

테오필린 분자 날인 고분자의 합성 및 특성

유호식 · 김범수 · 김대수[†]

충북대학교 화학공학과

(2007년 12월 10일 접수, 2008년 1월 16일 채택)

Synthesis and Characterization of Theophylline Molecularly Imprinted Polymers

Ho Sik Ryu, Beom Soo Kim, and Dae Su Kim[†]

Department of Chemical Engineering, Chungbuk National University,

410 Sungbongro, Cheongju, Chungbuk 361–763, Korea

(Received December 10, 2007; Accepted January 16, 2008)

초록 : 분자 날인 기술은 표적 분자에 대해 높은 선택도를 갖는 합성 재료를 제조하기 위한 효과적인 방법이다. 본 연구에서는 주형 분자로 테오필린(theophylline)을, 가교제로 폴리에스터-아크릴레이트 수지를 사용하여 UV 중합을 통해 분자 날인 고분자(MIP)를 합성하였다. 기능성 단량체 종류가 MIP의 성능에 미치는 영향을 알아보기 위해, 메타크릴산(mathacrylic acid), 아크릴산(acrylic acid), 그리고 아크릴 아미드(acrylic amide)를 기능성 단량체로 각각 사용하여 MIP를 합성하였다. MIP는 비날인 고분자(NIP)보다 테오필린에 대해 훨씬 더 높은 재결합 능력을 보였다. 메타크릴산을 사용하여 합성한 MIP는 가장 높은 재결합 능력을 보였다. MIP의 선택도는 테오필린과 분자구조가 유사한 카페인(caffeine) 용액을 사용하여 조사하였다. 클로로포름보다 극성인 증류수를 용매로 사용하였을 경우 MIP의 테오필린 재결합 성능은 감소하였다.

Abstract : Molecularly imprinting technology is an effective method to prepare a synthetic material with a high selectivity to a target molecule. In this study, a molecularly imprinted polymer (MIP) was synthesized via UV-polymerization using theophylline and UV-curable polyester-acrylate resin as a template molecule and a crosslinker, respectively. To elucidate the effects of functional monomer type on the performance of the MIP, each MIP was synthesized using mathacrylic acid, acrylic acid, and acrylic amide as functional monomers. Each MIP showed higher rebinding capacity to theophylline than its corresponding non-imprinted polymer (NIP). The MIP synthesized using mathacrylic acid as a functional monomer showed the highest rebinding capacity to theophylline. The selectivity of the MIP was investigated using a solution with caffeine having a very similar structure to theophylline. The binding performance of the MIP to theophylline decreased when distilled water was used as a solvent, which has more polarity than chloroform.

Keywords : molecularly imprinted polymers, theophylline, functional monomer type, polyester-acrylate resin.

서 론

높은 선택도의 분자 인식 능력을 가질 뿐만 아니라 구조적으로도 안정한 MIP의 개발에 대한 연구는 근래에도 활발히 진행되고 있다.¹⁻⁴ 분자 날인은 가교 결합된 고분자 매트릭스(matrix) 내에 높은 친화력으로 주형(표적) 분자를 날인할 수 있는 자리를 만드는 기술이다.⁵ Wulff 등은 1972년에 처음으로 유기 고분자를 이용한 분자 날인(imprinting) 기술을 보고하였다.⁶

MIP를 합성하기 위한 반응계는 주형분자, 기능성 단량체, 가교제, 그리고 용매로 구성된다. 라디칼 중합을 유도하기 위해서는 적합한 개시제 또한 포함된다. 기능성 단량체는 주형분자와의 상호작용에 의한 인력을 통해 주형분자 주위에 결합되고, 결합된 기능성 단량체의 반응성 그룹은 가교제와 중합반응을 통해 고분자가 되므로 주형분자의 주위에 미리 결합된 기능성 단량체의 위치는 3차원적으로 고정된다. 그러므로 주형분자를 제거한 이후에도 MIP는 주형분자를 선택적으로 재결합할 수 있는 특정한 결합 부위를 유지한다(Figure 1).

MIP는 수소 결합, $\pi-\pi$ 집합, 정전기적인 상호 작용, 소수성 상호 작용과 같은 비공유결합 방법과 공유결합 방법에 의해 합성될 수 있

[†]To whom correspondence should be addressed.
E-mail: dskim@chungbuk.ac.kr

실 험

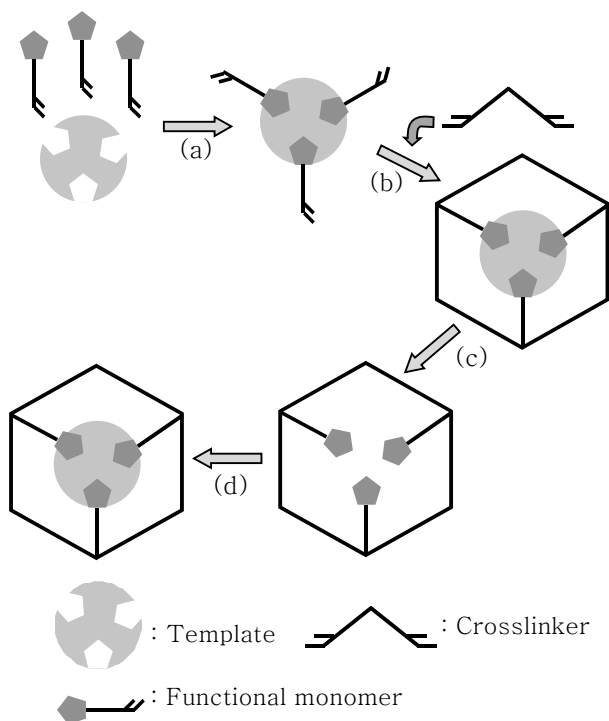


Figure 1. Schematic representation of a molecular imprinting process. (a) self-assembly, (b) polymerization, (c) extraction, and (d) rebinding.

다.⁷ 비공유결합 방법은 여러 가지 주형 분자들에 대해 비교적 쉽게 적용할 수 있기 때문에 일반적으로 널리 이용된다.⁸

MIP는 높은 선택성과 탁월한 분자 인식 능력을 갖고 있기 때문에 이미 여러 분야에 널리 사용되고 있다. 예를 들면 HPLC,^{9,10} 모세관 전기영동,^{11,12} TLC의 고정상으로¹³ 사용되며, 고정상 추출,^{14,15} 생물 모사 감응기,^{16,17} 약물 분리,¹⁸ 임상 분석,¹⁹ 아미노산 및 유도체,²⁰ 당류 및 유도체,²¹ 막 분리²² 등에 MIP가 사용된다. MIP는 높은 압력에 견디며 넓은 온도 범위에서 사용할 수 있다. 그리고 뛰어난 물리, 화학적 안정성이 있어 강산, 강염기, 이온 및 유기용매에서도 사용할 수 있다. 그러므로 여러 가지 이동상으로 사용할 수 있고 광범위한 조건 하에서 실험을 진행할 수 있으며 오랜 시간 동안 안정적으로 보관할 수 있다.^{23,24}

최근 연구들을 살펴보면 새로운 MIP의 합성 및 적용 분야의 확대에 주로 연구의 초점을 맞추고 있는 반면 주형 분자와 기능성 단량체 사이에서 생기는 결합 메커니즘과 상호 작용의 이해에 대한 연구는 상대적으로 미흡하다.²⁵ 하지만, MIP의 선택적인 인식 능력은 주형분자와 기능성 단량체 사이의 상호 작용에 의해 결정된다. 그러므로 적합한 기능성 단량체의 선택은 제조된 MIP의 성능에 결정적인 역할을 하므로 매우 중요하다.²⁶ 그러므로 본 연구에서는 메타크릴산, 아크릴산, 그리고 아크릴 아미드를 기능성 단량체로 각각 사용하여 각각 제조된 MIP의 성능을 조사하였다. 또한, 대표적인 UV 경화형 수지인 폴리에스터-아크릴레이트 수지를 가교제로 사용하여 UV 중합법에 의해 MIP를 합성하고자 하였으며 각각의 MIP 반응계의 UV 중합반응 특성을 FT-IR을 이용하여 분석하였다.

시약 및 재료. 주형분자인 테오필린(THO, $M_w=180.16$ g/mol)과 카페인(CAF, $M_w=194.19$ g/mol), 기능성 단량체인 메타크릴산(MAA, $M_w=86.09$ g/mol), 아크릴산(AA, $M_w=72.06$ g/mol), 그리고 아크릴 아미드(ACM, $M_w=71.08$ g/mol)는 Sigma-Aldrich Chemicals에서 구입하여 사용하였다. 가교제인 폴리에스터-아크릴레이트 수지($M_w=600$ g/mol)는 SK-Cytec에서 제공받았으며, 광개시제인 1-hydroxy-cyclohexyl-phenyl ketone($M_w=204.3$ g/mol)은 Ciba Specialty Chemical에서 제공 받았다. 용매로 사용된 클로로포름(chloroform)과 아세트산(acetic acid)은 J. T. Baker와 Sinyo Pure Chemicals에서 각각 구입하여 사용하였다.

측정 기기. MIP의 UV 중합을 위해 1 kW 세기의 고압수은램프가 장착된 UV 경화 장치(JU-101, Jeil UV)를 이용하였다. FT-IR (Bomem MB 100)을 이용하여 UV 조사량의 증가에 따른 MIP 중합 반응계의 적외선 흡수스펙트럼을 얻었으며 이를 분석하여 MIP 반응계의 UV 중합 특성을 살펴보았다.

중합된 MIP로부터 주형분자를 추출, 제거하는 과정 및 제조된 MIP에 주형분자가 재결합되는 과정을 알아보기 위하여 UV-visible 분광광도계(Scinco, S-4100)를 이용하여 주형분자 용액의 UV 흡광도를 측정하였다. 예비 실험을 통해 미리 준비한 주형분자 용액의 흡광도-농도 곡선을 이용하여 이 흡광도 데이터로부터 주형분자 용액의 농도를 결정하였다.²⁷

MIP 제조. 클로로포름 용액에 THO 1 mmol을 초음파를 이용하여 용해시킨 후, 여기에 8 mmol의 MAA, AA, 또는 ACM을 혼합한 후 THO와 기능성 단량체가 잘 결합할 수 있도록 상온에서 1시간 동안 방치하였다. 그런 다음 가교제인 폴리에스터-아크릴레이트 수

Table 1. The Composition of Each Reacting Medium for UV Polymerization

Polymer	MIP-1	NIP-1	MIP-2	NIP-2	MIP-3	NIP-3
THO(mmol)	1	-	1	-	1	-
Monomer(mmol)	MAA(8)	MAA(8)	AA(8)	AA(8)	ACM(8)	ACM(8)
EB 81(mmol)	30	30	30	30	30	30
I 184(g)	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18

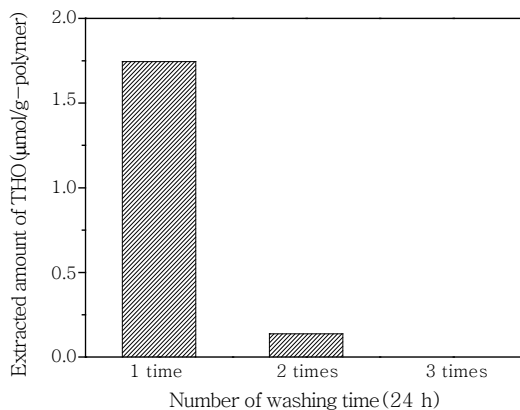


Figure 2. Extracted amount of THO from the unwashed MIP-1 with washing times.

지 30 mmol과 광개시제(I 184) 0.18 g을 첨가하여 혼합하였다. 이렇게 혼합용액 형태로 만들어진 MIP 반응계를 유리판 위에 코팅한 후 UV를 이용하여 중합함으로써 막 형태의 MIP 필름을 제조하였다. 각각의 MIP 반응계에 대한 성분들을 Table 1에 나타내었다. 중합된 고분자로부터 주형분자인 THO를 추출, 제거하기 위하여 클로로포름/아세트산(9/1, v/v) 용액을 사용하였으며 THO를 완전히 추출, 제거하기 위하여 24시간씩 3번에 걸쳐 세척하였다. Figure 2를 보면 알 수 있듯이 3번째 세척 과정에서는 더 이상 추출, 제거되는 THO가 없으므로 2번의 세척이면 충분함을 알 수 있다. 세척된 MIP 필름은 60 °C의 진공오븐 내에서 24시간 건조하였다.

THO가 날인된 MIP와 비교 실험을 하기 위해 THO를 날인하지 않은 비날인 고분자(NIP)도 각각 제조하였는데 이 경우에는 주형분자로 사용된 THO만 고분자 중합 시 첨가하지 않았으며 다른 성분들은 모두 동일한 조건으로 하였다.

결과 및 토론

UV 중합 거동. MIP 반응계의 UV 중합 과정에서 가교제 및 기능성 단량체의 아크릴레이트 이중 결합은 중합 반응에 의해 점차 소멸된다. 따라서 중합 반응의 진행에 따른 아크릴레이트 이중 결합의 농도 변화를 측정하여 UV 중합 반응 전환율을 구할 수 있으며 이를 통해 UV 중합 거동을 살펴볼 수 있다.

기능성 단량체로 MAA가 포함된 MIP-1 반응계의 UV 중합 과정 중 적외선 스펙트럼의 변화를 785~835 cm⁻¹ 파동수 영역에 대해서 Figure 3에 나타내었다. 총 UV 조사량이 0에서 4.2 J/cm²까지 증가함에 따라 중합 반응에 의한 이중 결합의 농도 감소로 가교제와 기능성 단량체의 아크릴레이트 이중 결합에 기인한 810 cm⁻¹에서의 흡수 피크의 크기가 급격히 감소함을 알 수 있다. 이 흡수 피크의 면적(A) 변화로부터 아크릴레이트 이중 결합의 중합 반응 전환율을 구할 수 있다. 이 때 중합 반응에 전혀 영향을 받지 않는 830 cm⁻¹에서의 흡수 피크를 기준으로 삼아 810 cm⁻¹에서의 흡수 피크의 상대적인 면적을 보정하였으며, 아크릴레이트 이중 결합의 전환율을 α, 총 UV 조사량을 D 라고 했을 때, 식 (1)에 의해 전환율을 구할 수 있었다.

$$\alpha = 1 - \frac{[\text{acrylate}]_D}{[\text{acrylate}]_{D=0}} = 1 - \frac{A_D^{810} / A_D^{830}}{A_{D=0}^{810} / A_{D=0}^{830}} \quad (1)$$

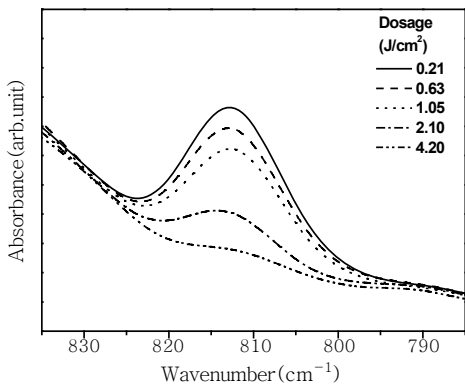


Figure 3. Partial FT-IR spectra showing the decrease of the absorption peak at 810 cm⁻¹ during UV-polymerization.

FT-IR 스펙트럼 상의 다른 위치, 즉 984, 1409, 그리고 1635 cm⁻¹에서 나타나는 아크릴레이트 이중 결합에 대한 흡수 피크를 이용해서도 MIP 중합 반응에 대한 전환율을 계산할 수 있다. 그렇지만 이 피크들은 다른 피크들과 중첩되는 등 810 cm⁻¹에서 나타나는 피크보다 상대적으로 해석하기 어려운 점이 있어 본 연구에서는 810 cm⁻¹에서 나타나는 피크를 이용하여 MIP 중합 반응 전환율을 계산하였다.

총 UV 조사량의 변화에 따른 MIP 및 NIP 반응계의 UV 중합 반응 전환율의 변화를 기능성 단량체(MAA, AA, ACM)의 종류에 따라 Figure 4에 나타내었다. MAA를 포함한 MIP-1, NIP-1 반응계의 중합 반응 속도가 중합 반응 초기에는 가장 느린 것으로 나타났지만 최종 반응 전환율은 기능성 단량체의 종류에 관계없이 모두 비슷하게 0.9 이상이므로 충분히 높은 것으로 나타났다. 다른 두 가지 기능성 단량체를 포함한 MIP 및 NIP 반응계에 비하여 MAA를 포함한 MIP 및 NIP 반응계의 경우에 초기 반응 속도가 느린 이유는 MAA의 분자량이 다른 기능성 단량체보다 상대적으로 클 뿐만 아니라 MAA의 methyl 기에 의한 입체장애 효과가 있기 때문인 것으로 사료된다.

MIP의 결합 성능. 일정한 양의 MIP(50 mg)를 기준 양으로 정하여 THO 용액의 농도 변화(0~20 μg/mL)에 따른 MIP의 THO 재결합 능력을 조사하였으며 그 결과를 NIP의 경우와 비교하여 Figure 5

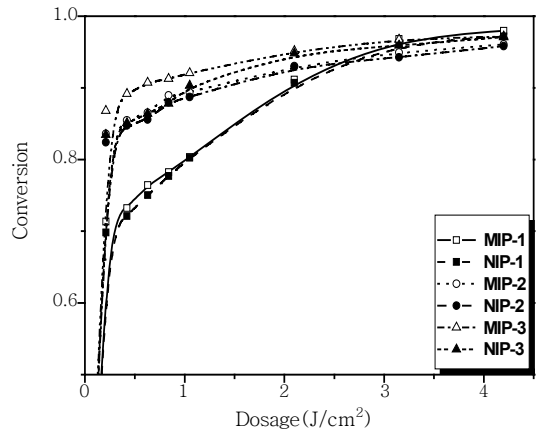


Figure 4. Conversion change with UV-dosage for various polymer systems.

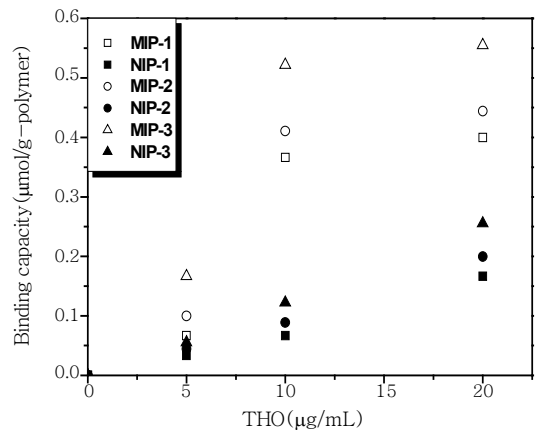


Figure 5. Binding performance of the imprinted and non-imprinted polymers.

에 나타내었다. 그림에서도 알 수 있듯이 모든 MIP는 THO 용액의 농도가 5에서 10 $\mu\text{g/mL}$ 로 증가함에 따라 MIP의 THO 결합 능력이 급속히 증가하였다. 그러나 THO 용액의 농도를 10에서 20 $\mu\text{g/mL}$ 로 증가시켰을 경우에는 THO 용액의 농도 증가에 따른 MIP의 THO 결합 능력에 큰 변화를 보이지 않았다. 한편, THO 용액의 농도가 증가할수록 NIP의 THO 결합 능력이 점진적인 증가를 보였는데 이는 분자 날인과는 무관하며 THO와 NIP 사이의 일반적인 수소결합의 증가에 기인한다. NIP의 THO에 대한 일반적인 결합 능력이 증가할수록 MIP의 선택도는 감소한다.²⁸ 그러므로, 본 연구에서는 MIP의 날인에 의한 결합 능력은 높고 NIP의 일반적인 결합에 의한 결합 능력은 상대적으로 낮은 것으로 나타난 10 $\mu\text{g/mL}$ 의 THO 용액 농도에서 50 mg의 MIP를 사용하여 재결합 성능을 평가하였다.

세 가지 기능성 단량체를 각각 사용하여 합성한 MIP와 NIP의 재결합 성능 실험에 대한 결과를 Figure 5에서 볼 수 있다. THO에 대하여 MIP의 재결합 능력은 높고 NIP의 재결합 능력은 상대적으로 낮게 나타난 10 $\mu\text{g/mL}$ 의 THO 용액 농도에서 각각의 MIP의 선택도를 계산하였다. 다음 식들에 의해 계산되는 날인 인자(imprinting factor, IF)는 주형분자에 대한 MIP의 선택도 지표로 사용된다.

$$K_D = \frac{C_p}{C_s} \quad (2)$$

$$IF = \frac{K_D(\text{MIP})}{K_D(\text{NIP})} \quad (3)$$

여기서 C_p ($\mu\text{mol/g}$)는 중합체(MIP, NIP)에 대한 THO의 결합된 농도이고 C_s ($\mu\text{mol/mL}$)는 결합 실험을 위한 용액상에서의 THO의 농도를 의미한다. K_D (MIP)와 K_D (NIP)는 MIP와 NIP의 분리 계수이다.²⁹ 식 (2)는 주형분자의 묽은 용액에서 MIP 재결합 실험을 진행하는 경우에 보다 정확하게 적용될 수 있다.³⁰ 기능성 단량체를 달리 하여 제조한 각각의 MIP에 대해 식 (3)을 이용하여 IF 값을 계산하였으며 그 결과를 Table 2에 정리하였다. 기능성 단량체로 MAA를 사용한 MIP가 가장 높은 IF 값을 보였고 ACM을 사용한 MIP가 가장 낮은 IF 값을 보였다. ACM을 사용한 MIP의 경우 가장 높은 결합 성능을 보였으나 비날인 고분자의 결합 성능도 높게 나타나 날인에 의한 값을 나타내는 IF 값은 낮은 것으로 나타났다.

MIP의 선택도. THO MIP의 선택도를 조사하기 위하여 THO와 분자구조가 유사한 카페인 용액을 사용해서 MIP의 재결합 실험을 수행하였으며 그 결과를 Figure 6에 나타내었다. 세 가지 MIP 중 가장 IF 값이 높았던 MIP-1에 대해 선택도를 조사하였다. MIP-1의

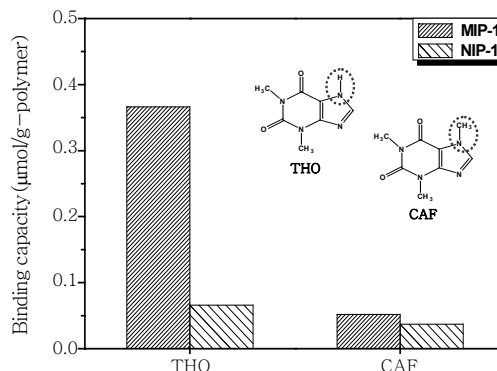


Figure 6. Binding performance of 10 $\mu\text{g/mL}$ THO and 10 $\mu\text{g/mL}$ CAF by MIP-1 and NIP-1.

결합 능력은 THO에 대해 0.37 $\mu\text{mol/g}$, 카페인에 대해 0.05 $\mu\text{mol/g}$ 인 것으로 나타났다. 대응하는 비날인 고분자(NIP-1)는 THO에 대해 0.07 $\mu\text{mol/g}$, 카페인에 대해 0.04 $\mu\text{mol/g}$ 의 결합 능력을 나타냈다. 카페인에 대한 결합능력이 NIP-1보다 MIP-1에서 아주 조금 더 높게 나타난 이유는 MIP-1의 경우 날인에 의한 공간이 생겨 THO를 날인하지 않은 NIP-1에 비해 카페인 분자의 접근이 더 용이하기 때문인 것으로 사료된다. 즉, MIP-1 내부에 존재하는 THO 날인 위치에 공간적으로 결합되는 카페인 분자에 의해 카페인에 대한 결합능력이 NIP-1보다 MIP-1에서 아주 미세하게 증가한 것으로 판단할 수 있다.

Figure 6의 결과로부터 알 수 있듯이 MIP-1은 THO와 카페인에 대한 선택도 실험 결과 THO에 대해 높은 선택도를 나타냈다. 이러한 선택도 결과는 두 주형분자의 분자구조 비교에서도 알 수 있듯이 THO에는 N-H 결합이 있는 반면 카페인은 N-CH₃ 그룹이 존재하기 때문에 나타난 것으로, 이것은 인식 위치에 있는 기능성 단량체와 상호 작용하는 주형분자의 수소 결합 위치의 손실을 가져와 MIP-1의 주형분자인 THO 날인 위치에 카페인 분자가 접근할 경우에는 MIP와 카페인 분자 사이의 적절한 수소 결합을 통한 날인에 의한 분자 인식이 불가능함을 나타낸다.

용매에 따른 MIP의 결합 성능 변화. MIP-1 내부의 THO 분자 날인 부위에 존재하는 기능성 단량체 부분과 THO 분자 사이의 상호 작용을 통한 THO 분자 인식 능력은 용매의 종류에 따라 큰 영향을 받을 것으로 생각되었다. 그러므로 용매의 종류에 따른 MIP-1의 THO 재결합 성능 변화를 살펴보기 위하여 극성 용매인 증류수와 상대적으로 비극성 용매인 클로로포름을 사용하여 실험하였다. THO 재결합 실험은 THO가 10 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 용해되어 있는 증류수와 클로로포름 용액을 각각 사용하였으며 MIP-1과 NIP-1의 양은 기본 양인 50 mg을 사용하였다. Figure 7에서 알 수 있듯이 MIP-1의 THO 재결합 능력이 클로로포름 용액에서는 0.37 $\mu\text{mol/g}$ 으로 높게 나타났으나 증류수 용액에서는 0.15 $\mu\text{mol/g}$ 으로 낮게 나타났다.

이러한 결과는 주형분자인 THO와 MIP-1 내부의 분자 날인 위치에 존재하는 기능성 단량체(MMA)의 관능기 사이의 수소 결합이 THO 분자의 재결합에 매우 중요하다는 것을 나타낸다. 클로로포름보다 더 극성 용매인 증류수는 THO 분자와 MIP-1 내부의 기능성 단량체의 관능기 사이에 형성되는 수소 결합을 방해함으로써 THO 분자의 재

Table 2. Imprinting Factors for Each Functional Monomer Calculated at 10 $\mu\text{g/mL}$ THO Concentration

Functional monomers	K_D (MIP)	K_D (NIP)	Imprinting factor (IF)
MAA	0.2033	0.0369	5.5095
AA	0.2280	0.0492	4.6341
ACM	0.2896	0.0677	4.2777

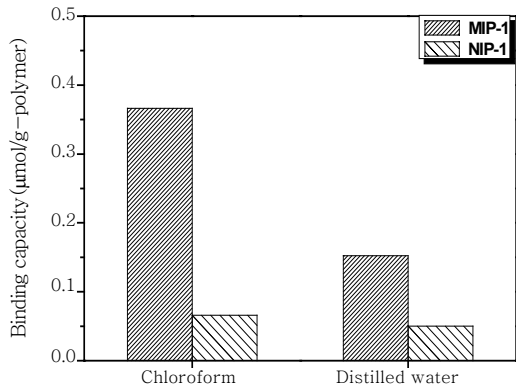


Figure 7. Binding performance of MIP-1 and NIP-1 in chloroform and distilled water.

결합 과정에서 기능성 단량체의 관능기와 THO의 결합력을 약하게 하므로 THO의 결합 성능을 떨어뜨릴 수 있다고 판단되었다. MIP를 합성할 때 사용된 용매를 재결합 성능 평가 시에도 동일하게 사용할 경우 용매에 극성 등에 기인한 MIP의 팽창 및 수축에 대한 영향을 배제할 수 있으므로 중합과 재결합 성능 평가 시 동일한 용매가 사용되었을 때 최적의 분자 인식이 가능하다는 것을 보고한 바 있다.³¹

결 론

테오필린을 주형분자로, UV 경화형 폴리에스터-아크릴레이트 수지를 가교제로 사용하고 메타크릴산, 아크릴산, 그리고 아크릴 아미드를 기능성 단량체로 각각 사용하여 MIP와 NIP를 UV 중합에 의해 성공적으로 제조하였다. FT-IR 분석 결과 UV 중합 속도가 빠르게 진행될 뿐만 아니라 최종 반응 전환율도 0.9 이상으로 높다는 것을 알 수 있었다. 각각의 기능성 단량체를 이용하여 만든 MIP는 NIP와 비교했을 때, 테오필린에 대해 월등히 높은 결합 성능을 나타냈다. 테오필린 재결합 성능은 기능성 단량체로 메타크릴산을 사용하여 중합한 MIP가 다른 기능성 단량체를 사용하여 중합한 MIP 보다 우수하였다. 기능성 단량체로 메타크릴산을 사용하여 중합한 MIP는 분자구조가 테오필린과 아주 유사한 카페인을 재결합하는 능력이 매우 낮은 것으로 나타났으며 이로부터 테오필린 MIP의 선택성이 높다는 것을 알 수 있었다. MIP의 테오필린 재결합 성능은 클로로포름보다 더 극성 용매인 증류수를 사용할 경우 크게 떨어졌다.

감사의 글 : 이 논문은 2007년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

참 고 문 헌

1. L. Ye and K. Mosbach, *React. Funct. Polym.*, **48**, 149 (2001).
2. G. Wulff, *Chem. Rev.*, **102**, 1 (2002).
3. P. A. G. Cormack and A. Z. Elorza, *J. Chromatogr. B*, **804**, 173 (2004).

4. K. Shea, *J. Trends Polym. Sci.*, **2**, 166 (1994).
5. S. H. Cheong, C. Y. Oh, J. I. Seo, and J. K. Par, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **16**, 115 (2001).
6. G. Wulff and A. Sarhan, *Angew. Chem.-Int. Edit. Engl.*, **11**, 341 (1972).
7. E. Caro, R. M. Marce, F. Borrull, P. A. G. Cormack, and D. C. Sherrington, *Trends Anal. Chem.*, **25**, 143 (2006).
8. L. I. Andersson, *J. Chromatogr. B*, **745**, 3 (2000).
9. C. Yu and K. Mosbach, *J. Chromatogr. A*, **888**, 63 (2000).
10. R. E. Fairhurst, C. Chassaing, R. F. Venn, and A. G. Mayes, *Biosens. Bioelectron.*, **20**, 1098 (2004).
11. Z. S. Liu, Y. L. Wu, C. Yan, and R. Y. Gao, *Anal. Chim. Acta*, **523**, 243 (2004).
12. J. Nilsson, P. Spege, and S. Nilsson, *J. Chromatogr. B*, **804**, 3 (2004).
13. X. Chen, C. Yia, X. Q. Yan, and X. R. Wang, *J. Chromatogr. B*, **812**, 149 (2004).
14. A. Kugimiya and T. Takeuchi, *Anal. Chim. Acta*, **395**, 251 (1999).
15. A. Blomgre, C. Berggren, A. Holmberg, F. Larsson, B. Sellergre, and K. Ensing, *J. Chromatogr. A*, **975**, 157 (2002).
16. K. Yano and I. Karube, *Trends in Anal. Chem.*, **18**, 199 (1999).
17. T. S. Snowden and E. V. Anslyn, *Curr. Opin. Chem. Bio.*, **3**, 740 (1999).
18. J. K. Park, H. Khan, and J. W. Lee, *Enzyme Microb. Technol.*, **35**, 688 (2004).
19. C. J. Allender, K. R. Brain, C. Ballatore, D. Cahardc, A. Siddiqui, and C. McGuigan, *Anal. Chim. Acta*, **435**, 107 (2001).
20. Y. Lu, C. X. Li, H. S. Zhang, and X. H. Liu, *Anal. Chim. Acta*, **489**, 33 (2003).
21. D. Wistuba and V. Schurig, *J. Chromatogr. A*, **875**, 255 (2000).
22. M. Ulbricht, *J. Chromatogr. B*, **804**, 113 (2004).
23. D. Kriz and K. Mosbach, *Anal. Chim. Acta*, **300**, 71 (1994).
24. S. A. Piletsky, E. V. Piletska, A. Bossi, K. Karim, P. Lowe, and A. P. F. Turner, *Biosens. Bioelectron.*, **16**, 701 (2001).
25. K. Karim, F. Breton, R. Rouillon, E. V. Piletska, A. Guerreiro, I. Chianella, and S. A. Piletsky, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **57**, 1795 (2005).
26. T. Yeliz, H. Nesrin, Y. Akgul, and U. Kezban, *Polymer*, **47**, 6931 (2006).
27. S. H. Kim, K. S. Lee, Y. H. Kim, W. J. Choi, B. S. Kim, E. K. Kim, and D. S. Kim, *Polymer(Korea)*, **31**, 153 (2007).
28. L. I. Andersson, *J. Chromatogr. B*, **739**, 163 (2000).
29. W. Dong, M. Yan, Z. Liu, G. Wu, and Y. Li, *Sep. Purif. Technol.*, **53**, 183 (2007).
30. W. M. Mullett and E. P. C. Lai, *Microchem. J.*, **61**, 143 (1999).
31. D. Spivak, M. A. Gilmore, and K. J. Shea, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 4388 (1997).