

## Pentoxifylline과 Caffeine-theophylline Imprinted Polymers의 크로마토그래피 특성

홍승표 · 王德先 · <sup>1</sup>구윤모 · †노경호  
<sup>1</sup>초정밀분리기술센터, 인하대학교 공과대학 화학공학과  
(접수 : 2003. 1. 20., 게재승인 : 2003. 2. 24.)

### Chromatographic Characterization of Pentoxifylline and a Mixture of Caffeine-theophylline Imprinted Polymers

Seung Pyo Hong, Dexian Wang, <sup>1</sup>Yoon Mo Koo, and Kyung Ho Row†  
<sup>1</sup>Center for Advanced Bioseparation Technology and Department of Chemical Engineering  
Inha University, 253 Yonghyun-Dong, Nam-Ku, Incheon 402-751, Korea  
(Received : 2003. 1. 20., Accepted : 2003. 2. 24.)

Two molecular imprinted polymers (MIPs) were prepared by using pentoxifylline and a mixture of caffeine-theophylline (2:1, mole ratio) as the templates, MAA as the monomer, and EDMA as the crosslinker. The obtained polymer particles (particle size 25-35  $\mu\text{m}$ ) were packed into a HPLC column (150×3.9mm). The selectivity and chromatographic characterization of the imprinted polymers were studied using pentoxifylline, caffeine, theophylline, theobromine as samples and acetonitrile as the mobile phase. Both imprinted polymers showed increased affinity for structural analogues. By using a mixture of caffeine-theophylline templates MIPs, good separations of caffeine, theobromine and theophylline were obtained, and pentoxifylline and caffeine were partly separated.

**Key Words :** Molecular imprinting, molecular recognition, hydrogen bond, HPLC

#### 서 론

Molecular imprinting은 아주 단단하게 가교 결합된 고분자 매트릭스(polymer matrix) 내에 높은 친화력으로 주형(표적) 분자를 기억시킬 수 있는 자리를 새롭게 창조하기 위해서 이루어진 기술이다(1). 이 분자 인식은 수용체(receptor), 효소 그리고 항체와 같은 생물학적인 활성에 결정적인 역할을 하며, 좀 더 선택적인 인식 시스템이 요구되어 지고 있다. 그 일환으로 항체 형성 기구(mechanism)로 구성되는 기술을 이용하여 주형 분자 주위에 가교중합체를 형성시킨 후 주형을 제거함으로써 주형 분자와 유사한 구조의 자리를 합성 고분자 내에 형성할 수 있었다. 이 기술을 imprinting이라 하며 1972년 Wulff에 의해서 처음으로 유기 고분자에 의한 imprinting

이 보고되었다(2).

일반적으로 molecular imprinting polymers(MIPs)를 만드는 제조 절차는 먼저 주형분자(template)와 기능성 단량체(monomer)를 결합시켜 복합체를 형성하면 배열을 유지하기 위해 과량의 가교제와 중합 개시제를 첨가하여 고분자 중합을 시킨다(3). 그런 다음 중합된 고분자에서 주형분자를 제거함으로써 주형분자와 일치하는 입체 특이적인 공극을 가진 분자인식 고분자가 합성 제조된다. 중합할 때 가교 결합의 정도는 주형을 제거한 후에도 그들의 모양을 유지할 수 있도록 하여 주며, 작용기(functional group)는 본래의 표적 물질을 재인식할 수 있도록 하는 기능을 부여하고 있다(2). MIP를 제조할 때는 주형분자와 강한 상호작용을 하는 기능성 단량체를 선택하는 것이 매우 중요하다. 보편적으로 사용되는 기능성 단량체는 MAA(Methacrylic acid)가 사용되는데 이것은 MAA의 carboxyl 그룹이 보통 ethyleneglycol dimethacrylate(EDMA)과 같은 가교제와 이중결합을 잘 형성하기 때문이다. MIPs 방법의 이점은 고분자 합성이 간단하며 물리적, 화학적 안정성이 높고 비용이 싸게 들며 넓은 온도 범위에서 사용이 가능하다는 것이다. 이러한 이점을 바탕으로 허브, 음료, spiked human plasma등으로부터 특정의 활성물질을 분리하거나 추

† 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  
E-mail : rowkho@inha.ac.kr

출할 수 있다는 것을 고려할 때 선택도와 친화성을 향상시키기 위해서 적합한 주형분자를 찾는 일은 상당히 중요하다(4,5).

지금까지 보고된 Molecular imprinted polymers(MIPs)의 응용분야는 매우 다양하다. 즉 chiral 화합물과 유사물질의 분리 매체로써 액체 크로마토그래피(6), 모세관 전기 영동, 모세관 electrochromatography와 solid-phase extraction(7,8)에 사용되었으며, 인공 효소와 바이오센서(9)의 probe로도 사용되어 왔다. 특히 최근에는 분리 개념에서 환경 친화적이고 공정 단순화에 매우 유리한 막 형태의 MIP가 개발되었으며, 이러한 막을 이용한 감지와 분리 시스템에 대한 많은 연구가 진행되고 있다(1,10-14).

이 연구의 목적은 pentoxifylline과 caffeine-theophylline을 주형분자로 사용한 MIPs를 제조 후 이들을 pentoxifylline, caffeine, theophylline 그리고 theobromine을 시료하여 크로마토그래피에 적용하였을 때 얻어지는 체류시간을 이용해 MIPs와 시료들 사이의 결합 특성을 연구하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

Pentoxifylline, caffeine, theophylline, theobromine, methacrylic acid(MAA)는 Sigma (ST Louis, MO, USA)에서  $\alpha$ ,  $\alpha'$ -Azobis(isobutyronitrile)(AIBN)은 Junsei Chemical Co. Ltd(Japan)에서 ethylene glycol dimethacrylate ethylenglykol-dimethacrylat (EDMA)는 Fluka(Buchs, Switzerland)에서 acetic acid(analytical grade)는 Oriental Chemical Industries(Incheon, Korea)에서 구입하였다. 위의 시약들은 전처리 없이 바로 사용하였다. Acetonitrile, chloroform, methanol은 HPLC grade로 덕산 Pure Chemical Co., Ltd(Ansan, Korea)에서 구입하였다. 증류수는 감압 펌프(Division of Millipore, Waters)와 필터(HA-0.45 $\mu$ m, Division of Millipore, Waters)를 이용하여 여과한 후에 사용하였다.

### 실험 과정

Pentoxifylline MIPs를 만들기 위해 250ml 등근 유리 플라스크에 주형분자(template)로 1 mmol (0.278 g) pentoxifylline, 기능성 단량체(monomer)로 5 mmol(0.43 g) MAA, 가교제(crosslinker)로 30 mmol(5.94 g) EDMA, 기능성 단량체와 가교제의 결합용으로 사용되는 개시제(initiator)로 0.12 g AIBN을 9 ml acetonitrile과 함께 넣었다. Imprinted polymer 제조에 있어서 주형에 대한 선택성에 중요한 영향을 미치는 것으로 중합시 주형과 기능성 단량체를 녹이는 용매를 porogen이라 하며, 이 porogen은 주형과 기능성 단량체 그리고 가교제와의 결합을 용이하게 하는 역할도 한다. 이 실험에서는 porogen으로 acetonitrile을 사용하였다. Caffeine-theophylline을 섞은 MIPs를 만들기 위해서 우선 4.5 ml의 acetonitrile을 50 ml 등근 유리 플라스크에 넣고 주형분자로 0.5 mmol(0.097 g) caffeine, 가교제로 30 mmol(5.94 g) EDMA 그리고 개시제로 0.12 g의 AIBN을 넣었다. 또 다른 50 ml 등근 유리 플라스크에는 4.5 ml chloroform을 넣고 기능성 단량체로 5 mmol(0.43 g) MAA 그리고 주형분자로 0.25 mmol (0.045 g)

theophylline을 넣어 또 다른 용액을 만들었다. 이 두 용액들을 등근 유리 플라스크에 넣고 혼합하여 하나의 용액으로 만들었다. 각각 만들어진 용액은 10분 동안 초음파 분쇄기에 넣었고, 헬륨가스를 사용하여 산소를 제거하는 과정을 10분 동안 진행하였다. 그 후 펌프를 사용하여 플라스크 내를 진공상태로 만들고 그 입구를 막아 진공 상태를 유지하였다. 중합은 60 $^{\circ}$ C로 고정되어진 항온조에서 24시간 동안 진행하였다. 중합 과정 후 만들어진 고분자를 플라스크에서 꺼내어 오븐에 넣어 건조시키고 체를 이용하여 35  $\mu$ m보다 크지 않게 작게 분쇄하였다. 이 과정 이후에 증류수를 사용한 침전 과정을 4번 반복 수행하고 상등액의 미세입자를 제거하여 25~35  $\mu$ m의 고분자들을 얻을 수 있었다. 이 고분자들은 스테인레스 칼럼(150 $\times$ 3.9 mm)에 충전하였고 이동상으로 methanol:acetic acid = 90:10 (vol.%)을 사용하여 0.3ml/min의 유속에서 UV 검출기를 통하여 주형분자를 완전히 제거될 때까지 실험을 진행하였다.

### 실험기기

HPLC 시스템으로는 Waters 600s Multisolvent Delivery System이 부착된 Waters 616 liquid chromatography (Waters Associates, Milford, MA, U.S.A.), 그리고 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, U.S.A.)를 사용하였다. UV wavelength는 270nm로 고정하였고 이동상으로는 acetonitrile을 사용하였다. 각 시료는 0.1 mmol의 농도에서 5  $\mu$ l의 주입부피로 0.8 ml/min의 유속에서 주입하였다. C<sub>18</sub>이나 실리카로 충전된 분석용 칼럼을 사용하였을 때보다 imprinted polymer를 충전한 칼럼을 사용하여 HPLC에 충전하는 경우 압력강하를 비교하면, imprinted polymer의 크기가 일반 분석용 충전제의 크기인 5 $\mu$ m보다 큰 25~35  $\mu$ m이기 때문에 압력강하가 매우 작다. 칼럼의 정지상에 대한 머무름 시간을 측정하기 위한 공극 표시물(void marker)로서는 acetone을 사용하여 t<sub>0</sub>를 구하였고 t는 각 시료들의 체류시간이다. 용질의 이동속도와 관계되는 체류인자(retention factor, k)은 (t-t<sub>0</sub>)/t<sub>0</sub>, 분리 정도를 나타내는 체류시간의 비율로서 정의된 분리인자(separation factor,  $\alpha$ )는 k<sub>analogue</sub>/k<sub>pentoxifylline</sub>로 계산하였다. IF(imprinted factor)는 고분자 내에 주형분자가 얼마나 잘 각인되었는가를 뜻하며 높을수록 잘 각인된 것으로 k<sub>imprinted</sub>/k<sub>blank</sub>로 계산하였다.

## 결과 및 고찰

### Pentoxifylline imprinted polymer

Table 1의 P<sub>1</sub>(주형분자로 pentoxifylline을 사용하였을 경우)에서 pentoxifylline의 체류인자, k<sub>pentoxifylline</sub>는 caffeine, theophylline, theobromine의 체류인자와 비교하였을 때보다 작은 값을 나타내고 있다. 이것은 주형분자를 제외한 다른 시료들 특히 theophylline이나 theobromine은 기능성 단량체와 더 강한 수소결합을 이루고 있기 때문이다. Fig. 1에서 4개의 시료들 사이의 차이점은 N<sup>1</sup>과 N<sup>7</sup>임을 확인 할 수 있다. 기능성 단량체에 붙어 있는 수소원자와 시료에 있는 질소원자들 사이에 생기는

Table 1. Chromatographic parameters

Polymer	Template	Parameter	Pentoxifylline	Caffeine	Theophylline	Theobromine
P <sub>1</sub>	Pentoxifylline	k	0.405	0.58	1.47	1.83
		a	1	1.43	3.62	4.52
		IF <sub>1</sub>	1.667	1.442	1.205	1.206
P <sub>2</sub>	Caffeine + theophylline	k	0.508	0.874	3.86	2.46
		a	1	1.72	7.66	4.84
		IF <sub>2</sub>	2.091	2.174	3.19	2.03
P <sub>3</sub>	None	k	0.243	0.402	1.22	1.517
		a	1	1.65	5.02	6.24

는 수소결합의 강함과 약함은 질소원자에 붙어있는 작용기의 크기에 의해 좌우된다. 만일 작용기의 크기가 크다면 작용기의 크기가 작은 경우에 생기는 수소결합보다 약하게 이루어진다. 즉 이 두 질소원자들에 의해 각 시료는 다른 체류 시간을 갖게 된다. Theo-phylline과 theobromine이 blank(P<sub>3</sub>)와 pentoxifylline MIPs(P<sub>1</sub>)에서 pentoxifylline과 caffeine보다 더 큰 체류인자 값을 갖는 이유는 수소원자와 질소원자는 쉽게 수소결합을 형성하기 때문이다.

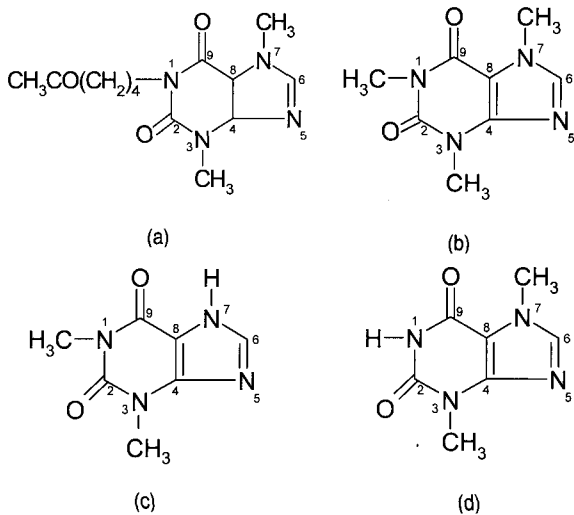


Figure 1. The chemical structures of pentoxifylline, caffeine, theophylline and theobromine. (a= pentoxifylline b= caffeine c= theophylline d= theobromine)

또한 P<sub>1</sub>과 P<sub>3</sub>에서 theobromine의 체류인자가 theophylline의 체류인자보다 더 높은 이유는 수소원자가 N<sup>1</sup>과 결합 할 경우 N<sup>7</sup>에서 이루어지는 수소 결합보다 더 높은 수소결합력을 나타내기 때문이다. Table 1에서 보는 바와 같이 pentoxifylline imprinted polymer에 의한 P<sub>1</sub>에서 각 시료들의 체류인자 값이 pentoxifylline, caffeine, theophylline 그리고 theobromine의 순서로 증가하지만 반면에 IF(Imprinted Factor)값은 pentoxifylline, caffeine, theobromine 그리고 theophylline의 순서로 감소하고 있다. Methyl group과 결합하고 있는 N<sup>7</sup>과 CH<sub>3</sub>CO(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub> group과 결합하고 있는 N<sup>1</sup>에 의해 주형분자와 고분자사이의 수소결합이 약하여 체류인자가 작은 값임에도 불구하고 IF 수치가 높다는 것은 blank polymer에 비해 주형분자가 잘 인식된다는 의미를 가지고 있다. 이러한 결과로 분자 구조는

분자 인식에 영향을 받는다. 이것은 caffeine이 구조적으로 pentoxifylline주형분자에 보다 유사하여 비교적 큰 IF 수치가 얻어진 것에서 알 수 있다.

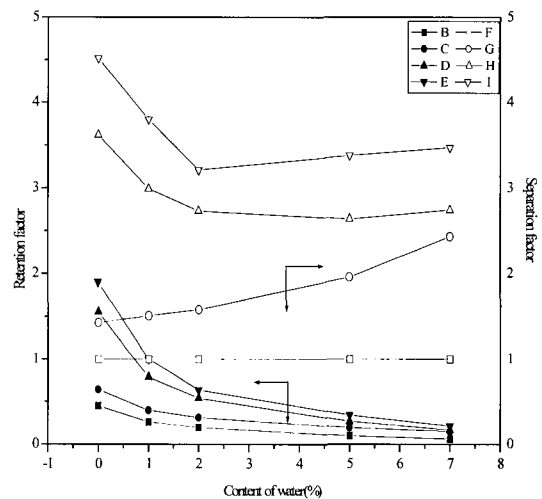


Figure 2. Effect of water content in the mobile phase on the retention and separation factors of the compounds on P<sub>1</sub>. (B,F= pentoxifylline C,G= caffeine D,H= theophylline E,I= theobromine)

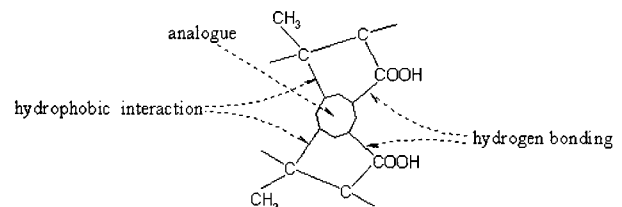


Figure 3. Schematic diagram for intramolecular interaction between monomer and sample.

Fig. 2는 P<sub>1</sub>에서 이동상에 물의 함량이 증가함에 따른 체류 인자의 영향을 나타낸 것으로 물의 함량을 0%에서 7%로 증가함에 따라 체류인자는 감소하고 있다. 이것은 수소결합이 MIPs에서 시료의 체류에 매우 중요한 역할을 하고 있는지를 보여주는 결과이다. 즉 이동상에 물이 많아지면 MIPs내 표면에 수소결합이 생겨서 시료의 결합자리(binding site)가 적어

지므로 시료의 체류시간이 짧아진다. 반면에 분리인자( $\alpha$ )는 물의 함량에 따라서 다른 결과를 보여준다. Caffeine의 분리인자는 물의 함량이 증가함에 따라 증가하지만 theophylline과 theobromine의 분리인자는 낮은 물의 함량에서는 감소하였다가 2%이상에서 증가한다. 일반적으로 MIPs에서 결합자리와 시료와의 반응은 대부분 수소결합에 의해 이루어지며 그 밖에 소수성결합(hydrophobic interaction)과 이온교환결합(ion exchange interaction) 등에 의해서도 이루어진다. 기능성 단량체의 COOH와 시료 간에는 수소결합이 생성되며 탄소와 시료 간에는 소수성결합이 생기게 된다(Fig. 3 참조). Theophylline과 theobromine에서는 물의 함량이 2% 이하인 경우에는 물과 결합자리간의 수소결합에 의해 결합자리 수가 적어짐에 따라 체류인자가 작아지고 또한 분리인자도 감소하지만 물의 함량이 2%이상으로 증가하는 경우에는 체류인자의 값이 작음에도 불구하고 분리인자가 증가하므로 수소결합 이외의 결합들에 의해 영향을 받음을 알 수 있다. 또한 caffeine 시료에서는 물의 함량이 7% 까지 변화여도 분리인자는 증가하므로 수소결합을 제외한 다른 반응(소수성 결합이나 이온교환결합 등)이 일어남을 알 수 있다. 이러한 결과로 분자의 모양 또한 pentoxifylline imprinted polymer에서 분자 인식에 또 다른 기여를 한다는 결과를 얻을 수 있었다.

**Caffeine-theophylline imprinted polymers**

Caffeine-theophylline가 주형분자로 사용되었던 MIPs(P<sub>2</sub>)에서는 P<sub>1</sub>보다 시료의 체류인자와 IF수치가 더 크게 증가된 결과(Table 1)를 얻었다. 또한, 주형분자로 사용된 caffeine과 theophylline의 IF 값은 유사한 구조를 가진 시료의 IF보다 큰 값을 얻었다. 이 수치로부터, 주형분자를 혼합하여 중합하면 각 시료들에 대해서 하나의 주형분자를 사용한 경우보다 높은 결합능력을 보인다는 결과를 얻을 수 있었다. Caffeine-theophylline imprinted polymer와 주입된 caffeine인 사이에는 수소결합이 아닌 다른 결합(소수성결합이나 이온교환결합 등)에 의해 결합이 이루어지고 이러한 결합들은 수소결합보다는 결합력이 약하므로 caffeine의 체류인자는 theophylline의 체류인자 보다 작은 값을 갖게 된다. 따라서 caffeine의 imprinted factor (IF<sub>2</sub>)는 theophylline과 같이 주형분자로 사용되었지만 IF값이 작게 된다.

Fig. 4는 P<sub>2</sub>에서 이동상에 물의 함량에 따른 체류인자와 분리인자의 영향을 보여주고 있다. Theophylline과 theobromine의 분리 인자는 물의 함량이 증가함에 따라 감소하고 있지만 caffeine의 분리인자는 증가하고 있다. 이것은 P<sub>1</sub>의 경우처럼 theophylline과 theobromine은 기능성 단량체와 수소결합을 이루고 caffeine은 수소결합보다 다른 결합(소수성결합이나 이온교환결합 등)에 대한 영향을 많이 받음을 알 수 있다. 두 개의 주형분자를 사용한 경우에서도 하나를 사용한 경우와 마찬가지로 분자의 구조는 분자 인식에 중요한 역할을 하였다.

**크로마토그래피 분리**

P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>에서는 이동상으로 acetonitrile을 사용하였다. Table 1의 결과로부터 P<sub>3</sub>에서의 체류인자 보다 P<sub>1</sub>과 P<sub>2</sub>에서의 체류인자는 증가하는 결과를 얻었다. Fig. 5에서는 blank polymer(P<sub>3</sub>)에서의 pentoxifylline, caffeine, theophylline, theobromine을 혼합한

시료의 분리되는 결과를 보여주는 반면에 Fig. 6은 이들 시료들에 대한 caffeine- theophylline MIPs에서의 분리되는 경향을 보여준다. P<sub>3</sub>에서의 theophylline과 theobromine의 용출순서가 P<sub>2</sub>에서의 용출순서와 다른 이유는 P<sub>2</sub>에서 주형분자로 caffeine과 theophylline을 사용하였기 때문에 주입된 시료 중 theophylline이 theobromine보다 늦게 용출이 되었다. P<sub>3</sub>와 P<sub>2</sub>의 크로마토그램을 비교해본 결과, P<sub>2</sub>에서 Caffeine, theobromine과 theophylline은 보다 잘 분리되었으나 pentoxifylline과 caffeine은 부분적으로 분리되었다.

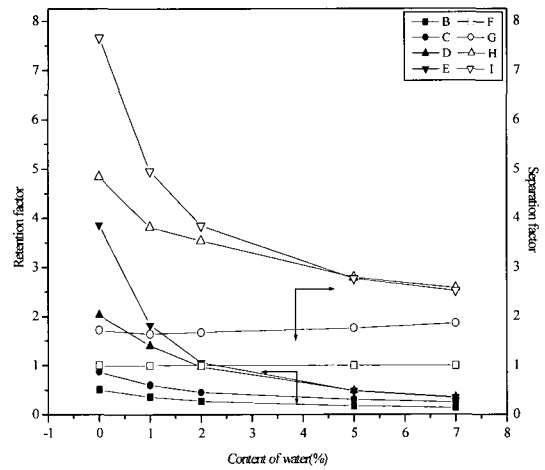


Figure 4. Effect of water content in the mobile phase on the retention and separation factors of the compounds on P<sub>2</sub> (B,F= pentoxifylline C,G= caffeine D,H= theophylline E,I= theobromine)

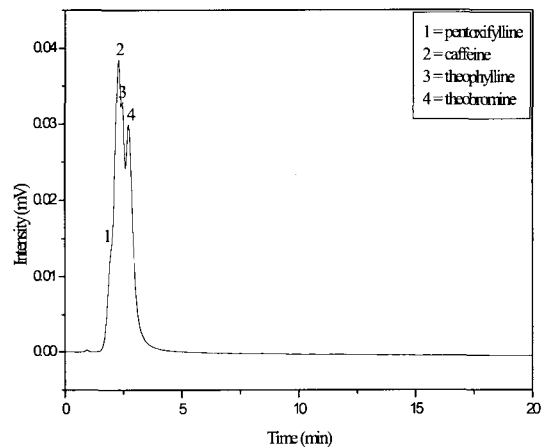


Figure 5. Chromatogram of the separation of four samples on blank polymer.

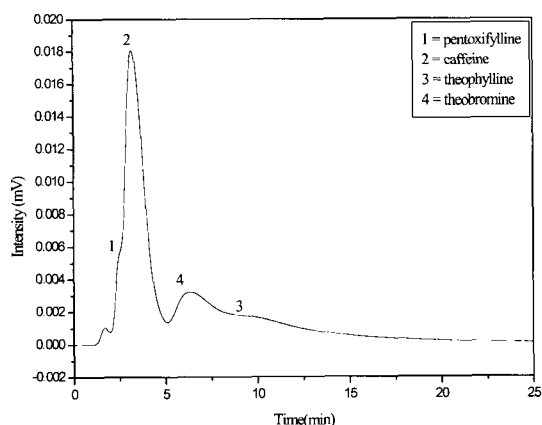


Figure 6. Chromatogram of the separation of four samples on caffeine-theophylline mixed template imprinted polymer.

## 요약

Pentoxifylline MIPs에서 시료와 기능성 단위체 사이에는 수소결합이 형성되었다. 수소결합의 능력은 분자구조상 질소원자의 위치에 의해 결정되어졌다. Pentoxifylline과 caffeine-theophylline MIPs 모두는 구조상 유사한 시료들과 affinity가 증가하는 결과를 얻어냈다. 특히 caffeine-theophylline MIPs에서 높은 수치의 체류인자와 IF를 얻었다. 이러한 결과로 적합한 복합 주형분자를 사용할 때 우리가 원하는 목적시료만을 선택적으로 분리 할 수 있고 그러므로 solid phase extraction에 사용되기에 적합하다는 결과를 얻어냈다.

## 감사

본 연구는 인하대학교 고순도분리연구실에서 수행하였으며, 인하대학교와 초정밀분리 기술센터의 지원에 감사드립니다.

## REFERENCES

- Cheong, S. H., C. Y. Oh, J. I. Seo, and J. K. Park (2001), Design and Application of Molecularly Imprinted Polymers for Selective Separations, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **16**, 115-122.
- Cheong, S. H., M. G. Suh, J. K. Park, and I. Karube (1998), Selective Separation of Testosterone using Biofunctional Polymer, *J. Kor. Ins. Chem. Eng.* **36**, 1, 27-33.
- Stephan, E. M., O. S. Wong, and J. F. Stobaugh (2002), Target specific sample preparation from aqueous extracts with molecular imprinted polymers, *J. of Pharm. and Biomedical Analysis* **27**, 719-728.
- Xie, J., L. Zhu, H. Luo, L. Zhou, C. Li, and X. Xu (2001), Direct extraction of specific pharmacophoric flavonoids from ginkgo leaves using a molecularly imprinted polymer for quercetin, *Journal of Chromatography A* **934**, 1-11.
- Theodoridis, G. and P. Manesiotis (2002), Selective solid-phase extraction sorbent for caffeine made by molecular imprinting, *Journal of Chromatography A* **948**, 163-169.
- Matsui, J., I. A. Nicholls, and T. Takeuchi (1998), Molecular recognition in cinchona alkaloid molecular imprinted polymer rods, *Analytica Chimica Acta.* **365**, 89-93.
- Andrea B., A. Tolokan, G. Horvai, V. Horvath, F. Lanza, A. J. Hall, and B. Sellergren (2001), Determination of phenytoin in plasma by molecularly imprinted solid-phase extraction, *Journal of Chromatography A* **930**, 31-38.
- Masque, N., M. Marce, and F. Borrull (2001), Molecularly imprinted polymers: new tailor-made materials for selective solid-phase extraction, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **20**, 477-486.
- Ansell, R. J., D. Kriz, and K. Mosbach (1996), Molecularly imprinted polymers for bioanalysis: chromatography, binding assays and biomimetic sensors, *Current Opinion in Biotechnology* **7**, 89-94.
- Mathew-Krotz, J. and K. J. Shea (1996), Imprinted Polymer Membranes for the Selective Transport of Targeted Neutral Molecules, *J. Am. Chem. Soc.* **118**, 8154-8155.
- Hong, J. M., P. E. Andersson, J. Qian, and C. R. Martin (1998), Selectively-Permeable Ultrathin Film Composite Membranes Based on Molecularly-Imprinted Polymers, *Chem Mater* **10**, 1029-1033.
- Yoshikawa, M., J. Izumi, and T. Kitao (1996), Enantioselective Electrodes of N-alpha-acetyltryptophans through Molecularly Imprinted Polymeric Membranes, *Chem. Lett.* **8**, 611-612.
- Yoshikawa, M., J. Izumi and T. Kitao, and S. Sakamoto (1996), Molecularly Imprinted Polymeric Membranes Containing DIDE Derivatives for Optical Resolution of Amino-Acids, *Macromolecules* **29**, 8197-8203.
- Yoshikawa, M., J. Izumi, and T. Kitao (1997), Enantioselective Electrodes of Amino Acids with Charged Polar Side Chains through Molecularly Imprinted Polymeric Membranes Containing DIDE Derivatives, *Polym. J.* **29**, 205-210.