分子印迹固相萃取技术在天然产物有效成分
分离分析中的应用进展

陈方方^{1,2}, 师彦平^{1*}

(1. 中国科学院兰州化学物理研究所, 中国科学院西北特色植物资源化学重点实验室/甘肃省
天然药物重点实验室, 甘肃 兰州 730000; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要:天然产物体系复杂,尤其是一些活性成分含量较低,采用一般的方法对其进行分离富集难度较大。分子印迹聚合物具有良好的亲和性和专一的选择性,将分子印迹固相萃取技术应用于天然药物资源样品前处理过程,能够选择性地分离富集复杂基质中的目标成分。本文对近几年分子印迹固相萃取技术在天然产物有效成分分离分析中的应用进行了总结,分析物包括黄酮类、多元酚类、生物碱类、有机酸类、苯丙素类、萜类以及其他一些类型的生物活性成分。

关键词:分子印迹固相萃取;天然药物资源;天然产物;分离分析;综述

中图分类号:O658 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-8713(2013)07-0626-08

Application of molecularly imprinted solid phase extraction
in the separation and determination of active
constituents from natural compounds

CHEN Fangfang^{1,2}, SHI Yanping^{1*}

(1. Key Laboratory of Chemistry of Northwestern Plant Resources, CAS/Key Laboratory for Natural Medicine of Gansu Province, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: The active constituents of natural medicine resources are complicated and in low content, which are difficult to be extracted and separated by general methods. Molecularly imprinted polymers are functional porous materials with molecular-specific recognition sites to a particular target molecule. The molecularly imprinted solid phase extraction has been used as a sample preparation technique for the separation of active constituents from natural medicine resources. The target molecules in a mixture of chemical species can be recognized selectively. In this review, the applications of the molecularly imprinted solid phase extraction for the determination and separation of active constituents (e. g. flavonoids, polyphenols, alkaloids, organic acids, phenylpropanoids, terpenoids, etc.) from natural compounds in recent years are summarized.

Key words: molecularly imprinted solid phase extraction; natural medicine resources; natural products; separation and determination; review

分子印迹,又称为分子烙印,是源于高分子化学、材料化学、生物化学等学科的一门交叉学科技术。目前,包括瑞典、日本、德国、美国、澳大利亚、法国和中国在内的几十个国家、上百个学术机构和企事业单位在从事分子印迹聚合物(molecularly im-

printing polymers, MIPs)的研究和开发。MIPs 材料具有良好的亲和性和专一的选择性,耐受高温、高压、酸碱和有机溶剂,制备简便易于保存,因此在固相萃取、色谱分离分析、膜分离、模拟酶、仿生传感器等方面得到了广泛的应用^[1-5]。自从 Sellergren 研

* 通讯联系人. Tel: (0931)4968208, E-mail: shiyp@licp.cas.cn.
基金项目:国家自然科学基金项目(21075127,20875095).
收稿日期:2013-05-17

究小组^[1]于 1994 年首次报道将 MIPs 材料作为 SPE 吸附剂以来,分子印迹固相萃取 (molecularly imprinted solid phase extraction, MISPE) 方法在国内外逐渐得到广泛的研究和应用。近年来,MISPE 技术在天然药物资源活性成分分离方面的应用受到越来越多的关注。本文主要概述了 MIPs 制备的选择因素以及 MISPE 技术在天然产物有效成分的萃取与分离分析中的应用进展。

1 分子印迹聚合物制备的选择因素

MIPs 的制备一般包括 3 个过程^[6]:首先,将模板分子与功能单体在适当的溶剂中通过一定的作用相互结合形成单体-模板分子复合物;然后加入交联剂在(热或光)引发剂引发下,功能单体与交联剂共聚,将复合物包裹在聚合物的立体结构中;最后将聚合物中的模板分子洗脱除去,便可得到具有与模板分子形状和功能基团排列相匹配的空穴。因此 MIPs 对模板分子有“记忆”功能,对其有高度的选择性。MIPs 的选择性很大程度上与功能单体、交联剂以及溶剂的正确选择有关。

1.1 功能单体的选择

功能单体的选择对得到高亲和力的 MIPs 非常重要,它决定了 MIPs 与目标分析物相互作用的稳定性和选择性识别能力。在共价键 MIPs 中功能单体应该具有能与模板分子发生共价结合的基团。同时,模板分子与功能单体之间的共价键应该容易通过适当的方法断裂。非共价键印迹中,以丙烯酸、甲基丙烯酸酯以及酰胺等为最常用的单体(见表 1)。

表 1 常用功能单体	
Table 1 Common functional monomers	
Type	Monomer
Covalent imprinting	4-vinylbenzeneboronic acid
	4-vinyl-benzaldehyde
	4-aminostyrene
	4-vinyl phenol
Non-covalent imprinting	acrylic acid
	methacrylic acid
	methyl methacrylate
	itaconic acid
	4-vinyl pyridine
	2-vinyl pyridine
	vinylimidazole
	acrylamide
	trifluoromethyl acrylic acid

在这些已经商用的功能单体中,甲基丙烯酸(MAA)应用较为广泛。其结构中除了一个 C=C 双键外,还有一个 -COOH 基团,既可以作为氢键的供体,也可以作为氢键的受体使用^[7]。因此,当模板

分子中含有氨基、脂肪醇、脂肪胺等基团时,甲基丙烯酸是非常适用的功能单体。具有双键结构的酰胺类和吡啶类单体也是性能优异的选择对象,当模板分子含有羧酸或含有氨基、酰胺基时,利用丙烯酸酰胺(AM)作为功能单体可以提高 MIPs 的选择性^[8-12]。此外 AM 在极性溶剂中也具有较强的氢键作用,这是许多功能单体所不具备的特点。根据模板分子的结构,选择与模板分子具有多作用位点的功能单体,可使 MIPs 的选择性大大提高。此外,也有报道采用两种或两种以上混合功能单体,可以得到识别性能更强的 MIPs。Mosbach 等^[13]分别采用 2-乙烯基吡啶-甲基丙烯酸和 2-乙烯基吡啶-甲基丙烯酸酰胺作为混合功能单体合成氨基酸衍生物 MIPs,证明两种不同性质功能单体的组合可以增加与模板分子相互作用的位点,比用二者中的单一功能单体获得更好的 MIPs 选择性。

1.2 交联剂的选择

由于要兼顾交联剂和功能单体在溶剂中的溶解性,可应用的交联剂种类不多。在有机溶剂中进行分子印迹实验,乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA)以及二乙烯基苯(DVB)是常用的交联剂^[14-16]。通过 EGDMA 合成的聚合物孔穴容易让目标分子接近,迅速达到吸附平衡,同时还能使 MIPs 保持一定的刚性,在洗去模板分子后,可以保持孔穴的大小和形状以便再结合。二乙烯基苯能够提供较大的交联度从而使制备的 MIPs 刚性很大,因此也使用得较多。而在水相中常用的典型交联剂则是 N,N'-亚甲基双丙烯酰胺。

1.3 溶剂的选择

所选择的溶剂首先应能溶解聚合反应中所需的各种试剂。它的主要作用一是为印迹聚合物提供多孔结构,进而促进目标分子的键合速度;多孔结构的形成对于目标分子的释出也很重要。二是能分散在聚合反应中所释放的热量,否则局部反应温度过高会导致某些副反应的产生。溶剂的选择主要依赖于印迹的种类,在共价键印迹法中,可以溶解体系中所有组分的溶剂都可以使用。而在非共价键印迹中,为促进模板分子和功能单体复合物形成的稳定性,常优先选用弱极性有机溶剂,同时也要考虑溶解性能。常用的溶剂有甲苯、氯仿、二氯甲烷、乙腈、四氢呋喃、二甲基亚砷等。不过近年来,在极性溶剂中的印迹也取得了进展。Mosbach 等^[17]在甲醇与水混合体系中,以 4-乙烯基吡啶(4-VP)为功能单体,成功印迹了除草剂 2,4-二氯苯氧基乙酸 MIPs。杨宏

等^[18]在甲醇与甲苯混合溶剂中,以 MAA 为功能单体,印迹了氯磺隆 MIPs,并成功应用于水、土壤等实际样品的检测分析。Makoto 等^[19]、Haginaka 等^[20]、Yoshida 等^[21]以及罗旭彪等^[22]以水为溶剂进行分子印迹,并取得了良好的结果。这些研究为分子印迹技术接近天然分子识别系统水平奠定了一定基础。

2 MISPE 在天然产物萃取中的应用

中药作为重要的天然药物资源之一,化学成分复杂,结构类型多样,尤其是一些活性成分含量较低,难以富集。而且其体系复杂,大分子和小分子共存,生命和非生命物质共存,特别是存在结构相似的化合物,这些都导致中药活性成分的分离纯化困难。目前,用于中药活性成分的分离材料主要有硅胶、氧化铝、大孔吸附树脂和凝胶等。这些传统吸附剂选择性较差,经常需要多次溶剂萃取和柱层析来得到纯度高的活性成分,分离效率和收率较低,而且会造成环境的污染。MISPE 技术中以 MIPs 作为吸附剂,可以选择性识别模板分子及其结构类似物,操作简单,溶剂消耗量小。MISPE 对天然产物活性成分的研究主要集中在黄酮类、多元酚类、有机酸、生物碱、苯丙素和萜类这几类化合物。

2.1 黄酮类活性成分的分离纯化

黄酮类化合物是广泛存在于自然界的一大类化合物,多具有颜色。在植物体内大部分与糖结合成苷,少部分以游离形式存在。黄酮类化合物不仅分布广泛,而且生物活性多样,如抑制特异性关键酶、调节神经递质的释放等,具有降血脂、降胆固醇、保肝抗炎以及雌激素样作用^[23]。目前已经以 7 种黄酮类化合物(槲皮素、芦丁、木犀草素、光甘草定、葛根素、山柰酚和非瑟酮)作为模板分子合成 MIPs,进行了 MISPE 技术应用研究。Mizaikoff 等^[24]、Liu 等^[25]、Song 等^[26]、Turner 等^[27]、Xu 等^[28]分别以槲皮素为模板分子合成 MIPs,并建立了 MISPE 方法用于萃取葡萄酒、侧柏叶等复杂基质以及血浆中的槲皮素,取得了良好的富集纯化效果。基于 MIPs 也可以同时吸附结构类似物的特点,Mizaikoff 等^[29]采用热聚合的方法,以 4-VP 为功能单体,EGDMA 为交联剂,槲皮素为模板分子制备了 MIPs。以此为吸附剂所建立的固相萃取方法成功用于富集分离槲皮素以及结构类似的黄酮类化合物。Lopez 等^[30]采用与 Mizaikoff 相同的合成方法,以槲皮素为模板分子在丙酮、乙腈混合溶剂体系

中制备了 MIPs。以此为吸附剂所建立的固相萃取方法不仅对槲皮素模板分子有特异吸附性能,对类似物儿茶酚和没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)也具有优异的吸附性能,已成功用于富集分离天然产物中的儿茶酚。Xu 等^[31]以槲皮素为模板分子,AM 为功能单体,在四氢呋喃溶剂中合成 MIPs,对槲皮素及其结构类似物都有特异吸附性能。应用于固相萃取中,成功地从银杏叶提取物中分离富集到了槲皮素和山柰酚生物活性成分。Pakade 等^[32]以槲皮素为模板分子合成 MIPs,并建立了 MISPE 方法用于富集分离辣木叶和花中的槲皮素和山柰酚等黄酮类成分,回收率(75%~86%)结果良好。此外,Wang 等^[33]以芦丁为模板分子,AM 为功能单体,通过微波加热本体聚合制备了 MIPs,并用于中药蒺藜、杜仲、青蒿和三白草中芦丁活性成分的萃取分离,回收率为 85%~91%。Theodoridis 等^[34]以芦丁和槲皮素作为混合模板分子合成 MIPs,建立了 MISPE 方法用于葡萄酒、果汁和茶中黄酮类成分的萃取分离,取得了良好的结果。还有报道分别以非瑟酮^[35]、葛根素^[36~38]、光甘草定^[39]、山柰酚^[40]和木犀草素^[41]为模板分子,并建立了 MISPE 技术用于富集分离中药黄芩、葛根、甘草、高良姜和马齿苋以及花生壳中相应模板分子生物活性成分。

2.2 多元酚类活性成分的分离纯化

目前已有 MISPE 应用于白藜芦醇、茶多酚、虎杖苷和 α -生育酚酚类化合物的研究。白藜芦醇是一种广泛存在于葡萄、花生和虎杖等 70 多种植物中的天然二苯乙烯类多酚物质,是一种天然的抗氧化剂,可降低血液黏稠度,抑制血小板凝结和血管舒张,保持血液畅通,可预防癌症的发生和发展。Zhang 等^[42]以白藜芦醇为模板分子,AM 为功能单体,EGDMA 为交联剂,对硅球进行氨丙基三甲氧基硅烷试剂硅烷化处理后通过表面印迹技术在二氧化硅微球表面进行分子印迹过程。合成的 MIPs 分子印迹层的厚度为 150 nm,作为固相萃取吸附剂用于萃取中药虎杖中的白藜芦醇取得了良好的结果。Zhang 等^[43]用同样的制备过程,对硅球进行乙烯基三甲基硅烷试剂的硅烷化处理后,通过表面印迹方法制备白藜芦醇 MIPs,分子印迹层厚度为 200 nm。并通过静态平衡结合法以及 Scatchard 分析法研究了该聚合物的结合能力和选择性能。结果表明,该印迹聚合物中形成了两类不同的结合位点,最大吸附量分别为 9.087 和 13.80 mg/g。将该 MIPs 作为固相萃取吸附剂用于分离中药虎杖提取液中的白藜

芦醇,得到良好的效果。Hearn 等^[44]以白藜芦醇为模板分子,4-VP 为功能单体合成 MIPs 建立 MISPE 方法,成功地从花生废渣中分离富集出活性成分白藜芦醇,回收率大于 60%。Crescenzi 等^[45]以白藜芦醇为模板分子合成 MIPs 并建立固相萃取方法,用于分析检测天然产物以及葡萄酒中的多酚类成分。所合成的材料对白藜芦醇以及槲皮素等结构类似物都有良好的吸附性能,对白藜芦醇和槲皮素在实际样品的检出限低至 1.5 和 7.0 μg/L。Zhong 等^[46]以 EGCG 为模板分子,MAA 为功能单体,EGDMA 为交联剂,在光冷引发条件下合成了 EGCG 的 MIPs,以此为固相萃取吸附剂用于提取茶叶中的茶多酚,回收率达到了 69.3%。且制备的 MIPs 固相萃取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,而非印迹柱却没有这样的选择性识别能力。Lehotay 等^[47,48]以儿茶酚为模板分子合成 MIPs 并建立 MISPE 方法成功用于绿茶提取物中茶多酚类化合物的富集分离。Yao 等^[49]以表儿茶素为模板分子制备了 MIPs,粒子大小在 15 ~ 38 μm 范围内,分布范围较窄。对表儿茶素的吸附量达到 38 μg/g,可用于固相萃取绿茶提取物中的表儿茶素活性成分。此外,Xiang 等^[50]以白藜芦醇苷为模板分子,分别以 AM、4-VP、甲基丙烯酸羟乙酯(HEMA)、MAA 为功能单体,EGDMA 为交联剂,采用本体聚合法制备了白藜芦醇苷 MIPs。采用静态平衡结合实验研究了印迹聚合物对模板分子及不同底物的识别性能。结果表明,以 AM 为功能单体的 MIP1 对模板分子的识别性能最好,以 4-VP 为功能单体的聚合物其次,以 HEMA 及以 MAA 为功能单体的聚合物的分子识别性能较差。表明功能单体与模板分子之间相互作用的强弱对 MIP 的识别能力有较大的影响。静态平衡结合法以及 Scatchard 分析法表明,MIP1 对模板

分子呈现较好的结合能力和选择性,该印迹聚合物中形成了两类不同的结合位点,解离常数分别为 7.43×10^{-5} 、 3.70×10^{-3} mol/L。将 MIP1 用于虎杖提取物中白藜芦醇苷的固相萃取分离,效果良好。Puoci 等^[51]以 α-生育酚为模板分子,MAA 为功能单体合成 MIPs 用于固相萃取天然植物中的 α-生育酚活性成分,取得良好的结果,检出限和检测量值分别为 3.49×10^{-7} 和 1.16×10^{-6} mol/L。

2.3 生物碱类活性成分的分离纯化

一些生物碱因具有抗肿瘤、抗癌、低毒、低成本的特点,最近已成为人们研究的焦点。科学、高效地从植物中提取和分离纯化生物碱成分是扩大其实际应用的核心问题。目前应用 MISPE 对 12 种生物碱如长春碱、麻黄碱、黄连素等进行了研究。Lopez 等^[52]分别以长春碱和文朵灵为模板分子,MAA 或亚甲基丁二酸为功能单体,EGDMA 为交联剂,在乙腈或丙酮溶剂中通过热聚合的方式合成 MIPs 用于萃取分离长春花中的吲哚类生物碱活性成分。实验结果表明以长春碱为模板分子制备的 MIPs 对两种化合物都有较好的特异性吸附能力,对长春碱的回收率达到 101%。长春碱 MIPs 的最大吸附量为 2.43 μmol/g。Dong 等^[53]以麻黄碱为模板分子,MAA 为功能单体制备麻黄碱 MIPs,成功地从麻黄植物提取液中固相萃取分离出麻黄碱活性成分。Chen 等^[54]以黄连素为模板分子,通过非共价键方法合成黄连素 MIPs 用于固相萃取,对黄连素具有良好的特异性吸附能力,可以有效地将非洲防己碱与之分离。静态平衡结合法以及 Scatchard 分析法表明,MIPs 对模板分子呈现较好的结合能力和选择性,解离常数为 65.8 μmol/L。所建立的方法可成功用于天然产物中黄连素的分离分析。此外,有报道对其他类的生物碱也进行了 MISPE 研究,如表 2 所示。

表 2 分子印迹固相萃取技术在生物碱类活性成分纯化分离中的应用				
Table 2 Applications of MISPE in the extraction and separation of the alkaloid active constituents				
Template	Analytes	Samples	Recovery/%	Reference
Vinblastine	vinblastine	<i>Catharanthus roseus</i> extract	93.8	[55]
Caffeine	caffeine	beverages and spiked human plasma	81 ~ 83.4	[56]
Caffeine	caffeine	food sample containing caffeine	80 ~ 85	[57]
Caffeine	caffeine	green tea	84.83	[58]
Caffeine	caffeine	tea and human plasma after administration of tea	97.5	[59]
Matrine	matrine	<i>Sophora flavescens</i>	71.4	[60]
Matrine	matrine	<i>Radix Sophorae Tonkinensis</i>	77	[61]
Nicotine	nicotine	tobacco	99.5	[62]
Hyoscyamine	scopolamine	human and calf urine and serum	79	[63]
Atropine	atropine, scopolamine	gastrointestinal drug	98.9, 99.9	[64]
Sinomenine	sinomenine	biological samples	98	[65]
Huperzine A	huperzine A	<i>Huperzia serrata</i>	86.5 ~ 92.8	[66]

2.4 有机酸类活性成分的分离纯化

目前已经有一些对绿原酸、原儿茶酸、咖啡酸等化合物进行的 MISPE 应用研究。绿原酸是酚类抗氧化剂,它不仅能快速地消除羟基自由基,而且能有效地通过电子转移修复脱氧鸟苷酸氧化性羟基加成自由基。除了抗氧化力强外,绿原酸还具有抑制和杀灭多种致病菌和病毒、抗肿瘤、抑制突变、抗致畸、抗过敏、升高白细胞、保肝利胆、降血压等功能^[67]。姚守拙等^[68]以绿原酸为模板,MAA 为功能单体,EGDMA 为交联剂,采用沉淀聚合技术在碳纳米管表面成功制备绿原酸印迹材料。吸附动力学及吸附容量实验结果表明,此 MIPs 对绿原酸的结合存在两个结合位点,最大吸附容量分别为 21.5 和 32.7 $\mu\text{mol/g}$ 。此印迹材料作为固相萃取吸附剂,成功应用于金银花提取液中绿原酸的富集分离研究,富集因子达 25。Lehotay 等^[69]、Shi 等^[70]以原儿茶酸为模板分子,分别通过本体聚合和沉淀聚合的方法合成原儿茶酸 MIPs 并建立固相萃取方法,分别应用于香蜂花和中药千年健中选择性萃取分离原儿茶酸及结构类似酚酸类成分,回收率结果良好。Li 等^[71]以咖啡酸苯乙基酯为模板分子,4-VP 为功能单体制备出 MIPs,并以此为固相萃取吸附剂选择性分离富集 25 种蘑菇中的咖啡酸苯乙基酯和咖啡酸生物活性成分,回收率分别为 85% 和 52.3%。Row 等^[72]以咖啡酸为模板分子,AM 为功能单体制备 MIPs,并成功用于固相萃取海蓬子植物中的原儿茶酸、咖啡酸和阿魏酸生物活性成分,回收率为 71.08% ~ 81.02%。此外,袁小红等^[73]采用柯里拉京为模板分子制备 MIPs 并用于固相萃取中药叶下珠中的柯里拉京及其结构类似物,能特异性地将柯里拉京及老鹳草素从叶下珠提取液中萃取出来,可用于富集、萃取中药中的柯里拉京及其结构类似物。

2.5 苯丙素类生物活性成分的分离纯化

鬼臼毒素来源于天然产物,因其抗肿瘤活性而引起人们的关注。Yuan 等^[74]等以鬼臼毒素为模板

分子,AM 为功能单体,EGDMA 和 DVB 为双交联剂制备出鬼臼毒素 MIPs 用于固相萃取八角莲、桃儿七和窝儿七中的鬼臼毒素生物活性成分,取得了良好的结果,回收率为 89.5% ~ 91.1%。Ding 等^[75]也以鬼臼毒素为模板分子,采用类似方法合成 MIPs。吸附动力学及吸附容量实验结果表明,此 MIPs 对鬼臼毒素的结合存在两个结合位点,解离常数分别为 0.337 和 5.76 mmol/L 。将其应用于固相萃取藏药桃儿七中的鬼臼毒素成分,回收率良好,可以成功地使其与 4'-去甲鬼臼毒素分离开来。He 等^[76]和 Ding 等^[77]分别以秦皮乙素和秦皮甲素为模板分子制备了 MIPs,分别用于固相萃取中药秦皮中的秦皮乙素和秦皮甲素,回收率结果良好,对秦皮甲素的回收率可以达到 74.7%。

2.6 萜类生物活性成分的分离纯化

奇壬醇是二萜类化合物,近年来研究发现奇壬醇在抗炎、抗风湿以及免疫系统调节方面具有良好的活性,是临床研究治疗抗风湿药物的主要药物之一^[78]。目前,奇壬醇的分离纯化主要采用硅胶等传统的吸附剂,分离和纯化工艺复杂,溶剂用量大,环境污染严重;同时由于传统的吸附剂亲和性和选择性差,奇壬醇的分离效率低。Shi 等^[79]通过非共价键印迹方法首次合成了以奇壬醇为模板分子的 MIPs 材料。将 MIPs 填充于固相萃取柱中应用于中药葎苈草提取物中奇壬醇的萃取,所制得的 MIP 对目标分析物具有良好的选择性和吸附性能,回收率可达 80.9%。Cao 等^[80]以青蒿素为模板分子,MAA 为功能单体,EGDMA 为交联剂,通过表面印迹在硅胶微球表面形成印迹层,对青蒿素的吸附量为 37.13 mg/g ,用于固相萃取青蒿中的青蒿素活性成分,取得了良好的结果。Chen 等^[81]以非共价方法合成了青蒿素 MIPs,对青蒿素的吸附量为 8.46 mg/g ,其吸附量虽然低于表面印迹方法,但也可成功地从青蒿提取液中萃取分离出青蒿素。此外,对其他萜类活性成分也进行了 MISPE 研究(见表 3)。

表 3 分子印迹固相萃取技术在萜类活性成分纯化分离中的应用
Table 3 Applications of MISPE in the extraction and separation of the terpenoid active constituents

Template	Analytes	Samples	Recovery/%	Reference
Atractylenolide III	atractylenolide III and its analogues	the exacts of <i>Herba Atractylodes Macrocephala</i> and <i>Codonopsis pilosula</i>	102.2	[82]
18- β -Glycyrrhetic acid	18- β -glycyrrhetic acid	extract of liquorice roots	98	[83]
Ursolic acid	ursolic acid	<i>Ilex kudingcha</i> C. J. Tseng	96.8	[84]
Glycyrrhizic acid	glycyrrhizic acid	liquorice roots	80	[85]
umbelliferone	umbelliferone	plant extracts	77	[86]
Andrographolide	andrographolide dehydroandrographolide	extract of herb <i>Andrographis paniculata</i> (Burm. f.) Nees (APN)	96.4 - 103.8 96 - 104.2	[87]
Oleanolic acid	oleanolic acid	roots of kiwi fruit	84 - 92.6	[88]

2.7 其他生物活性成分的分离纯化

除上文所述之外,有报道对大黄酸、丹参酮、17β-雌二醇、川芎嗪、藏红花素等化合物也进行了

MISPE 应用研究。在此,对部分报道中模板分子的选择、目标分子的检测、应用的基质以及回收率进行了总结(见表 4)。

表 4 分子印迹固相萃取技术在其他类活性成分纯化分离中的应用
Table 4 Applications of MISPE in the extraction and separation of other active constituents

Templates	Analytes	Sample	Recovery/%	Reference
Rhein	rhein	root of kiwi fruit	79.8 – 92.7	[89]
Tanshinone IIA	tanshinone I, tanshinone IIA, and-cryptotanshinone	<i>Radix Salvia Miltiorrhiza</i>	>85.6	[90]
9,10-Phenanthrenequinone	cryptotanshinone, tanshinone I, tanshinone IIA	<i>Salvia miltiorrhiza Bunge</i>	not reported	[91]
Tanshinone IIA	tanshinone IIA	<i>Salvia miltiorrhiza Bunge</i>	93	[92]
Ligustrazine	ligustrazine	<i>Ligusticum chuanxiong</i> Hort.	93	[93]
Gentiobiose	crocin	<i>Crocus sativus</i>	84	[94]
3-Hydroxy-2-naphthoic acid, 1-methylpiperazine	indole-3-acetic acid indole-3-propionic acid indole-3-butyric acid 1-naphthaleneacetic acid	banana	78.5 – 107.7	[95]
β-Sitosterol	β-sitosterol	<i>Oldenlandia diffusa</i>	75.3 – 86.5	[96]
Kukoamine A	kukoamine A	<i>Solanum tuberosum</i>	90	[97]
L-Theanine	L-theanine	green tea	87.8	[98]

3 结论

天然药物体系中的有效成分复杂且含量差异大,对其进行分离纯化是一项非常艰巨的工作。传统分离材料选择性差,分离效率低,容易丢失微量有效成分。如何从复杂的天然药物体系中分离纯化活性成分成为中药开发的关键问题之一。MIPs 材料对特定化合物及其类似物具有专一吸附能力,具有其他分离材料所不具备的高选择性,将其应用于固相萃取天然药物中的活性成分,可以提高萃取效率,简化天然药物样品前处理过程,在天然药物活性成分的分离和分析中具有很好的应用前景。但是此项技术在实际应用中还存在一些问题,比如吸附容量不够大,富集倍数不够高,识别能力容易受上样溶剂的影响,在水溶液中的选择性比较差等,还有待于大量研究工作的开展。

参考文献:

[1] Sellergren B. *Anal Chem*, 1994, 66(9): 1578

[2] Zheng C, Huang Y P, Liu Z S. *Anal Bioanal Chem*, 2013, 405(7): 2147

[3] Sergeyeva T A, Slinchenko O A, Gorbach L A, et al. *Anal Chim Acta*, 2010, 659(1/2): 274

[4] Fang G Z, Lu J P, Pan M F, et al. *Food Anal Meth*, 2011, 4(4): 590

[5] Dickert F L, Thierer S. *Adv Mater*, 1996, 8(12): 987

[6] Haupt K. *Anal Chem*, 2003, 75(17): 376

[7] Ansell R J, Mosbach K. *J Chromatogr A*, 1997, 787(1/2): 55

[8] Cheli W, Fen M A, Haiyan Z, et al. *Fine Chem*, 2007, 24(8): 729

[9] Zhang Y F, Qi C, Mei F, et al. *Chinese Journal of Applied Chemistry* (张艳芳, 祁超, 梅芳, 等. 应用化学), 2009, 26(7): 786

[10] Khodadadian M, Ahmadi F. *Talanta*, 2010, 81(4/5): 1446

[11] Zhu L L, Xu X J. *J Chromatogr A*, 2003, 991(2): 151

[12] Zhou J, He X W, Li Y J. *Anal Commun*, 1999, 36(6): 243

[13] Ramstrom O, Andersson L I, Mosbach K. *J Org Chem*, 1993, 58(26): 7562

[14] Yu C, Mosbach K. *J Chromatogr A*, 2000, 888(1/2): 63

[15] Jiang T H, Zhao L X, Chu B L, et al. *Talanta*, 2009, 78(2): 442

[16] Muhammad T, Nur Z, Piletska E V, et al. *Analyst*, 2012, 137(11): 2623

[17] Haupt K, Dzgoev A, Mosbach K. *Anal Chem*, 1998, 70(3): 628

[18] Fu X W, Wu Y J, Qu J R, et al. *Environ Monit Assess*, 2012, 184(7): 4161

[19] Asanuma H, Akiyama T, Kajiya K, et al. *Anal Chim Acta*, 2001, 435(1): 25

[20] Haginaka J, Takehira H, Hosoya K, et al. *J Chromatogr A*, 1998, 816(2): 113

[21] Yoshida M, Uezu K, Goto M, et al. *J Appl Poly Sci*, 1999, 73(7): 1223

[22] Luo X, Deng F, Luo S, et al. *J Appl Poly Sci*, 2011, 121(4): 1930

[23] Zhou X, Li H J. *Chinese Journal of New Drugs* (周新, 李宏杰. 中国新药杂志), 2007, 16(5): 350

[24] Molinelli A, Weiss R, Mizaikoff B. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(7): 1804

[25] Yan L S, Jing J, Huang Z M, et al. *Chinese Journal of Analysis Laboratory* (颜流水, 井晶, 黄智敏, 等. 分析试验室), 2006, 25(5): 97

[26] Song X, Li J, Wang J, et al. *Talanta*, 2009, 80(2): 694

[27] Pakade V, Lindahl S, Chimuka L, et al. *J Chromatogr A*, 2012, 1230: 15

[28] Xie J C, Chen L R, Li C X, et al. *J Chromatogr B*, 2003, 788(2): 233

- [29] Weiss R, Molinelli A, Jakusch M, et al. *Bioseparation*, 2001, 10(6): 379
- [30] López M del M C, Pérez M C C, García M S D, et al. *Anal Chim Acta*, 2012, 721: 68
- [31] Xie J C, Zhu L L, Luo H P, et al. *J Chromatogr A*, 2001, 934(1/2): 1
- [32] Pakade V, Cukrowska E, Lindahl S, et al. *J Sep Sci*, 2013, 36(3): 548
- [33] Peng L, Wang Y, Zeng H, et al. *Analyst*, 2011, 136(4): 756
- [34] Theodoridis G, Lasakova M, Skerikova V, et al. *J Sep Sci*, 2006, 29(15): 2310
- [35] Li L, Hu S G, He X W, et al. *Chemical Journal of Chinese Universities-Chinese* (李礼, 胡树国, 何锡文, 等. 高等学校化学学报), 2006, 27(4): 608
- [36] Chen L N, Du S H, Ma K F, et al. *Chemistry and Industry of Forest Products* (陈立娜, 都述虎, 马坤芳, 等. 林产化学与工业), 2008, 28(3): 18
- [37] Chen L, Jia X, Lu Q, et al. *Sep Purif Technol*, 2010, 71(3): 324
- [38] Luo J, Zhang L, Chen D, et al. *Analyst*, 2012, 137(12): 2891
- [39] Yan H, Tian M, Row K H. *Sep Sci Technol*, 2009, 44(2): 359
- [40] Zhu H, Wang Y, Yuan Y, et al. *Anal Meth*, 2011, 3(2): 348
- [41] Xiao S J, Li H X, Yu S W. *Chemical Industry and Engineering Progress* (肖淑娟, 李红霞, 于守武. 化工进展), 2010, 29(2): 293
- [42] Zhang Z, Liu L, Li H, et al. *Appl Surf Sci*, 2009, 255(23): 9327
- [43] Zhang M L, Zhang Z H, Liu L, et al. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* (张明磊, 张朝晖, 刘丽, 等. 分析化学), 2010, 38(1): 129
- [44] Schwarz L J, Danylec B, Yang Y, et al. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(8): 3539
- [45] Euterpio M A, Pagano I, Piccinelli A L, et al. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(8): 1640
- [46] Zhong S A, He G W, Lei Q F, et al. *Chinese Journal of Analysis Laboratory* (钟世安, 贺国文, 雷启福, 等. 分析试验室), 2007, 26(10): 1
- [47] Blahova E, Lehotay J, Skacani I. *J Liq Chromatogr R T*, 2004, 27(17): 2715
- [48] Blahova E, Lehotay J. *Chem Anal*, 2006, 51(5): 795
- [49] Ding L, Li H, Tang F, et al. *Anal Lett*, 2006, 39(12): 2373
- [50] Xiang H, Fan Y, Li M, et al. *J Instru Anal*, 2013, 32(1): 45
- [51] Puoci F, Cirillo G, Curcio M, et al. *Anal Chim Acta*, 2007, 593(2): 164
- [52] Lopez C, Claude B, Morin P, et al. *Anal Chim Acta*, 2011, 683(2): 198
- [53] Dong X C, Wei W A, Ma S J, et al. *J Chromatogr A*, 2005, 1070(1/2): 125
- [54] Chen C Y, Wang C H, Chen A H. *Talanta*, 2011, 84(4): 1038
- [55] Zhu Q, Huang D, Li L, et al. *Sci China-Chem*, 2010, 53(12): 2587
- [56] Theodoridis G, Manesiotis P. *J Chromatogr A*, 2002, 948(1/2): 163
- [57] Farrington K, Magner E, Regan F. *Anal Chim Acta*, 2006, 566(1): 60
- [58] Jin Y Z, Row K H. *J Ind Engi Chem*, 2006, 12(3): 494
- [59] Wei S L, Guo X J, Wang H W, et al. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* (韦寿莲, 郭小君, 汪洪武, 等. 分析化学), 2012, 40(7): 1071
- [60] Lai J P, He X W, Jiang Y, et al. *Anal Bioanal Chem*, 2003, 375(2): 264
- [61] Guo Z, Zhang L, Song C, et al. *Analyst*, 2011, 136(14): 3016
- [62] Mullett W M, Lai E P C, Selligren B. *Anal Commun*, 1999, 36(6): 217
- [63] Theodoridis G, Kantifes A, Manesiotis P, et al. *J Chromatogr A*, 2003, 987(1/2): 103
- [64] Nakamura M, Ono M, Nakajima T, et al. *J Pharm Biomed Anal*, 2005, 37(2): 231
- [65] Lin L Q, Zhang J, Fu Q, et al. *Anal Chim Acta*, 2006, 561(1/2): 178
- [66] Wang G, Cao Q, Zhu X, et al. *J Appl Poly Sci*, 2009, 113(5): 3049
- [67] Xie B X, Sun Z D. *Modern Food Science and Technology* (谢碧秀, 孙智达. 现代食品科技), 2007, 23(9): 93
- [68] Zhang H B, Zhang Z H, Nie Y, et al. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* (张华斌, 张朝晖, 聂燕, 等. 分析化学), 2009, 37(7): 955
- [69] Karasova G, Lehotay J, Sadecka J, et al. *J Sep Sci*, 2005, 28(18): 2468
- [70] Chen F F, Wang G Y, Shi Y P. *J Sep Sci*, 2011, 34(19): 2602
- [71] Li N, Ng T B, Wong J H, et al. *Food Chem*, 2013, 139(1/4): 1161
- [72] Zhu T, Li S, Row K H. *J Appl Poly Sci*, 2011, 121(3): 1691
- [73] Yuan X, Xu X, Zhu W, et al. *Chinese Pharmaceutical Journal* (袁小红, 徐筱杰, 朱伟, 等. 中国药学杂志), 2010, 45(8): 574
- [74] Yuan Y, Wang Y Z, Huang M D, et al. *Anal Chim Acta*, 2011, 695(1/2): 63
- [75] Zhu X F, Cao Q, Hou N B, et al. *Anal Chim Acta*, 2006, 561(1/2): 171
- [76] Hu S G, Li L, He X W. *J Chromatogr A*, 2005, 1062(1): 31
- [77] Wang G S, Cao Q E, Ding Z T, et al. *Helv Chim Acta*, 2007, 90(6): 1179
- [78] Bi J, Liu M, Lin W H, et al. *Chinese Traditional and Herbal Drugs* (毕娟, 刘淼, 林文翰, 等. 中草药), 2005, 36(6): 866
- [79] Chen F F, Wang R, Shi Y P. *Talanta*, 2012, 89: 505
- [80] Gong X Y, Cao X J. *J Biotechnol*, 2011, 153(1/2): 8
- [81] Xie J, Cai C, Yang H, et al. *Anal Lett*, 2013, 46(1): 107
- [82] Jiang Y F, Li J J, Zhong Y Q, et al. *Chinese Pharmaceutical Journal* (江一帆, 李进进, 衷友泉, 等. 中国药学杂志), 2012, 47(13): 1077
- [83] Claude B, Morin P, Lafosse M, et al. *Talanta*, 2008, 75(2): 344
- [84] Liu H, Liu C, Yang X, et al. *J Sep Sci*, 2008, 31(20): 3573
- [85] Cirillo G, Curcio M, Parisi O I, et al. *Food Chem*, 2011,

125(3) : 1058

[86] Hrobonova K, Spevak A, Spisska L U, et al. Chem Pap, 2013, 67(5) : 477

[87] Yin X, Liu Q, Jiang Y, et al. Spectrochim Acta A, 2011, 79(1) : 191

[88] Chen X, Zhang Z, Yang X, et al. Talanta, 2012, 99 : 959

[89] Chen X, Zhang Z, Yang X, et al. J Sep Sci, 2012, 35(18) : 2414

[90] Yan H, Tian M, Row K H. Chin J Chem, 2009, 27(11) : 2212

[91] Tian M, Bi W, Row K H. Anal Bioanal Chem, 2011, 399(7) : 2495

[92] Jia X, Li H, Luo J, et al. Anal Bioanal Chem, 2012, 403

(9) : 2691

[93] Guo Z F, Guo T T, Guo M. Anal Chim Acta, 2008, 612(2) : 136

[94] Mohajeri S A, Hosseinzadeh H, Keyhanfar F, et al. J Sep Sci, 2010, 33(15) : 2302

[95] Zhu Q, Wang L, Wu S, et al. Food Chem, 2009, 113(2) : 608

[96] Zhu T, Yoon C, Row K. Chin J Chem, 2011, 29(6) : 1246

[97] Piletska E V, Burns R, Terry L A, et al. J Agric Food Chem, 2012, 60(1) : 95

[98] Lachova M, Lehotay J, Karasova G, et al. J Liq Chromatogr R T, 2007, 30(13/14/15/16) : 2045