

分子印迹技术分离中草药功能因子的研究与应用*

郭利飞, 宋承成, 陈永强, 贺敏强**

(江苏大学化学化工学院, 镇江 212013)

摘要: 概述了近年来利用分子印迹技术 (Molecular Imprinting Technique, M IT) 制备生物碱、黄酮、多元酚、鞣质、有机酸、香豆素、木脂素及甾类等各类中草药功能因子分子印迹聚合物的研究状况。综述了利用 M IT 从中草药粗提物中直接分离提取各类功能因子的国内外研究新进展, 并对其应用前景进行了展望。

关键词: 分子印迹技术; 分离; 中草药; 功能因子

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)06-1055-08

Research and application of molecular imprinting technique in separating functional factors of traditional Chinese medicines*

GUO Li-fei SONG Cheng-cheng CHEN Yong-qiang HE Min-qiang**

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

Abstract Recent advances of preparations of different functional factors of traditional Chinese medicines—molecular imprinted polymers (FFTCM—MIPs) including alkaloids, flavonoids, polyphenols, organic acids, coumarins, lignans and Steroids by molecular imprinting technique (M IT) were summarized. The new researchs of M IT in separating the functional factors from the crude traditional Chinese medicines (TCM) were reviewed, and the application prospect of M IT was also expected.

Key words molecular imprinting technique; separation; traditional Chinese medicines; functional factors

从中草药粗提物中分离具有药效作用的中草药功能因子 (Functional Factors of Traditional Chinese Medicines, FFTCM) 是提高中药产品质量和临床疗效的关键。由于 FFTCM 具有结构复杂、类型多样、含量低和不稳定等特点, 其分离纯化困难。目前传统的过滤、离心等分离方法只能得到粗提物, 难以得到单一的纯组分, 而色谱法、超滤法、吸附法等分离技术则普遍存在对被分析对象专一选择性低、亲和力差的缺点。基于分子识别的分子印迹聚合物 (Molecular Imprinted Polymers, MIPs) 突出特点是对被分离物或分析物具有高度的选择识别性, 其用于 FFTCM 的分离具有广阔的应用前景。本文概述了近年来利用分子印迹技术 (Molecular Imprinting Technique, M IT) 制备各种 FFTCM 分子印迹聚合物 (Functional Factors of Traditional Chinese Medicines—Molecular Imprinted Polymers, FFTCM—MIPs) 的研究现状, 综述了利用 M IT 从中草药粗提物中分离提

取 FFTCM 国内外研究进展。

1 M IT 的基本原理

M IT 的基本原理如图 1 所示: 模板分子与功能单体在溶剂中通过共价键或非共价键形成主客体配合物, 在特定交联剂及引发剂作用下, 形成三维交联的聚合物网络, 从而将功能单体的功能基在空间排列和定位上固定下来, 采用物理或化学方法洗脱模板分子, 在聚合物网络中便形成了模板分子的三维空穴, 由于它是对模板分子“量身定制”的, 因此三维空穴的空间形状、大小与模板分子完全匹配, 孔穴体内腔表面基团与模板分子所含基团电子特征高度互补, 对模板分子具有良好的记忆效应, 这些孔穴可重新选择性的结合模板分子。因此 MIPs 对模板分子具有高度的选择性和亲和性, 而且 MIPs 还具有良好的化学稳定性, 如能够耐高温、高压以及酸碱、有机溶剂腐蚀等, 同时由于其易于保存, 制备简便, 故

* 江苏大学高级人才基金 No. 04JBG017

** 通讯作者 Tel: (0511) 88791800 E-mail: jmwgk@126.com

易于实现工业化生产^[1]。近年来, MIPs 的制备技术有了很大突破, 除传统的本体聚合外, 还发展了原位聚合、悬浮聚合、乳液聚合、种子溶胀聚合、表面分子印迹、牺牲硅胶骨架法等。产品形态包括无定型粉末、棒状、球形、膜等多种。

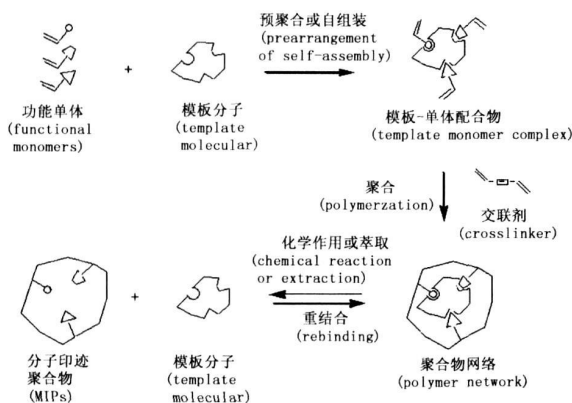


图 1 MIP 的基本原理

Fig 1 Basic principle of MIP

2 各种 FFTCM-MIPs 的制备现状

利用 MIPs 分离 FFTCM 的前提条件是用作模板分子的 FFTCM 与一定的功能单体之间形成如氢键、离子键等作用力。目前这方面的研究主要涉及的 FFTCM 有生物碱、黄酮、多元酚、有机酸、蒽醌类、香豆素类、木脂素类及甾类等多种类型。

2.1 生物碱类

生物碱类功能因子因具有含氮碱性基团, 可与酸性功能单体 (如甲基丙烯酸, MAA) 形成分子间氢键或离子键, 易于制备 MIPs。其是目前研究应用较多、较成熟的一类 FFTCM。

最初研究的生物碱类功能因子是茶碱, Vlatkovic 等^[2]利用本体聚合法, 以氯仿为致孔剂, MAA 为功能单体, 乙二醇二甲基丙烯酸酯 (EDMA) 为交联剂, 光引发聚合得到块状固体, 经研磨、筛分后得无定形颗粒。刘岚等^[3]以种子溶胀聚合法, 改用甲苯和水的混合液为致孔剂, 采用热超声方式制备了粒度均匀的球形 MIPs, 大大缩短了反应时间。罗勇等^[4]则通过对硅胶表面进行修饰后进行接枝共聚, 制备了基于硅胶表面修饰的 MIPs。吴浩等^[5]利用反相悬浮聚合的方法, 用聚乙烯醇包埋茶碱分子, 以 β -环糊精为功能单体, 也得到球状 MIPs。随着 MIPs 制备技术的发展, MIPs 颗粒从最初的不规则到球形, 其均一性有了很大的提高。

对生物碱类功能因子分子印迹聚合物的研究还涉及到咖啡因^[6,7]、奎宁^[8]、土的宁^[9]、烟碱^[10]、青

藤碱^[11]、盐酸小檗碱^[12]、延胡索乙素^[13]、哈尔明及哈马灵^[14]、苦参碱^[15]、麻黄碱^[16]、东莨菪碱^[17]、长春碱^[18]、马钱子碱^[19]等功能因子。

2.2 黄酮类

黄酮类化合物一般含有多个酚羟基, 呈弱酸性, 易与碱性功能单体 [2-乙烯基吡啶 (2-Vpy)、4-乙烯基吡啶 (4-Vpy)、丙烯酰胺 (AM) 等] 形成离子键, 与 MAA 中的羧基形成氢键等, 比较适合作为模板分子。极性溶剂易干扰模板分子与功能单体之间的氢键作用, 所以非共价键法一般在介电常数低的溶剂中进行, 然而大多数 FFTCM 在应用及分离检测时, 都处于水溶液或极性溶液中, 这就使得 MIPs 在中药中的应用受到了很大的限制。尤其是黄酮类的功能因子, 随着酚羟基的增多, 极性增大, 难溶于氯仿、甲苯等弱极性溶液, 通常改用极性较强的四氢呋喃 (THF)、甲醇等溶剂来制备相应的 MIPs。此时聚合物中主要以疏水作用为主。

许筱杰课题组^[20-22]、颜流水等^[23]以 AM 为功能单体、THF 为溶剂制备了槲皮素分子印迹聚合物 (QUE-MIPs), 该聚合物对槲皮素 (QUE) 的特异结合量为 $12 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。而 Molinelli 等^[24]以 4-Vpy 为功能单体, 丙酮为溶剂制备的 QUE-MIPs 对 QUE 的吸附量为 $0.4 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$, 回收率达 98.2%。邓芹英课题组^[25]利用不同的功能单体 MAA、AM、N,N-二乙基胺乙基甲基丙烯酸酯 (DEAEM)、2-Vpy 制备 QUE-MIPs, 比较发现以离子作用结合的功能单体 2-Vpy 和 DEAEM 对 QUE 都具有良好的印迹效果。随后, 又在混合溶剂 THF-氯仿 (v/v 8:2) 中作了类似的研究, 研究结果也是以 2-Vpy 为功能单体合成的 MIPs 的吸附性能最强, 吸附量为 $4457.52 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ^[26]。可见, 功能单体及致孔剂的种类对分子印迹聚合物的吸附性能均有影响。

其他研究的黄酮类功能因子还包括: 黄酮醇^[27]、柚皮苷^[28]、葛根素^[29,30]、柚皮素^[31]、非瑟酮^[32]、桑色素^[33]、染料木素^[34]、木樨草素^[35]等。

2.3 多元酚类、鞣质、有机酸类化合物

多元酚类、鞣质、有机酸类化合物因均含有羟基或羧基, 可与酰胺键等作用, 结合的位点也多。雷启福等^[36]以表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG) 为模板分子合成的 EGCG-MIPs 用于固相萃取 (SPE) 茶叶提取物茶多酚时, EGCG 的回收率达 69.3%。且该分子印迹柱具有较好的稳定性和耐用性能, 使用 20 次后其选择性识别能力仍未降低。所用的方法与常规方法中需要通过层析、萃取、色谱分离等步

骤获取儿茶素单体的方法相比较,操作简单,成本低廉。

向海艳^[37]等将白藜芦醇(RES)分子印迹聚合物制成 SPE柱,用于对传统中药虎杖提取物中 RES 的分离纯化,得到主要含 RES 及少量结构与其相似的白藜芦醇式组分,最后洗脱液中的 RES 色谱峰纯度达 85.7%,回收率为 74.0%。

Haginaka J^[38]通过多步溶胀聚合法制备了大小均一的 EGCG,表儿茶素没食子酸酯(EGC)和没食子儿茶素没食子酸酯(GCG)的分子印迹聚合物,(-)-GCG 分子印迹聚合物成功用于绿茶提取液中的(-)-EGCG 和(-)-ECG 的分离。Figueiredo EC 等^[39]以儿茶酚分子印迹聚合物作为 SPE 的固定相,在线测定了瓜拉那提取物粉末、马特茶中儿茶酚的含量。

李辉^[40]研究了咖啡酸印迹聚合物整体固定相在线分离和纯化杜仲叶提取物中的绿原酸,基于该 MIPs 对提取物中的几种主要杂质化合物键合能力强,而对绿原酸分子的键合能力弱的表现,实现了其他化合物与绿原酸的分离,同时,结果也证明用 MIPs 处理过的杜仲叶提取物中绿原酸的纯度进一步提高。朱秀芳等^[41]以氢化阿魏酸为模板分子,合成了对阿魏酸具有强吸附能力的氢化阿魏酸分子印迹聚合物。张裕卿等^[42]利用 MII,以水溶性黄酮芦丁为模板剂制备出对芦丁具有高效选择性的内置型硅质吸附剂,硅质吸附剂在大豆异黄酮和芦丁的混合液中,显示出较高的选择性能,对芦丁的静态吸附选择性系数达到了 4.143。

2.4 蒽醌类成分

蒽醌类具升华性,常压下加热即可升华,这可能是导致其在 MIPs 方面研究较少的原因。但目前也有利用离子络合作用进行印迹制备 MIPs 的研究。许志锋等^[43]首次以蒽醌类化合物——茜素(Aizarin)为模板分子,利用其与金属离子 Cu(II)的配位作用制备了 Aizarin-Cu(Ac)₂ 配合物的 MIPs。实验结果表明,该聚合物对茜素有明显的选择性结合能力,而对结构相似的桑色素、芹菜素这 2 种 FFTCM 都几乎没有结合能力。尹艳凤等^[44]利用大黄酒素为模板分子,通过原位聚合制成分子印迹整体柱,从中药大黄片中分离出了大黄酒素。

2.5 香豆素类

香豆素为顺式邻羟基桂皮酸的内酯,其分子内酯键可以与酸性功能单体的羧基形成氢键,从而具备印迹要求。侯能邦^[45]以香豆素为模板分子,乙腈

为溶剂,比较了分别利用 MAA、AM、2-Vpy 和 4-Vpy 为功能单体制备的 MIPs 的吸附性能,发现以 MAA 为功能单体制备的香豆素 MIPs 的吸附效果最好,其高亲和力结合位点和低亲和力结合位点的最大表观结合量分别为 105.3 mg·g⁻¹ 和 288.7 mg·g⁻¹。而同为香豆素类的秦皮乙素则因为其分子结构上含有多个羟基,所以可能更适宜于采用碱性功能单体。Hu SG 等^[46]以秦皮乙素为模板分子,AM 为功能单体制备了秦皮乙素 MIPs,通过优化洗脱条件,从秦皮中将其所含的秦皮乙素特异性地分离出来。

2.6 木脂素类

2006 年, Zhu XF 等^[47]用非共价印迹法,以鬼臼毒素为模板分子,通过合成条件的优化,合成了对鬼臼毒素具有选择性和亲和性的 MIPs,该聚合物可从藏药桃儿七的乙醇提取物中直接分离出鬼臼毒素。

2.7 甾类

考虑到植物甾族激素油菜素甾酮的分子内有两组顺式的羟基,可以很容易的和 p-乙烯基苯硼酸进行酯化反应, Kuginiya 等^[49]利用共价方法制备了油菜素甾酮的分子印迹聚合物。韩永萍等^[50]采用悬浮聚合法制备得到平均粒径小于 100 μm、分布较窄的豆甾醇分子印迹聚合物微球。该聚合物对豆甾醇表现出较好的特异吸附性能,分离因子超过 1.65,吸附容量高达 1.28 mg·g⁻¹。

目前 MII 应用于 FFTCM 的分离仅局限于印迹常态为固体或液体的模板,而对于挥发油类的气态物质研究较少。随着 MII 技术的发展,FFTCM-MIPs 的研究必将进一步趋于完善。

3 MII 应用于从中草药粗提取物中分离提取功能因子的研究新进展

3.1 MII 与多种不同的分离分析技术联用,扩大 MIPs 在中草药领域的应用范围

MIPs 作为吸附剂,通常需要与其他分离分析技术连用。高效液相色谱(HPLC)是最常用的一种。HPLC 不仅检测能力强,而且能同时达到目标分子与其他类似物分离的目的。程绍玲等^[30]通过改变 HPLC 色谱条件,利用葛根素 MIPs 从葛根提取物中分离出葛根素、大豆苷元和大豆苷,得葛根素收率为 83%,纯度为 78%。将 HPLC 与质谱(MS)联用,则可以在分离的同时鉴定分离物,实现 FFTCM 分离鉴定一体化。Xie JC 等^[14]首次尝试将哈尔满 MIPs 作为 HPLC 固定相,与大气压电离飞行时间质谱联用,分离鉴定了中草药骆驼蓬种籽甲醇提取液中的抗癌

物质哈马灵和哈尔明。这种利用 MIP 作为色谱固定相, 直接用于中草药体系, 简化了中草药活性成分分离鉴定过程的做法能为我们制定中药中特定功能因子的质量标准提供一种有效的手段。此外, FF-TCM-MIPs 也用作薄层色谱分离、高效毛细管电泳色谱 (HPCE) 分离、膜分离的吸附材料以及传感器中的电子元件。许志锋等^[33]以桑色素 MIPs 作为薄层色谱固定相, 最小分离度为 1.19 可以把桑色素从其同类化合物中分离出。Ou JJ 等^[13]将分子印迹整体柱应用于毛细管色谱柱, 通过更高的电压和 600 kPa 的辅压, 在 4 min 内就分离了延胡索乙素及其对映体。Trotta F 等人^[28]利用相转移技术制备了柚皮苷分子印迹薄膜, 去除了苦汁中的柚皮苷。Jorge LS^[27]首次将黄酮醇 MIPs 作为 flow-through optosensing system 的识别元件, 测定橄榄油中的类黄酮, MIPs 表现出了良好的敏感性和特异识别性。上述研究表明, MIPs 与不同的分离分析技术联用, 大大扩展了 MIPs 在中草药领域的应用范围。

3.2 利用 MIPs 提取模板分子, 富集纯化目标分子

MIPs 对模板分子具有特定的识别位点, 可以进行特异性选择和吸附。例如具有中枢神经系统兴奋作用的土的宁和马钱子碱是中药马钱科植物马钱子的干燥成熟种子中所含的两种生物碱。郭文生等^[19]用常规方法提取得到马钱子粗提物中马钱子碱的含量仅为 26.6%, 土的宁含量为 69.9%, 而利用马钱子碱分子印迹聚合物作为吸附剂进行固相萃取后, 不仅分离得到的纯度为 99.7% 的马钱子碱, 而且同时得到以土的宁为主的生物碱, 纯度为 94.6%。可见, 利用 MIPs 可以达到提取高纯度中草药功能因子的目的。

3.3 利用间接分子印迹法, 提取分离难以直接用于制备 MIPs 的功能因子

中草药川芎水提液中的阿魏酸分子因含有可交联聚合的双键而无法直接用作模板分子。朱秀芳等^[41]利用间接分子印迹法 (Dummy Molecular Imprinting) 以氢化阿魏酸制备了对阿魏酸有特异吸附能力的 MIPs, 解决了这个难题。使用结构与目标分子相似的化合物为假模板分子来制备 MIPs 是解决

一些化合物由于自身分子结构的特点 (如形成分子内氢键或溶剂对模板的溶剂化效应或含有可交联聚合的官能团等) 以及性质不稳定、具有毒性、价格昂贵、溶解度差等原因, 难以制备具有印迹效果的聚合物或直接用作模板分子时的有效手段之一。

3.4 同一模板分子制备的 MIPs 应用于不同复杂体系, 寻求先导化合物和模板分子新来源

中草药中具有生理活性的组分往往不是指某一个化合物, 而是指活性相同、结构相近的多种成分。以已知活性化合物为模板分子制备的 MIPs 与模板分子构型类似的孔穴和相应的可作用位点, 不仅对模板分子本身具有特异性吸附, 而且可以吸附其他结构类似的化合物。若将其应用于不同的中药及中药制剂的复杂体系中, 往往可以同时筛选到与模板分子生理活性相同且结构类似的先导化合物。槲皮素 (QUE) 是已知的具有代表性的黄酮类功能因子。利用 QUE-MIPs 作为吸附材料, Xie JC 等^[20]从银杏水解物中提取了槲皮素及其结构类似物山奈酚。随后又在沙棘粗提物中提取得到槲皮素和异鼠李素^[21]。Molinelli A 等^[24]萃取了红酒中的槲皮素。而 Zhu LL 等^[22]则从藏药锦鸡儿中萃取得到与槲皮素相似的两种主要抗表皮生长因子受体抑制剂 (EGFR) ——白皮杉醇 [(E)-piceatannol] 和紫铆查耳酮 (butein)。同样, 以 (E)-白皮杉醇为模板合成的 MIPs 对锦鸡儿中的紫铆查耳酮和槲皮素也表现出特异识别性^[48]。用具有代表性的已知活性化合物为模板制备相应的 MIPs 应用于不同体系的方法与传统分离方法相比, 具有特异选择性和高效性。此外这种应用方法还有多种优势, 如: 利用高毒性模板分子的 MIPs 的识别能力直接从天然化学库中筛选出其他有效且低毒的化合物作为替代品; 利用高效无毒但是由于制备困难且非常昂贵的药物分子作为模板, 寻找其他成本低廉且容易得到的替代品; 还可以用于寻找含功能因子的新的中草药来源, 从而缓解部分稀缺中草药濒临灭绝的危险等。

表 1 归纳了近年来利用 MIP 直接从中草药粗提物中分离功能因子的研究现状及分析体系。

表 1 M IP 从中草药粗提取物中直接分离提取功能因子的现状

Tab 1 Molecular Imprinting Technique used to separate and extract FFCIM – MIPs from crude TCM

	中草药功能因子分子印迹 聚合物 (FFCIM – MIPs)	中草药粗提取物 (crude TCM)	分离得到的物质 (separated products)	分析系统 (analytical system)	文献 (Ref)
生物碱 (alkaloid)	青藤碱 (sinomenine)	青风藤 (<i>Sinomenium acutum</i> Reht EtWils)	青藤碱 (sinomenine)	HPLC /UV	11
	哈尔满 (haman)	骆驼蓬种籽 甲醇提取物 (<i>Peganum nigellastrum</i>)	哈马灵 (hamaline)、哈尔明 (hamine)	HPLC /MS	14
	苦参碱 (matrine)	苦参 (<i>Sophora flavescens</i>)	苦参碱、氧化苦参碱 [(matrine and oxymatrine)	HPLC	15
	(-) – 麻黄碱 [(-) – ephedrine]	麻黄 (<i>Chinese ephedra</i>)	(-) – 麻黄碱 [(-) – ephedrine]	HPLC /UV	16
	长春碱 (vinblastine)	长春花 (<i>Catharanthus roseus</i>)	长春碱 (vinblastine)	/	18
	马钱子碱 (brucine)	马钱子 (<i>Strychnos</i>)	马钱子碱 (brucine)	HPLC	19
黄酮 (flavonoids)	槲皮素 (quercetin)	银杏水解液 (hydrolyzate of ginkgo leaves)	槲皮素 (quercetin)、山奈酚 (kaempferol)	HPLC /MS	20
	槲皮素 (ouercetin)	沙棘 (<i>Hippophae rhamnoides</i> Lin)	槲皮素 (quercetin)、异鼠李素 (isorhamnetin)	HPLC /MS	21
	槲皮素 (ouercetin)	锦鸡儿 (<i>Caragana julau</i>)	白皮杉醇 [(E) – piceatanol]、紫柳查耳酮 (butein)	HPLC /UV	22
	葛根素 (puerarin)	葛根 (<i>Ralex pueraria</i>)	葛根素 (puerarin)、大豆苷元 (daidzein)和大豆苷 (daidzin)	HPLC /UV	29
	白皮杉醇 [(E) – piceatanol]	锦鸡儿 (<i>Caragana julau</i>)	紫柳查耳酮 (butein)、槲皮素 (quercetin)	HPLC /MS	48
	多元酚 (polyphenol)	表没食子儿茶素没食子酸酯 (epigallocatechin gallate)	表没食子儿茶素没食子酸酯 (epigallocatechin gallate)	HPLC /UV	36
	反式白藜芦醇 (trans-resveratrol)	虎杖 (<i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb etZucc)	白藜芦醇 (resveratrol)和少量白藜芦苷 (polydatin)	HPLC /UV	37
	(-) – 没食子儿茶素没食子酸酯 [(-) – gallicatechin gallate]	绿茶 (green tea extract)	(-) – 没食子儿茶素没食子酸酯 [(-) – gallicatechin gallate]	HPLC /UV	38
	有机酸 (organic acids)	咖啡酸 (caffeic acid)	杜仲提取物 (extract of <i>Eucammia ulmoides</i> leaves)	绿原酸 (chlorogenic acid)	HPLC /UV
	氢化阿魏酸 (hydrogenated Ferulic Acid)	川芎水提液 (<i>Ligusticum chuansong</i> tort water extract)	阿魏酸 (ferulic acid)	HPLC /UV	41
	原儿茶酸 (protocatechuic acid)	香蜂花 (extract of <i>Melissa officinalis</i>)	对羟基苯甲酸衍生物 (derivatives of <i>p</i> – hydroxybenzoic acid)	HPLC /UV	51
香豆素 (coumarin)	香豆素 (coumarin)	白芷乙醇粗提物 (<i>Angelica dahurica</i>)	香豆素 (coumarin)	HPLC /UV	45
	秦皮乙素 (esculetin)	秦皮 (<i>Ash bark</i>)	秦皮乙素 (esculetin)	HPLC /MS	46
木脂素 (lignan)	鬼臼毒素 (podophyllotoxin)	桃儿七的乙醇提取液 (<i>Sinopodophyllum amo-di</i>)	鬼臼毒素 (podophyllotoxin)	HPLCE	47

4 现存的问题

M IP 作为一种相对较新的分离技术,其本身还存在许多问题。机理方面,对分子印迹结合位点的作用过程研究较少,且观点不太相同,对印迹聚合物吸附过程的热力学和动力学研究不足,需从分子水平加强对分子印迹和识别过程的机理研究。制备方

面,目前合成的 M IP 所用的模板分子多为小分子亲脂性物质,而对亲水性的大分子及超分子方面研究较少,有待于进一步的发展;功能单体的选用是项极其复杂庞大的工作,需要充分借助分子模拟、组合化学等现代技术简化选择过程。并通过对原料比例及聚合方法的优化,减少聚合物中结合位点被“包埋”

的数量、提高分子印迹效率,减少非特异性吸附。应用方面, MIP 用于分析样品时,模板泄漏会对低浓度样品的检测造成干扰,影响结果; MIP 用作色谱填料时,因为非均一识别位点的存在,常常造成拖尾现象,因而在颗粒的尺寸、柱容量以及柱效等方面还需改善。

此外,分子印迹技术用于分离中草药功能因子方面主要还存在如下一些问题:(1)目前的研究侧重于生物碱类和黄酮类 FFTCM-MIPs,对于其他类型的 FFTCM,则研究还较少。而且在上述文献中, FFTCM-MIPs 的主要制备方法是本体聚合法,该方法需研磨过筛,费时费力,材料损失也较多。因此需要进一步完善与优化 FFTCM-MIPs 的制备方法,扩大应用类型。(2)研究表明,致孔剂与吸附溶剂相同时, MIPs 吸附性能较强,而对于利用 THF 等溶剂制备的黄酮类 FFTCM-MIPs,若在检测和分离中利用 THF 为吸附溶剂,则对 HPLC 等检测仪器的危害很大。因此制备有利于水相提取的 FFTCM-MIPs 具有重要意义。(3)大多数 FFTCM 在应用及分离检测时,都处于水溶液或极性溶液中,而目前常用的功能单体、交联剂都是亲脂性的,所以寻找水溶性单体及交联剂,制备亲水性 MIPs 也是亟需解决的问题。

5 发展前景

鉴于中草药成分的复杂性和多样性,如何有效分离 FFTCM 是长期以来制约中药现代化、中药走向国际市场的重要瓶颈之一。因此,大力发展用于 FFTCM 分离的新技术和新方法是当务之急。虽然 MIP 应用于各种类型的中药功能因子的直接提取、分离、纯化方面的研究已日益增多,方法也日趋完善。但是这种应用尚处于探索阶段,其实用性和成熟度尚需进一步验证,离产业化还有一定的距离。该技术有望从以下几方面得到进一步发展:(1)进一步完善与优化 FFTCM-MIPs 的制备与应用条件,真正实现 FFTCM 的工业化生产;(2)将 MIPs 与其他分离分析技术联用,建立更快捷、更便利、更清洁、更有效的 FFTCM 分离、提取和鉴定一体化的体系;(3)制备双模板或多模板的印迹聚合物,并制成色谱柱,实现一柱多用;(4)利用 MIPs 分析未知植物的已知成分,寻找相关功能因子的中药来源,避免由于过度采用某种中草药而造成物种的灭绝。(5)应用 MIP 减少中草药中农药和重金属的残留,提高中草药品质。相信随着 MIP 研究的不断深入和发展,其必将在 FFTCM 的分离提取上发挥愈来愈重要的

作用,为实现我国的中药现代化,造福全人类作出巨大贡献。

参考文献

- 1 Mahony D, Nolan K, Smyth MR, *et al* Molecularly imprinted polymers—potential and challenges in analytical chemistry. *Anal Chim Acta*, 2005, 534 (1): 31
- 2 Vlatkic G, Andersson L, Moller R, *et al* Drug assay using antibody mimics made by molecular imprinting *Nature*, 1993, 361: 645
- 3 LIU Lan(刘岚), LU Bao-sen(卢保森), DENG Q in-ying(邓芹英), *et al* Novel molecularly imprinted polymer prepared by seed swelling polymerization(种子溶胀聚合法制备新型分子烙印聚合物). *Acta Sci Nat Univ Sunyatsen* (中山大学学报自然科学版), 2004, 43(3): 45
- 4 LUO Yong(罗勇), LIU Lan(刘岚), DENG Q in-ying(邓芹英), *et al* Preparation of imprinted polymer with theophylline on silica surface and its characteristics(硅胶表面茶碱分子印迹聚合物的制备和性能研究). *Acta Sci Nat Univ Sunyatsen* (中山大学学报自然科学版), 2005, 44(6): 49
- 5 WU Hao(吴浩), LI Hai-tao(李海涛), XU Man-cai(徐满才), Synthesis and properties of molecularly imprinted spheric β -cyclodextrin polymers(分子印迹球状 β -环糊精聚合物的合成及性能研究). *Ion Exch Adsorp* (离子交换与吸附), 2006, 22(4): 356
- 6 Farrington K, Magner E, Regan E. Predicting the performance of molecularly imprinted polymers. Selective extraction of caffeine by molecularly imprinted solid phase extraction *Anal Chim Acta*, 2006, 566: 60
- 7 CHEN Yi-jiao(陈移蛟), ZHOU Xing-guo(周兴国), LI Gui-lin(李桂玲). Preparation of molecularly imprinted microspheres against caffeine by aqueous micro-suspension polymerization and its recognition characteristics(悬浮聚合法制备咖啡因分子印迹聚合物微球及其性能研究). *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(5): 692
- 8 He JF, Zhu QH, Deng QY. Investigation of imprinting parameters and their recognition nature for quinine—molecularly imprinted polymers *Spectrochim Acta Part A*, 2007, 67: 1297
- 9 ZHANG Jing(张静), HE Lang-chong(贺浪冲), FU Qiang(傅强). Preparation of strychnine molecularly imprinted monolithic column(土的宁分子印迹整体柱的制备). *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2005, 33(1): 113
- 10 Sambe H, Hoshina K, Haginaka J *et al* Uniformly sized molecularly imprinted polymers for nicotine by precipitation polymerization *J Chromatogr A*, 2006, 1134: 88
- 11 Lin LQ, Zhang J, Fu Q *et al* Concentration and extraction of sinomenine from herb and plasma using amolecularly imprinted polymer as the stationary phase *Anal Chim Acta*, 2006, 561(1-2): 178
- 12 CHEN Yi-jiao(陈移蛟). Study on Synthesis and Characters of Alkaloids Molecular Imprinting Polymers(生物碱分子印迹聚合物的制备与其性能研究): [Paper of Master Degree(硕士学位论文)]. Hubei(湖北): Huazhong University of Science Technology (华中科技大学), 2005
- 13 Ou J, Dong J, Tian T *et al* Enantioseparation of tetrahydropalm a-

- tine and Troger's base by molecularly imprinted monolith in capillary electrochromatography. *J Biochem Biophys Methods*, 2007, 70(1): 71
- 14 Xie JC, Zhu L, Xu XJ Affinitive separation and on-line identification of antitumor components from *Peganum nigellastrum* by coupling a chromatographic column of target analogue imprinted polymer with mass spectrometry. *Anal Chem*, 2002, 74(10): 2352
 - 15 Lai JR, He XW, Jiang Y, *et al* Preparative separation and determination of matrine from the Chinese medicinal plant *Sphora flavescens* Ait by molecularly imprinted solid-phase extraction. *Anal Bioanal Chem*, 2003, 375(2): 264
 - 16 Dong XC, Wang W, Ma SJ *et al* Molecularly imprinted solid-phase extraction of (—)-ephedrine from Chinese *Ephedra*. *J Chromatogr A*, 2005, 1070(1-2): 12
 - 17 Theodoridis G, Kantifas A, Maniotis P, *et al* Preparation of a molecularly imprinted polymer for the solid phase extraction of scopoletin with hyoscyanine as a dummy template molecule. *J Chromatogr A*, 2003, 987(1-2): 103
 - 18 ZHU Quan-hong(朱全红), FENG Jian-yong(冯建涌), YANG Wei-dong(杨卫东). A vinblastine-molecular imprinted polymer and its preparation methods(一种长春碱分子印迹聚合物及其制备方法). Chinese (中国): 200610123060.8, 2007-05-09
 - 19 GUO Wen-sheng(郭文生), DING Chao(丁超), WAN Tong-xin(宛彤昕), *et al* Study of new method of selective separation of brucine in maqianzi (从马钱子中选择分离马钱子碱新方法的研究). *Nat Prod Res Develop* (天然产物研究与开发), 2004, 16(2): 97
 - 20 Xie JC, Zhu L, Xu XJ *et al* Direct extraction of specific pharmacophoric flavonoids from ginkgo leaves using a molecularly imprinted polymer for quercetin. *J Chromatogr A*, 2001, 934: 1
 - 21 ZHOU Li(周力), XIE Jian-chun(谢建春), XU Xiao-jie(许筱杰), *et al* The application of molecular imprinted polymer for hippophae rhamnoidse linn function integrants extraction (分子烙印技术在沙棘功效成分提取中的应用). *Acta Phys Chim Sin* (物理化学学报), 2002, 18(9): 808
 - 22 Zhu LL, Xu XJ Selective separation of active inhibitors of epidermal growth factor receptor from *Camagana lubata* by molecularly imprinted solid-phase extraction. *J Chromatogr A*, 2003, 991(2): 15
 - 23 YAN Lin-shui(颜流水), JING Jing(井晶), HUANG Zhi-min(黄智敏), *et al* Preparation of quercetin-imprinted polymer and its property as a sorbent for solid phase extraction (槲皮素分子印迹聚合物的制备及固相萃取性能研究). *Chin J Anal Lab* (分析试验室), 2006, 25(5): 97
 - 24 Molinelli A, Weiss R, Mizakoff B. Advanced solid phase extraction using molecularly imprinted polymers for the determination of quercetin in red wine. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(7): 1804
 - 25 HE Jian-feng(何建峰), DENG Qin-ying(邓芹英). Monomers optimization and properties evaluation of quercetin-imprinted polymer and its application to thin layer chromatography stationary phase (槲皮素分子烙印聚合物的单体优化、性能评价及其在薄层色谱分离中的应用). *J Chin Mater* (中药材), 2007, 30(5): 588
 - 26 LIN Qiu-ming(林秋明), HE Jian-feng(何建峰), DENG Qin-ying(邓芹英), *et al* Study on the effect of recognized characteristics of quercetin imprinted polymers with different functional monomers (不同功能单体合成的分子印迹聚合物识别性能的研究). *Chem Res Appl* (化学研究与应用), 2007, 19(10): 1084
 - 27 Jorge LS, Marta ED. Flavonol fluorescent flow-through sensing based on a molecular imprinted polymer. *Anal Chim Acta*, 2000, 405: 67
 - 28 Trotta F, Dioli E, Baggiani C, *et al* Molecular imprinted polymeric membrane for naringin recognition. *J Membr Sci*, 2002, 201: 77
 - 29 HE Xiang-ling(贺湘凌), TAN Tian-wei(谭天伟), Janson JC. Purification of puerarin by β -Cyclodextrin-Superose 12 PG (利用 β -环糊精键合固定相分离纯化葛根素). *Chin J Chromatogr* (色谱), 2003, 21(6): 610
 - 30 CHENG Shao-ling(程绍玲), YANG Ying-hua(杨迎花). Separation of isoflavones from Radix Pueraria by molecular imprinting technology (利用分子印迹技术分离葛根异黄酮). *Chin Tradit Patent Med* (中成药), 2006, 28(10): 1484
 - 31 ZHENG Xi-ming(郑细鸣), TU Wei-ping(涂伟萍). Preparation of monodisperse molecularly imprinted polymer beads by a single-step swelling and polymerization method (单步溶胀聚合法制备单分散分子印迹聚合物微球). *J Chem Eng Chin Univ* (高校化学工程学报), 2007, 21(1): 117
 - 32 LILi(李礼), HU Shu-guo(胡树国), HE Xi-wen(何锡文), *et al* Solid-phase extraction of active component of Chinese Traditional Medicine fisetin by using molecularly imprinted polymers (应用分子印迹-固相萃取法提取中药活性成分非瑟酮). *Chem J Chin Univ* (高等学校化学学报), 2006, 27(4): 608
 - 33 XU Zhi-feng(许志锋), LU Lan(刘岚), DENG Qin-ying(邓芹英), *et al* Preparation and binding characteristic of a morin-imprinted polymer and its application to thin layer chromatography stationary phase (以桑色素为模板的分子烙印聚合物的制备、结合特性及其在薄层色谱固定相方面的应用). *Chem J Chin Univ* (高等学校化学学报), 2005, 26(11): 2031
 - 34 ZHAO Jing-chan(赵景婵), LIANG Xiao-yun(梁小云), GUO Zhi-an(郭治安). Synthesis of molecularly imprinted polymers and their recognition study for genistein (染料木素分子印迹聚合物的合成及性能研究). *J Northwest Univ (Nat Sci Ed)* (西北大学学报自然科学版), 2007, 37(4): 587
 - 35 Zhang YQ, Qin Z, Tu ZY. Study of the preparation of flavone imprinted silica microspheres and their molecular recognition function. *Chem Eng Technol*, 2007, 30(8): 1014
 - 36 ZHONG Shi-an(钟世安), HE Guo-wen(贺国文), LEI Qi-fu(雷启福), *et al* Study on the solid-phase extraction about catechin active constituent molecularly imprinted polymer (儿茶素活性成分分子印迹聚合物的固相萃取研究). *Chin J Anal Lab* (分析试验室), 2007, 26(10): 1
 - 37 XIANG Hai-yan(向海艳), ZHOU Chun-shan(周春山), ZHONG Shi-an(钟世安), *et al* Synthesis of resveratrol imprinted polymer and its application in separation of active ingredient in *Polygonum cuspidatum* Sieb et Zucc extracts (白藜芦醇分子印迹聚合物合成及其对中药虎杖提取液活性成分的分离). *Chin J Appl Chem* (应用化学), 2005, 22(7): 739

- 38 Haginaka J, Tabo H, Ichitani M, *et al* Uniformly- sized molecularly imprinted polymers for (-) - epigallocatechin gallate - epicatechin gallate and- gallic catechin gallate by multi- step swelling and polymerization method. *J Chromatogr A*, 2007, 1156(1- 2): 45
- 39 Figueiredo EC, Tarley CR, Kubota LT, *et al* On- line molecularly imprinted solid phase extraction for the selective spectrophotometric determination of catechol. *Microchem J*, 2007, 85: 290
- 40 Li H, Liu Y J, Yao SZ, *et al* Separation and purification of chlorogenic acid by molecularly imprinted polymer monolithic stationary phase. *J Chromatogr A*, 2005, 1098(1- 2): 66
- 41 ZHU Xi- fang (朱秀芳), CAO Qi- e (曹秋娥), DING Zhong- tao (丁中涛), *et al* Ferulic acid- selective polymers prepared by molecular imprinting of hydrogenated ferulic acid as dummy template (以氢化阿魏酸为假模板制备的印迹聚合物对阿魏酸的识别). *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2006, 34: S118
- 42 ZHANG Yu- qing (张裕卿), QIN Zhen (秦震), MA Zhen- rong (马振荣). Synthesis of silica adsorbent and its selective separation for flavone (新型硅质吸附剂的合成及对黄酮的选择分离). *J Tianjin Univ* (天津大学学报), 2007, 40(4): 411
- 43 XU Zhi- feng (许志锋), LIU Lan (刘岚), DENG Qin- ying (邓芹英). Preparation and binding characteristic of an Alizarin- Cu (Ac)₂- imprinted polymer [Alizarin- Cu (Ac)₂配合物的分子烙印聚合物的制备和结合特性]. *Chin J Appl Chem* (应用化学), 2006, 23(8): 826
- 44 YIN Yan- feng (尹艳凤), LI Juan- sheng (李倦生), YAO Yun- xian (姚运先), *et al* Synthesis and characterization of modin molecularly imprinted monolithic column (大黄素分子印迹整体柱的合成及性能表征). *J Instrum Anal* (分析测试学报), 2008, 27(7): 758
- 45 HOU Neng- bang (侯能邦), LIU Yuan- lin (刘院林), CAO Qi- e (曹秋娥), *et al* Studies on preparation and characteristics of molecular template polymer with coumarin (香豆素分子模板聚合物的合成与性能研究). *Acta Chim Sin* (化学学报), 2006, 64(16): 1705
- 46 Hu SG, Li L, He XW. Solid- phase extraction of esculetin from the ash bark of Chinese traditional medicine by using molecularly imprinted polymers. *J Chromatogr A*, 2005, (1): 31
- 47 Zhu XF, Cao Q E, Ding ZT, *et al* The preparation and the recognition property of molecularly imprinted polymer of podophyllotoxin in *Anal Chim Acta*, 2006, 561(1- 2): 171
- 48 Zhu LL, Chen LR, Xu XJ Application of a molecularly imprinted polymer for the effective recognition of different anti- epidermal growth factor receptor inhibitors. *Anal Chem*, 2003, 75(23): 6381
- 49 Kugimiya A, Matsui J, Abe H, *et al* Synthesis of castasterone selective polymers prepared by molecular imprinting. *Anal Chim Acta*, 1998, 365(1): 75
- 50 HAN Yong- ping (韩永萍), LIN Qiang (林强), WANG Chang (王昶). Preparation of stigmastanol molecular imprinting polymeric microspheres by suspension polymerization (悬浮法制备甾醇分子印迹聚合物微球). *Chin J Appl Chem* (应用化学), 2008, 25(5): 556
- 51 Karasov G, Lehotay JS, Deck J, *et al* Selective extraction of derivatives of p- hydroxy- benzoic acid from plant material by using a molecularly imprinted polymer. *J Sep Sci*, 2005, 28(18): 2468

(本文于 2008年 7月 15日收到)