

## 기능성 단량체가 키랄 물질의 체류인자에 미치는 영향

김은철 · 노경호\*

인하대학교 화학공학과 초정밀생물분리기술연구센터

(접수 : 2005. 1. 10., 게재승인 : 2005. 6. 23.)

## Effect of Functional Monomer on Retention Factor of Chiral Racemate

Yinzhe Jin and Kyung Ho Row\*

Center for Advanced Bioseparation Technology and Department of Chemical Engineering,

Inha University, 253 Yonghyun-Dong, Nam-Ku, Incheon 402-751, Korea

(Received : 2005. 1. 10., Accepted : 2005. 6. 23.)

In this work, molecular imprinted polymers (MIPs) using the template of the N-CBZ (carbobenzyloxy)-L-phenylalanine, MAA and 4-VPY as a monomer, EGDMA as a crosslinker and AIBN as an initiator were considered. The prepared polymer particles (Ca. 25-35  $\mu\text{m}$ ) were packed into a chromatographic column (3.9  $\times$  150 mm). The chromatographic characteristics of the retention on the MIP were experimented with acetonitrile as a mobile phase at the flow rate of mobile phase, 0.5 ml/min. The retention factors and resolutions of chiral racemate of the N-CBZ-D, L-phenylalanine were measured. The results showed that the retention factor and resolution by the two co-monomer imprinting polymer were higher than the single monomer imprinting polymers, which indicated an increase in the affinity of the MIP with the sample as a result of the cooperation effect of the binding sites.

**Key Words** : Molecular imprinted polymer, co-monomer, hydrogen binding, chiral racemate, retention factor

### 서론

분자각인 고분자 기술은 목표물질을 주형분자로 하고 적합한 기능성 단량체를 선택하여 비극성 또는 극성 용액 중에서 공유결합, 비공유결합, 금속이온 결합을 통하여 복합물을 형성하고 일정한 온도 조건하에서 고도로 가교 결합된 네트워크 구조를 가지는 것이다. 적당한 용액을 이용하여 복합물에서 주형분자를 제거함으로써 네트워크 구조에서 주형분자의 입체 구조와 화학적 구조배열과 서로 연관되는 인식 공극을 가지게 된다.

분자각인 고분자는 높은 선택성과 탁월한 분자 인식 능력으로 인하여 여러 가지 영역에 널리 응용되고 있으며 분석화학 방면에서의 응용은 놀라운 발전을 가져왔다. 일반적으로 분자각인 고분자는 HPLC(1, 2), 모세관 전기영동(3, 4), TLC의 고

정상으로 사용되며(5), 고정상 추출(6, 7), 생물모사감응기(8, 9), 약물분리(10), 임상분석(11), 아미노산 및 유도체(12), 당류 및 유도체(13), 막 분리(14) 등 여러 가지 용도에 사용되고 있다. 분자각인 고분자가 갖고 있는 특이성, 예정성, 인식성, 실용성과 단일성으로 인하여 키랄 물질의 분리에 응용되고 있으면 이미 일정한 성과를 거두었다. 분자각인 고분자는 polymer 합성이 간단하고 비용이 저렴하며 높은 압력에 견디며 넓은 온도 범위에서 사용이 가능하다. 뛰어난 물리, 화학적 안정성을 갖고 있어서 강산, 강염기, 이온 및 유기용매에 사용된다. 그러므로 여러 가지 이동상을 사용할 수 있고 광범위한 조건하에서 실험을 진행할 수 있고 또한 오랜 시간동안 보관할 수 있다(15-17). 분자각인 고분자를 100회 이상 사용한 후에도 분자 인식능력이 떨어지지 않았으며 8개월 보관한 후에도 성능이 변하지 않았다(18). 그러나 분자각인 고분자의 단점으로는 주형분자의 선택이 어려우며 분자각인 고분자를 컬럼에 충전하였을 때 컬럼의 효율이 낮은 것이다. 예를 들어, 키랄 물질을 분리하는 경우, 한 가지의 이성질체를 선택하여 주형분자로 사용하여야 분자각인 고분자를 제조하여 키랄 물질의 분리에 사용될 수 있다. 분자각인 고분자를 합성하기 전에 반드시 한 가지 또는 그 이상의 이성질체가 있어

\* Corresponding Author : Center for Advanced Bioseparation Technology and Department of Chemical Engineering, Inha University, 253 Yonghyun-Dong, Nam-Ku, Incheon 402-751, Korea

Tel : +82-32-860-7470, Fax : +82-32-872-0959

E-mail : rowkho@inha.ac.kr

야 중합을 진행할 수 있고 분리에 사용될 수 있다. 주형분자의 가격이 높을수록 비용이 증가할 것이며 주형분자가 많을수록 분리효과가 우수할 수 있는데 이것도 역시 비용에 관련된다. 컬럼의 효율이 낮은 것은 일반적으로 분자각인 고분자의 제조과정에서 중합 제조된 고분자의 입자 크기가 균일하지 않고 모양이 불규칙하고 특정한 활성물질을 분리할 때 흡착-탈착 속도가 느리기 때문이다(19).

키랄 물질은 자연계의 본질적 속성으로서 생명활동의 중요한 기초인 단백질, 핵산, 다당류를 비롯하여 효소, 수용체, 매체 등도 키랄 성질을 갖고 있다. 약물이 인체에 투입된 후 이런 분자들과의 엄밀한 키랄 분배와 분자인식을 통하여 약리활성효과를 일으킨다. 키랄 물질은 두개의 거울상 이성질체로 이루어졌으며 각 거울상 이성질체는 약효, 생물활성, 분포, 신진대사와 체내제거 등 방면에서 서로 다른 성질을 가지는데 일반적으로 한 가지 이성질체가 우수한 약리효과를 가진다면 다른 한 가지 이성질체는 부작용을 일으키거나 독성을 가지거나 약효가 전혀 없다. 따라서 의약품으로 이용하기 위해서는 원하는 구조를 가지는 이성질체만을 분리하여 사용하여야 한다. 분자각인 고분자는 높은 특이성, 단일성과 선택성을 갖고 있고 제조하기 간단하고 가격이 저렴하기 때문에 키랄 물질의 분리에 대한 연구가 많이 진행되고 있다. Phenylalanine은 일반적으로 콩과 식물의 종자나 어린 눈 속에서 유리상태로 존재하며 방향족  $\alpha$ -아미노산이다. L-phenylalanine은 모든 알에 5.4%, 탈지유에 5.1% 함유되어 있으며 생체 내에서 비가역적으로 히드록실화되어 티로신이 된다. D-phenylalanine은 폴리펩티드성 항생물질인 그라미시딘S, 티로시딘, 바시트라신 등의 구성성분으로서 단백질 중에는 존재하지 않는다. N-CBZ-L-phenylalanine과 N-CBZ-D-phenylalanine은 이러한 phenylalanine의 유도체이다(Fig. 1). 이 두 거울상 이성질체의 분자식은  $C_{17}H_{17}O_4N$ 이고 분자량은 299.3 g/mol이다.

본문에서는 키랄 물질로 N-CBZ-L-phenylalanine을 주형분자로 하고 D형과 L형의 체류인자에 대한 기능성 단량체의 영향을 고찰하였고 이동상중의 물의 함량 변화에 따른 체류인자를 측정하였다. 분자각인 고분자를 이용한 키랄 물질의 분리에 대한 가능성을 제시하고 더 나아가서 키랄 물질을 분리하기 위하여 본 실험을 진행하였다.

## 재료 및 방법

### 시약

N-CBZ (carbobenzoyloxy)-L-phenylalanine, N-CBZ-D-phenylalanine, MAA (methacrylic acid), 4-VPY (4-vinylpyridine)는 Sigma (St. Louis, MO, USA), AIBN (2,2'-Azobis(isobutyronitrile))은 Junsei Chemical Co. Ltd(Japan), EGDMA (ethylene glycol dimethacrylate)는 Fluka (Buchs, Switzerland), acetic acid (analytical grade)는 Oriental Chemical Industries (Incheon, Korea)에서 구입하였다. 아세트나이트릴, 메탄올, 아세트은 HPLC-grade로 덕산화학 (안산)에서 구입하였다. 이상의 시약들은 전처리 없이 바로 사용하였다. 증류수는 감압 펌프 (Division of Millipore, Waters)와 필터 (HA-0.45  $\mu$ m, Division of Millipore, Waters)를 이용하여 여과한 후 사용하였다.

### 기기

HPLC 시스템으로는 Waters 600s Multisolvant Delivery System이 부착된 Waters 616 liquid chromatography (Waters Associates, Milford, MA, USA), Rheodyne injector (20  $\mu$ l sample loop)가 사용되었다. 데이터 저장 시스템은 HP Vectra 500 PC에 설치된 Millennium 3.2를 사용하였다. UV 검출기는 2487 UV dual channel detector (Waters, Milford, MA, USA)를 사용하였다. 이동상은 아세트나이트릴을 사용하였고 UV wavelength는 258 nm로 고정하였다.

### 분자각인 고분자의 제조

250 ml의 등근 유리 플라스크에 주형분자로 N-CBZ-L-phenylalanine을 넣고, 기능성 단량체로MAA, 혹은 MAA와 4-VPY를, 가교제로 EGDMA, 개시제로 AIBN을, 이상의 고체 성분들을 용해할 수 있는 porogen과 함께 넣었다(상세한 양은 Table 1에 표시하였다). 혼합용액을 초음파 분쇄기에 10분 동안 넣어 균일하게 혼합시킨 다음 헬륨가스를 사용하여 산소를 제거하는 과정을 10분 동안 진행하였다. 진공펌프를 사용하여 플라스크 내를 진공 상태로 만들고 입구를 막아 진공상태를 유지하였고 이런 상태에서 60°C의 항온조에 넣고 24시간 중합 반응을 진행하였다. 중합된 화합물은 진공상태를 해제한 후 오븐에 넣어 건조시켰다. 건조된 혼합물을 연마한 후 35  $\mu$ m의 체를 통과하여 화합물의 입자 크기를 35  $\mu$ m 이하로 공제하고 증류수로 침전시키는 과정을 4번 반복하여 상등액의 미세 입자를 제거함으로써 25-35  $\mu$ m의 입자를 얻었다. 입자를 다시 건조시킨 후 3.9  $\times$  150 mm의 컬럼에 충전하였다. Methanol:acetic acid = 90:10 (vol %)을 이동상으로 하여 0.1 ml/min의 유속으로 주형분자를 제거하였다.

Table 1. Scheme for the preparation of molecular imprinted polymer in this work

Polymer	Template (mmol)	Monomer (mmol)	Cross-linker (ml)	Initiator (g)	Porogen (ml)
	N-CBZ-L-phenylalanine	MAA/4-VPY	EGDMA	AIBN	ACN
P1	1	5/0	5.66	0.1	9
P2	1	9.4/8	7.55	0.1	9
P3	1	8/8	7.55	0.1	9

### 크로마토그래피 분석

아세트나이트릴을 이동상으로 하고 0.5 ml/min의 유속, 10  $\mu$ l의 주입부피, 258 nm의 UV wavelength로 MAA, MAA+4-VPY를 기능성 단량체로 한 분자각인 고분자의 분리 특성을 고찰하였다. N-CBZ-L-phenylalanine과 N-CBZ-D-phenylalanine은 아세트나이트릴에 용해하여 사용하였다. 분자각인 고분자를 고정상으로 한 액체크로마토그래피 시스템에서 이 두 이성질체의 체류인자는  $k = (t-t_0)/t_0$ 로 계산하였는데, t는 화합물의 체류 시간을 표시하고 t<sub>0</sub>는 컬럼에 체류되지 않는 물질의 체류 시간이다. 선택도는  $\alpha = k_1/k_2$ 로 계산하였는데, k<sub>1</sub>과 k<sub>2</sub>는 두 거울상 이성질체의 체류인자를 나타낸다. 칼럼의 고정상에 대한 머무름 시간을 측정하기 위하여 아세트은 공극표시물 (void marker)로 하여 측정하였다. 일반적으로 컬럼의 효율은 이론단수(N)에 의하여 표시된다. 피크의 tailing이 심하기 때문에  $N = 5.54 \times (t_R/W_{1/2})^2$ 을 이용하여 이론단수를 구하였는데 t<sub>R</sub>은 체류 시간을 나타내고 W<sub>1/2</sub>은 피크의 높이를 기준으로 1/2 지점에서

피크의 너비이다. 분리도는  $R = 2 \times (t_{R2}-t_{R1})/(w_1+w_2)$ 로 계산하였는데,  $t_{R1}$  과  $t_{R2}$ 는 두 화합물의 체류시간을 표시하고  $w_1$ 과  $w_2$ 는 두 화합물의 피크의 너비를 나타낸다.

**결과 및 고찰**

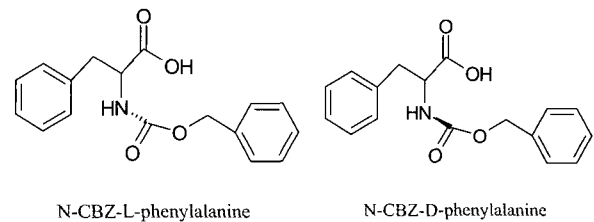
**주형분자와 단량체의 상호 작용력**

분자각인 고분자 기술은 목표물질을 주형분자로 하고 적합한 기능성 단량체를 선택하고 비극성 혹은 극성 용액 중에서 공유결합, 비공유결합, 금속이온결합을 통하여 복합물을 형성하고 일정한 온도 조건하에서 고도로 가교 결합된 네트워크 구조를 가진다. 적당한 용매를 사용하여 복합물에서 주형분자를 제거함으로써 네트워크 구조에서 주형분자의 입체 구조와 화학적 구조배열과 서로 연관되는 인식 공극을 가진다. N-CBZ-L-phenylalanine을 주형분자로 하고 MAA와 4-VPY를 기능성 단량체로 한 분자각인 제조과정을 Fig. 2에 나타냈다. MAA와 4-VPY가 N-CBZ-L-phenylalanine과 아세트나이트릴에 용해되어 가역적 복합물로 형성된다. EGDMA를 AIBN과 함께 투입하여 기능성 단량체-주형분자의 복합물 주위에 고분자를 형성한다. 일정한 용액을 사용하여 N-CBZ-L-phenylalanine을 제거함으로써 분자각인 고분자가 합성된다. 주형분자와 기능성 단량체는 용액 중에서 수소 결합, 소수성작용, 이온작용,  $\pi$ - $\pi$ 결합 등 비교적 약한 작용력에 의하여 결합한다. 비공유결합은 조작이 간단하고 주형분자가 제거하기 쉽기 때문에 일반적으로 사용된다. 또한 비공유결합의 다양성은 분자의 각인 능력, 분자식별 능력을 향상시킬 수 있으며 비공유결합의 형식이 많을수록 선택성이 증가된다. 그러므로 일반적으로 비공유결합의 분자 각인 기술이 공유결합의 분자 각인 기술보다 많이 사용된다.

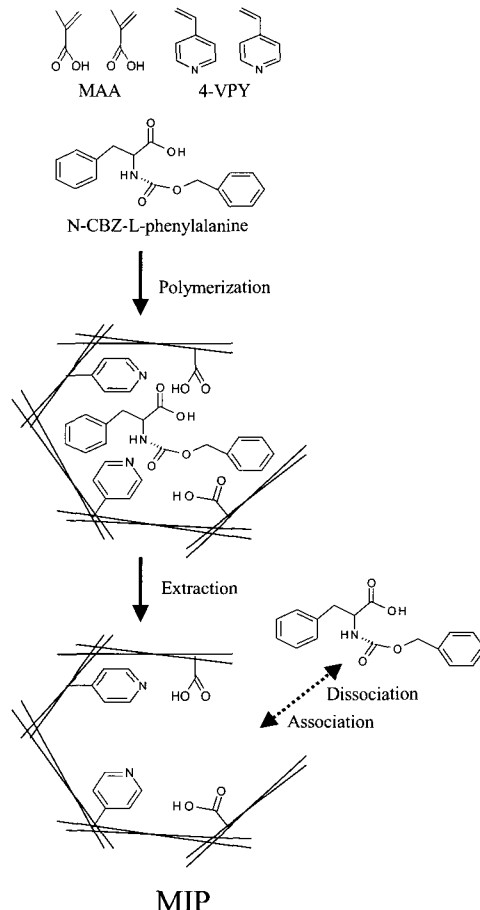
거울상 이성질체와 인식위치 사이에는 특이성과 비특이성 작용력이 존재하는데 키랄 물질의 분리에 주된 영향을 주는 것은 특이성 상호 작용력이다. 순수한 유기용매 중에서 거울상 이성질체와 인식위치사이에는 주로 수소결합을 형성하며 이온작용과 소수성 작용은 무시할 수 있을 정도로 작다. 그러나 이동상 중에 물의 함량이 증가함에 따라 거울상 이성질체와 인식위치사이의 수소결합능력이 점차 감소하게 된다. 이온작용과 소수성작용이 점차 증가한다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 이동상 중에 물의 함량이 1%로 되면 거울상 이성질체와 인식 위치 사이의 수소결합은 물의 강한 수소결합의 작용력의 영향을 받아 체류인자를 감소하지만 이온결합과 소수성결합이 특이성을 나타냄으로써 하여 선택성을 증가시킨다. 물의 함량이 10%이상 이 되면 이온작용과 소수성작용력의 증가에 의하여 체류인자가 증가하였고 이온작용력과 소수성작용력은 점차 수소결합을 대체하여 특이성을 나타내기 때문에 선택성은 크게 변하지 않았다.

분자각인 고분자를 제조하여 거울상 이성질체인 두 물질의 체류시간의 차이가 형성되었는데 분자각인 고분자가 L형에 대한 특이성 흡착 공극이 생성되었다는 것을 알 수 있다. 질소를 함유한 고리(N-heterocycles)화합물을 주형분자로 할 때 일반적으로 고리내의 질소원자와 MAA의 카르복실기가 수소결합을 형성하는데 수소결합의 강약은 주형분자의 알칼리성에

관계된다. 알칼리성이 강하면 수소결합이 강하여 화합물의 표면에 비교적 높은 농도의 특이성 흡착위치를 생성한다(20, 21). Fig. 1에서 N-CBZ-L-phenylalanine의 구조를 보면 N에 비교적 큰 작용기가 있기에 입체장애가 크고 질소원자의 전자밀도를 감소시키므로 알칼리성이 감소한다. 그러므로 N-CBZ-L-phenylalanine은 MAA와 약한 수소결합을 형성하며 특이적인 공극이 적고 합성 제조된 화합물의 대부분은 키랄 분리에 효과적이지 못하다. 기능성 단량체로 많이 사용되는 MAA는 고리내 및 고리외의 질소를 함유한 그룹과 이온작용을 일으키며 카르복실기와 수소결합을 형성 할 수 있다. 물은 비교적 높은 수소작용력을 갖고 있으며 이동상에 물의 함량이 증가함에 따라 물분자는 수소결합의 형식으로 결합자리를 차지함으로써 주형분자의 체류인자를 감소시킨다.



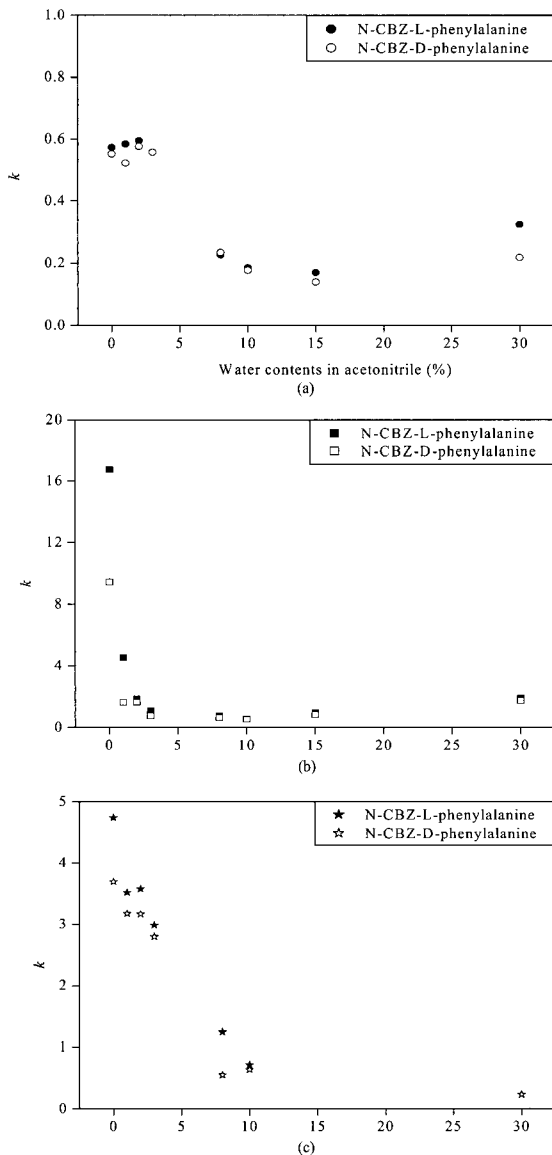
**Figure 1.** Chemical structure of N-CBZ-D,L-phenylalanine.



**Figure 2.** Schematic representation of molecularly imprinting process of N-CBZ-L-phenylalanine.

**혼합 기능성 단량체의 상호작용 효과**

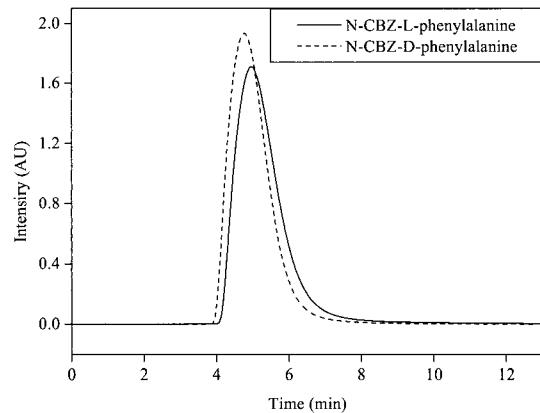
MAA와 4-VPY를 혼합 기능성 단량체로 사용함으로 하여 분자각인 고분자의 선택성을 제고할 수 있었다. Fig. 3에서 보다시피 혼합성분을 기능성 단량체로 한 분자각인 고분자 (P2와 P3)에서의 체류인자는 단일성분을 기능성 단량체로 한 분자각인 고분자 (P1)의 체류인자보다 더 높았다. P1에서 물의 함량이 2%일 때 L형의 분자에 대하여 0.6이라는 체류인자를 가졌는데 이 수치는 P1의 체류인자 중에서 가장 높은 것이었다. P2는 물이 함유되지 않은 이동상의 조건하에서 L형의 분자에 대하여 16.73이라는 가장 긴 체류인자를 가졌다. P3도 동일한 조건하에서 최고의 체류인자는 4.74이다. 혼합성분의 기능성 단량체는 일종의 상호작용 효과를 가진다는 것을 나타낸다.



**Figure 3.** Effect of water contents in the mobile phase on the retention factors of N-CBZ-D,L-phenylalanine ((a)=P1, (b)=P2, (c)=P3).

서로 다른 화학적 구조의 물질을 혼합하여 기능성 단량체로 사용함으로써 화합물의 그물 모양의 구조에서 많은 결합위치를 형성하여 주형분자와 그 유사물질의 흡착능력을 향상시킨

다. MAA는 구조식에 카르복실기가 있어 쉽게 주형분자와 수소결합을 형성한다. 물의 함량이 대략 10% 되기 전까지 기능성 단량체와 주형분자는 주로 수소작용력에 의해 결합하고 있다는 것을 알 수 있으며 체류인자는 이동상에서 물의 함량이 10% 미만에서 조절되었다. 비공유결합의 형태에서 주로 수소결합의 형태로 작용한다는 것을 알 수 있다. P2와 P3의 체류인자가 P1의 체류인자보다 높은 것은 MAA의 사용량이 상대적으로 많기 때문이다. 4-VPY는 염기성을 가지는 기능성 단량체로서  $pK_b=5.62$ 이다(22). 4-VPY는 주로 주형분자와 이온작용에 의하여 결합한다. 물이 함유되지 않은 이동상중에서 P2는 P3보다 체류인자가 커져서 오랜 체류시간을 갖게 되었다. P2에서 더 많이 사용된 MAA가 일으킨 작용의 결과라고 볼 수 있다. 그러나 이동상중에 물이 함유됨에 따라 P2에서 나타내는 체류인자는 P3와 비슷하거나 더 작은 값을 가졌다. P2와 P3에서 동일한 양의 4-VPY를 사용하였다. 4-VPY는 물의 함량이 증가함에 따라 주형분자와의 이온결합을 증가시키게 되었다. P3보다 P2에서 더 많이 사용한 MAA는 수소결합을 유지하려고 하면서 이온결합에 역효과를 일으켜서 소수성 작용력의 영향으로 하여 P3의 체류인자가 P2와 비슷하거나 작게 되었다. MAA의 수소작용력에 4-VPY의 이온작용력을 합하여 더 큰 작용력이 생성되었다. 전반적으로 MAA의 수소작용력과 4-VPY의 이온작용력의 상호작용으로 하여 P2와 P3의 체류인자는 P1의 체류인자보다 컸다.



**Figure 4.** Chromatogram of the two enantiomers on P1 (Mobile phase : ACN/H<sub>2</sub>O=99/1 vol. %).

**거울상 이성질체의 체류인자에 대한 영향**

D형과 L형의 거울상 이성질체를 아세토나이트릴을 주성분으로 하는 이동상을 사용하여 서로 다른 체류인자, 선택도, 컬럼의 이론단수, 분리도를 구할 수 있었다. MAA를 기능성 단량체로 하여 합성한 분자각인 고분자를 고정상으로 하고 아세토나이트릴에 1%의 물을 함유한 용액을 이동상으로 하여 얻은 두 거울상 이성질체의 크로마토그램을 Fig. 4로 나타냈다. L형의 시료가 D형의 시료보다 늦게 용출되는 것을 알 수 있다. D형과 L형의 시료가 갖는 컬럼의 이론단수는 약 100 정도로서 고성능 액체크로마토그래피에서 실리카를 사용하는 일반적인 컬럼의 103보다 훨씬 작았다. 체류시간은 L형이 D형보다 더 길었다. 0.10의 매우 낮은 분리도를 가졌다. P1 (MAA를 기능성 단량체로 한 분자각인 고분자)에서 가장 높은 분리도는

0.16이며 이 때 이동상의 조성은 30%의 물을 포함한 아세토나이트릴이다. 그러나 D형과 L형이 가지는 이론단수는 약 60 정도로서 1%의 물을 함유한 이동상에서보다 낮은 것으로 나타났다. L형은 D형보다 기능성 단량체와의 더 강한 흡착으로 하여 이론단수가 낮은 반면에 늦게 용출됨으로 하여 분리의 가능성을 보였다. 물 함량이 10%와 30%일 때, P3의 체류시간, 선택도, 이론단수, 분리도는 유속을 0.3 ml/min으로 하였을 때 측정된 수치이다. 4-VPY와 물의 강한 작용력에 의하여 물의 함량이 10%를 지남에 따라 컬럼의 압력이 급격히 증가하면서 0.5 ml/min의 유속으로 수행할 수 없었다. 순수한 아세토나이트릴을 이동상으로 하고 P2을 고정상으로 하였을 때, 두 거울상 이성질체의 크로마토그램을 Fig. 5로 나타냈다. P1에서보다 좀 더 좋은 분리형태를 나타냈으며 분리도는 0.30이며 D형과 L형의 이론단수는 10 정도로서 매우 작았다. 상대적으로 P1의 이론단수는 P2, P3보다 높았다. 그만큼 P1에서 피크의 tailing 현상이 P2와 P3보다 상대적으로 작은 반면에, P1의 체류인자와 분리도는 P2, P3보다 상대적으로 낮았다.

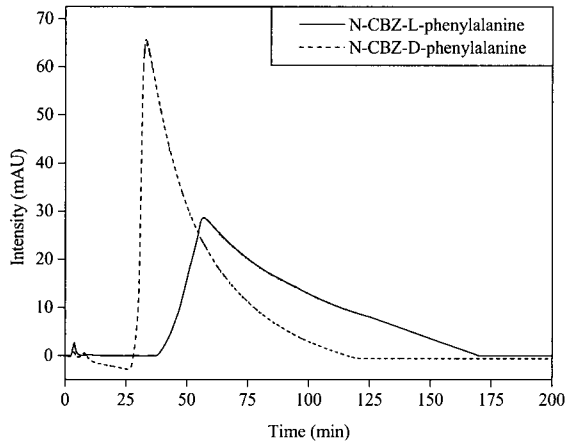


Figure 5. Chromatogram of the two enantiomers on P2 (Mobile phase : ACN).

N-CBZ-L-phenylalanine을 주형분자로 한 분자각인 고분자는 L형에 대하여 큰 체류시간을 가졌다. 분자각인 고분자에서 특이성 흡착위치가 생성되었고 이 흡착위치로 하여 N-CBZ-D-phenylalanine이 우선 용출되고 N-CBZ-L-phenylalanine이 후에 용출되었다. 주형분자 및 그와 공간 구조가 유사한 이성질체에 있어서 비공유 작용력의 크기는 작용력의 유형과 작용거리에 의하여 결정된다. 키랄 물질의 두 이성질체는 갖고 있는 기능성 그룹이 같기 때문에 기능성 단량체와의 작용력의 유형은 같게 된다. 기능성 그룹과 기능성 단량체사이의 작용력의 크기는 그와 각인된 공극과의 공간의 맞물림 차이로 하여 일어난 작용거리상의 차이로 하여 결정된다. 분자각인 고분자에서 공극은 주형분자 및 그와 공간구조가 유사한 이성질체에 대하여 사전에 결정된 인식능력을 가진다. L형 시료와 주형분자로 L형을 사용한 분자각인 고분자의 공극사이에는 우수한 맞물림 효과를 가진다. L형 시료의 기능성 그룹은 적합한 공간위치에서 기능성 단량체와 강한 수소결합, 이온작용 등 작용력을 가진다. D형 시료는 공극과의 맞물림 효과가 L형보다 떨어지기 때문에 기능성 단량체와 일으키는 작용력이 약하다. L형 이

성질체와 주형분자와의 강한 작용력 때문에 더 큰 체류인자를 가질 수 있었다. P2에서 이동상으로 100% 물을 사용하면 L형 시료는 분자각인 고분자와의 강한 흡착 때문에 용출되지 않았다. 이동상중에서 물의 함량이 증가함에 따라 체류인자를 비롯하여 분리도가 증가할 수 있지만 압력, 시료와 분자각인 고분자의 흡착으로 인하여 물 함량의 증가도 일정한 제한을 받게 된다. 물의 함량에 따른 선택도의 변화를 Fig. 6으로 나타냈다. 물의 함량이 증가함에 따라 P1의 선택도는 증가하였고 P2와 P3의 선택도는 감소하였다. 선택도는 1부터 1.5사이에서 존재하였고 낮은 컬럼 효율에 의하여 높은 분리도를 가지지 못하였다. 거울상 이성질체의 두 물질에 대한 완전한 분리는 실행되지 못하였지만 체류인자와 분리도의 영향을 고찰하였다.

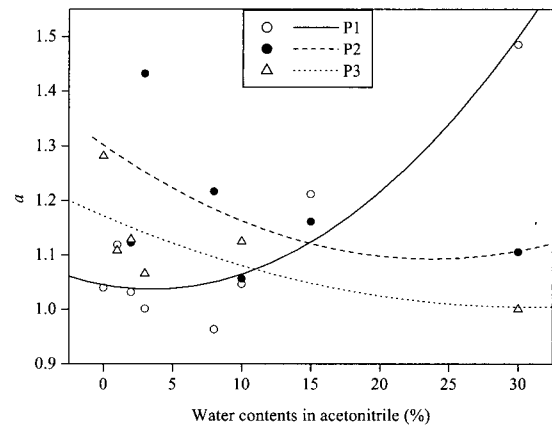


Figure 6. Effect of water contents in the mobile phase on the selectivity factors of N-CBZ-D,L-phenylalanine.

요 약

N-CBZ-L-phenylalanine를 주형분자로 하고 MAA와 4-VPY를 기능성 단량체로 하여 분자각인 고분자를 합성하였다. N-CBZ-L-phenylalanine와 MAA, 4-VPY는 수소결합의 영향을 많이 받고 있으며 이온결합과 소수성결합도 작용하고 있다. 혼합성분을 기능성 단량체로 사용함으로써 하여 단량체의 성분들 사이에서 상호작용 효과를 나타냈다. 실험결과에 의하면 혼합 성분인 MAA와 4-VPY를 기능성 단량체로 한 분자각인 고분자에서의 체류인자가 단일성분인 MAA를 사용한 고분자에서의 체류인자보다 컸고 컬럼 효율은 낮았지만 분리도는 높았다. 산성인 MAA와 염기성인 4-VPY를 함께 사용함으로써 거울상 이성질체인 N-CBZ-L-phenylalanine과 N-CBZ-D-phenylalanine의 분리도를 증가시킬 수 있었다. 혼합된 성분의 기능성 단량체로 하여 제조된 분자각인 고분자를 키랄 물질의 분리를 비롯한 천연물질의 분리에 더 광범위하게 사용될 수 있을 것이다.

감 사

본 연구는 인하대학교 고순도분리연구실에서 수행하였으며, 초정밀생물분리기술연구센터의 연구비 지원에 감사드립니다.

## REFERENCES

1. Yu, C. and K. Mosbach (2000), Influence of mobile phase composition and cross-linking density on the enantiomeric recognition properties of molecularly imprinted polymers, *J. Chromatogr. A.* **888**, 63-72.
2. Failhurst, R. E., C. Chassaing, R. F. Venn, and A. G. Mayes (2004), A direct comparison of the performance of ground, beaded and silica-grafted MIPs in HPLC and Turbulent Flow Chromatography applications, *Biosensors and Bioelectronics* **20**, 1098-1105.
3. Liu, Z. S., Y. L. Xu, C. Yan, and R. Y. Gao (2004), Preparation and characterization of molecularly imprinted monolithic column based on 4-hydroxybenzoic acid for the molecular recognition in capillary electrochromatography, *Anal. Chim. Acta.* **523**, 243-250.
4. Nilsson, J., P. Spiegel, and S. Nilsson (2004), Molecularly imprinted polymer formats for capillary electrochromatography, *J. Chromatogr. B.* **804**, 3-12.
5. Chen, X., C. Yia, X. Q. Yan, and X. R. Wang (2004), Liquid chromatography of active principles in *Sophora flavescens* root, *J. Chromatogr. B.* **812**, 149-163.
6. Kugimiya, A. and T. Takeuchi (1999), Application of indoleacetic acid-imprinted polymer to solid phase extraction, *Anal. Chim. Acta.* **395**, 251-255.
7. Blomgre, A., C. Berggren, A. Holmberg, F. Larsson, B. Sellergren, and K. Ensing (2002), Extraction of clenbuterol from calf urine using a molecularly imprinted polymer followed by quantitation by high-performance liquid chromatography with UV detection, *J. Chromatogr. A.* **975**, 157-164.
8. Yano, K. and I. Karube (1999), Molecularly imprinted polymers for biosensor applications, *Trends in Anal. Chem.* **18**(3), 199-204.
9. Snowden, T. S. and E. V. Anslyn (1999), Anion recognition: synthetic receptors for anions and their application in sensors, *Current Opinion in Chem. Bio.* **3**(6), 740-746.
10. Park, J. K., H. Khan, and J. W. Lee (2004), Preparation of phenylalanine imprinted polymer by the sol-gel transition method, *Enzyme and Microbial Technology* **35**, 688-693.
11. Allender, C. J., K. R. Brain, C. Ballatore, D. Cahardc, A. Siddiqui, and C. McGuigan (2001), Separation of individual antiviral nucleotide prodrugs from synthetic mixtures using cross-reactivity of a molecularly imprinted stationary phase, *Anal. Chim. Acta.* **435**, 107-113.
12. Lu, Y., C. X. Li, H. S. Zhang, and X. H. Liu (2003), Study on the mechanism of chiral recognition with molecularly imprinted polymers, *Anal. Chim. Acta.* **489**, 33-43.
13. Wistuba, D., and V. Schurig (2000), Enantiomer separation of chiral pharmaceuticals by capillary electrochromatography, *J. Chromatogr. A.* **875**, 255-276.
14. Ulbricht, M. (2004), Membrane separations using molecularly imprinted polymers, *J. Chromatogr. B.* **804**, 113-125.
15. Wulff, G. (1995), Molecular Imprinting in cross-linked materials with the aid of molecular template—a way towards artificial antibodies, *Angew. Chem. Int. Engl.* **34**, 1812-1832.
16. Kriz, D. and K. Mosbach (1994), Competitive amperometric morphine sensor based on an agarose immobilized molecularly imprinted polymer, *Anal. Chim. Acta.* **300**, 71-75.
17. Piletsky, S. A., E. V. Piletska, A. Bossi, K. Karim, P. Lowe, and A. P. F. Turner (2001), Substitution of antibodies and receptors with molecularly imprinted polymers in enzyme-linked and fluorescent assays, *Biosensors & Bioelectronics.* **16**, 701-707.
18. Kempe, M. and K. Mosbach (1997), Direct resolution of naproxen on a non-covalently molecular imprinted chiral stationary phase, *J. Chromatogr. A.* **664**, 276-279.
19. Huang, X. D., F. Qin, X. M. Chen, Y. Q. Liu, and H. F. Zou (2004), Short columns with molecularly imprinted monolithic stationary phases for rapid separation of diastereomers and enantiomers, *J. Chromatogr. B.* **804**, 13-18.
20. Dauwe, C. and B. Sellergren (1996), Influence of template basicity and hydrophobicity on the molecular recognition properties of molecularly imprinted polymers, *J. Chromatogr. A.* **753**, 191-200.
21. Pap, T., V. Horvath, A. Tolokan, G. Horvai, and B. Sellergren (2002), Effect of solvents on the selectivity of terbutylazine imprinted polymer sorbents used in solid-phase extraction, *J. Chromatogr. A.* **973**, 1-12.
22. Simon, R. L. and D. A. Spivak (2004), Performance analysis of molecularly imprinted polymers for carboxylate and aminophosphate templates using commercially available basic functional monomers, *J. Chromatogr. B.* **804**, 203-209.