دانشگاه تبریز

دانشکده شیمی

گروه شیمی تجزیه

پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته شیمی تجزیه

عنوان:

جداسازی انانتیومری برخی داروها با پلیمرهای قالب مولکولی (MIP) و اندازه گیری آنها به روش اسپکتروسکوپی

استاد راهنما:

دکتر محمد حسین سرورالدین

استاد مشاور:

دکتر علی اکبر انتظامی

دکتر عبدالحسین ناصری شکرلو

پژوهشگر:

هما آب بسته

شهریور ۱۳۹۰

فصل اول ۱
۱-۱- مقدمه ۲
۱-۲- داروی کایرال ۲
۱-۳- اهمیت جداسازی انانتیومری داروهای کایرال ۳
۱-٤- روش های جداسازی انانتیومری ٤
۱-۵- پلیمرهای قالب مولکولی ٦
۱-۵-۱- اساس و تئوری پلیمرهای قالب مولکولی ٦
۱-۵-۲- اجزاء MIP ۱۲
۱-۵-۲-۱- تمپلت ۱۲
۱-۵-۲-۲- مونومر عاملی ۱٤
۱-۵-۲-۳- اتصال دهنده‌عرضی ۱۵
۱-۵-۲-٤- حلال ها (مولد های حفرات) ۱۷
۱-۵-۲-۵- آغازگرها ۱۸
۱-۵-۳- روش های مختلف تهیه MIP ها ۲۰
۱-۵-۳-۱- تهیه MIP توده ای(Bulk) ۲۰
۱-۵-۳-۲- تهیه MIP در محل(In-situ) ۲۰
۱-۵-۳-۳- تهیه MIP دانه ای(Polymer-bead) ۲۱
۱-٦- بررسی خصوصیات پلیمر ۲۱
۱-۷- کاربردMIP ها در شیمی تجزیه ۲۱
۱-۷-۱- فازهای ساکن حکاکی شده در HPLC ۲٤
۱-۷-۲- سنسورها ۲۵
۱-۷-۳- MIP ها به عنوان سیستم های تحویل دارو ۲۵
۱-۷-٤- الکترو کروماتوگرافی مویینه ای ۲۵
۱-۷-۵- حسگرهای پیزو الکتریک ۲٦
۱-۷-٦- جداسازی توسط غشاها ۲۷

۱-۷-۷- کاربرد MIP در جداسازی داروهای کایرال ۲۸
۱-۸- اتامبوتول ۲۹
۱-۹- هدف این کار پژوهشی ۳۰
فصل دوم ۳۲
۲-۱- مواد و محلولهای به کار رفته ۳۳
۲-۱-۱- مواد و محلول های به کار رفته برای سنتز پلیمر ۳۳
۲-۱-۲- محلول های مورد نیاز برای تنظیم pH ۳٤
۲-۱-۳- محلول مادر آنالیت ۳٤
۲-۱-٤- محلول های شوینده ۳٤
۲-۲- لوازم و دستگاههای مورد استفاده ۳٤
۲-۳- روش تهیه پلیمر ۳٦
۲-۳-۱- تقطیر مونومر عاملی ۳٦
۲-۳-۲- روش های پیشنهادی برای تهیه محلول پیش پلیمر MIP ۳٦
۲-۳-۲-۱- روش اول ۳۷
۲-۳-۲-۲- روش دوم ۳۷
۲-۳-۳- تهیه محلول پیش پلیمر NIP ۳۷
۲-٤- آماده سازی پلیمر ۳۸
۲-٤-۱- خشک کردن پلیمر ۳۸
۲-٤-۲- رهاسازی مولکول تمپلت اولیه از پلیمر ۳۸
۲-۵- روش پیشنهادی برای جداسازی انانتیومرها ۳۸
۲-٦- آماده سازی ستون SPE حاوی MIP ۳۹
۲-٦-۱ - فعال سازی سایت های پلیمری ۳۹
۲-٦-۲- بارگذاری نمونه ٤۰
۲-٦-۳- مرحله پاکسازی ٤۰
۲-٦-٤- واجذب آنالیت ها ٤۱

۲-۷- روش پیشنهادی برای اندازهگیری اتامبوتول ٤١
۲-۷-۱- واکنش های مشتق سازی و اندازه گیری اسپکتروفتومتری آنها ٤١
۲-۷-۲- اندازه گیری خلوص انانتیومری **با پلاریمتری** ٤٢
۲-۷-۲-۱- اساس پلاریمتری ٤٢
۲-۷-۲-۲- رسم نمودار معیارگیری پلاریمتری ٤٤
۲-۸- روش اندازه گیری در نمونه حقیقی دارو ٤٥
۲-۹- آماده سازی نمونه حقیقی ٤٥
فصل سوم ٤٦
۳-۱- تهیه ستون SPE بر پایه MIP با تمپلت اتامبوتول ٤٧
۳-۱- ۱- بررسی بر هم کنش های احتمالی میان اتامبوتول و مونومر عاملی ٤٧
۳-۱-۲- تهیه پلیمر قالب مولکولی انتخابگر انانتیومری اتامبوتول ٤٨
۳-۱-۲ -۱- تهیه محلول پیش پلیمر ٤٩
۳-۱-۲- ۲- تهیه پودر پلیمر MIP و NIP ٥١
۳-۱-۲- ۳- خارج کردن مولکول های تمپلت، آماده سازی سایتهای تشخیص قالب مولکولی ٥١
۳-۲- بهینه سازی دما و زمان پلیمریزاسیون و مقدارمونومر عاملی ٥٤
۳-۲-۱- بهینه سازی دما و زمان پلیمریزاسیون ٥٤
۳-۲-۲- بهینه سازی مقدار مونومر عاملی ٥٦
۳-۳- بررسی طیف IR پلیمر های تهیه شده ٥٨
۳-٤- بهینه سازی شرایط استخراج ٦٠
۳-٤-۱- بررسی اثر pH ٦٠
۳-٤-۲- بررسی اثر حجم محلول نمونه ٦٢
۳-٤-۳- بررسی اثر سرعت عبور نمونه ٦٣
۳-٤-٤- بررسی اثر حجم شوینده ٦٤
۳-٤-٥- بررسی اثر سرعت عبور شوینده ٦٥
۳- ٥- بررسی ویژگی های تجزیه ای روش اسپکتروسکوپی ٦٦

۳-۵-۱- نمودار معیارگیری اسپکتروسکوپی برای اندازه گیری اتامبوتول ٦٦

۳-۵-۲- حد تشخیص روش ٦٧

۳-۵-۳- بررسی دقت روش ٦٩

۳-٦- نمودار معیارگیری پلاریمتری برای اندازه گیری اتامبوتول ٧١

۳-٧- بررسی انتخابگری انانتیومری ستون MIP تهیه شده ٧٣

۳-٨- اندازه گیری اتامبوتول در نمونه دارویی اتامبوتول هیدروکلراید ٧٤

۳-٩- نتیجه گیری ٧٧

۳-۱۰- پیشنهادات برای کارهای بعدی ٧٨

منابع و ماخذ ٧٩

فهرست شکل‌ها

۱-۱- شکل شماتیک حکاکی مولکولی در پلیمرها ۸

۱-۲- نمایش شماتیکی از فرآیند قالب‌زنی مولکولی کووالانسی و غیرکووالانس ۹

۱-۳- مونومرهای عاملی مرسوم استفاده شده در قالب‌زنی مولکولی ۱۶

۱-٤- ساختار شیمیایی تعدادی از اتصال دهنده‌های عرضی رایج استفاده شده در قالب‌زنی مولکولی ۱۷

۱-۵- ساختار شیمیایی آغازگرهای متداول ۱۹

۲-۱- شکل شماتیک از ستون تهیه شده ٤۰

۲-۲- واکنش اتامبوتول با Cu^{+2} ٤۱

۲-۳- طیف UV- Vis اتامبوتول بدون حضور سولفات مس (A). در حضور سولفات مس (B) ٤۲

۳-۱- نمایش برهم کنش های محتمل میان متاکریلیک اسید(MAA) واتامبوتول ٤۷

۳-۲- طیف IR پلیمرقالب مولکولی (MIP) سنتز شده ۵۳

۳-۳- طیف IR پلیمر غیرقالب مولکولی (NIP) سنتز شده ۵۳

۳-٤- اثر دمای واکنش پلیمریزاسیون بر روی کارایی پلیمر در استخراج محلول اتامبوتول ۵٤

۳-۵- اثر زمان واکنش پلیمریزاسیون بر روی کارایی پلیمر در استخراج محلول اتامبوتول ۵۵

۳-٦- اثر مقدار مونومر مصرفی بر میزان کارایی پلیمرتهیه شده در استخراج اتامبوتول ۵۷

۳-۷- طیف IR پلیمر سنتز شده ۵۸

۳-۸- a) مونومر عاملی متاکریلیک اسید، b) پلیمر متاکریلیک اسید و c) اتصال دهنده‌عرضی اتیلن گلیکول دی‌متاکریلات ۵۹

۳-۹- اثر pH بر کارایی استخراج ستون MIP از محلول $10\ mgL^{-1}$ اتامبوتول توسط ستون:A) MIP و B) NIP .. ٦۲

۳-۱۰- نمودار تغیرات بازیابی اتامبوتول بر حسب حجم عبوری محلول نمونه توسط شوینده بافری با pH=۵ ..... ٦۳

۳- ۱۱- نمودار تغیرات بازیابی اتامبوتول بر حسب سرعت عبور محلول نمونه ٦٤

۳- ۱۲- نمودار تغیرات بازیابی اتامبوتول بر حسب حجم محلول شوینده ٦۵

۳-۱۳- نمودار تغیرات بازیابی اتامبوتول بر حسب سرعت عبور محلول شوینده ٦٦

۳-۱٤- نمودار معیارگیری اسپکتروسکوپی برای اتامبوتول با روش پیشنهادی و تحت شرایط بهینه ٦۷

۳-۱۵- نمودار معیارگیری پلاریمتری برای اتامبوتول با روش پیشنهادی ۷۱

۳-۱٦- انتخابگری پلیمر تهیه شده در استخراج انانتیومری اتامبوتول ۷٤

فهرست جدول‌ها

۱-۱- مقایسه روشهای متفاوت تهیه دانه‌های پلیمری ۲۲

۱-۲- روش‌های تعیین خصوصیات پلیمر ۲۳

۱-۳- لیست داروهای کایرال جداسازی شده توسط انواع پلیمرهای قالب مولکولی ۳۱

۱-٤- ساختار برخی داروهای انانتیومری استفاده شده به عنوان تمپلت برای تهیه فاز ساکن کایرال ۳۱

۳-۱- پاسخ ۵ محلول بلانک برای اتامبوتول ٦۹

۳-۲- پاسخ اسپکتروسکوپی ۵ محلول ppm ۱۵ برای اتامبوتول براساس روش پیشنهادی ۷۰

۳-۳- پاسخ پلاریمتری ۵ محلول ppm ۱۵ برای اتامبوتول براساس روش پیشنهادی ۷۲

۳-٤- برخی مشخصات تجزیه‌ای مربوط به نمودار کالیبراسیون پلاریمتری ۷۲

۳-۵- نتایج اسپکتروسکوپی حاصل از سه بار آنالیز اتامبوتول در نمونه دارویی با روش پیشنهادی ۷۵

۳-٦- نتایج پلاریمتری حاصل از سه بار آنالیز اتامبوتول در نمونه دارویی با روش پیشنهادی ۷٦

نام خانوادگی:آب بسته نام: هما

عنوان پایاننامه: جداسازی انانتیومری برخی داروها با پلیمرهای قالب مولکولی (MIP) و اندازه گیری آنها به روش اسپکتروسکوپی

استاد راهنما: دکتر محمد حسین سرورالدین

استادان مشاور: دکتر علی اکبر انتظامی، دکتر عبدالحسین ناصری شکرلو

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد رشته: شیمی گرایش: تجزیه دانشگاه: تبریز

دانشکده: شیمی تاریخ فارغ‌التحصیلی: شهریور ۱۳۹۰ تعداد صفحه: ۹۲

کلیدواژه‌ها: پلیمرهای قالب مولکولی، اتامبوتول واسپکتروسکوپی UV- Vis

چکیده:

در سال‌های اخیر با توجه به هزینه های بالا برای جداسازی و اندازه گیری داروهای کایرال که عمدتاً توسط رزینهای کایرال انجام می گیرند، پلیمرهای MIP رشد روزافزونی یافته اند. در این کار، تلاش بر آن است که داروی اتامبوتول که یک انانتیومر آن مفید و انانتیومر دیگر آن مضر می باشند را به کمک MIP جداسازی و به کمک روش اسپکتروسکوپی اندازه گیری نمود. این کوپل نمودن روش جداسازی MIP و اسپکتروسکوپی در دنیا مورد توجه قرار گرفته است ونتایج بسیار مناسبی نیز مشاهده گردیده است.

در کار پژوهشی حاضر، مطالعه یک استراتژی ساده پلیمریزاسیون برای تولید پلیمرهای قالب مولکولی (MIP) مورد استفاده قرار گرفته است. این پلیمر از کوپلیمریزاسیون متاآکریلیک اسید–اتیلن گلیکول دی متاکریلات، قالب زده شده با یک انانتیومر خالص اتامبوتول تولید گردید و برای بررسی خلوص انانتیومری داروی اتامبوتول بکار گرفته شد. فاکتور های موثر بر پلیمریزاسیون شامل دما و زمان پلیمریزاسیون و نسبت مونومر عاملی استفاده شده، مورد بررسی قرار گرفته و جزئیات آن آورده شده است. همچنین اثر عواملی چون pH محلول شوینده، سرعت عبور محلول نمونه، حجم محلول نمونه، حجم شوینده و سرعت عبور محلول شوینده مورد مطالعه قرار گرفته است. انحراف استاندارد نسبی (RSD) برای روش (برای ۵ بار تکرار و غلظت ppm ۱۵) برابر۱/۰۵۳٪ بدست آمده است. هم چنین حد تشخیص روش برابر با ppm ۵/٤۱ است. همچنین انتخابگری انانتیومری پلیمر تهیه شده مورد بررسی قرار گرفته است. مقادیر بازیابی نسبی در نمونه های حقیقی داروی اتامبوتول بالاتر از ۹۰٪ بود.

فصل اول:

مقدمه وبررسی منابع

۱-۱- مقدمه

پلیمرهای قالب مولکولی[1] ازکوپلیمریزاسیون مونومرهای عاملی و اتصال دهنده‌های عرضی در حضور مولکول تمپلت (الگو) تهیه می‌گردند. بعد از خارج کردن مولکول‌های تمپلت، پلیمر حاصل دارای سایت‌های خالی می‌گردد، که از نظر جهت‌گیری فضایی، شکل و عوامل فعال با ساختار مولکول آنالیت مطابقت دارند. بنابراین در مجاورت با محلول واجد چنین مولکولهایی از طریق برهمکنش‌های مهمان- میزبان به طور اختصاصی آنها را جذب می‌کنند. خصوصیت بارز جذب انتخابی این ساختارها قابل مقایسه با آنتی‌بادی‌ها و گیرنده‌های بیومولکولی می‌باشد، با این تفاوت‌که پلیمرهای قالب مولکولی نسبت به گیرنده‌های تشخیصی بیومولکولی، از پایداری فیزیکی و شیمیایی بالاتری برخوردار بوده و تهیه آنها ساده‌تر و ارزان‌تر است. با توجه به هزینه های بالا برای جداسازی و اندازه گیری داروهای کایرال که عمدتاً توسط رزینهای کایرال انجام می گیرند، پلیمرهای MIP رشد روزافزونی یافته‌اند [۱]. در کار پیشنهادی، تلاش بر آن است که داروهای کایرالی که یک انانتیومر مفید و انانتیومر دیگر مضر می باشند را به کمک MIP جداسازی و به کمک روش اسپکتروسکوپی اندازه گیری نمود. این کوپل نمودن روش جداسازی MIP و اسپکتروسکوپی در دنیا مورد توجه قرار گرفته است و نتایج بسیار مناسبی نیز مشاهده گردیده است.

۱-۲- داروی کایرال

داروها معمولاً مخلوطی از دو فرم انانتیومری (ایزومر راست و چپ گردان) به مقادیر ۵۰:۵۰ در یک محلول می باشند. اگر چه از نظر تئوری یک انانتیومر فعال است، آن دیگری ممکن است (به عنوان

1 - Molecularly imprinted polymers

ناخالصی) در ایجاد اثرات جانبی دارو نقش داشته باشد. حدود یک سوم داروهای مورد استفاده به صورت مخلوط راسمیک هستند (مثل تیوپنتال). رشد روز افزون استفاده از ترکیبات کایرال در داروها و سموم، سبب توجه فوق العاده به جداسازی مقادیر بسیار کم انانتیومرهای این ترکیبات شده است. در بسیاری از داروها و سموم تنها یکی از انانتیومرها خواص مربوط را دارند و انانتیومر دیگر ممکن است بی اثر و یا دارای سمیت بالا باشد [۲، ۳].

۱-۳- اهمیت جداسازی انانتیومری داروهای کایرال

از آنجایی که یک سوم داروهای شناخته شده در جهان کایرال می باشد سازندگان در صورت تهیه این داروها، تنها در یک فرم انانتیومری مورد تأیید خواهند بود. چرا که بر نقش کامل یک انانتیومر در بافت زنده تاکید دارند. از اینرو اندازه گیری مقدار انانتیومرهای جدا شده موجود در یک نمونه برای کنترل کیفی و آماده سازی داروها و مطالعه ویژگیهای دارویی و کنترل پزشکی ضروری به نظر می رسد. جداسازی ترکیبات کایرال به دلیل اینکه اکثریت مولکولهای موجودات زنده کایرال هستند از اهمیت ویژه ای برخوردار است. برای مثال، موجودات زنده ازترکیبات بیوارگانیک کایرال[1] مانند اسیدهای آمینه، قندها، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک تشکیل شده اند. در طبیعت این بیومولکول ها[2] تنها در یکی از دو شکل انانتیومری ممکن وجود دارند. به عنوان مثال، اسیدهای آمینه به فرم L وقندها به فرم D در طبیعت موجود می‌باشند. به همین دلیل موجودات زنده پاسخ های بیولوژیکی متفاوتی را به یکی از جفت انانتیومرها در داروها، آفت کش ها، و یا ضایعات نشان می‌دهند. این امر نگرانی عمده در صنایع داروسازی پیشرفته می‌باشد. موجود زنده به طور شگفت

1- bioorganic-Chiral

2- biomolecules

آوری انتخاب گر کایرال بوده و توسط مسیر جداگانه به هریک از انانتیومرهای داروهای راسمیک پاسخ داده و منجر به فعالیت های متفاوت دارویی می‌شوند. به این ترتیب، یک ایزومر ممکن است فعالیت های درمانی مورد نظر را داشته باشد، در حالی که ایزومر دیگر ممکن است غیر فعال بوده و یا در بدترین موارد، منجر به بروز اثرات ناخواسته شود. به عنوان مثال حالت نامطلوب از داروی راسمیک n-phthalylimid -glutamic acid را که در سال ۱۹۶۰ به عنوان آرام بخش به بازار عرضه شده بود را میتوان ذکرکرد. فعالیت دارویی این ترکیب مختص فرم R-(+)-enantiomer می باشد واین واقعیت بعد از تولد صدها نوزاد ناهنجاربه دلیل مصرف فرم S-(-)-enantiomer کشف شد. از این رو سازمان غذا و داروی آمریکا در سال ۱۹۹۲، برای جلوگیری از اثرات نامطلوب احتمالی داروهای کایرال، با صدور دستورالعملی برای داروهای کایرال اعلام کرد که تنها نوع فعال ایزومر دارویی به بازار عرضه گردد [۳].

۱-٤- روش‌های جداسازی انانتیومری

روش های رایج تجزیه و تحلیل انانتیومری مانند: پلاریمتری، رزونانس مغناطیسی هسته ای، رقیق سازی ایزوتوپی، گرماسنجی و تکنیک های آنزیم می باشد، که نیاز به نمونه خالص دارند. اما به طور کمی و بدون نیاز به نمونه خالص، جداسازی وتجزیه انانتیومری به طور همزمان با کروماتوگرافی گازی (GC) یا کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) انجام می شود. HPLC با ستون کایرال ثابت کرده است که یکی از بهترین روش ها برای جداسازی و تجزیه مستقیم انانتیومرها میباشد. در GC و HPLC نسبت انانتیومرها را می‌توان با انتگرال گیری پیام‌های ترکیبات سازنده مختلف و با استفاده ازیک سیستم آشکارگر مناسب و یک ثبت کننده بدست آورد. استفاده از HPLC یا کروماتوگرافی ستونی بر روی یک فاز ثابت سیلیکا یا آلومینا اجازه می دهد که جداسازی فیزیکی

مقادیر کمی از مواد جامد انجام گیرد. با استفاده از چنین روش‌هایی و اثر آن بر جداسازی کامل مواد، حضور مقدار زیادی دیاستریومر در مخلوط بر تخمین زدن نسبت انانتیومرها مشکلی ایجاد نمی‌کند. برای جداسازی کامل ودرمقادیر تجزیه ای انانتیومرها، ستون های پرشده GC یا HPLC با مواد کایرال در دسترس هستند. ستونهای معمولی حاوی کربوهیدرات‌های مناسب مثل سیکلودکسترین‌ها که موادی نسبتاً ارزان و به سهولت قابل تولید صنعتی هستند. مشتقات پر- اورتو- فنیلات سیکلودکسترین به طور نسبتاً گسترده ای به عنوان فاز ثابت کایرال برای آنالیز با GC و HPCL استفاده شده‌اند، زیرا این مواد می‌توانند انانتیومرهای بسیاری از ترکیبات غیرحلقوی، تک حلقه‌ای و دوحلقه ای را جدا کنند. به عنوان مثال، یک ستون کایرالی که از مشتق سیکلودکسترین پرشده است، برای جدا کردن انانتیومرهای برمو (کلرو) فلوئورمتان مورد استفاده قرار گرفته است [٤]. در برخی حالتهای نادر مخلوطی از دو انانتیومر غیر راسمیک بر روی یک ستون غیر کایرال جدا شده اند. دراین حالت فاز حامل شامل مقادیر نابرابر از دو انانتیومر به محیطی کایرال وارد شده و یکی از انانتیومرها تمایل بیشتری برای باقی ماندن در محلول داشته (به دلیل داشتن برهم کنش مناسب با انانتیومرغالب) وسریعاً خارج می شود. از نکات قابل توجه اینکه چون احتمال دارد دو انانتیومر با سرعت مشابهی با ترکیب کایرال ترکیب نشوند، لذا به منظور اجتناب از اشتباه و به دلیل تشکیل سریع یک یا دو محصول، باید مشتق سازی به طور کامل انجام شود. با داشتن دیاستریومرهای تشکیل شده از انانتیومرهای مختلف (برای مثال در مخلوط راسمیک) جداسازی فیزیکی را می توان توسط بلور شدن، تقطیر دقیق، کروماتوگرافی و غیره انجام داد زیرا دیاستریومرها دارای حلالیت، نقاط جوش، قدرت جذب شدن متفاوت با سیلیکاژن و غیره اند. پس از جداسازی موثر، انانتیومرهای مختلف می‌توانند توسط هیدرولیز بازیابی شوند. اگر جداسازی مناسبی از دیاستریومرها انجام گیرد، انانتیومرهای به دست آمده از آنها پس از بازیافت باید دارای چرخش برابر و مخالف هم باشند

(هنگامی که از یک پلاریمتر برای اندازه گیری آنها استفاده می شود). جداسازی انانتیومرها در یک مخلوط راسمیک (تفکیک راسمات) در سنتز نامتقارن بسیار مهم است [٤].

الکتروفورز لوله مویین روش دیگری برای جداسازی مخلوطهای دیاستریومراست. این تکنیک، مولکول ها را براساس اختلاف تحرک الکتروفورز آنها در محلول جدا می‌کند. تاکنون این روش به ملکول های باردار محدود بوده، اما امروزه به روش الکتروفرزی میسلی تغییرکرده است. با استفاده از این روش محلول خنثی (از قبیل دیاستریومرها) می توانند بر اساس اختلاف سهمشان در فاز آبی و فاز آب گریز میسل‌ها جدا شوند. در اینجا میسل‌ها یک فاز دومی تشکیل می دهند (که متعلق به فاز ثابت در کروماتوگرافی معمولی است). به منظور جداسازی انانتیومرها، یک کایرال افزایشی، مثلاً مشتقی از یک سیکلو دکسترین به محلولی از میسل اضافه می شود. انانتیومرها با این کایرال افزایشی پیوند موقتی تشکیل می دهند و این اتصال غیر کووالانس موقتی، اثرات متفاوتی بر روی تحرک دو انانتیومر می گذارد. ترکیبات جداشده معمولاً توسط جذب UV یا تکنیکهای فلوئورسانی ظاهر می شوند [٤].

۱-۵- پلیمرهای قالب مولکولی

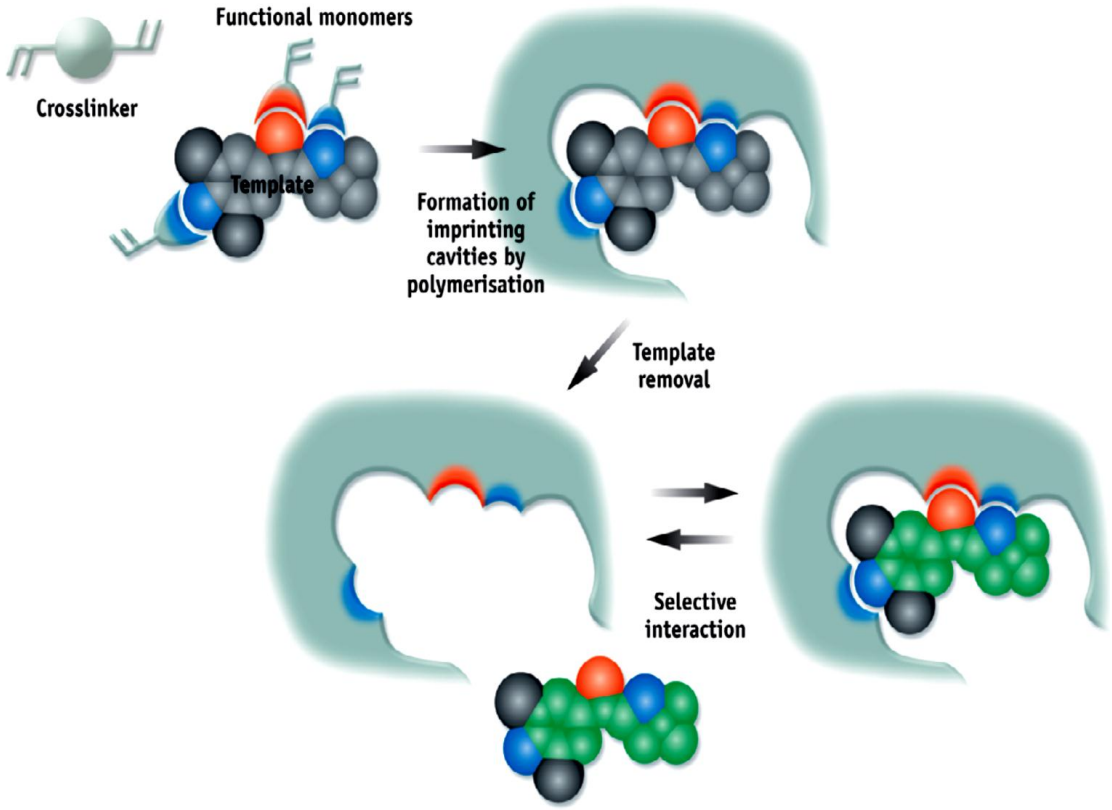
۱-۵-۱- اساس و تئوری پلیمرهای قالب مولکولی

روش قالب زنی مولکولی اخیراً برای تولید آسان و ساده گیرنده هایی با انتخابگری و کارایی بالا گسترش یافته‌اند. پلیمرهای قالب مولکولی (MIP) ماتریکس‌های پلیمری با اتصالات عرضی حاوی حفره‌های قالبی ویژه برای مولکول‌های خاص یا تمپلت هستند. تهیه آنها براساس پلیمریزاسیون مونومرهای عاملی و اتصال دهنده های عرضی در اطراف یک مولکول تمپلت و سپس خارج کردن

تمپلت صورت می‌گیرد. حفره‌های سه بعدی باقی مانده در پلیمر به شکل ملکول تمپلت و با گروه‌های عاملی خاص می‌توانند برای اتصال با ملکول تمپلت، تمایل ویژه نشان دهند. این تکنیک به طور شماتیک در شکل ۱-۱ نشان داده شده است. این روش به قدری بی‌نظیر و چالش برانگیز است که در حال حاضر پیشگویی کاربردهای بیشتر در آینده مشکل می باشد. با این حال به نظر می رسد، تلفیق سادگی روش استخراج SPE با انتخابگری بالای MIP منجر به ساخت ستون های جدید و انتخابی MIP خواهد شد [۵، ٦]. پلیمر حاصل دارای پایداری قابل توجهی نسبت به دامنه وسیعی از pH، حلالها و دما می‌باشد. بدون داشتن محدودیت پایداری گیرنده های بیو مولکولی، پلیمرهای قالب مولکولی، همانند گیرنده های بیومولکولی به طور کاملاً انتخابی سوبستراهای هدف را شناسایی و جذب کرده و قابلیت رقابت با آنها را نیز دارند. علاوه بر این، تهیه آسان و ارزان این قالب‌های مولکولی از مزایای این مواد می باشد [۷، ۱۰].

ایده القاء ویژگی مولکولی در یک بسترکه بتواند به طور گزینش پذیر گونه‌ای خاص را جذب نماید، مدت‌ها قبل ارائه شده است. در سال۱۹۳۱، Polyakov توضیح داد که به وسیله قرار دادن یک مولکول آلی در معرض اسید سیلیسیک قبل از تراکم و پلیمر شدن آن امکان حکاکی یک مولکول در توده سیلیکاژل وجود دارد. در سال ۱۹٤۹ و ۱۹۵۵ Frank Dickey شاگرد Polyakov، حکاکی چندین رنگ الکیل ارنج را گزارش نمود. وی سیلیسیک اسید را در حضور چندین رنگ ذکر شده رسوب داده و مشاهده نمود که پس از خشک نمودن هیدروژل‌ها، ژل‌های تولید شده برای رنگ حاضر در حین تشکیل سیلیکاژل، ظرفیت جذب بالاتری را نشان می‌دهد. اما MIP به گونه ای که امروزه می‌شناسیم اولین بار توسط Wulff و همکاران در سال ۱۹۷۲ معرفی گردید [۸]. کارهای

بعدی آنها و نیزگروه‌های Shea، Mosbach، Sellergreen و Ramstrom [۹] نشان دادند که حافظه-های مولکولی در این نوع از پلیمرها القاء می‌شود.

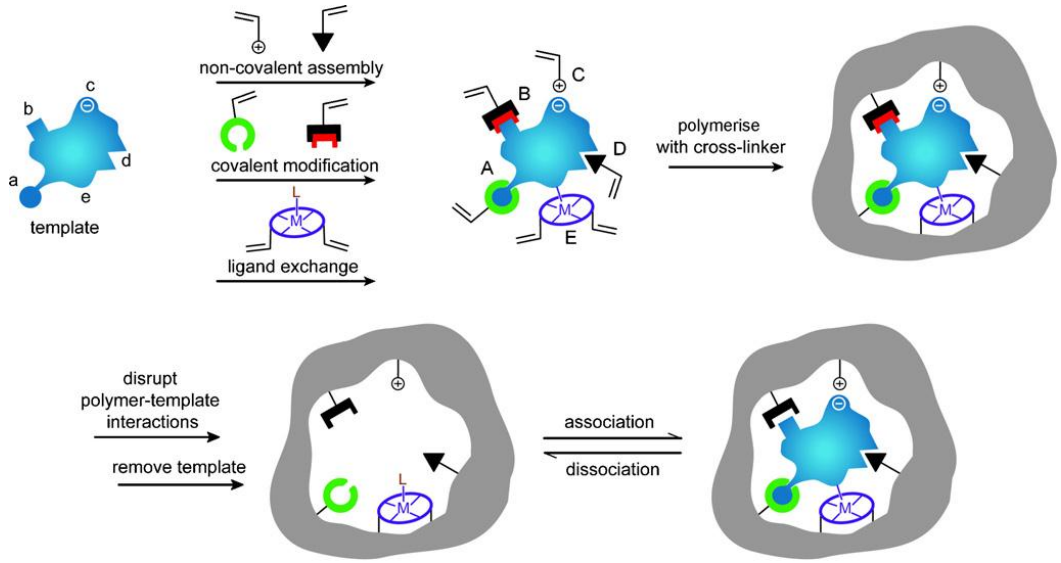


شکل ۱-۱- شکل شماتیک حکاکی مولکولی در پلیمرها

به طور کلی سه روش مختلف برای تهیه پلیمرهای قالب مولکولی گزارش شده است: روش کووالانسی، نیمه کووالانسی یا شبه کووالان و روش غیر کووالانسی.

آرایش موجود در پلیمر می‌تواند ناشی از تأثیرات متقابل غیرکووالانسی مانند پیوندهای هیدروژنی یا تأثیرات متقابل الکترواستاتیکی بین مولکول تمپلت و مونومرهای عاملی باشد که در این صورت پلیمرهای قالب غیر کووالانسی تهیه میگردد. در صورتی که تأثیرات متقابل از نوع کووالانسی برگشت‌پذیر باشد، پلیمرهای قالب مولکولی کووالانسی ایجاد می‌شود. به طور کلی در پلیمرهای

قالب کووالانسی سایت‌های پیوندی معین و هموژن‌تر هستند، در حالی که پلیمرهای قالب غیرکووالانسی انعطاف پذیری بیشتری برای گروه‌های عاملی داشته و در نتیجه برای ترکیبات هم-خانواده مولکول تمپلت می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند [۱۰، ۱۱]. پلیمریزاسیون توسط فعال‌سازی رادیکال‌های آزاد آغازگر به کار رفته با تابش UV یا به صورت حرارتی آغاز می‌شود و پلیمر شروع به تشکیل شدن در اطراف مولکولهای تمپلت می‌کند. برهم‌کنش‌های میان مولکول تمپلت و مونومرها یک جهت‌گیری سه بعدی از گروه‌های عاملی را در اطراف مولکول تمپلت تثبیت می‌کند. بعد از اینکه پلیمریزاسیون کامل شد، تمپلت توسط هیدرولیز (MIP کووالانسی) یا توسط استخراج در شرایط ملایم با حلال مناسب (MIP غیر کووالانسی) و در مواردی که تمپلت فرار باشد به طریق حرارتی، از ساختار پلیمر خارج می‌شود و قالب‌هایی را به جا می‌گذارد که از نظر مطابقت گروه‌های عاملی و شکل و اندازه فضایی با مولکولهای تمپلت هماهنگ هستند. شکل ۱-۲ نمایش شماتیکی از فرآیندهای قالب‌زنی مولکولی، کووالانسی و غیر کووالانسی را نشان می‌دهد.



شکل ۱-۲- نمایش شماتیکی از فرآیند قالب‌زنی مولکولی کووالانسی و غیر کووالانسی

پلیمرهای قالب مولکولی معمولاً در حضور مازاد مولی یک اتصال دهنده عرضی[1] تهیه می‌شوند تا تراکم و استحکام ساختمان پلیمری تامین شود و سایت‌های قالب مولکولی ایجاد شده شکل خود را حفظ کنند. حفرات شکل گرفته در خلال فرآیند قالب‌زنی به عنوان سایت‌های تشخیصی[2] عمل می‌کنند و قادرند به طور انتخابی با مولکولهای تمپلت پیوند مجدد برقرار کند. به بیان دیگر یک حافظه مولکولی[3] بر روی پلیمر نقش می‌بندد که قادر است به طور بسیار انتخابی با تمپلت برهم‌کنش کند. بنابراین، MIPs دو خصوصیت اصلی گیرنده‌های بیولوژیک یعنی توانایی تشخیص و پیوند ویژه با مولکولهای هدف را دارند.

در روش کووالانسی پایداری بالای برهم کنش میان مونومر و تمپلت منجر به افزایش جمعیت سایت‌های قالب مولکولی همگن و به حداقل رساندن سایت‌های غیر ویژه می‌شود که جزو محسنات بارز این روش محسوب می شود. این روش دارای برخی محدودیت ها نیز می باشد. از جمله می توان به مشکل بودن روشهای سنتزی تشکیل تمپلت های قابل پلیمریزاسیون و همچنین عدم خروج کامل تمپلت بعد از مرحله سنتز MIP اشاره کرد.

اما در روش قالب‌زنی غیر کووالانسی که به دلیل سادگی به طور وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد در خلال اجرای آن، سایت‌های پیوندی ویژه‌ای به علت خود نظم دهی[4] بین تمپلت و مونومر و به دنبال آن کوپلیمریزاسیون با اتصال دهنده عرضی شکل می‌یابند [۱۲]. مولکول‌های تمپلت از طریق برهم کنش‌های غیر کووالانسی همانند نیروهای یونی، هیدروفوبیک و پیوند هیدروژنی با پلیمر ارتباط

1 - Cross- linking reagent

2 - Recognition sites

3 - Molecular memory

4 - Self-assembly

برقرار می‌کنند. به نظر می رسد که روش غیر کووالانسی دارای پتانسیل بالایی برای توسعه فرآیند قالب‌زنی مولکولی باشد و دلیل آن تعداد زیاد ترکیباتی است که قادرند بر هم کنش‌های غیر کووالانسی با مونومرهای عاملی قابل پلیمریزاسیون ایجاد کنند [۱۳، ۱٤]. معمولاً برهم‌کنش‌های بین مونومرهای عاملی و مولکول تمپلت در محیط‌های هیدروفوبیک بهتر شکل می‌گیرند، در حالی که محیط‌های قطبی این برهم کنش‌ها را از بین می‌برند. بنابراین در انتخاب حلال مورد استفاده (محیط واکنش) باید دقت کرد. محدودیت دیگر تعداد نقاط بر همکنشی است که می تواند میان تمپلت و مونومر عاملی در محلول پیش پلیمر به وجود آید. هر چه تعداد این نقاط بر همکنش بیشتر باشد انتظار می رود که تعادل منتهی به تشکیل کمپلکس کامل تر شود که نتیجه آن ایجاد تعداد بیشتری از سایت های تشخیصی در پلیمر حاصل می باشد. مولکولهای تمپلتی که تنها از یک محل امکان برهم کنش دارند، تولید پلیمرهای قالب مولکولی می‌کنند که خصوصیات تشخیصی آنها بسیار محدود است و در کاربردهای عملی کارایی کافی ندارند. با توجه به مطالب ذکر شده روش قالب‌زنی غیر کووالانسی به سه دلیل زیر بیشتر مورد استفاده قرار گرفته است:

الف) روش غیر کووالانسی ساده‌تر است زیرا نیازمند مراحل سنتز شیمیایی برای تشکیل کمپلکس پیش پلیمر نیست، برهم کنش‌ها ما بین مونومرها و تمپلت وقتی همه اجزا در محلول کنار هم قرار دارند به آسانی امکان‌پذیر است.

ب) خارج کردن تمپلت به طور کلی آسان‌تر است و معمولاً با استخراج پیوسته توسط حلال‌های مناسب امکان‌پذیر است.

ج) این نوع MIPs از کاربردهای متنوع تری بر خوردار هستند.