

- 型大鼠血液流变学及血小板聚集的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(1): 6-8.
- [23] 黄晓瑾. 醋柳黄酮对家兔血液流变性、血小板及凝血功能的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(12): 1146-1148.
- [24] 李欣燕, 韩国柱, 张书文, 等. 乌苏里藜芦碱对血小板聚集及凝血与出血时间的影响[J]. 中草药, 2004, 35(11): 1269-1272.
- [25] 夏 泉, 董婷霞, 詹华强, 等. 莪术二酮对ADP诱导的兔血小板聚集的抑制作用[J]. 中国药理学通报, 2006, 22(9): 1151-1152.
- [26] 聂大年, 尹松梅, 谢双锋, 等. 人参皂苷-2A 体外抗血小板作用的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2006, 26(S1): 83-85.
- [27] 崔秀明, 徐珞珊, 王 强. 人参皂苷Rb3的抗血小板和抗血栓作用[J]. 中成药, 2006, 28(10): 1526-1528.
- [28] 付晓春, 李少鹏, 汪小根, 等. 荜苳的抗血栓作用研究[J]. 中国药房, 2006, 17(17): 1292-1294.
- [29] 陈 蓉, 谢梅林, 周 佳. 蛇麻子素抑制血栓形成和血小板聚集的实验研究[J]. 中国药理学通报, 2005, 21(4): 440-443.
- [30] 黄敬群, 罗晓星, 王四旺, 等. 桂皮醛对抗血小板聚集和血栓形成的特点[J]. 中国临床康复, 2006, 10(31): 34-36.

分子印迹聚合物在中药研究中的应用

朱全红, 冯建涌, 罗佳波

(南方医科大学中医药学院, 广东 广州 510515)

摘 要: 分子印迹聚合物(M IP)是一种在空间结构和结合位点上与模板分子完全匹配的高分子聚合物, 该聚合物留有模板分子的“印迹”, 因此对模板分子具有专一的选择性结合能力。对M IP的原理、制备、特点及其在中药有效成分的分离、有效组分群的分离、活性成分的筛选、复杂样品的处理以及目标分子的分析等方面的应用进行综述。

关键词: 分子印迹聚合物(M IP); 分子印迹技术; 中药

中图分类号: R 284

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)02-0294-04

Application of molecular imprinting polymer in study on Chinese materia medica

ZHU Quan-hong, FENG Jian-yong, LUO Jia-bo

(School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

Key words: molecular imprinting polymer (M IP); molecular imprinting technique (M IT); Chinese materia medica (CMM)

分子印迹技术(molecular imprinting technique, M IT)又称分子烙印技术,是在模拟生物体内抗原与抗体相互作用的“锁匙”原理基础上发展起来的一种新型技术,通常经过3个步骤实现:一是印迹,即以特定的目标分子为模板,选择具有适当功能基的功能单体,使二者之间通过共价或非共价键作用形成模板分子-功能单体复合物;二是聚合,在模板分子-功能单体复合物中加入交联剂和引发剂,通过聚合反应在模板分子周围形成高度交联的高分子聚合物;三是萃取,即采用适当的方法将模板分子从聚合物中抽提或解离出来,在聚合物上就留有模板分子的“印迹”,其在空间结构上与模板分子完美匹配且能专一性识别模板分子,这样的聚合物称为分子印迹聚合物(molecular imprinting polymer, M IP)。M IP是一种基于三维空间聚合网格的聚合物,在每个网格中包含有对模板分子具有特殊亲和力的活性识别位点,因此对模板分子具有特异的“记忆”功能,表现出特殊的亲和性、高度的选择性及卓越的分子识别性能,再加上制备简单、性质稳定等特点,有“塑料抗体”之称,目前已被广泛用于仿生

传感器、酶样催化剂、药物的发现与传递以及复杂体系中样品的制备分离、分析等领域,特别是作为固相萃取的吸附剂以及高效液相色谱的柱填料用于分离、富集及分析特定的目标分子^[1,2],如环境中的污染物、生物样品中的药物以及中药中的有效成分等。

1 分子印迹技术(M IT)

1.1 原理及分类:根据模板分子与功能单体之间形成复合物的作用方式,M IP可分为以下3类。

1.1.1 共价印迹:模板分子与功能单体在聚合前先通过可逆性共价键^[3],如硼酸酯、Schiff 碱、缩酮/缩醛等形成模板-单体复合物进行印迹,聚合后再切断共价键,用强极性溶剂洗出模板分子。再识别时,也是依靠模板分子与M IP之间的共价键作用力实现,整个过程一般在含水的极性溶剂中进行。共价印迹的优点是M IP的识别位点均匀,选择性高;缺点是能印迹的模板分子有限,切断共价键及脱去模板分子也较为困难,在印迹和再识别过程中模板和功能单体之间的结合和解离的速度较慢,难以满足快速分离的要求。

收稿日期:2007-09-28

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30300450);广东省科技计划项目(2007B031406004)

作者简介:朱全红(1970—),女,新疆乌鲁木齐市人,副教授,硕士生导师,研究方向为中药化学。

Tel: (020) 61648261 E-mail: zqh@fimmu.com

1.1.2 非共价印迹: 单体和模板分子可自发地通过多种非共价键作用力^[4], 如氢键、离子键、金属配位键、 $\pi\pi$ 作用、偶极作用、疏水作用以及范德华力等形成模板-单体复合物进行印迹, 聚合反应完成后, 模板分子只需用合适的溶剂就可洗去。进行再识别时, 也是依靠模板分子与M IP之间的这种多重分子间的非共价键作用实现的, 故具有立体效应。由于模板分子与功能单体之间的这种非共价键作用力的强弱直接影响M IP的识别效果, 因此强作用力的非共价键以及弱极性的溶剂是这种M IP成功识别的前提。非共价键印迹的优点是制备过程简单, 模板分子易去除, 其识别过程更接近天然的分子识别系统; 缺点是M IP的识别位点不均匀, 过量的功能单体也会造成严重的非特异性吸附, 从而降低选择性。但由于其适用性广, 目前M IP的制备多数采用这种方式。

1.1.3 半共价印迹: 是将共价印迹和非共价印迹相结合的一种印迹方法^[5], 即聚合时功能单体和模板分子通过共价键相互作用, 这样就可以获得在空间精确固定排列的结合基团; 而在识别过程中, 依靠的是非共价键作用。半共价键印迹的优点是既有共价印迹M IP的亲和专一性, 又有非共价印迹M IP操作条件温和的特点, 功能单体和模板分子的结合和解离速度较快, 适于快速识别, 并且其识别机制和生物比较接近; 缺点是脱去模板分子较困难, 印迹和再识别时的位点有所不同, 使选择性有所降低。

1.2 M IP的制备: 近年来M IP的制备有了很大发展, 采用的聚合方法包括本体聚合、悬浮聚合、分散聚合、溶胀聚合、表面印迹法等技术。

1.2.1 本体聚合: 即把模板分子、功能单体、交联剂和引发剂按一定比例溶于惰性溶剂中, 以光照或加热的方式引发自由基进行聚合, 得到的块状聚合物经粉碎、过筛、洗脱等得到所需粒径的M IP颗粒。本法合成条件简单, 操作易于控制, 多数M IP的制备都采用此法; 但后处理过程繁琐, 所得粒子的不规则性降低了其分离能力。

1.2.2 悬浮聚合: 是采用与一般有机溶剂皆不互溶的全氟烃为分散介质, 加入特制的聚合物表面活性剂使印迹混合物形成乳液, 聚合后得到的M IP粒度范围分布窄, 形态规则, 是目前制备聚合物微球最简便、最常用的方法之一。这种方法省去了研磨和筛分的步骤, 制备的M IP分离效能高, 但水包油的悬浮聚合方式仅限于能溶于疏水性有机溶剂的非极性的模板分子。

1.2.3 分散聚合: 是一种介于本体聚合和悬浮聚合之间的聚合方法。反应开始前, 单体、引发剂、分散剂、交联剂等都溶于分散介质中, 体系为均相, 分散剂的大分子链舒展在溶剂中, 引发剂分解产生自由基后引发聚合。当反应进行一定程度后, 高分子链生长到一定长度就相互缠接在一起, 在搅拌作用下逐渐形成球形的核, 随着反应的进行, 不断有分子链在已形成的核上生长并缠接, 直至最后形成完整的微球从聚合相中析出。分散聚合工艺简单, 可适用于各种单体, 且能制备不同粒径级别的单分散性聚合物微球。

1.2.4 溶胀聚合: 又称为多步溶胀悬浮聚合或种子溶胀悬

浮聚合, 即采用有/无皂乳液聚合法合成粒径较小的微球作为种子, 用一定的乳液进行多次溶胀, 再通过还原剂的加入, 经光引发或热引发制得M IP微球。这种方法可以得到粒径均匀的聚合物颗粒, 但是步骤较为复杂。

1.2.5 表面聚合: 是把模板分子和功能单体在溶剂中形成的复合物与表面活化过的硅胶、聚三羟甲基丙烷三丙烯酸酯粒子、玻璃等介质反应接枝聚合。这样获得的M IP解决了传统方法中对模板分子包埋过深或过紧而无法洗脱完全的问题, 与完全用高分子单体合成的M IP相比, 这种聚合物具有溶胀系数小、传质速度快的特点。这种方法最大的优点是可以利用粒子的机械稳定性, 通过对粒子本身性能的调节来适应需要。

此外, 近年来有用硅胶牺牲载体、溶胶-凝胶技术等新方法制备M IP的报道。

1.3 M IP的特点: M IP之所以发展如此迅速, 主要是因为M IP具有以下特点: (1) 特定的选择性和高度的亲和性。由于聚合物上预留的空穴与模板分子完美匹配, 因此M IP对模板分子表现出特殊的识别性能。(2) 适当的刚性。聚合物在脱去模板分子后因具有刚性仍能保持印迹孔穴的空间构型和互补官能团的位置。(3) 一定的柔韧性。M IP具有的柔韧性能使模板分子与印迹空穴的结合快速达到动力学平衡。(4) 高度的稳定性。与天然的生物分子识别系统相比, M IP是用化学合成的方法制备的, 因此还具有天然分子识别系统所不具备的抗恶劣环境的能力, 从而表现出高度的物理、化学稳定性, 如耐高温、高压, 能抵抗很强的机械作用力及酸、碱和有机溶剂的作用, 且能多次重复使用而不损失其分子记忆效应。

2 M IP在中药研究中的应用

中药的疗效是经过数千年临床验证为世人公认的, 但中药发挥治疗作用的物质基础一直是中药研究的瓶颈。中药体系是一个复杂的、包括丰富的分子多样性及有效成分的天然组合化学库, 其所含的化合物结构类型多样、量悬殊且许多成分未知, 常规的分离材料往往选择性不理想, 分离效率低, 且容易丢失微量的有效成分, 因此如何从复杂的中药体系中分离纯化有效成分成为中药研究的关键问题。以中药活性物质为模板制备的M IP, 正是具有其他分离材料所不具备的强特异性和高选择性, 因此在中药活性成分的分离、分析中具有很好的应用前景。目前用M IP研究的中药有效成分包括黄酮、生物碱、香豆素、木脂素等。主要应用在以下几个方面。

2.1 有效成分的分离: 朱全红等^[6]以长春碱为模板分子制备了长春碱M IP, 并作为固相萃取的吸附剂用于分离长春花提取物中的长春碱。结果表明, 通过选择和优化上样、淋洗及洗脱等条件, 长春花提取物中的主要成分长春碱得到高效富集及分离。何锡文等^[7]以中药黄芩中的黄酮类成分非瑟酮为模板分子, 采用本体聚合法在丙酮中制备了非瑟酮M IP, 非瑟酮与其结构相似物槲皮素在该聚合物填充的固相萃取柱上得到了很好的分离; 又以香豆素类成分七叶内酯为模板分子制备了七叶内酯M IP, 通过淋洗及洗脱条件的优化, 从

秦皮中将其所含的七叶内酯特异性地分离出来^[8]。颜流水等^[9]制备的槲皮素M IP, 同样能将槲皮素及其结构类似物芦丁完全分离。周春山等^[10]以白藜芦醇为模板分子合成了对天然活性物质白藜芦醇具有较好选择性的M IP, 该聚合物能选择性地分离中药虎杖提取液中的白藜芦醇。曹秋娥等^[11]以鬼臼毒素为模板分子, 通过合成条件的优化, 用非共价印迹的方法制备了鬼臼毒素M IP, 用该聚合物从藏药桃儿七 *Sinopodophyllum emodi* (Wall.) Ying 的乙醇提取物中直接分离出鬼臼毒素。

2.2 有效组分群的分离: 中药中所含的具有生理活性的组分一般是植物的次生代谢产物, 这些代谢产物往往是活性相同、结构相近的成分。分子印迹的分子识别特点, 使其很可能发展成为一种选择性分离材料用于萃取分离中药中具有特定药效结构的有效组分群。徐筱杰等^[12-14]以槲皮素为模板分子通过非共价印迹方法制备了槲皮素M IP, 该聚合物对槲皮素表现出特殊的识别能力, 能将银杏叶提取液水解液中的槲皮素及山柰酚分离, 能从沙棘提取物的水解液中得到槲皮素及异鼠李素。说明槲皮素印迹的聚合物不仅对模板分子具有很高的亲和性, 对与其结构类似的化合物山柰酚、异鼠李素也表现出较高的结合能力。以骆驼蓬种籽中抗肿瘤活性成分的结构类似物哈尔满为模板分子用非共价键法制备了M IP^[15,16], 并作为液相色谱固定相与大气压电离飞行时间质谱联用, 结果表明该M IP 对模板分子哈尔满印迹效应最强, 其次是3个哈尔满的结构类似物, 而对其他几个结构不相似的含氮杂环化合物几乎没有印迹。将骆驼蓬种籽甲醇提取物(主要含哈马灵及哈尔明两种抗肿瘤生物碱)进样后, M IP 柱能选择性地保留哈马灵及哈尔明, 并通过质谱可以快速地从复杂的骆驼蓬提取液中分离鉴定出哈马灵及哈尔明, 实现了中药活性成分分离鉴定的一体化。程绍玲等^[17]用制备的葛根素M IP 分离葛根提取液中的葛根素, 结果葛根素的收率远高于用大孔吸附树脂的分离效果, 除分离出葛根素外, 还分离出大豆苷元和大豆苷等异黄酮类成分。Karasová等^[18,19]用制备的M IP 从香蜂花 *Melissa officinalis* L. 中分离出6个苯甲酸衍生物。以上研究结果表明, M IP 对模板分子及其结构类似物均表现出高亲和性, 提示其可作为一种新型的选择性分离材料用于中药中有效组分群或有效部位的提取分离。

2.3 活性成分的筛选: 以已知活性化合物为模板合成相应的M IP, 由于M IP 上拥有和模板分子构型类似的孔穴和相应的可作用位点, 因此能特异性地吸附在此M IP 上的化合物往往是模板分子或与模板分子结构类似的成分, 如将其用于中药及中药复方体系, 往往能筛选到与模板分子具有相同生理活性的成分。槲皮素是一种天然的抗表皮生长因子受体EGFR 抑制剂, 中药藏锦鸡儿的醋酸乙酯提取物也具有抑制EGFR 酪氨酸激酶的活性。徐筱杰等^[20]用槲皮素M IP 对藏锦鸡儿醋酸乙酯提取物进行了分离, 结果发现, 淋洗液的抗EGFR 活性不如醋酸乙酯提取物, 而洗脱液的活性却强于醋酸乙酯提取物, 说明洗脱液中特异性吸附在固相萃取柱上的

成分, 其结构与模板分子槲皮素相类似, 经高分辨质谱鉴定为白皮杉醇(piceatannol)和紫铆查耳酮(butein)。二者经活性测试, 均呈现出抗EGFR 活性, 且 IC_{50} 均小于槲皮素。同样以(E)-白皮杉醇为模板合成的M IP, 对具有抗EGFR 酪氨酸酶活性的两个化合物紫铆查耳酮和槲皮素也表现出特异的识别性能^[21]。又以丙肝病毒NS3蛋白酶的抑制剂RD3-4078为模板制备了M IP, 从特异性地吸附在该色谱柱上的叶下珠 *Phyllanthus urinaria* L. 植物的粗提物中, 选择性地分离得到5个成分, 均表现出不同程度的抑制丙肝病毒NS3蛋白酶的活性^[22]。以上研究证实, 用代表性的活性成分为模板分子合成相应的M IP, 利用其卓越的分子识别性能, 可从中药中直接分离出与模板分子结构类似、生理活性相似的成分, 这种方法避免了传统分离的非特异性和低效率。

2.4 复杂样品的预处理及目标分子的测定: 由于M IP 具有的特异性吸附作用和良好的机械强度, 常常作为固相萃取的选择性吸附剂用于样品预处理, 以分离、富集复杂样品中的痕量物质。日本学者Nakamura^[23]以阿托品为模板分子采用多步溶胀法制备了粒径均匀的M IP, 并用作预柱与阴离子交换分析柱联用, 成功测定了中药制剂中的阿托品和东莨菪碱, 方法准确, 精密度好。董襄朝等^[24]以(-)-麻黄碱为模板分子制备的麻黄碱M IP, 填充于固相萃取柱中, 结合HPLC, 对中药麻黄中的麻黄碱进行了测定, 方法可靠, 回收率及精密度令人满意。邹汉法等^[25]以L-四氢巴马丁为模板分子采用原位聚合的方法制备的M IP 预柱, 同样与HPLC联用, D-和L-四氢巴马丁手性对映体得到了基线分离; 中药延胡索中L-四氢巴马丁的量可直接进行测定。傅强等^[26]用制备的青藤碱M IP, 成功地分离了中药青藤中的青藤碱, 同时基于M IP 的特异的分子识别性能, 建立了测定血样中青藤碱的可靠方法。Chen等^[27]采用悬浮聚合法制备的苦参碱M IP 微球, 用于萃取中药苦参中的苦参碱及其结构类似物氧化苦参碱, 并用作固相萃取的吸附剂和色谱固定相对苦参中苦参碱的量进行了测定。徐筱杰等^[28]将大鼠灌胃给予银杏提取物的水解液后收集的血浆样品, 直接经槲皮素M IP 预处理后, 其中的功能成分得到很好的分离纯化。由此看出, 以M IP 为固相萃取吸附剂对复杂样品进行处理, 能克服普通吸附剂吸附率、回收率低的不足, 能够提高目标分子检测的特异性和灵敏度。

目前阻碍中药走向世界的主要原因之一就是中药材重金属和农药残留问题, M IP 检测废水和土壤中的重金属和农药残留的报道较多, 由于M IP 可同时实现目标分子的分离与检测, 选择性高, 无论是作为色谱吸附剂, 还是作为传感器, 都预示着在中药材的重金属和农药残留的检测方面具有良好的应用前景。

2.5 其他: M IP 在药物传递系统中的应用存在着巨大的潜力, 尽管印迹药物体系还未在临床中得到应用, 但近年来M IP 在给药系统中的研究报道日益增多, 如控释印迹小球、药物分子的选择性释放、控释生物大分子、脉冲给药等, 无疑将带动印迹技术在中药药剂学领域的蓬勃发展。

3 存在问题与展望

MIP 凭借其优良的物理化学性能及对模板分子的专一识别能力,广泛应用于各个领域并获得显著进展,但在理论和应用方面还存在一些问题。在机制方面,分子识别机制研究相对薄弱,对主客体的识别机制认识不统一,对结合位点的作用机制和传质的机制了解较少,对印迹聚合物吸附热力学及动力学研究不够,需要进一步从分子水平上弄清分子印迹和识别的过程,定量地描述其机制。在模板方面,目前合成MIP所用的模板分子多为含有酸性或碱性基团的小分子亲脂性化合物,对水溶性大分子如蛋白、核酸、多糖等,甚至拓展到超分子水平的细胞与病毒的印迹有待于更多的尝试。在合成方面,功能单体的数量有限,还需充分发挥组合化学、计算机辅助设计等现代技术合成新型的功能单体、交联剂,通过各反应原料之间的比例及聚合方法的优化,提高MIP的预知性和可控性,减少非特异性吸附。在应用方面,由于MIP存在模板泄漏问题,对于测量低浓度样品时会有干扰;MIP用作色谱填料时,在颗粒的尺寸和孔径的均匀性、柱容量以及柱效等方面还需改善。随着生物技术、电子技术、合成手段和现代分析技术迅猛发展,MIP的合成、表征和理论系统将日臻完善,相信MIP将在中药有效成分的研究中发挥更重要的作用。

中药活性物质的分离纯化应以药效为着眼点,MIP正是这样一种既简单又有效的分离技术,它将药效组分作为模板分子,对中药活性组分进行特异性的分离,这种分离不同于以往的分选纯化技术,除具有可与生物抗体相媲美的选择性能外,还具有独特的化学和机械强度,对酸、碱、有机溶剂、温度和压力均有一定的耐受性,且比生物抗体易于合成和贮存。更具吸引力的是,用于制备MIP的模板分子可以重复利用,降低了MIP的生产成本。总之,MIP作为一种新型的分离手段,其优越性是显而易见的,MIP作为一种高选择性的主体分子,对中药活性物质的特异性分离是其他分离技术所无可比拟的,因此将该技术应用于中药活性组分的分离,具有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] Odabasi M, Say R, Denizli A. Molecular imprinted particles for lysozyme purification [J]. *Mater Sci Eng C*, 2007, 27: 90-99.
- [2] Baggiani C, Baravalle P, Giraudi G, et al. Molecularly imprinted solid-phase extraction method for the high-performance liquid chromatographic analysis of fungicide pyrimethanil in wine [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1141: 158-164.
- [3] Sallacan N, Zayats M, Bourenko T, et al. Imprinting of nucleotide and monosaccharide recognition sites in acrylamide-phenylboronic acid-acrylamide copolymer membranes associated with electronic transducers [J]. *J Anal Chem*, 2002, 74: 702-712.
- [4] Karlsson J G, Karlsson B, Andersson L I, et al. The roles of template complexation and ligand binding conditions on recognition in bupivacaine molecularly imprinted polymers [J]. *Analyst*, 2004, 129: 456-462.
- [5] Caro E, Masquén, Marcé RM, et al. Non-covalent and semi-covalent molecularly imprinted polymers for selective on-line solid-phase extraction of 4-nitrophenol from water samples [J]. *J Chromatogr A*, 2002, 963: 169-178.
- [6] Zhu Q H, He J F, Feng J Y. Optimization of the process parameters of synthesis of vinblastine imprinted polymer [J]. *Eur Polym J*, 2007, 43(9): 4043-4051.
- [7] 李礼, 胡树国, 何锡文, 等. 应用分子印迹-固相萃取法提取中药活性成分非瑟酮 [J]. *高等学校化学学报*, 2006, 27(4): 608-611.
- [8] Hu S G, Li L, He X W. Solid-phase extraction of esculetin from the ash bark of Chinese traditional medicine by using molecularly imprinted polymers [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1062: 31-37.
- [9] 颜流水, 井晶, 黄智敏, 等. 槲皮素分子印迹聚合物的制备及固相萃取性能研究 [J]. *分析实验室*, 2006, 25(5): 97-100.
- [10] 向海艳, 周春山, 钟世安, 等. 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 [J]. *应用化学*, 2005, 22(7): 739-743.
- [11] Zhu X F, Cao Q E, Hou N B, et al. The preparation and the recognition property of molecularly imprinted polymer of podophyllotoxin [J]. *Anal Chim Acta*, 2006, 561: 171-177.
- [12] Xie J C, Zhu L L, Luo H P, et al. Direct extraction of specific pharmacophore flavonoids from ginkgo leaves using a molecularly imprinted polymer for quercetin [J]. *J Chromatogr A*, 2001, 934: 1-11.
- [13] 谢建春, 骆宏鹏, 朱丽荔, 等. 利用分子烙印技术分离中草药活性组分 [J]. *物理化学学报*, 2001, 17(7): 582-585.
- [14] 周力, 谢建春, 戈育芳, 等. 分子烙印技术在沙棘功效成分提取中的应用 [J]. *物理化学学报*, 2002, 18(9): 808-811.
- [15] 谢建春, 朱丽荔, 徐筱杰. 分子烙印亲和色谱与质谱联用实现中草药活性成分分离鉴定一体化 [J]. *化学学报*, 2002, 60(3): 385-388.
- [16] Xie J C, Zhu L L, Xu X J. A definitive separation and on-line identification of antitumor components from *Peganum nigrum* by coupling a chromatographic column of target analog imprinted polymer with mass spectrometry [J]. *Anal Chem*, 2002, 74: 2352-2360.
- [17] 程绍玲, 杨迎花. 利用分子印迹技术分离葛根异黄酮 [J]. *中成药*, 2006, 28(10): 1484-1488.
- [18] Karasov AG, Lehotay J, Kłodzinska E, et al. Comparison of several extraction methods for the isolation of benzoic acid derivatives from *Melissa officinalis* [J]. *J Liq Chromatogr*, 2006, 29: 1633-1644.
- [19] Karasov AG, Lehotay J, Sadecka J, et al. Selective extraction of derivatives of p-hydroxy-benzoic acid from plant material by using a molecularly imprinted polymer [J]. *J Sep Sci*, 2005, 28: 2468-2476.
- [20] Zhu L L, Xu X J. Selective separation of active inhibitors of epidermal growth factor receptor from *Caragana jubata* by molecularly imprinted solid-phase extraction [J]. *J Chromatogr A*, 2003, 991: 151-158.
- [21] Zhu L L, Chen L R, Xu X J. Application of a molecularly imprinted polymer for the effective recognition of different anti-epidermal growth factor receptor inhibitors [J]. *Anal Chem*, 2003, 75: 6381-6387.
- [22] Luo H P, Chen L R, Li Z Q, et al. Frontal immuno affinity chromatography with mass spectrometric detection: A method for finding active compounds from traditional Chinese herbs [J]. *Anal Chem*, 2003, 75(16): 3994-3998.
- [23] Nakamura M, Ono M, Nakajima T, et al. Uniformly sized molecularly imprinted polymer for atropine and its application to the determination of atropine and scopolamine in pharmaceutical preparations containing Scopolia extract [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2005, 37: 231-237.
- [24] Dong X C, Wang W, Ma S J, et al. Molecularly imprinted solid-phase extraction of (-)-ephedrine from *Chinese Ephedra* [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1071: 125-130.
- [25] Ou J J, Kong L, Pan C S, et al. Determination of di-tetrahydro-palmatine in *Corydalis yanhusuo* by 1-tetra-hydropalmatine imprinted monolithic column coupling with reversed-phase high performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1117: 163-169.
- [26] Lin L Q, Zhang J, Fu Q, et al. Concentration and extraction of sinomenine from herb and plasma using a molecularly imprinted polymer as the stationary phase [J]. *Anal Chim Acta*, 2006, 561: 178-182.
- [27] Lai J P, He X W, Jiang Y, et al. Preparative separation and determination of matrine from the Chinese medicinal plant *Sophora flavescens* Ait by molecularly imprinted solid-phase extraction [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2003, 375: 264-269.
- [28] Xie J C, Chen L R, Li C X, et al. Selective extraction of functional components derived from herb in plasma by using a molecularly imprinted polymer based on 2, 2-bis (hydroxymethyl) butanol trimethacrylate [J]. *J Chromatogr B*, 2003, 788: 233-242.