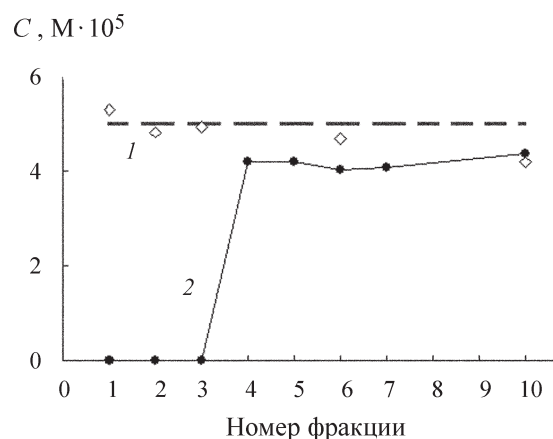


Рис. 5. Выходные кривые фронтальной сорбции при прокачивании $5 \cdot 10^{-5}$ М раствора пенициллина V в 91%-м этаноле через неимпринтированную (1) и импринтированную (2) мембраны. Пунктирная линия соответствует концентрации вводимого раствора пенициллина V; объем одной фракции 0,25 мл

ата пенициллин отсутствует, что можно объяснить образованием молекулярных отпечатков темплата. Если такие отпечатки существуют (причем они комплементарны по форме и расположению активных групп молекулам темплата), то посторонние вещества не должны селективно сорбироваться импринтированной мембраной. В качестве таких посторонних веществ изучили сульфаметоксазол (вещество структуры, не похожей на темплата) и бензатиновую соль пенициллина G (структурный аналог темплата, содержащий крупный катион). В отличие от темплата (рис. 5), посторонние соединения обнаруживались уже в первых порциях элюата, причем импринтированная мембрана ни в одном из случаев не сорбировала соединения сильнее, чем неимпринтированная (табл. 2). Это подтверждает образование селективных отпечатков пенициллина V.

Таким образом, показана возможность нанесения полиаллиламина и полиакриловой кислоты

Таблица 2

Удерживание посторонних соединений на модифицированных мембранах (приведена концентрация соединения в элюате, % от введенной, при прокачивании $5 \cdot 10^{-5}$ М раствора в этаноле)

Номер фракции элюата	Сульфаметоксазол		Пенициллина G бензатиновая соль	
	импринтированная мембрана	неимпринтированная мембрана	импринтированная мембрана	неимпринтированная мембрана
1	78	38	100	100
2	85	91	100	100
3 и последующие	100	100	100	100

на трековую мембрану из 91–96%-го этанола и образование селективных молекулярных отпечатков пенициллина V в полученном бислое. Импринтинг следует проводить в присутствии ионной жидкости. В дальнейшем целесообразно выявить классы соединений, способные образовывать молекулярные отпе-

чатки в слоях полиэлектролитов, а также оптимизировать условия такого импринтинга.

Авторы благодарят проф. П.Ю. Апеля (Лаборатория ядерных реакций им. Г.Н. Флерова Объединенного института ядерных исследований, г. Дубна) за предоставление трековых мембран.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 13-03-00441-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Piletsky S.A., Turner A.P.F.* Molecular Imprinting of Polymers. Georgetown, 2006.
2. *Piletsky S.A., Piletskaya E.V., Sergeyeva T.A., Panasyuk T.L., El'skaya A.V.* // *Sens. Actuat. B.* 1999. **60**. P. 216.
3. *Shin M.J., Yang M., Shin J.S.* // *Particulate Science and Technology.* 2012. **30**. P. 543.
4. *Kunitake T.* // *Pure Appl. Chem.* 1997. **69**. P. 1999.
5. *Gauczinski J., Liu Z., Zhang X., Schönhoff M.* // *Langmuir.* 2010. **26**. P. 10122.
6. *Gauczinski J., Liu Z., Zhang X., Schönhoff M.* // *Langmuir.* 2012. **28**. P. 4267.
7. *Ma X., Chen R., Zheng X., Youn H., Chen Z.* // *Polym. Bull.* 2011. **66**. P. 853.
8. *Chen A.W., Zeng G.M., Chen G.Q., Hu X.J., Yan M., Guan S., Shang C., Lu L.H., Zou Z.J., Xie G.X.* // *Chem. Eng. J.* 2012. **191**. P. 85.
9. *Kanekiyo Y., Inoue K., Ono Y., Sano M., Shinkai S., Reinhoudt D.N.* // *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2.* 1999. P. 2719.
10. *Guan G., Liu R., Wu M., Li Z., Liu B., Wang Zh., Gao D., Zhang Zh.* // *Analyst.* 2009. **134**. P. 1880.
11. *Shi F., Liu Z., Wu G. L., Zhang M., Chen H., Wang Z. Q., Zhang X., Willner I.* // *Adv. Funct. Mater.* 2007. **17**. P. 1821.
12. *Niu J., Liu Z., Fu L., Shi F., Ma H., Ozaki Y., Zhang X.* // *Langmuir.* 2008. **20**. P. 11988.
13. *Gribova V., Auzely-Velty R., Picart C.* // *Chem. Mater.* 2012. **24**. P. 854.
14. *Апель П.Ю., Дидык А.Ю., Житарюк Н.И., Ларионова И.Е., Мамонова Т.И., Орелович О.Л., Самойлова Л.И., Янина И.В.* // *Кол. журн.* 1994. **56**. С. 746.
15. *Shiratori S.S., Rubner M.F.* // *Macromol.* 2000. **33**. P. 4213.

Поступила в редакцию 20.09.13

MOLECULAR IMPRINTING OF PENICILLIN V IN POLYELECTROLYTE LAYERS DEPOSITED ONTO A TRACK-ETCHED MEMBRANE

L.O. Lokhova, D.A. Polyanina, M.K. Beklemishev

(Division of Analytical Chemistry)

Polyethylene terephthalate track-etched membranes have been modified by deposition of polyallylamine hydrochloride and polyacrylic acid monolayers from 91–96% (vol.) ethanol with and without penicillin V. Sorption and diffusion of penicillin V is higher for the membranes modified in the presence of this compound (the imprinted ones), which evidences the formation of molecular imprints of the template in the polyelectrolyte layer. The imprints are formed if the polyelectrolytes are deposited onto the membrane from a solution of ionic liquid (butylmethylimidazolium tetrafluoroborate). Sorption of foreign compounds on imprinted and non-imprinted membranes does not differ, which confirms the formation of selective molecular imprints of penicillin V.

Key words: molecular imprinting, track-etched membranes, polyelectrolytes, penicillin V, sorption, diffusion.

Сведения об авторах: Лохова Лилия Олеговна – студентка химического факультета МГУ; Полянина Дарья Анатольевна – аспирантка кафедры аналитической химии химического факультета МГУ; Беклемисhev Михаил Константинович – вед. науч. сотр. кафедры аналитической химии химического факультета МГУ, докт. хим. наук (mkb@analyt.chem.msu.ru).