DOI:10. 19431/j. cnki. 1673-0062. 2019. 04. 008

生物相容性水飞蓟宾印迹材料的制备及性能研究

谭　倪,何典雄,罗笑梅,季　康,韩敬文,王书淳,李凯歌,王　瑾,王世玉

(南华大学 化学化工学院,湖南 衡阳 421001)

摘　要:以护肝活性天然产物水飞蓟宾(silybin)为模板分子,甲基丙烯酸(methacrylic,MAA)为功能单体,N-异丙基丙烯酰胺(N-isopropyl acrylamide,NIPAm)为热响应单体,生物相容性壳聚糖包裹 Fe_3O_4 磁核作为载体,运用电子转移活化再生催化剂原子转移自由基聚合(activator regenerated by electron transfer atom transfer radical polymerization ,ARGET ATRP)制备水飞蓟宾磁性分子印迹聚合物(molecularly imprinted polymers,MMIPs),并运用傅里叶变换红外光谱(fourier transform infrared spectroscopy,FT-IR)、(thermogravimetric analysis,TGA)、(scanning electron microscope,SEM)和(X-ray diffraction,XRD)对合成的磁性印迹材料进行了表征。MMIPs 对水飞蓟宾的动态吸附行为可以通过准二级动力学模型解释说明。MMIPs 的印迹因子 γ 为 3.20、选择性因子 α(2.636)及相对选择性因子 β(2.468),反映了所合成的印迹材料对水飞蓟宾具有良好的特异性识别能力和选择性吸附能力。另外,通过八次循环利用实验,发现 MMIPs 的吸附量仅减少 22 %,这说明了所制备的印迹材料尚具有良好的稳定性。

关键词:水飞蓟宾;生物相容性;磁性分子印迹聚合物;选择性识别;电子转移活化再生催化剂原子转移自由基聚合

中图分类号:O631.3　　**文献标志码**:A　　**文章编号**:1673-0062(2019)04-0079-10

Study on Preparation and Properties of Biocompatible Silybin Imprinted Materials

TAN Ni, HE Dianxiong, LUO Xiaomei, JI Kang, HAN Jingwen, WANG Shuchun, LI Kaige, WANG Jin, WANG Shiyu

(School of Chemistry and Chemical Engineering, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

收稿日期:2019-04-22

基金项目:南华大学大学生研究性学习及创新实验项目(2018XJXZ329);南华大学研究生科研创新项目(2018KYY050)

作者简介:谭　倪(1969-),男,教授,博士,主要从事天然药物的提取与分离方面研究。E-mail:tan_nii@163.com

Abstract: Using hepatoprotective active natural product silybin as template molecule, MAA as functional monomer, NIPAm as thermal response monomer, biocompatible chitosan coated Fe_3O_4 magnetic core as carrier, the silybin magnetic molecularly imprinted polymers (MMIPs) were successfully prepared by activator regenerated by electron transfer atom transfer radical polymerization (ARGET ATRP). The magnetic imprinted materials were respectively characterized by FT-IR, TGA, SEM and XRD. The dynamic adsorption behavior of MMIPs to silybin could be explained by pseudo-second-order kinetic model. The imprinting factor γ of MMIPs (3.20), the selectivity factor α (2.636), and the relative selectivity factor β (2.468) indicated that the synthesized imprinted polymer had good specific recognition ability and selective adsorption capacity for silybin. In addition, after eight recycling experiments, the adsorption capacity of MMIPs decreased by only 22 %, which indicated that the imprinted material had good stability.

key words: silybin; biocompatible; magnetic molecularly imprinted polymer; selective recognition; ARGET ATRP

0 引 言

水飞蓟宾是一种黄酮木质素类化合物,主要存在于菊科草本植物水飞蓟干燥的种皮中,它具有抗氧化、抗纤维化、稳定肝细胞膜、促进肝细胞的再生和修复等活性,临床上多用于脂肪肝、肝硬化、肝炎等疾病的治疗[1-2]。近期研究表明,水飞蓟宾还具有降血脂、抗肿瘤活性、清除自由基、抑制脂质过氧化等功效[3-4],其结构式如图 1 所示。由于天然产物的传统提取方法常具有费时费力、溶剂消耗量大[5]、选择性及特异性差等不足[6-7],因此,目前应用分子印迹技术(molecularly imprinted technology, MIT)来制备无毒或低毒且价格低廉的生物相容性印迹材料[8-9],便成为天然活性物质的提取、固相萃取、色谱分离、药物转运等研究领域的热点[10-14]。

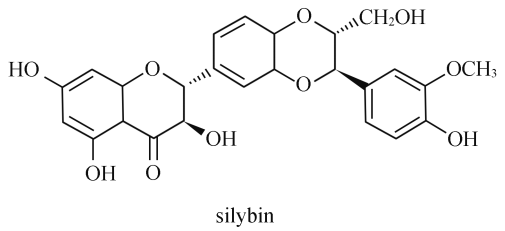


图 1 水飞蓟宾的结构式

Fig. 1 The structures of silybin

"活性/可控"自由基聚合是近年发展起来用于分子印迹技术 MIT 领域的一种聚合方法[15],其中,ARGET ATRP 又明显优于原子转移自由基聚合法(atom transfer radical polymerization, ATRP)及反向原子转移自由基聚合法(reverse atom transfer radical polymerization, RATRP)[16],因为它使用了无毒或低毒有机还原剂如抗坏血酸、辛酸亚锡等代替传统常规的自由基引发剂,并且可以将催化剂浓度降低到 ppm(part per million)级[17],其反应机理如图 2 所示。由 ARGET ATRP 来制备水飞蓟宾印迹材料,而后将之用于药物的提取、分离及递送等方面,目前尚未见文献报导。

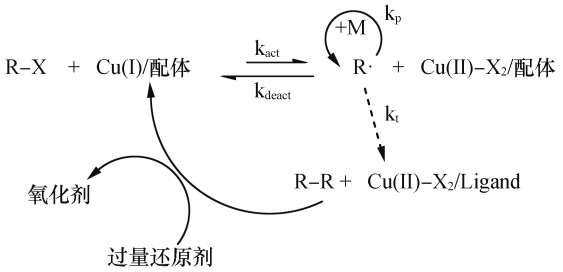


图 2 电子转移再生催化剂原子转移自由基聚合机理

Fig. 2 Mechanism of ARGET ATRP

基于上述情况,本研究首先通过 ARGET ATRP 制备了一种生物相容性水飞蓟宾印迹材料 MMIPs,然后运用 FT-IR、SEM、XRD 和 TGA 等对之进行了合理表征,最后,于 MMIPs 对水飞蓟宾的识别能力、吸附性能(静态吸附、动力学吸附和循环再生性)以及吸附模型等方面也进行了较为详细的分析与讨论。

1 材料和方法

1.1 试剂及仪器

试剂:水飞蓟宾(silybin, 98%),甲基丙烯酸

(MAA, 98%), 2-溴异丁酸乙酯(ethyl-2-bromoisobutanoate,EiBB,98%),3-氨丙基三乙氧基硅烷((3-Aminopropyl)triethoxysilane,APTES,98%)购于上海麦克林试剂公司。壳聚糖(chitosan,CS,脱乙酰度≥95%)买于上海迈瑞尔化学技术有限公司。2-溴异丁酰溴(2-Bromoisobutyryl Bromide,BiBB,98%)产自上海阿拉丁生物科技有限公司。N-异丙基丙烯酰胺(NIPAm,98%),N,N,N′,N′,N″-五甲基二亚乙基三胺(N,N,N′,N′,N″-pentamethyldiethylenetriamine,PMDETA,98%),乙二醇二甲基丙烯酸酯(eyhylene glycol dimethacrylate,EGDMA,98%)均来源于上海萨恩化学试剂有限公司。抗坏血酸(ascorbic acid,AsAc,AR)购于天津市富宇精细化工有限公司。

仪器:Hitachi U-3900 紫外可见分光光度计(日立,日本),SH-IMADZU 傅里叶变换红外光谱仪(岛津,日本),Ultima IV X 射线衍射仪(日本理学),FEI Inspect F50 扫描电子显微镜(美国),TGA-SDTA851e(梅特勒,瑞士)。

1.2　水飞蓟宾磁性分子印迹聚合物的制备

MMIPs 的合成路线如图 3,详细过程描述如下:

室温下,首先将 MAA(0.25 mmol,22 μL)、NIPAm(0.25 mmol,26 mg)和水飞蓟宾(0.05 mmol,24.1 mg)溶于 10 mL 乙腈中,预聚合 12 h 后,加入 $CuBr_2$(1.1 mg)和 PMDETA(15.5 μL)以形成澄清透明溶液,然后再依次加入载体 Fe_3O_4@CS@APTES@BiBB100 mg、EGDMA(565 μL)、EBiB(36.1 μL)和 AsAc(13.2 mg),并将该混合物置于 65 ℃下反应 24 h。反应结束后,借助外部磁场将产物进行分离,并以乙醇洗涤多次,随后于索氏提取器中以乙酸酸化的体积分数为 30% 的乙醇溶液反复洗脱至仪器检测不出水飞蓟宾为止。产品最后用乙醇洗涤至中性,并在 60 ℃下干燥 24 h 以备后用,其中载体 Fe_3O_4@CS@APTES@BiBB 的制备可参照文献[18-20]。非印迹聚合物(non-molecularly imprinted polymers,MNIPs)的制备与 MMIPs 的制备方法大体相同,仅未加入模板分子水飞蓟宾。

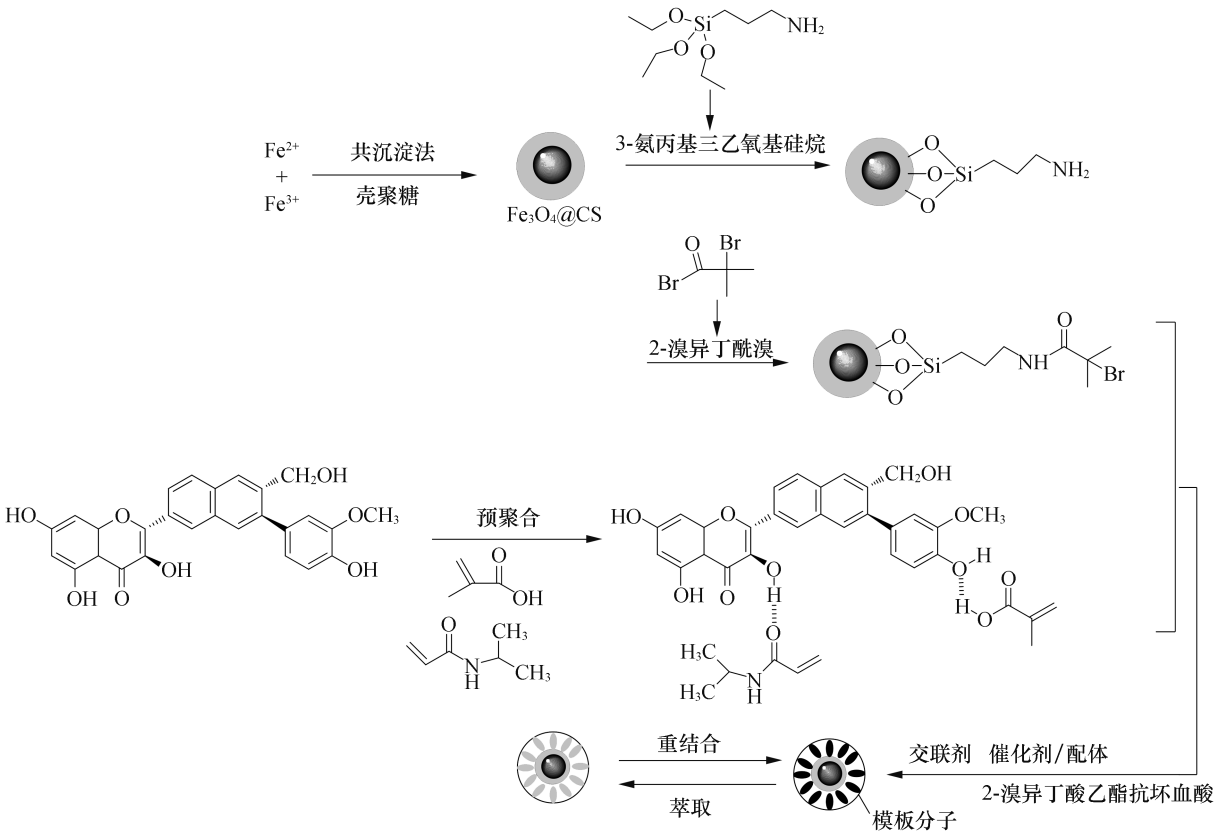


图 3　MMIPs 的合成路线

Fig. 3　The synthesis scheme of silybin MMIPs

1.3 吸附实验

1.3.1 静态吸附实验

将 30 mg MMIPs 加入到 5 mL 浓度从 0.01 mg/mL 到 0.20 mg/mL 的水飞蓟宾乙腈溶液中,室温下振荡 540 min。然后通过外部磁场分离得到上清液,用 UV-3900 分光光度计在 287 nm 处测定残余水飞蓟宾浓度,此法同样适用于对 MNIPs 的测定。MMIPs 或 MNIPs 对水飞蓟宾的平衡吸附量(Q_e,mg/g)可由公式(1)得到:

$$Q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{M} \tag{1}$$

其中 C_0 和 C_e(mg/mL)分别代表溶液中水飞蓟宾的初始浓度和平衡时的浓度;V(mL)表示溶液的体积;M(g)是 MMIPs 或 MNIPs 的质量。

印迹因子 γ 可由公式(2)计算得到:

$$\gamma = \frac{Q_{MMIP}}{Q_{NIP}} \tag{2}$$

其中 Q_{MMIP} 和 Q_{NIP} 分别代表 MMIPs 和 MNIPs 的吸附容量。

1.3.2 动态吸附实验

取 30 mg MMIPs 或 MNIPs 分别加入到含 5 mL 0.08 mg/mL 水飞蓟宾乙腈溶液的锥形瓶中,室温下振荡 60 ~ 660 min 不等,然后通过外部磁场分离得到上清液,用 UV-3900 分光光度计在 287 nm 处检测溶液中水飞蓟宾浓度,从而计算平衡时的吸附量 Q_e。

1.3.3 选择性吸附实验

将 30 mg MMIPs 或 MNIPs 分别加入到含有 5 mL 0.08 mg/mL 的水飞蓟宾和槲皮素乙腈溶液中,室温下振荡 540 min,然后通过外部磁场分离得到上清液,分别在 287 nm 和 368 nm 处检测水飞蓟宾及槲皮素的浓度,从而计算得到 MMIPs 和 MNIPs 分别对水飞蓟宾和槲皮素的吸附容量。

方程(3) ~ (5)可以计算出水飞蓟宾和槲皮素的分配系数[21-22]。

$$K_d = \frac{Q_e}{C_e} \tag{3}$$

$$\alpha = \frac{K_{d1}}{K_{d2}} \tag{4}$$

$$\beta = \frac{\alpha_1}{\alpha_2} \tag{5}$$

其中,K_{d1} 和 K_{d2} 分别代表水飞蓟宾和槲皮素的静态分布系数;Q_e(mg/g)和 C_e(mg/mL)分别表示平衡时吸附剂的吸附量和上清液中残余浓度;α_1 和 α_2 为 MMIPs 和 MNIPs 的分离因子,β 表示吸附材料的相对选择因子。

1.3.4 重复利用性和可再生性实验

重复利用性实验与前面所述吸附实验基本相同,在此不再重述,本研究中吸附-脱附循环实验次数至少达 8 次以上。

2 结果和讨论

2.1 表征

2.1.1 FT-IR 分析

Fe_3O_4@CS(a)、Fe_3O_4@CS@APTES(b)、Fe_3O_4@CS@APTES@BiBB(c)、MMIPs(d)、MNIPs(e)和洗脱后 MMIPs(f)的 FT-IR 见图 4 所示。图 4(a)中,578 cm^{-1} 处峰为 Fe——O 键伸缩振动所致;3 439 cm^{-1} 处强吸收峰应归属于—NH_2 和—OH 的伸缩振动;峰 1 382 cm^{-1} 和 1 020 cm^{-1} 是 C—O 键伸缩振动的特征吸收峰,上述信息表明 CS 已成功地包覆在 Fe_3O_4 上面[23]。图 4(b)中,由于 3-APTES 中有更多—NH_2 和—OH 的引入,因此峰 3 458 cm^{-1} 的位置及形状较图 4(a)存在着一些变化;1 087 cm^{-1} 处峰为 Si—O 键的特征峰,这些均说明了 3-APTES 已将磁性壳聚糖粒子成功改性[24]。图 4(c)中,峰 663 cm^{-1} 及 1 627 cm^{-1} 分别为 C—Br 及 C═O 的伸缩振动特征吸收峰;这些说明了引发剂 BiBB 已对氨基改性成功[25]。图 4(d)中出现了 1 460 cm^{-1} 和 1 641 cm^{-1} 特征吸收峰可以认定为苯环骨架的伸缩振动峰,而在 MNIPs(e)和洗脱后 MMIPs(f)中却未出现,这说明模板分子水飞蓟宾未存在于 MNIPs(e)和洗脱后 MMIPs(f)中。综上所述,Fe_3O_4@CS、Fe_3O_4@CS@APTES、Fe_3O_4@CS@APTES@BiBB、MMIPs、MNIPs 等已被成功制备。

2.1.2 SEM 分析

一般来说,SEM 可用于观察材料的形貌特征,MMIPs 和 MNIPs 的 SEM 如图 5(a) ~ 图 5(d)所示。图 5(a)中,MMIPs 表面粗糙,并有类似于孔穴状的东西出现,当放大倍数继续扩大时,MMIPs 表面变得更为粗糙,并伴有明显的印迹孔穴(见图 5(b)所示),这是因模板分子水飞蓟宾被洗脱后所留下的印迹腔。相反,图 5(c) ~ 图 5(d)中材料表面比较光滑,并未出现上述类似的孔穴,这是由于在制备 MNIPs 材料时未加入模板分子所致。

2.1.3 XRD 分析

XRD 能分析制备材料的晶型,Fe_3O_4@CS、

Fe_3O_4@CS@APTES、MMIPs 的 X 射线衍射图谱如图 6(a-c)所示。从图 6 中可以清楚看到,当 2θ 为 20° ~ 80°的变化范围内,三个样品都出现了(2θ=30.4°,35.7°,43.3°,53.5°,57.3°和 62.8°)六个特征衍射峰。且图 6a 中相应 2θ 值的峰值分别为(220),(311),(400),(422),(511),(440),它们与 JCPDS-国际中心的磁铁矿衍射数据标准十分匹配[26]。与 Fe_3O_4@CS 曲线相比较,Fe_3O_4@CS@APTES 和 MMIPs 曲线中各峰出现的位置并无改变,仅是峰强有所下降,这些说明了氨基改性的壳聚糖层及其印迹材料均成功包裹在磁核基底上。

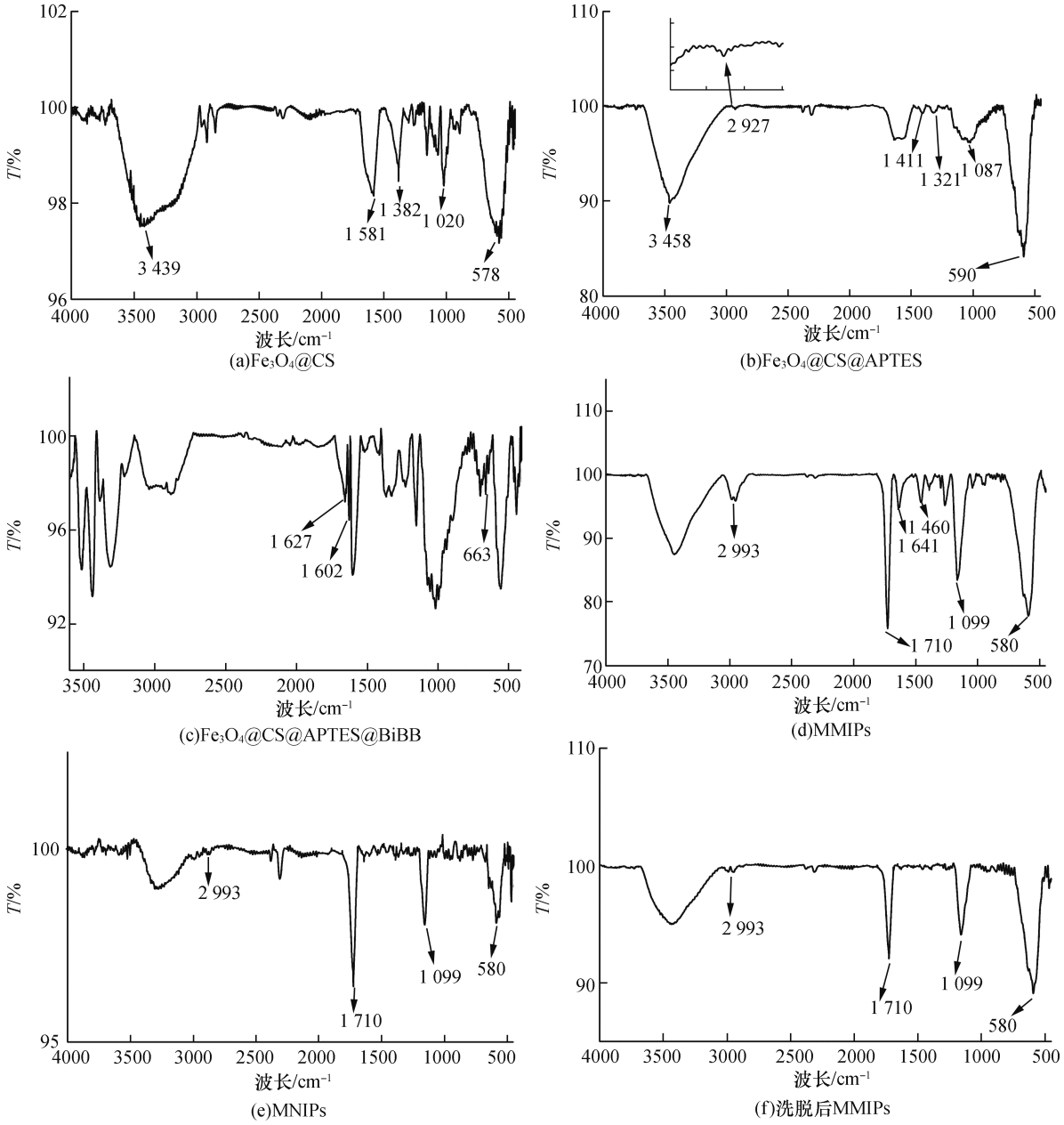


图 4　各步骤合成材料的 FT-IR 图谱

Fig. 4　FT-IR spectrum of synthetic materials in each step

2.1.4　TGA 分析

TGA 能对制备材料的相对组成进行研究。图 7a ~ 图 7b 分别代表 MNIPs 和 MMIPs 重量损失率与温度之间的关系图,在 25 ℃ ~ 800 ℃范围内,两者大致呈相似趋势。在 100 ℃时,两者的重量损失率分别为 5.36% 和 3.35% ,这是由材料中残余的水分和溶剂蒸发所引起。当温度升至 450 ℃时,两者的重量损失率分别为 52.59% 和

61.92%,这主要是由聚合物中功能单体、交联剂、引发剂的有机官能团的降解和壳聚糖的脱乙酰化等所致。当然,MNIPs 和 MMIPs 的重量损失率不同也有来源于 MMIPs 中含有模板分子水飞蓟宾的缘故。当温度升至 650 ℃时,两者的残余量分别为 42.63% 和 32.21%,这主要是由壳聚糖逐渐被碳化导致。后续升温,可将材料完全分解[27]。

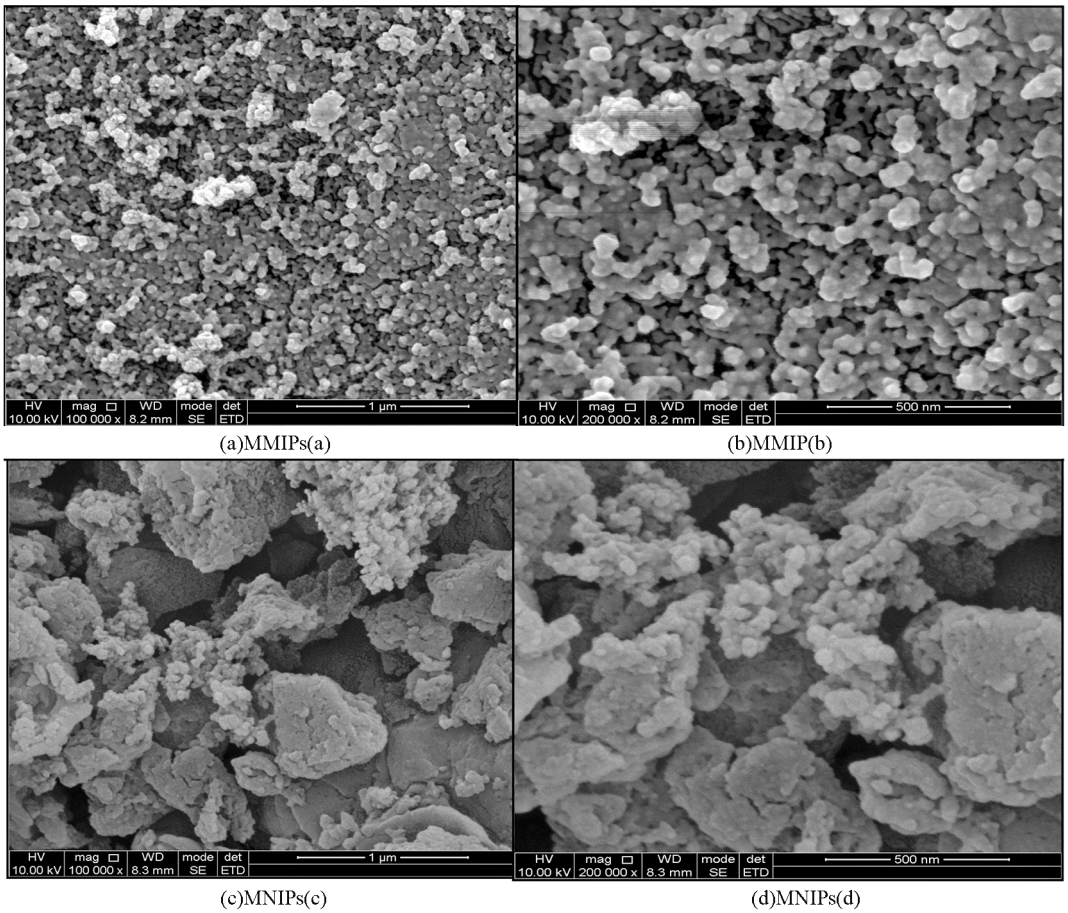


图 5 两材料的扫描电镜图

Fig. 5 Scanning electron micrograph of two materials

2.2 吸附性能

2.2.1 吸附等温线和 Scatchard 分析

通过将水飞蓟宾溶液浓度设定为 0.01 ~ 0.20 mg/mL 来研究 MMIPs 和 MNIPs 对水飞蓟宾的静态吸附性能。如图 8 所示,随着水飞蓟宾溶液的浓度的增加,MMIPs 和 MNIPs 对水飞蓟宾的吸附量先缓慢增加,后迅速增加,最后逐渐达到平衡。当溶液浓度 C_0 高于 0.08 mg/mL 时,吸附达到动态平衡,MMIPs 的最大吸附容量为 5.18 mg/g。相同浓度条件下,MMIPs 的吸附容量均明显高于 MNIPs,这应该归因于 MMIPs 材料表面具有特异性识别的印迹空腔。

Scatchard 分析可用于评估 MMIPs 和 MNIPs 的吸附性质,Scatchard 等温线模型的线性式可用下列公式表示。

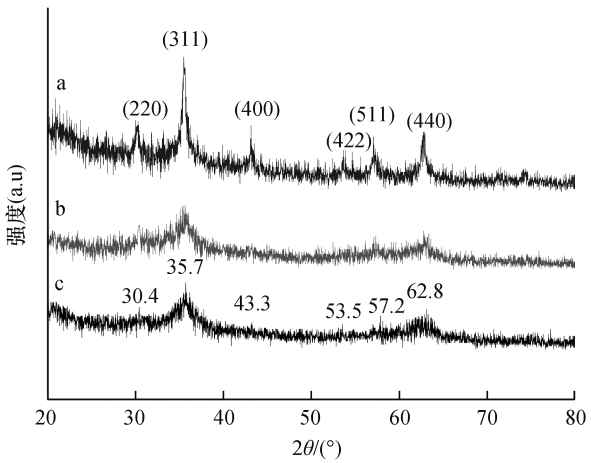


图 6 不同材料的 XRD 图

Fig. 6 XRD patterns of different materials

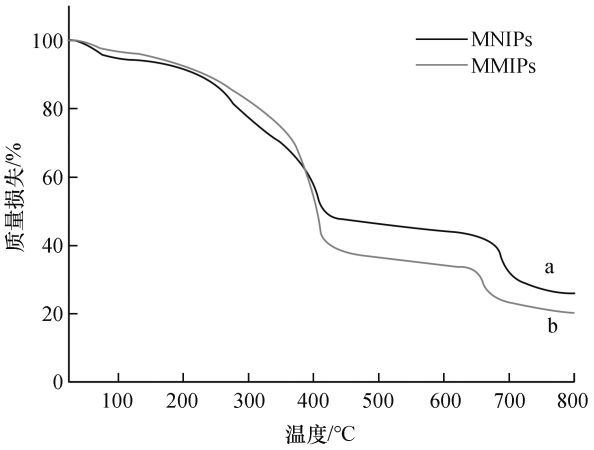


图 7　不同材料的热重分析图

Fig. 7　Thermogravimetric analysis of different materials

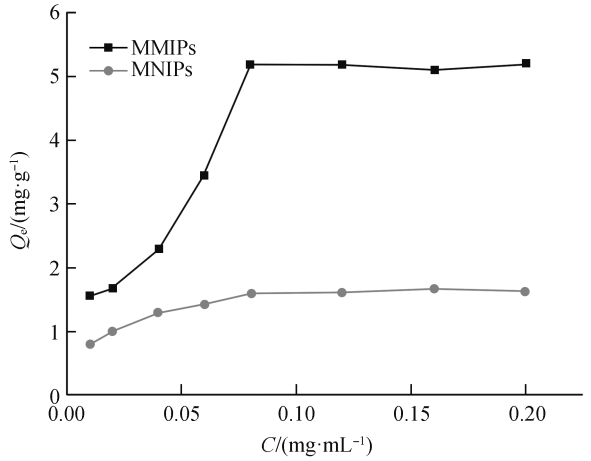


图 8　MMIPs 和 MNIPs 对水飞蓟宾的等温吸附曲线

Fig. 8　Adsorption isothermal curves of Silybin by MMIPs and MNIPs

$$\frac{Q_e}{C}=\frac{Q_{max}-Q_e}{K_d} \tag{6}$$

其中,Q_e(mg/g)表示当吸附达到平衡时材料的吸附容量,C(mg/mL)为平衡时溶液中溶质的浓度,Q_{max}(mg/g)是最大表观结合量,K_d(mg/mL)为平衡解离常数。

为进一步评估 MMIPs 和 MNIPs 的结合特性,将获取的相关数据拟合成 Scatchard 曲线如图 9 所示。在图 9(a)中,MMIPs 对水飞蓟宾存在两种吸附类型,即特异性和非特异性吸附[28-29]。两条曲线的线性回归方程分别为 $Y_1=-92.516\ 21\times X+332.538\ 18$ 和 $Y_2=14.427\ 34\times X+31.194\ 99$。根据图中的截距和斜率,可得到 K_d 和 Q_{max} 分别为 0.010 8 mg/mL 和 3.59 mg/g,及 0.069 3 mg/mL 和 2.16 mg/g。于图 9(b)中,MNIPs 对水飞蓟宾只存在一种吸附类型,其线性回归方程为 $Y=-180.739\ 4\times X+300.691\ 8$,计算得到的 K_d 和 Q_{max} 分别为 5.53×10^{-3} mg/mL 和 1.66 mg/g。一般说来,较低的 K_d 和较高 Q_{max} 表明聚合物与溶质之间的吸附能力较高[30]。上述结果表明,MMIPs 对水飞蓟宾具有较好的结合能力和吸附能力。

2.2.2　吸附动力学

室温下,MMIPs 和 MNIPs 对水飞蓟宾的吸附动力学数据如图 10 所示。由图可知,随着吸附时间的推移,MMIPs 和 MNIPs 对水飞蓟宾的结合量不断增加,当时间为 540 min 时,吸附达到动态平衡。而且,在相同时间条件下,MMIPs 对水飞蓟宾的吸附量总明显高于 MNIPs,这是因为 MMIPs 表面存在着特异性识别位点所致。

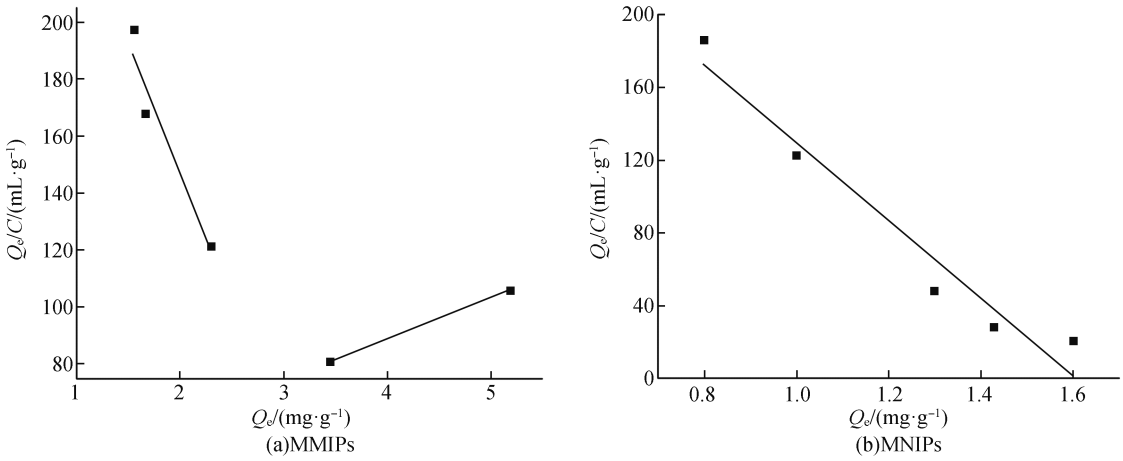


图 9　两材料的 Scatchard 曲线

Fig. 9　Scatchard curves for two materials

为探索 MMIPs 和 MNIPs 对水飞蓟宾的吸附机制,研究组将实验数据运用准一级方程(pseudo-first-order kinetic models)和准二级方程(pseudo-second-order kinetic models)进行拟合分析,其方程式表达如下[31]:

$$\ln(Q_e - Q_t) = \ln Q_e - K_1 t \quad (7)$$

$$\frac{t}{Q_t} = \frac{1}{K_2 Q_e^2} + \frac{1}{Q_e} t \quad (8)$$

其中,Q_e(mg/g)和 Q_t(mg/g)分别为吸附平衡和时间 t 时的吸附量,K_1(min^{-1})为 pseudo-first-order kinetic models 吸附速率常数,K_2(min g/mg)为 pseudo-second-order kinetic models 吸附速率常数。

MMIPs 和 MNIPs 的 pseudo-first-order kinetic models 和 pseudo-second-order kinetic models 的线性曲线如图 11 所示,其相应参数见表 1 所示。数据表明,pseudo-second-order kinetic models 数据(R^2_{MMIPs}=0.975 89 和 R^2_{MNIPs}=0.854 37)比 pseudo-first-order kinetic models(R^2_{MMIPs}=0.756 64 和 R^2_{MNIPs}=0.835 25)明显要大一些,这说明 MMIPs 对水飞蓟宾的吸附过程更适合 pseudo-second-order kinetic models 动力学模型。而且,在 pseudo-second-order kinetic models 中,通过计算得来的 Q_e 和实验数据相差相对较小,这也同样表明吸附动力学数据与 pseudo-second-order kinetic models 吻合较好。

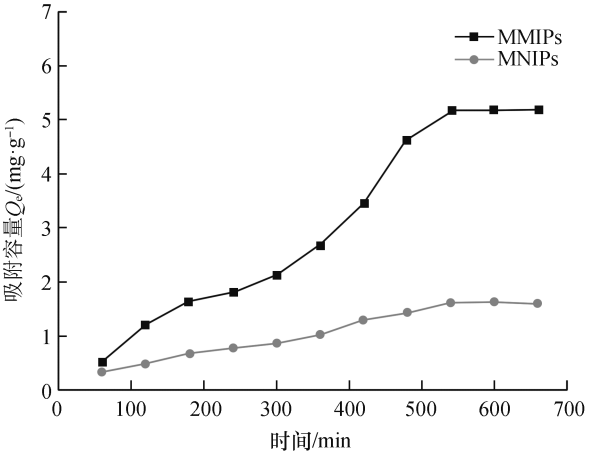


图 10 MMIPs 和 MNIPs 对水飞蓟宾的吸附动力学曲线

Fig. 10 Adsorption kinetic curve of silybin by MMIPs and MNIPs

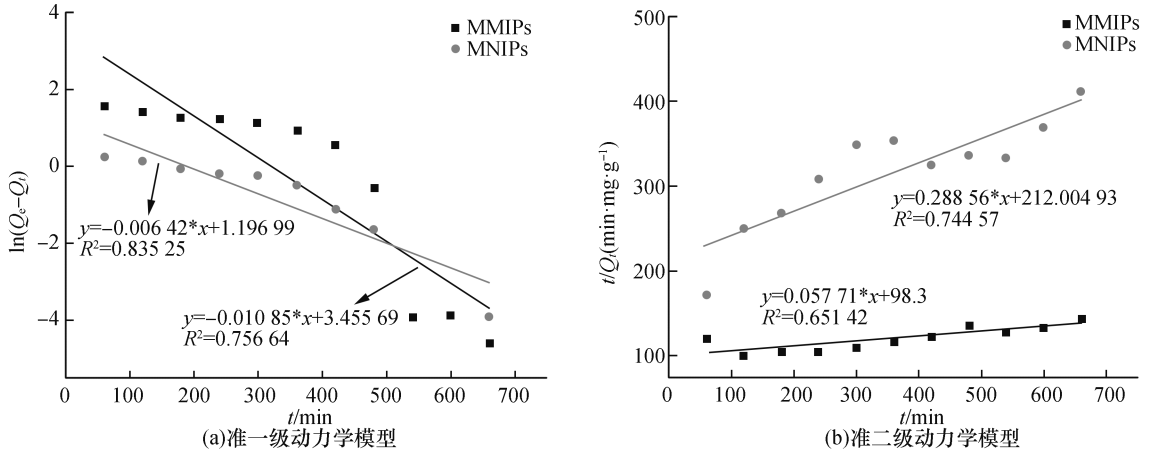


图 11 MMIPs 和 MNIPs 的准一级动力学模型和准二级动力学模型

Fig. 11 Pseudo-first-order dynamic model and pseudo-second-order dynamic model of MMIPs and MNIPs

表 1 MMIPs 和 MNIPs 对水飞蓟宾的准一级动力学模型和准二级动力学模型参数

Table 1 Pseudo-first-order and pseudo-second-order kinetic model parameters of silybin by MMIPs and MNIPs

	Q_e(exp) /(mg·g^{-1})	准一级动力学			准二级动力学		
		R^2	K_1 /min^{-1}	Q_e(cal) /(mg·g^{-1})	R^2	K_1 /min^{-1}	Q_e(cal) /(mg·g^{-1})
MMIPs	5.18	0.756 64	0.010 9	31.68	0.975 89	4.15×10^{-4}	13.207
MNIPs	1.62	0.835 25	0.006 42	3.31	0.854 37	1.85×10^{-3}	3.26

2.3　选择性吸附研究

为证明具有特定识别位点(印迹层)的 MMIPs 对水飞蓟宾的选择性吸附能力,研究组将结构类似物槲皮素作为参考对照进行实验。MMIPs 和 MNIPs 对水飞蓟宾的选择性识别参数如表 2 所示,从表中可以看出,MMIPs 对水飞蓟宾的 K_d 值(105.930 mL/g)明显大于其对槲皮素的 K_d 值(40.182 mL/g),而 MNIPs 对水飞蓟宾和槲皮素的 K_d 值(23.058 mL/g 和 21.586 mL/g)却相差不大。而且,MMIPs 的选择因子 α(2.636)和相对选择因子 β(2.468)均已达到了一定程度的合理性。综上所述,制备材料 MMIPs 对模板分子水飞蓟宾应该具有良好的选择性吸附性能。

表 2　MMIPs 和 MNIPs 选择性识别系数

Table 2　MMIPs and MNIPs selective recognition coefficient

	化合物	K_d/(mL·g^{-1})	α	β
MMIPs	水飞蓟宾	105.930	2.636	2.468
	槲皮素	23.058		
MNIPs	水飞蓟宾	40.182	1.068	
	槲皮素	21.586		

2.4　重复利用性能分析

通过 8 次吸附-脱附实验,MMIPs 吸附容量数据见图 12 所示,从图中可以得知,8 次循环实验后,MMIPs 对水飞蓟宾的吸附量仅减少 22%,这个减少值可能是因为在多次循环吸附-脱附过程中,部分印迹孔穴遭到塌陷或破坏所致。综上,制备材料 MMIPs 应具有良好的稳定性和可重复利用性。

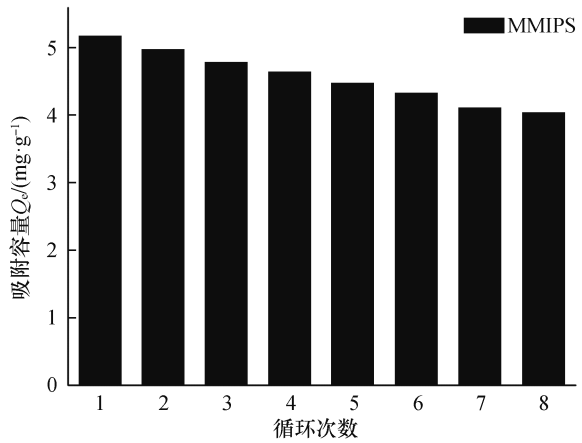


图 12　MMIPs 重复再生循环数据

Fig. 12　Regeneration performence of MMIPs

3　结　论

以水飞蓟宾为模板,MAA 为功能单体,NIPAm 为热响应单体,生物相容性壳聚糖包裹 Fe_3O_4 磁核为载体,运用 ARGET ATRP 法成功制备了生物相容性的水飞蓟宾磁性印迹材料 MMIPs。与 MNIPs 相比,制备材料不仅对水飞蓟宾具有良好的吸附性能(最大吸附容量为 5.18 mg/g),而且还具有良好的特异选择性性能(印迹因子 γ(3.20),选择性因子 α(2.636)和相对选择性因子 β(2.468))。Scatchard 分析及动力学研究表明,MMIPs 表面存在特异性和非特异性吸附两种不同的结合位点,且印迹材料对水飞蓟宾的吸附行为特性符合准二级动力学吸附模型。吸附-脱附循环实验表明,MMIPs 也具有良好的稳定性及重复再生性。综上,生物相容性水飞蓟宾磁性印迹材料在天然活性物的提取及固相萃取等方面应具有十分广阔的应用前景。

参考文献:

[1] 王川雨,林尤直. 阿德福韦酯联合水飞蓟宾治疗慢性乙型肝炎合并脂肪肝疗效探讨[J]. 中国实用医药,2018,13(23):95-97.

[2] 张云忠,陈维燕. 水飞蓟宾联合恩替卡韦治疗乙型肝炎肝硬化的临床疗效分析[J]. 临床医药文献杂志(电子版),2018,5(78):37-39.

[3] 高歌,范义增,淡炜超,等. 水飞蓟宾对前列腺癌细胞增殖、凋亡的影响及其作用机制[J]. 现代泌尿外科杂志,2018,23(10):780-784.

[4] 张传富,路建饶,胡静,等. 水飞蓟宾胶囊治疗早期糖尿病肾病的临床观察[J]. 中医药导报,2017,23(17):78-80.

[5] 汪绪龙,朱红薇,贾阳月,等. 水飞蓟种壳中水飞蓟素提取及生物活性的研究[J]. 广州化工,2017,45(23):97-99.

[6] 郑巨约. 水飞蓟中有效成分的分离制备及其抗氧化活性[D]. 杭州:浙江工商大学,2009.

[7] 贾丽娜. 水飞蓟有效成分的提取研究[D]. 大连:辽宁师范大学,2005.

[8] 何春兰,陈忠,赵博,等. 分子印迹技术应用于药物研究的新进展[J]. 重庆中草药研究,2017(2):31-39.

[9] 苏立强,靳岩爽,陈嘉琪,等. 基于 ATRP 技术制备姜黄素分子印迹复合膜及应用[J]. 中草药,2019,50(6):1348-1353.

[10] 左振宇,张光辉,雷福厚,等. 分子印迹聚合物在中药活性成分分离中的应用进展[J]. 中草药,2017,48(23):5019-5031.

[11] 杜寒春,王珏,刘绍刚,等. 分子印迹固相萃取技术在痕量物质分析中的应用进展[J]. 化工技术与开发,2018,47(9):23-29.

[12] 郑亚丽,顾丽莉,师君丽,等. 分子印迹固相萃取-高效液相色谱法同时检测烟叶中磺酰脲类农药残留[J]. 色谱,2018,36(7):659-664.

[13] 刘家勋,蒋彩云,王新,等. 温度响应型分子印迹水凝胶的应用研究进展[J]. 化学世界,2017,58(11):698-704.

[14] 邓慧芸,王斌,吴茂,等. 没食子酸磁性表面分子印迹聚合物的制备与选择性识别性能[J]. 应用化学,2018,35(5):600-608.

[15] 孙爽,张娟,李未康,等. 表面分子印记技术分离提纯芦丁[J]. 化学工程,2018,46(6):1-5.

[16] 周泓望,陈明森,孙发孟,等. 改性 SBA-15 介孔孔道内甲基丙烯酸甲酯的反向原子转移自由基聚合的溶液聚合[J]. 高分子材料科学与工程,2017,33(7):17-22.

[17] 安鹏,匙芳廷,文君,等. 电子转移活化再生催化剂原子转移自由基聚合法制备吸附剂及其吸铀性能[J]. 同位素,2018,31(2):84-92.

[18] LIU G,LI T,YANG X,et al. Competitive fluorescence assay for specific recognition ofatrazine; by magnetic molecularly imprinted polymer based on Fe_3O_4-chitosan [J]. Carbohydrate polymers,2016,137:75-81.

[19] LONG J,LI X,WU Z,et al. Immobilization of pullulanase onto activated magnetic chitosan/Fe_3O_4 nanoparticles prepared by in situ mineralization and effect of surface functional groups on the stability[J]. Colloids and surfaces A: Physicochemical and engineering aspects,2015,472:69-77.

[20] XIONG L,LIANG H,WANG R,et al. A novel route for the synthesis of poly (2-hydroxyethyl methacrylate-co-methyl methacrylate) grafted titania nanoparticles via ATRP[J]. Journal ofpolymer research,2011,18(5):1017-1021.

[21] LIAO S,ZHANG W,LONG W,et al. Adsorption characteristics, recognition properties, and preliminary application of nordihydroguaiaretic acid molecularly imprinted polymers prepared by sol-gel surface imprinting technology[J]. Applied surface science, 2016, 364:579-588.

[22] ZHANG W,TAN N,JIA X,et al. Synthesis, recognition characteristics and properties of l-3-n-butylphthalide molecularly imprinted polymers as sorbent for solid-phase extraction through precipitation polymerization [J]. Materials science and engineering: C, 2015, 53:166-174.

[23] LI R,FU G,LIU C,et al. Tannase immobilisation by amino-functionalised magnetic Fe_3O_4-chitosan nanoparticles and its application in tea infusion[J]. International journal of biological macromolecules,2018,114:1134-1143.

[24] VAKILI M, RAFATULLAH M, SALAMATINIA B, et al. Elimination of reactive blue 4 from aqueous solutions using 3-aminopropyl triethoxysilane modified chitosan beads[J]. Carbohydrate polymers,2015,132:89-96.

[25] YANG H,PU H,GONG F. Attapulgite grafted with polystyrene via a simultaneous reverse and normal initiation atomtransfer radical polymerization[J]. Journal of polymer science part A: polymer chemistry, 2016, 54 (11):1508-1516.

[26] GAO R, KONG X, WANG X, et al. Preparation and characterization of uniformly sized molecularly imprinted polymers functionalized with core-shell magnetic nanoparticles for the recognition and enrichment of protein [J]. Journal of materials chemistry, 2011, 21 (44):17863-17871.

[27] YANG Q,ZHU Y,LUO B,et al. pH-Responsive magnetic nanospheres for the reversibly selective capture and release of glycoproteins[J]. Journal of materials chemistry B,2017,5(6):1236-1245.

[28] WANG D,GAO D,XU W,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.

[29] GAO D,WANG D,FU Q,et al. Preparation and evaluation of magnetic molecularly imprinted polymers for the specific enrichment of phloridzin [J]. Talanta, 2018, 178:299-307.

[30] MA X,JI W,CHEN L,et al. Molecularly imprinted polymers with synthetic dummy templates for the preparation of capsaicin and dihydrocapsaicin from chili peppers[J]. Journal of separation science, 2015, 38(1):100-107.

[31] ZHONG M, WANG Y, WANG L, et al. Synthesis and characterization of magnetic molecularly imprinted polymers for enrichment of sanguinarine from the extraction wastewater of M. *cordata*[J]. Journal of industrial and engineering chemistry,2018,66:107-115.

(责任编辑:扶文静)