

多模板分子印迹固相萃取及其在中药多组分提取分离中的应用

李 硕, 常月月, 程芳芳, 包贝华, 曹雨诞, 姚卫峰*, 张 丽, 丁安伟

(南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023)

摘要: 多模板分子印迹固相萃取不仅具有高选择性、吸附容量大、容易制备、可重复使用以及环境污染小等优点, 而且可以实现对多种化合物的富集分离, 在中药成分提取分离方面受到广泛的关注。本研究总结归纳了多模板分子印迹固相萃取的最新发展, 同时基于中药活性成分的种类(黄酮、生物碱、苯丙素和萜类等)分类综述多模板分子印迹固相萃取在中药多组分分离提取方面的最新应用, 以为多模板分子印迹聚合物更好应用于中药活性多组分提取分离, 为中药药效物质基础研究提供参考。

关键词: 多模板; 分子印迹; 固相萃取; 中药多组分; 提取分离

中图分类号: R943 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2021)03-0751-10

Multi-template molecularly imprinted solid phase extraction and its application in the extraction and separation of multi-components from traditional Chinese medicine

LI Shuo, CHANG Yue-yue, CHENG Fang-fang, BAO Bei-hua, CAO Yu-dan,
YAO Wei-feng*, ZHANG Li, DING An-wei

(School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

Abstract: Multi-template molecularly imprinted solid phase extraction not only has the advantages of high selectivity, large adsorption capacity, easy preparation, reuse and low environmental pollution, but also can realize the enrichment and separation of many kinds of compounds. It has attracted wide attention in the extraction and separation of traditional Chinese medicine components. This study summarizes the latest development of multi-template molecularly imprinted solid phase extraction. At the same time, based on the classification of active components of traditional Chinese medicine (flavonoids, alkaloids, phenylpropanol, terpenes, etc.), the latest application of multi-template molecular imprinting solid phase extraction in multi-component separation of traditional Chinese medicine was reviewed, with a view to better application of multi-template molecularly imprinted polymer in active multi-component extraction and separation of traditional Chinese medicine and provide reference for the material basic research of the efficacy of traditional Chinese medicine.

Key words: multi-template; molecular imprinting; solid phase extraction; multi-component of traditional Chinese medicine; extraction and separation

分子印迹技术^[1](molecular imprinting technology, MIT) 是一种制备在表面结合位点上与特定目标分子

完全匹配的高分子聚合物的技术。通常运用分子印迹技术制备的对目标分子有特异性识别能力的高分子化合物称为分子印迹聚合物 (molecularly imprinted polymers, MIPs), 由于其具有构效预定性、结构稳定性和对目标化合物高选择性的优点, 并且容易制备, 能够多次重复利用, 可以从复杂样品中选择性提取目标分子和

收稿日期: 2020-09-21; 修回日期: 2020-10-13.

基金项目: 国家自然科学基金面上资助项目 (81973445).

*通讯作者 Tel: 86-25-85811053, E-mail: yaowf@njucm.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-1507

结构类似物, 已经成为分离各种天然产物的新技术之一^[2], 同时被广泛应用于环境监测^[3]、传感器^[4]、色谱分离^[5]和固相萃取^[6]等领域。固相萃取^[7,8](solid phase extraction, SPE) 将液固萃取与和柱液相色谱技术结合起来, 利用固体吸附剂从液体样品中吸附目标化合物, 并使用适当洗脱剂洗脱或加热超声解吸, 从而达到快速分离净化与富集目标化合物的目的。传统的固相萃取吸附剂(如 *N*-丙基乙二胺、十八烷基硅烷、石墨化炭黑吸附剂和硅胶等) 具有萃取选择性低和吸附容量小的缺点, 容易发生共萃取现象, 将具有特异性识别性能的分 子印迹聚合物作为吸附剂代替传统固相萃取吸附剂能很好地解决这一问题。目前, 基于 MIT 和 SPE 两种技术的结合, 人们大多投身于研究单模板分子的印迹聚合物以实现 对某一化合物的提取测定。

中药多成分、多靶点和多途径的作用特点已得到业界的公认^[9], 药效物质基础研究是阐释中药整体功效及作用机制的关键。中药化学物质数量庞大、繁杂多样, 并且含量差异十分悬殊^[10], 往往起作用的组分多为一系 列结构类似或具有相同结构单元的化合物, 其分离、提取和纯化较为困难, 多模板分子印迹聚合物恰能满足这一需求。分子印迹聚合物具有制备简单、成本廉 价和能重复使用等优点, 尤其是特异的分子识别性能、高效率的富集与分离能力能够使结构类似的物质很容易得到分离, 使中药成分纯化工艺得以简化, 节省了溶剂的用量, 减少了环境污染, 符合绿色化学的观念。该技术以由两种或两种以上结构类似物为模板制备的分子印迹聚合物为固相吸附剂, 实现多种物质的同时富集、分离, 使研究具有更广的适用性和实用性。因此, 本文主要对多模板分子印迹-固相萃取技术在中药多组分提取分离研究中的应用进展进行综述, 以期对该技术的应用提供参考。

1 多模板分子印迹-固相萃取

1.1 多模板分子印迹聚合物的合成

分子印迹聚合物的制备方法按照模板分子/目标化合物和功能单体间的相互作用的类型可分为非共价法、共价法和半共价法^[11], 按照聚合方式的分类方法还可分为本体聚合^[12]、原位聚合^[13]、悬浮聚合^[14]、沉淀聚合^[15]、乳液聚合^[16]和表面印迹法^[17]等。

多模板分子印迹聚合物的制备步骤主要分为 3 步: ① 在致孔溶剂中, 先加入多个模板分子, 与功能单体之间通过共价或非共价作用形成配合物; ② 通过交联剂的交联聚合、引发剂的引发聚合作用, 与上述配合物形成高交联的分子聚合物; ③ 用合适的洗脱溶剂将嵌入结合位点的多个模板分子洗脱掉, 得到在空间构型、功能基团上与目标分子有相匹配的孔穴的印迹聚合

物。分子印迹基本原理如图 1 所示。

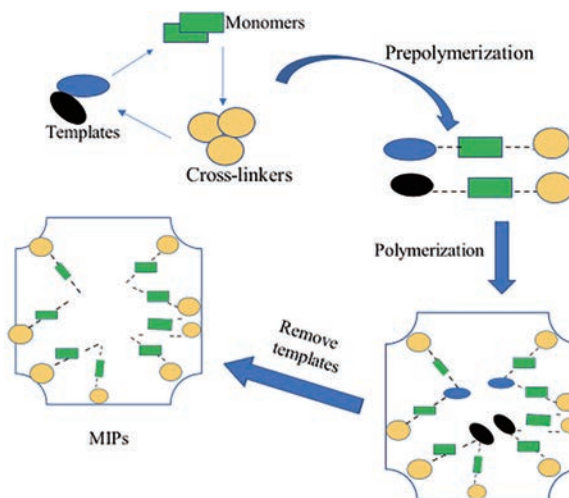


Figure 1 The schematic diagrams of molecular imprinting. MIPs: Molecularly imprinted polymers

1.2 多模板分子印迹聚合物的修饰——纳米材料功能化

1.2.1 “纳米材料功能化”的优点

纳米材料功能化的分子印迹聚合物相比于一般的聚合物吸附剂具有很多优点: ① 其良好的形貌结构和纳米级尺寸大小的获得不需要经过研磨、过筛等操作; ② 具有良好的机械稳定性, 使特异性结合位点不易遭到破坏, 能够满足特异性固相萃取应用的需要; ③ 印迹过程在纳米表面进行, 使聚合物的比表面积进一步增加, 相对于没有基于纳米材料合成的聚合物拥有更多的结合位点, 使得该聚合物比一般聚合物拥有更大的吸附容量, 吸附-解吸效率显著提高; ④ 纳米功能化的分子印迹聚合物重复利用性较高^[18-21]。

应用多模板分子印迹聚合物分离、富集和萃取中药复方类的复杂样品中的多种目标化合物时, 吸附剂的选择性和吸附容量都必须相对较大, 而用纳米材料功能化的 MIPs 恰好满足要求。

1.2.2 常用纳米材料

1.2.2.1 石墨烯 近年来, 石墨烯 (graphene, G) 及其衍生材料在电化学、储能、气体传输、水处理膜及微萃取技术等领域引起了极大的关注^[22]。它们的优异性能如高比表面积和离域 π - π 体系的存在, 使其对芳香族化合物具有良好的亲和力, 促进了它们在微萃取环境中的应用。石墨烯易被氧化成氧化石墨烯 (graphene oxide, GO), 富含羟基、环氧基和羧基等含氧官能团, 对模板分子不仅具有灵敏的选择性识别, 还拥有更高的吸附容量。在水中表现出良好的分散性。因此, 石墨烯及其衍生物已被广泛用于固相微萃取 (SPME)^[23]。

GO的高比表面积及丰富的官能团使其能成为表面分子印迹聚合物载体制备的优越选择。

Ma等^[24]以环丙沙星和左氧氟沙星为模板、1-乙烯-3-乙基咪唑溴化铵为功能单体、氧化石墨烯为载体、乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA)为交联剂、甲苯和十二醇为混合致孔剂制备了分子印迹整体柱。结果显示,该分子印迹固相萃取整体柱与高效液相色谱联用,能够有效分离同时测定人尿中环丙沙星和左氧氟沙星,平均回收率分别为89.2%~93.8%和86.7%~94.6%,当载样量达到1.0 mL时回收率达到最大。该方法可在其他药物和生物样品中具有很大的应用潜力。

1.2.2.2 金属有机骨架 金属有机骨架^[25](metal organic frameworks, MOFs)是由金属离子或金属离子簇连接到有机桥联配体上形成的一类较新的结晶型多孔有机-无机杂化材料。MOFs具有比表面积大、孔隙率大、合成方便、骨架尺寸可变和可进行化学修饰等优点。然而普通MOFs的水解稳定性和热稳定性并不是很高,限制了其更广泛的应用。2005年,Férey等^[26]报道了一种名为MIL-101的MOFs,MIL-101具有良好的热力学稳定性和化学稳定性。除MIL-101外,其他一些MOFs材料如ZIF-8^[27]和UiO-66^[28]等也在分析测试领域有着突出的表现。因此,MOFs多功能应用的发展引起了广泛关注,其最新发展已经证明了该材料在催化、传感、分离、非线性光学、气体储存和药物输送等方面的应用前景。

与传统的载体(如硅胶、氧化铝等)相比,金属有机骨架具备比表面非常高和吸附能力强等特点,但其缺乏对目标分子的选择性,不适合对特定分子的富集分离。将具有高选择性的分子印迹材料接枝到金属有机骨架表面,分子印迹聚合物的高选择吸附能力与金属有机骨架的高吸附容量相结合,可大大提高该新型吸附剂对目标分子的吸附效果。Wang等^[29]以金属有机骨架为载体、四环素为模板分子、3-氨基苯基硼酸为功能单体和交联剂,合成一种能选择性识别四环素的新型分子印迹聚合物,将该聚合物作为固相萃取的吸附剂,用于提取样品中四环素类药物的含量,结果显示四环素类药物的检出限为0.217~0.318 ng·g⁻¹,回收率在84.7%~93.9%之间,该方法成功地用于各种样品中四环素类药物的测定。

1.2.2.3 碳纳米管 碳纳米管(carbon nanotubes, CNTs)是由碳六元环构成的类似石墨卷曲而成的纳米级中空管,根据碳纳米管中碳原子的层数不同,可分为单壁碳纳米管(SWNT)和多壁碳纳米管(MWNT)。碳纳米管具有极高的柔韧性、较大的比表面积、独特的导电性、极高的热力学稳定性、良好的吸附效果和很好的催

化性能等众多优点^[30],将其应用于分子印迹技术能把所有的结合位点布置于易接近的表面上,从而提高模板分子在印迹聚合物内部的传质速度,缩短达到吸附平衡时间,提高印迹孔穴的利用率^[31]。

Chen等^[32]以齐墩果酸为模板、4-叔丁基为功能单体和二乙烯基苯为交联剂,采用热诱导聚合法制备了基于多壁碳纳米管(MWNTs@MIPs)的新型分子印迹吸附剂,采用优化的分子印迹固相萃取(MISPE)工艺从猕猴桃根提取物中提取齐墩果酸,样品中齐墩果酸的加标回收率为84%~92.6%,相对标准偏差小于5%,检出限为2.56 μg·L⁻¹。

1.2.2.4 Fe₃O₄磁性纳米 磁性纳米粒除具备一般纳米粒的小尺寸效应、量子效应和表面效应外,还具备超顺磁性、易于分离性和低毒性等特性,是分子印迹聚合物的优良功能载体^[33]。当该材料被用于合成分子印迹聚合物时,在外界磁场的作用下吸附着多种目标分子的印迹聚合物能够很容易地从溶液中分离出来,是制备表面分子印迹聚合物的重要纳米材料。因此,这种以磁性吸附材料或已经被磁化的材料为吸附剂的固相萃取技术也称为磁性固相萃取^[34]。

Cheng等^[35]以丙烯酰胺(AM)为功能单体、偶氮二异丁腈(AIBN)为引发剂和乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA)为交联剂,制备了山柰酚磁性分子高分子聚合物,该聚合物对山柰酚有较高的吸附容量(3.84 mg·g⁻¹),在50 min内即可达到吸附平衡。该方法在3个加标水平上的回收率为90.5%~95.4%。Alipanhpour等^[36]基于注射器-注射器磁性固相微萃取(SS-MSPME),制备了磁性双模板分子印迹聚合物,用于富集和测定对香豆酸(p-CA)和阿魏酸(FA),对其吸附性能进行了研究,结果表明,当样品溶液为10 mL时,该聚合物吸附剂对p-CA和FA具有较大的吸附容量,p-CA和FA的检出限分别为0.08和0.07 ng·mL⁻¹,回收率为85.12%~94.96%。

1.2.3 纳米材料在多模板分子印迹-固相萃取中的应用

在使用纳米材料对多模板分子印迹聚合物进行功能化时往往不止选用一种纳米材料,常常先将几种纳米材料结合在一起,再在其表面接枝分子印迹聚合物,使吸附剂的稳定性和吸附量大大提高,从而提高对目标化合物的萃取效率。其中,由磁性Fe₃O₄纳米粒与其他纳米材料结合形成的磁性材料得到了广泛运用。

Ma等^[37]以氧化石墨烯为载体、4-乙烯基吡啶(4-VP)为功能单体和偶氮二异丁腈(AIBN)为引发剂,合成了一种新型磁性分子印迹聚合物(Fe₃O₄@SiO₂-GO@MIPs),用于选择性识别和提取杜鹃属植物中的4种黄酮类化合物(杜鹃素、紫杉素、山柰酚和金丝桃

昔), 制备原理与流程如图2, 当样品量为1 mL时, 杜鹃素、紫杉素、山柰酚和金丝桃苷的检出限分别为0.07、0.08、0.06和0.08 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 结果表明, 制备的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-GO@MIPs}$ 具有从中草药、补充剂和其他天然产品中提取和富集黄酮类化合物的潜在应用价值。Yin等^[38]以人血清白蛋白(HSA)为模板, 多巴胺为功能单体, 开发了一种新颖、简便、低成本的磁性多壁碳纳米管(MMWNTs)分子印迹聚合物的制备方法, 该磁性印迹聚合物成功地固相萃取并检测尿液中的HSA, 当尿液样本为10 mL时, 回收率达91.95%~97.8%。Li等^[39]以马兜铃酸为模板分子、苯基三甲氧基硅烷(PTMOS)为功能单体、四乙基正硅酸酯(TEOS)为交联剂和磁性碳纳米管(MCNTs)为载体, 制备了MIPs功能化的磁性碳纳米管, 并联合高效液相色谱技术进行检测, 结果发现, 该聚合物具有选择性高、吸附容量大和动力学平衡时间短等优点; 目标化合物在3个加样水平下的回收率为80%~110%, 相对标准偏差小于8.16%。

由此可见, 纳米材料的引入使得多模板分子印迹聚合物的优点得到进一步提高。石墨烯、金属有机骨架和碳纳米管等纳米材料具有巨大的比表面积, 使聚合物拥有更大的吸附容量, 而且这些纳米材料通常热力学稳定性与化学稳定性较高、具有良好的吸附效果、易于在表面进行化学修饰。目前, 功能化纳米材料在分子印迹固相萃取中的研究还可以从以下几个方面进展: ① 开发研究更多的新型纳米材料来修饰多模板分子印迹聚合物, 从而适应各种复杂体系的样品前处理过程; ② 发展绿色、高效和简便的纳米材料功能化方法, 简化纳米修饰聚合物工艺; ③ 虽然一些纳米材料制备简单、分离方便, 但是其在实际固相萃取分离提取过程中难以实现同步化和自动化。总之, 功能化纳米

材料作为一种简便高效的复合材料, 将在分子印迹-固相萃取过程中得到越来越多的应用。

1.3 多模板分子印迹联合固相萃取技术

从吸附剂种类方面对固相萃取技术进行优化, 以目标化合物及其结构类似物等多种分子为模板制备的多模板分子印迹聚合物在固相萃取中用做吸附剂, 然后用适当洗脱剂洗脱或加热超声解吸等方法^[40,41], 从而达到快速分离净化与富集目标化合物的目的, 可为后续化合物的分析做准备。

Shen等^[42]以五氯苯酚(PCP)为模板分子、三乙烯四胺(TETA)为功能单体和 Fe_3O_4 纳米粒子为磁性载体材料, 制备了 $n\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEPA-PCP-MIP}$ 壳核结构的磁性分子印迹聚合物, 并结合分散固相萃取技术实现了对5种氯酚的特异性吸附, 且在3个加标水平下, 5种氯酚的平均回收率为86.5%~98.8%。Zhang等^[43]首次以槲皮素和五味子乙素为模板分子, 以深共晶溶剂为功能单体, 合成了无毒的双模板分子印迹聚合物(DMIPS), 将DMIPS用于固相萃取鬼臼和五味子混合提取液的吸附剂, 结果表明DMIPS具有快速的吸附动力学(80 min达到吸附平衡)和高选择性, 对槲皮素和五味子乙素的最高吸附容量分别为23.58和41.64 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$; 此外, 该课题组用槲皮素和五味子乙素预饱和后, 给小鼠灌胃无毒饱和DMIPS, 取小鼠血样后成功检测到槲皮素和五味子乙素, 且槲皮素和五味子乙素的药代动力学与直接喂食植物性药物的小鼠相似。

目前, 多模板分子印迹聚合物作为固相萃取吸附剂在复杂基质中特异性提取分离目标化合物应用广泛, 特别在生物样品中关于血清和尿液等的样品前处理研究具有很大潜力, 例如人体尿液中喹诺酮类药物和血清蛋白等含量测定等, 推动了体内药物分析领域

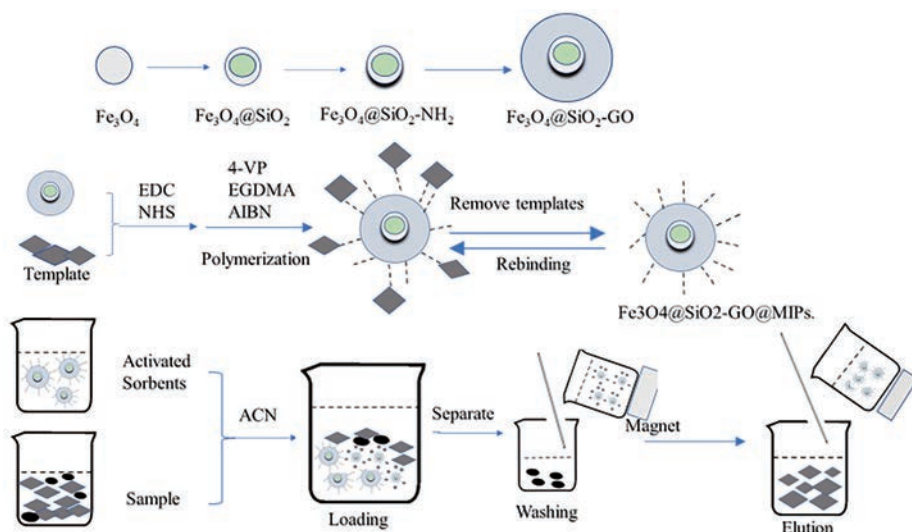


Figure 2 Schematic illustration of the preparation and the extraction processes of $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2\text{-GO@MIPs}$

的研究进展,同时多模板分子印迹聚合物也可作为复方中草药制剂的给药系统。

2 多模板分子印迹-固相萃取技术在中药活性成分提取中的应用

一般来说,中药活性成分的分离纯化较难实现,原因在于中药成分结构复杂、种类繁多和含量差异大,而且有些成分性质不太稳定。现阶段中药活性成分的分离纯化主要运用硅胶柱色谱、大孔吸附树脂柱色谱、凝胶柱色谱、高效逆流色谱和制备型高效液相色谱等技术。然而这些方法不仅溶剂消耗量大、环境污染严重,而且存在特异性差、提取效率低等不足^[44]。因此,这些方法并不能实现对中药中多成分的高质量、高选择性地提取。多模板分子印迹固相萃取技术在分离纯化中药活性成分方面拥有很大优势,不仅能兼顾中药中多种成分的性质,更能实现同时提取中药中的同类化合物或活性成分群,提高中药分离提取的稳定性、特异性和高效性。近年来,MIPs在黄酮、生物碱、苯丙素和萜类等多种中药活性成分的分离纯化方面有广泛的应用。

2.1 黄酮类

黄酮类化合物是一类以黄酮(2-苯基色原酮)为母核而衍生的化合物,其中包括黄酮的同分异构体及其氢化和还原产物,即以C₆-C₃-C₆为基本碳架的系列化合物。在植物体中黄酮类化合物通常与糖结合成苷类,小部分以游离态(苷元)的形式存在,具有抗氧化、抗衰老、抗肿瘤、降血糖和抗炎等药理作用^[45]。利用分子印迹技术富集提取黄酮类化合物可基于功能单体与黄酮结构中酚羟基之间形成的氢键、芳香环与黄酮类化合物的 π - π 作用力或范德华力来实现,所以分离黄酮类化合物的分子印迹聚合物大多属于非共价键型。基于多模板分子印迹技术固相萃取技术,研究者^[46,47]对芦丁、黄芩素、黄芩苷和槲皮素等黄酮类化合物的研究较多。

Wang等^[48]以芦丁-槲皮素为双模板分子、4-乙烯基吡啶(4-VP)为功能单体,采用本体聚合法制备了双模板分子印迹固相萃取柱,以乙腈、甲醇及甲醇-醋酸依次为洗脱剂,通过固相萃取可较好地从小米提取物中富集分离出芦丁和槲皮素两种黄酮类化合物,当进样量为1.0 mL时总回收率分别为96.70%和94.67%。Li等^[49]选用染料木苷和木犀草素为模板,以4-乙烯基吡啶(4-VP)为单体、乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA)为交联剂,采用沉淀聚合法成功制备了双模板分子印迹聚合物微球,类特异选择性实验表明MIPs对多种大豆异黄酮类化合物具有明显的类特异性吸附,特异吸附量高,此MIPs可在大豆异黄酮类物质的分离提取和

工业制备大豆异黄酮特异吸附材料方面得到进一步应用。Chu等^[50]以槲皮素与橙皮素作为模板分子、2-乙烯基吡啶(2-VP)为功能单体,采用回流沉淀聚合合法合成了对黄酮类化合物具有高选择性的双模板分子印迹聚合物。以该分子印迹聚合物为固相萃取吸附剂制备MISPE柱,对银杏叶中7种黄酮类物质进行富集分离,能有效去除基质杂质,达到分离提纯的目的,且MIPs重现性较好,重复使用10次后黄酮类化合物回收率仍在90%以上。Ma等^[51]以Fe₃O₄磁纳米粒为载体,在覆盆子乙酸乙酯部位溶液中制备混合模板MIPs,紫云英苷、槲皮素和山柰酚的平均加样回收率分别为98.94%、99.33%、99.26%和98.67%,此分子印迹聚合物吸附剂可大大减少供试品中杂质干扰,用于覆盆子中黄酮类成分含量的测定。Ma等^[52]以芦丁、东莨菪酮和槲皮素为3种模板分子、 γ -氨基丙基三乙氧基硅烷-甲基丙烯酸(KH-550MAA)为功能单体,分别采用以氯化胆碱为基础的深共晶溶剂和以1-甲基咪唑为基础的离子液体修饰多模板分子印迹聚合物。结果表明,深共晶溶剂杂化分子印迹聚合物对芦丁、东莨菪酮和槲皮素的识别能力强于离子液体修饰的分子印迹聚合物,在蒿草样品固相萃取过程中,每次载样量为1.0 mL,结果显示芦丁、东莨菪酮和槲皮素的最高回收率分别为92.27%、87.51%和80.02%。Zhang等^[53]发明了一种艾纳香素及其结构类似物的分离提纯方法:先将艾纳香药材粉碎得粉末,加入有机溶剂进行脱色脱脂,再使用以木犀草素、芹菜素、黄芩素、芦丁和山柰酚形成的分子印迹模板吸附剂进行吸附富集、梯度洗脱、液相分离和去除溶剂,即得艾纳香素及其结构类似物。该发明实现了对艾纳香素的快速富集与制备,工艺简单且容易操作,适合工业化生产应用。

综上所述,分离中药中黄酮类活性成分的分子印迹聚合物大多属于非共价键型,聚合方法以沉淀聚合法较为多见,制备方法简便,相比于超声提取法、酶提取法、超临界流体萃取法和大孔树脂吸附法等常规方法,其提取工艺简单、活性成分纯度高。

2.2 生物碱类

生物碱是一类重要的天然产物,广泛存在于植物、动物和微生物等有机体内。根据化学结构的不同可将生物碱分为异喹啉类、喹啉类、咪唑类、吡啶类、莨菪烷类和吲哚类等,具有消炎镇痛、抗氧化、抗菌、抗肿瘤和免疫调节等多种生物活性及药理作用^[54]。基于多模板分子印迹技术,各生物碱分子主要通过聚合功能单体之间形成非共价键来特异性识别一系列生物碱类化合物。

Liu等^[55]以苦参碱-氧化苦参碱为混合模板分子、

甲基丙烯酸 (MAA) 为功能单体和 EGDMA 为交联剂, 成功合成了苦参碱-氧化苦参碱双模板 MIPs, 将 5.0 mL 苦参提取液上载到萃取柱中经过固相萃取从苦参中得到纯度较高的苦参碱-氧化苦参碱混合物, 其中氧化苦参碱的回收率为 95.2%, 苦参碱的回收率为 93.6%。Lian 等^[56]采用双模板分子策略, 以咖啡因和己酮可可碱为虚拟模板分子、MAA 为功能单体、EGDMA 为交联剂和聚乙烯醇 (PVA) 为分散剂, 采用水相悬浮聚合法合成了双模板分子印迹聚合物微球并制备成固相萃取柱, 结合高效液相色谱荧光检测器 (HPLC-FLD) 可从微小亚历山大藻中提取出膝沟藻毒素 1,4 (gonyautoxin 1, 4), 提取回收率为 73.2%~81.5%。Ma 等^[57]以苦参碱和氧化苦参碱为模板分子、聚乙二醇二甲基丙烯酸酯为功能单体和偶氮二异丁腈为引发剂, 采用沉淀聚合法制备了对 3 种苦参碱类生物碱具有特异性识别的双模板分子印迹聚合物, 同时建立了双模板分子印迹固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法分离纯化青藏高原苦参中苦参碱、氧化苦参碱和槐果碱的方法, 样品中 3 种

苦参碱在 3 个浓度水平下的加标回收率为 73.25%~98.42%, 制备原理工艺流程见图 3, 该方法也可用于其他药用植物和生物样品中苦参碱类化合物的高选择性分离和快速测定。Li 等^[58]以 Co^{2+} -紫杉醇-10-脱乙酰基巴卡丁 III 配合物为模板分子、4-VP 为功能单体、EGDMA 为交联剂和 AIBN 为引发剂, 并调节其用料比例, 采用金属螯合法成功制备了双模板分子印迹聚合物, 以该分子印迹聚合物为吸附介质, 通过固相萃取可从红豆杉提取液中有效地分离紫杉醇和 10-脱乙酰基巴卡丁 III 两种目标化合物, 回收率分别为 90.4% 和 93.6%。

从生物碱类分子印迹聚合物的众多制备方法来看, 其功能单体的选择大多为酸性功能单体 (如甲基丙烯酸) 和弱碱性功能单体 (如 4-VP), 此类功能单体容易与模板分子形成稳定的分子印迹聚合物, 吸附剂的重现性较高。另外, 选择与目标化合物结构相似的代表性化合物作为虚拟模板所制备的印迹聚合物, 可以实现多种模板分子及其结构类似物的交叉选择性识

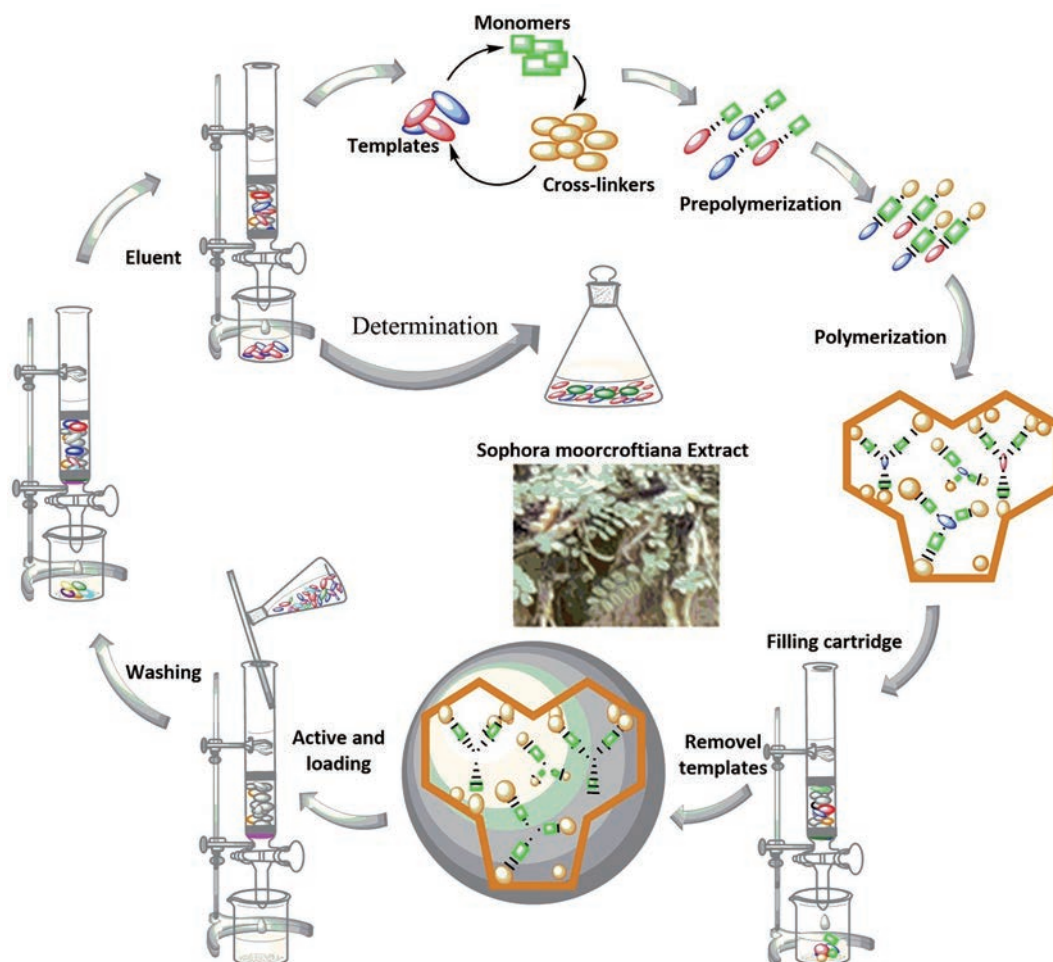


Figure 3 The protocol of the multi-templated molecularly imprinted solid-phase extraction. (Adapted from Ref. 57 with permission. Copyright © 2018 John Wiley and Sons)

别, 达到分离提取的目的。

2.3 苯丙素类

苯丙素类化合物是基本母核有1个或几个 C_6-C_3 单元的天然有机化合物类群, 具有抗血凝、抗病毒、抗骨质疏松及抗炎等多方面的药理作用。采用多模板分子印迹技术分离提取苯丙素类化合物, 大多是基于功能单体与模板分子基团之间的氢键及范德华力等分子间作用力来实现特异性分离。

Wang等^[59]以 Zn^{2+} -阿魏酸-咖啡酸配合物作为模板分子、4-VP为功能单体制备了双模板分子印迹聚合物, 取1.00 mL样品溶液装入分子印迹固相萃取柱中, 可同时选择性富集和提取升麻初提液中的阿魏酸和咖啡酸, 二者回收率分别92.67%和95.42%, 而且提取液中杂质少于用硅胶萃取所得。Bi等^[60]以氯化1-烯丙基-3-乙基咪唑鎓盐离子液体为功能单体、乙醇-水(9:1)为致孔剂, 经自由基引发聚合得到基于离子液体的酚酸分子印迹离子交换聚合物, 利用该聚合物可从海蓬子提取液中萃取出3种酚酸类化合物原儿茶酸(回收率90.1%)、阿魏酸(回收率95.5%)和咖啡酸(回收率96.6%), 这3种酚酸经过重复性的固相萃取循环过程能够逐一分开。Yin等^[61]以磁性多壁碳纳米管为载体材料、多巴胺为功能单体, 采用表面印迹聚合法制备了新型磁性印迹聚合物, 用于从玄参提取物样品中纯化和富集肉桂酸、阿魏酸和咖啡酸, 将20 mg分子印迹吸附剂分散到50.0 mL的加标玄参提取物样品中, 肉桂酸、阿魏酸和咖啡酸的回收率分别为92.4%~115.0%、89.4%~103.0%和86.6%~96.0%, 同时该吸附剂材料的吸附容量高于其他苯丙素类吸附剂。

在分子印迹聚合物的众多聚合方法中, 表面分子印迹法在分离苯丙素类化合物应用中较为广泛。对于苯丙素类化合物的分离提取, 由于此类化合物含有羧酸基团而显酸性, 选择碱性或弱碱性的功能单体能够提高聚合物的稳定性, 有利于增加吸附剂吸附量和提高总回收率。

2.4 萜类及其衍生物

萜类化合物是分子式为异戊二烯的整数倍的烯烃类化合物, 普遍存在于植物体内的天然来源碳氢化合物。利用多模板分子印迹技术分离多种萜类化合物只能通过母体结构与功能单体间的范德华作用力或与功能单体间的氢键作用来实现。

Li等^[62]以丹参酮I、丹参酮IIA和隐丹参酮为模板, 合成了深共晶溶剂改性二氧化硅磁性分子印迹聚合物吸附剂, 经磁性固相萃取快速纯化丹参中丹参酮I、丹参酮IIA和隐丹参酮, 最佳提取回收率分别为85.57%、80.58%和92.12%。Li等^[63]以 Co^{2+} -桃叶珊瑚苷-京尼

平苷配合物为模板分子, 成功制备了双模板分子印迹聚合物。所得分子印迹聚合物对两种化合物可在较短时间内达到吸附平衡, 同时以该分子印迹聚合物为吸附剂, 通过固相萃取可从杜仲粗提液中有效分离桃叶珊瑚苷和京尼平苷两种环烯醚萜苷类化合物。Hou^[64]以三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 R_{b1} 为模板分子、丙烯酸(AA)为功能单体和乙醇作为致孔剂, 采用沉淀聚合法合成了三七总皂苷分子印迹聚合物, 当8.0 mL三七皂苷提取液缓慢通过固相萃取柱时, 成功地从三七药材中固相萃取出了较高纯度三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 和人参皂苷 R_{b1} , 其回收率均大于80.7%, RSD小于3.2%, 可以有效从植物中草药中提取一组关键的生物活性化合物。

基于分子印迹技术分离不含有功能基团的萜类及衍生物只能通过母体结构的疏水性与功能单体间的范德华作用力来特异性识别, 且这种识别效果一般较弱; 对于含功能基团(如羟基、羧基等)的萜类及甾体类化合物与功能单体间的氢键作用可使分子识别作用进一步增强。此外, 由于一些萜类化合物和功能单体能与金属离子配位形成较稳定的配合物。因此, 以配合物作为模板分子构建的分子印迹聚合物在金属离子存在下对这些萜类化合物具有更高的特异性识别。

2.5 其他类

Ji等^[65]以6-甲氧基水杨酸和6-十六烷氧基水杨酸为双模板分子、4-VP为功能单体, 制备出的虚拟模板分子印迹聚合物对银杏酸具有特异性吸附作用, 制备的银杏叶提取液以 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 流速通过虚拟分子印迹固相萃取柱, 可以从中选择性富集和分离银杏酸, 回收率为82.5%~88.7%, RSD为0.5%~2.6%。Ji等^[66]以苯丙酮酸和DL-酪氨酸为多模板剂、N,N'-亚甲基双丙烯酰胺(MBA)为交联剂和乙二醇二甲醚(DME)为致孔剂, 采用本体聚合法制备了特异性识别三七素分子印迹聚合物, 具有良好的亲水性, 建立分子印迹固相萃取法, 以 $3.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 恒定流速流过分子印迹固相萃取柱, 选择性地从三七中提取三七素, 纯度为98.5%, 平均回收率为85.6%。Li等^[67]以岩藻多糖和海藻酸为模板, 用深共晶溶剂对磁性分子印迹聚合物进行改性, 将10 mg改性磁性吸附剂加入 $5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 萃取液1 mL, 通过磁性固相萃取富集海藻中的岩藻依聚糖和海藻酸。结果发现, 在最佳条件下用深共晶溶剂-磁性分子印迹聚合物在海藻中纯化的两种多糖(岩藻依聚糖和海藻酸)的实际回收率分别为89.87%和92.0%, 实际提取量分别为20.6和 $18.7\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

3 总结与展望

中药中结构类似物的分离纯化一直以来都较为困

难,多模板分子印迹-固相萃取技术的出现为中药有效部位中具有类似结构单元成分群的分离带来了希望。根据分离的目标,选取具有代表性结构的化合物组成多模板分子制备MIPs,通过固相萃取等方法实现中药有效部位群的高效分离,而纳米材料功能化的分子印迹聚合物及多模板分子印迹-固相萃取技术的应用在不同种类中药活性成分提取中拥有不可忽视的优势:① 利用特异性结合这一特点,多模板分子印迹-固相萃取技术使分离过程选择性高、操作简单、明显缩短实验周期和溶剂消耗量少;② 作为吸附剂的聚合物性质稳定、不易变形和使用寿命长,分离效率远高于常规方法;③ 同时可用于对药材中发挥特定药理作用的有效成分群进行提取分离,通过分析研究提取分离的化合物,可以为阐明中药复方的药效物质基础提供参考。尽管该技术在中药多组分提取分离的应用中极具发展潜力,但仍存在一些局限:① 功能单体与模板分子结合位点的作用机制无法准确描述,目前研究较少;② MIPs与目标分子之间大部分以氢键结合,反应局限在非极性或非弱极性溶剂中,为尽量减少有机溶剂的使用,以符合绿色化学的理念,需寻找一类适用于水等强极性溶剂的新型功能单体;③ 当前总体应用成本较高,离实现大规模工业化生产有相当的距离。总之,未来应充分发挥该技术中各交叉学科的优势及应用最新成果,使中药活性多组分的分离更加高效、环保和廉价,以符合大规模工业化生产和绿色化学发展的要求,满足中药药效物质基础研究的需要。

作者贡献: 李硕负责资料调研和写作;常月月参与资料调研与修改;姚卫峰提出想法、指导并修改论文;程芳芳、包贝华、曹雨诞、张丽和丁安伟参与指导和论文修改。

利益冲突: 作者声明本文不存在利益冲突。

References

- [1] Chen LX, Xu SF, Li JH. Recent advances in molecular imprinting technology: current status, challenges and highlighted applications [J]. Chem Soc Rev, 2011, 40: 2922-2942.
- [2] Liang YL, Zhao QY, Liu HD, et al. Amido surface-functionalized magnetic molecularly imprinted polymers for the efficient extraction of sibiskoside from *Sibiraea angustata* [J]. J Chromatogr B, 2019, 1109: 90-98.
- [3] Azizi A, Bottaro CS. A critical review of molecularly imprinted polymers for the analysis of organic pollutants in environmental water samples [J]. J Chromatogr A, 2020, 1614: 460603.
- [4] Wang XJ, Ding H, Yu XR, et al. Characterization and application of molecularly imprinted polymer-coated quantum dots for sensitive fluorescent determination of diethylstilbestrol in water samples [J]. Talanta, 2019, 197: 98-104.
- [5] Zhang K, Zhou TC, Kettisen K, et al. Chromatographic separation of hemoglobin variants using robust molecularly imprinted polymers [J]. Talanta, 2019, 199: 27-31.
- [6] Wang XM, Hung PF, Ma XM, et al. Preparation and evaluation of magnetic core-shell mesoporous molecularly imprinted polymers for selective adsorption of tetrabromobisphenol S [J]. Talanta, 2017, 166: 300-305.
- [7] Weissir JJ, Hansen CH, Poulsen R, et al. Two simple cleanup methods combined with LC-MS/MS for quantification of steroid hormones *in vivo* and *in vitro* assays [J]. Anal Bioanal Chem, 2016, 408: 4883-4895.
- [8] Vuckovic D. Current trends and challenges in sample preparation for global metabolomics using liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Anal Bioanal Chem, 2012, 403: 1523-1548.
- [9] Zhuang L, Zhai YY, Yao WF, et al. The mechanism study of protecting kidney of Erzhi pill based on network pharmacology [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2019, 54: 877-885.
- [10] Liu J, Xiao HB. Research progress on pharmacodynamic substances of Chinese medicine based on chromatographic techniques [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2019, 54: 73-81.
- [11] Wang SS. Preparation, Recognition and Solid Phase Extraction Application of Bi-templates Imprinted Polymers (多模板印迹聚合物的研制、分子识别及固相萃取研究与应用) [D]. Hunan: Jishou University, 2016.
- [12] Ji WH, Zhang MM, Gao QS, et al. Preparation of hydrophilic molecularly imprinted polymers *via* bulk polymerization combined with hydrolysis of ester groups for selective recognition of iridoid glycosides [J]. Anal Bioanal Chem, 2016, 408: 5319-5328.
- [13] Huang L, Zhai HY, Liang GH, et al. Chip-based dual-molecularly imprinted monolithic capillary array columns coated Ag/GO for selective extraction and simultaneous determination of bisphenol A and nonyl phenol in fish samples [J]. J Chromatogr A, 2016, 1474: 14-22.
- [14] Lenain P, Diana DMJ, Dubruel P, et al. Development of suspension polymerized molecularly imprinted beads with metergoline as template and application in a solid-phase extraction procedure toward *Ergot alkaloids* [J]. Anal Chem, 2012, 84: 10411.
- [15] Lu WH, Liu J, Li JH, et al. Dual-template molecularly imprinted polymers for dispersive solid-phase extraction of fluoroquinolones in water samples coupled with high performance liquid chromatography [J]. Analyst, 2019, 144: 1292-1302.
- [16] Zhan XX, Sun XL, Wang MH, et al. Dummy molecularly imprinted microspheres prepared by Pickering emulsion polymerization for matrix solid-phase dispersion extraction of three azole fungicides from fish samples [J]. J Chromatogr A, 2020, 1620: 461013.
- [17] Wang DD, Gao D, Xu WJ, et al. Magnetic molecularly imprinted polymer for the selective extraction of hesperetin from the dried pericarp of *Citrus reticulata* Blanco [J]. Talanta, 2018, 184:

- 307-315.
- [18] Guo ZH, Florea A, Cristea C, et al. 1,3,5-Trinitrotoluene detection by a molecularly imprinted polymer sensor based on electropolymerization of a microporous-metal-organic framework [J]. *Sensor Actuat B Chem*, 2015, 207: 960-966.
- [19] Bougrini M, Florea A, Cristea C, et al. Development of a novel sensitive molecularly imprinted polymer sensor based on electropolymerization of a microporous-metal-organic framework for tetracycline detection in honey [J]. *Food Control*, 2016, 59: 424-429.
- [20] Alizadeh T. Preparation of molecularly imprinted polymer containing selective cavities for urea molecule and its application for urea extraction [J]. *Anal Chim Acta*, 2010, 669: 94-101.
- [21] Liang Y, He J, Huang Z, et al. An amino-functionalized zirconium-based metal-organic framework of type UiO-66-NH covered with a molecularly imprinted polymer as a sorbent for the extraction of aflatoxins AFB1, AFB2, AFG1 and AFG2 from grain [J]. *Mikrochim Acta*, 2020, 187: 117-122.
- [22] Maciel EVS, Mejía-Carmona K, Jordan-Sinisterra AM, et al. The current role of graphene-based nanomaterials in the sample preparation arena [J]. *Front Chem*, 2020, 8: 664-664.
- [23] Li SY, Zhu F, Jiang RF, et al. Preparation and evaluation of amino modified graphene solid-phase microextraction fiber and its application to the determination of synthetic musks in water samples [J]. *J Chromatogr A*, 2016, 1429: 1-7.
- [24] Ma WW, Row KH. Simultaneous determination of levofloxacin and ciprofloxacin in human urine by ionic-liquid-based, dual-template molecularly imprinted coated graphene oxide monolithic solid-phase extraction [J]. *J Sep Sci*, 2019, 42: 642-649.
- [25] Qian K, Deng QL, Fang GZ, et al. Metal-organic frameworks supported surface-imprinted nanoparticles for the sensitive detection of metolcarb [J]. *Biosens Bioelectron*, 2016, 79: 359-363.
- [26] Férey G, Mellot-Draznieks C, Serre C, et al. Crystallized frameworks with giant pores: are there limits to the possible? [J]. *Acc Chem Res*, 2005, 38: 217-225.
- [27] Mirzajani R, Kardani F, Ramezani Z. A nanocomposite consisting of graphene oxide, zeolite imidazolate framework 8, and a molecularly imprinted polymer for (multiple) fiber solid phase microextraction of sterol and steroid hormones prior to their quantitation by HPLC [J]. *Mikrochim Acta*, 2019, 186: 129.
- [28] Shang HB, Yang CX, Yan XP. Metal-organic framework UiO-66 coated stainless steel fiber for solid-phase microextraction of phenols in water samples [J]. *J Chromatogr A*, 2014, 1357: 165-171.
- [29] Wang SS, Zhang JF, Li CY, et al. Analysis of tetracyclines from milk powder by molecularly imprinted solid-phase dispersion based on a metal-organic framework followed by ultrahigh performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2018, 41: 2604-2612.
- [30] Chen PY, Nien PC, Hu CW, et al. Detection of uric acid based on multi-walled carbon nanotubes polymerized with a layer of molecularly imprinted PMAA [J]. *Sensor Actuat B Chem*, 2010, 146: 466-471.
- [31] Yuan XC, Yuan YX, Gao X, et al. Magnetic dummy-template molecularly imprinted polymers based on multi-walled carbon nanotubes for simultaneous selective extraction and analysis of phenoxy carboxylic acid herbicides in cereals [J]. *Food Chem*, 2020, 333: 127540.
- [32] Chen X, Zhang ZH, Yang X, et al. Molecularly imprinted polymers based on multi-walled carbon nanotubes for selective solid-phase extraction of oleanolic acid from the roots of kiwi fruit samples [J]. *Talanta*, 2012, 99: 959-965.
- [33] Mahajan R, Rouhi M, Shinde S, et al. Highly efficient synthesis and assay of protein-imprinted nanogels by using magnetic templates [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2019, 58: 727-730.
- [34] Nazario CED, Fumes BH, Silva MRD, et al. New materials for sample preparation techniques in bioanalysis [J]. *J Chromatogr B*, 2017, 1043: 81-95.
- [35] Cheng Y, Nie JY, Liu HD, et al. Synthesis and characterization of magnetic molecularly imprinted polymers for effective extraction and determination of kaempferol from apple samples [J]. *J Chromatogr A*, 2020, 1630: 461531.
- [36] Alipanahpour DE, Ghaedi M, Asfaram A, et al. Magnetic dual-template molecularly imprinted polymer based on syringe-to-syringe magnetic solid-phase microextraction for selective enrichment of *p*-coumaric acid and ferulic acid from pomegranate, grape, and orange samples [J]. *Food Chem*, 2020, 325: 126902.
- [37] Ma XB, Lin HL, He YH, et al. Magnetic molecularly imprinted polymers doped with graphene oxide for the selective recognition and extraction of four flavonoids from *Rhododendron species* [J]. *J Chromatogr A*, 2019, 1598: 39-48.
- [38] Yin YL, Yan L, Zhang ZH, et al. Magnetic molecularly imprinted polydopamine nanolayer on multiwalled carbon nanotubes surface for protein capture [J]. *Talanta*, 2015, 144: 671-679.
- [39] Li F, Gao J, Li XX, et al. Preparation of magnetic molecularly imprinted polymers functionalized carbon nanotubes for highly selective removal of aristolochic acid [J]. *J Chromatogr A*, 2019, 1602: 168-177.
- [40] Yu HL, He YH, She YX, et al. Preparation of molecularly imprinted polymers coupled with high-performance liquid chromatography for the selective extraction of salidroside from *Rhodiola crenulata* [J]. *J Chromatogr B*, 2019, 1118-1119: 180-186.
- [41] Martins RO, Gomes IC, Mendonça TAD, et al. Molecularly imprinted polymer as solid phase extraction phase for condensed tannin determination from Brazilian natural sources [J]. *J Chromatogr A*, 2020, 1620: 460977.
- [42] Shen HY, Liu BW, Xiang Q, et al. Highly selective amino-functionalized magnetic molecularly imprinted polymers: absorbents for dispersive solid phase extraction and trace level analysis of chlorophenols in seawater [J]. *RSC Adv*, 2016, 6: 81330.

- [43] Zhang JW, He JY, Wang CZ, et al. Simultaneous extraction of several targets by using non-toxic dual template molecularly imprinted polymers *in vivo* and *in vitro* [J]. *Talanta*, 2020, 219: 121283.
- [44] Ye CL, He S, Cao WL, et al. Research progress in new technologies for extraction and separation of Chinese material medica [J]. *Chin Tradit Herbal Drugs (中草药)*, 2015, 46: 457-464.
- [45] Ye RJ, Yang JM, Hai DM, et al. Interplay between male reproductive system dysfunction and the therapeutic effect of flavonoids [J]. *Fitoterapia*, 2020, 147: 104756.
- [46] Huang F, Wang B, Li M. Synthesis and evaluation of a metal-complexing imprinted polymer for Chinese herbs quercetin [J]. *J Appl Polym Sci*, 2012, 126: 501-509.
- [47] Pakade V, Cukrowsk AE, Lindahl S, et al. Molecular imprinted polymer for solid-phase extraction of flavonol aglycones from *Moringa oleifera* extracts [J]. *J Sep Sci*, 2013, 36: 548-555.
- [48] Wang SS, Zhang Y, Li H, et al. Preparation, characterization and recognition behavior of quercetin-rutin bi-template molecularly imprinted polymers [J]. *Chin J Applied Chem (应用化学)*, 2015, 32: 1290-1298.
- [49] Li C, Shi B, Zhang MK, et al. Preparation and characteristics of soy isoflavone class-specific molecularly imprint polymer microspheres based on two templates [J]. *Sci Tech Food Ind (食品工业科技)*, 2012, 33: 53-57.
- [50] Chu SM, Qiang LQ, Yu TT, et al. Preparation of molecularly imprinted polymer by composite template and study on its adsorption properties of flavonoids [J]. *J Analyt Sci (分析科学学报)*, 2020, 36: 379-384.
- [51] Ma YJ, Bai WT, Zhu XF, et al. Simultaneous determination of four flavonoids in *Rubus chingii* by MIPs-HPLC [J]. *Chin Tradit Patent Med (中成药)*, 2017, 39: 2097-2101.
- [52] Ma WW, Tang BK, Row KH. Exploration of a ternary deep eutectic solvent of methyltriphenylphosphonium bromide/chalcone/formic acid for the selective recognition of rutin and quercetin in *Herba Artemisiae Scopariae* [J]. *J Sep Sci*, 2017, 40: 3248-3256.
- [53] Zhang YB, Hu X, Pang YX, et al. A method for separation and purification of alaxanthin and its structural analogues: CN, 106478577B [P]. 2019-04-19.
- [54] You LT, Yang CJ, Du YY, et al. A systematic review of the pharmacology, toxicology and pharmacokinetics of matrine [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 01067.
- [55] Liu HM. Preparation, Recognition Mechanism and Application of Molecularly Imprinted Polymers for Bioactive Compounds of Traditional Chinese Medicines (中药活性成分分子印迹聚合物的制备、识别机制与应用研究) [D]. Changsha: Hunan University, 2009.
- [56] Lian ZR, Wang JT. Selective isolation of gonyautoxins 1, 4 from the dinoflagellate *Alexandrium minutum* based on molecularly imprinted solid-phase extraction [J]. *Mar Pollut Bull*, 2017, 122: 500-504.
- [57] Ma XB, Lin HL, Zhang JY, et al. Extraction and identification of matrine-type alkaloids from *Sophora moorcroftiana* using double-templated molecularly imprinted polymers with HPLC-MS/MS [J]. *J Sep Sci*, 2018, 41: 1691-1703.
- [58] Li L, Zhang Y, Wang SS, et al. Paclitaxel-10-deacetylbaccatine III bimolecular metal coordination imprinting material and its preparation and application: CN, 105732892A [P]. 2016-07-06.
- [59] Wang SS, Zhang Y, Li H. Preparation and characterization of Zn²⁺-bi-templates imprinted polymers for the simultaneous extraction of ferulic acid and caffeic acid in *Rhizoma Cimicifugae* [J]. *Chem Ind and Eng Prog (化工进展)*, 2016, 35: 1132-1139.
- [60] Bi W, Tian M, Row KH. Separation of phenolic acids from natural plant extracts using molecularly imprinted anion-exchange polymer confined ionic liquids [J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1232: 37-42.
- [61] Yin YL, Yan L, Zhang ZH, et al. Polydopamine-coated magnetic molecularly imprinted polymer for the selective solid-phase extraction of cinnamic acid, ferulic acid and caffeic acid from *Radix scrophulariae* sample [J]. *J Sep Sci*, 2016, 39: 1480-1488.
- [62] Li GZ, Wang XQ, Row KH. Magnetic molecularly imprinted polymers based on silica modified by deep eutectic solvents for the rapid simultaneous magnetic-based solid-phase extraction of *Salvia miltiorrhizabunge*, *Glycine max* (Linn.) Merr and green tea [J]. *Electrophoresis*, 2018, 39: 1111-1118.
- [63] Li H, Wang SS, Zhang Y, et al. A method for simultaneous extraction of aucubin and geniposide from *Eucommia ulmoides* bark: CN, 105254692A [P]. 2016-01-20.
- [64] Hou SY. Preparation and Application of Multi-template Molecularly Imprinted Polymers of *Panax Notoginseng* saponins (多模板三七皂苷分子印迹聚合物的制备及其应用) [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2016.
- [65] Ji WH, Ma XL, Xie HK, et al. Molecularly imprinted polymers with synthetic dummy template for simultaneously selective removal and enrichment of ginkgolic acids from *Ginkgo biloba* L. leaves extracts [J]. *J Chromatogr A*, 2014, 1368: 44-51.
- [66] Ji WH, Xie HK, Zhou J, et al. Water-compatible molecularly imprinted polymers for selective solid phase extraction of dencichine from the aqueous extract of *Panax notoginseng* [J]. *J Chromatogr B*, 2016, 1008: 225-233.
- [67] Li GZ, Row KH. Magnetic molecularly imprinted polymers for recognition and enrichment of polysaccharides from seaweed [J]. *J Sep Sci*, 2017, 40: 4765-4772.