

分子模拟辅助设计合成葛根异黄酮分子印记整体柱

赵家伟,张丽颖,金 阳,都述虎*

(南京医科大学药学院,江苏 南京 211166)

[摘要] 目的:通过分子模拟辅助设计合成对葛根异黄酮具有特异性识别能力的分子印记整体柱,并从理论上探究其特异性分子识别机制。方法:以染料木素为模板,4-乙烯吡啶、丙烯酰胺和甲基丙烯酸为候选功能单体,采用密度泛函(DFT)精确预测和计算染料木素与不同功能单体间的氢键能,从而筛选出最佳功能单体及其与模板分子的比例。根据计算的结果,采用原位聚合合法合成葛根异黄酮分子印记整体柱。结果:4-乙烯吡啶与染料木素之间的相互作用最强,为最佳功能单体,且4-乙烯吡啶与染料木素形成的复合物的最佳比例为2:1;并在此条件下,成功制备出葛根异黄酮分子印记整体柱。结论:实验结果表明分子模拟辅助设计对葛根异黄酮分子印记整体柱的制备具有理论指导意义,并可推广应用到其他非共价印记体系。

[关键词] 分子印记;分子模拟;葛根异黄酮;抗原决定簇;氢键能

[中图分类号] R966

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2013)07-1012-07

doi:10.7655/NYDXBNS20130734

Molecular modeling-assisted design and synthesis of pueraria isoflavonoid-imprinted monolithic column

Zhao Jiawei, Zhang Liying, Jin Yang, Du Shuhu*

(School of Pharmacy, NJMU, Nanjing 211166, China)

[Abstract] **Objective:** To design and synthesize the pueraria isoflavonoid-imprinted monolithic column by molecular modeling, and theoretically explore the mechanism of its specific molecular recognition. **Methods:** Genistein was selected as template, 4-vinylpyridine, acrylamide and methacrylate were selected as candidate monomers. Density functional theory (DFT) was adopted to accurately predict the hydrogen bonding energy between template and different functional monomers, respectively. And then the optimal functional monomer and the appropriate ratio of monomer to template were screened out. As a result, the pueraria isoflavonoid-imprinted monolithic column was prepared by *in situ* polymerization method. **Results:** 4-vinylpyridine was the optimum functional monomer and ideal ratio of monomer to template was 2:1. Meanwhile, pueraria isoflavonoid-imprinted monolithic column was successfully prepared. **Conclusion:** These results provide the theoretical reference for the design and synthesis of pueraria isoflavonoid-imprinted monolithic column, and can be applied to the other non-covalent imprinting system.

[Key words] molecular imprinting; molecular modeling; pueraria isoflavonoid; antigenic determinant; hydrogen bonding energy

[Acta Univ Med Nanjing, 2013, 33(7): 1012-1018]

葛根来源于豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Wild.) Ohwi 或甘葛藤 *Pueraria thomsonii* Benth. 的干燥根, 是一味传统中药, 具有解肌退热、生津、透疹和升阳止泻的功效, 用于外感发热头痛、项背强痛、口渴、消

渴、麻疹不透、热痢、泄泻和高血压颈项疼痛^[1]。葛根富含活性异黄酮, 如葛根素 (puerarin)、大豆苷 (daidzin)、染料木苷 (genistin)、大豆苷元 (daidzein) 和染料木素 (genistein) 等^[2] (图 1)。现代医学证明这些葛根异黄酮具备多种生物、药理活性, 如抗氧化作用、雌激素活性、抗癌活性、神经保护作用 and 保肝作用等^[3-6]。因此, 葛根中异黄酮的分离和纯化备受关注。随着科学技术的发展, 有关其提取分离方法发展很快, 出现了不少行之有效的手段, 主要有低温浸渍法、超声提取法、回流法、微波提取法、超临界流体萃

[基金项目] 教育部高等学校博士学科点专项科研基金 (20113234110001)

*通信作者 (Corresponding author), E-mail: shuhudu@njmu.edu.cn

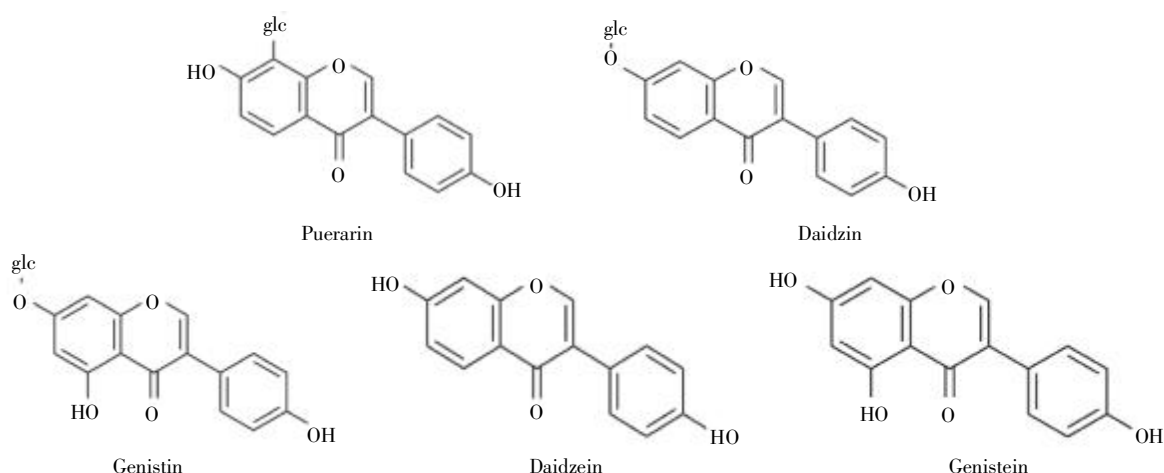


图 1 葛根中主要异黄酮的化学结构式

Figure 1 The chemical structures of the main isoflavonoids from radix puerariae, glc, β -D-glucose

取法、大孔树脂吸附法和超声波辅助提取法^[7-9]。然而上述方法都很繁琐耗时,且所采用的吸附剂通常也缺乏分子选择性。因此,发展对目标分子具有高选择性和高亲和力的分离纯化技术对于中药有效成分或有效部位(药效物质基础)的研究与开发具有重要意义。

分子印记技术(molecular imprinting technique)为中药药效物质高选择性分离提供了可能。该技术制备的分子印记聚合物(molecularly imprinted polymers, MIPs)兼备了生物识别体系和化学识别体系的优点,具有选择性高、制备简单、稳定性好、使用寿命长、机械强度高和对环境耐受性好等特点^[10]。因此在环境分析、生物传感器、色谱分析、固相萃取和选择催化剂等领域广泛应用^[11-13],其在中药有效成分分离纯化中的应用尤其令人瞩目^[14-16]。然而,具有高亲和力和高选择性的 MIPs 的制备受诸多因素的影响,其中最主要的是功能单体的结构以及功能单体与模板分子的比例等。早期功能单体和比例的筛选主要依靠有限的文献信息和大量的试验来完成,这一过程冗长耗时。近年来,分子模拟在 MIPs 的合理设计上得到广泛应用,大大缩减了分子印记体系优化所需要的时间与资源^[17]。在经典的分子印记体系理论优化中,用来评价功能单体对模板分子特异性识别能力的标准是模板分子与功能单体之间的总相互作用能^[18-19]。事实上,总相互作用能不仅包含了功能单体-模板分子相互作用,还受到模板分子-模板分子和功能单体-功能单体自身相互作用的影响,不仅如此,模板分子-功能单体相互作用是复合的,主要包含范德华作用、静电作用和氢键作用等^[20]。针对

非共价印记系统,氢键相互作用被广泛认为是 MIPs 特异性识别的基础。因而过去研究所采用的总相互作用能高估了模板与功能单体之间的特异性相互作用。

本文选取 4-乙烯吡啶(4-vinylpyridine)、丙烯酰胺(acrylamide)和甲基丙烯酸(methacrylate)作为候选功能单体,染料木素作为模板分子,应用密度泛函 B3LYP/6-31G+(d,p) 优化不同单体和功能单体-染料木素复合物模型,通过精确计算染料木素和功能单体间的氢键能筛选出最佳功能单体及其与模板分子的最佳比例。最后根据理论结果合成出葛根异黄酮分子印记整体柱(pueraria isoflavonoid-imprinted monolithic column)。

1 材料和方法

1.1 材料

染料木素(南京泽朗生物科技有限公司);聚乙二醇、4-乙烯吡啶和乙二醇二甲基丙烯酸酯(Sigma 公司,德国);偶氮二异丁腈(上海晶纯化学试剂有限公司);硝酸、二甲基甲酰胺、乙腈和甲醇(深圳西陇化工股份有限公司);乙酸、十二醇、四甲氧基硅烷和 γ -(甲基丙烯酰氧)丙基三甲氧基硅烷(南京国药集团化学试剂有限公司)。

DZG-6020 型真空干燥箱(上海森信实验仪器有限公司);SIGMA3K30 离心机(Sigma 公司,德国);KQ3200DE 型数控超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司);GZX-9070MBE 电热恒温鼓风干燥箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂);ZHLY-180 型振荡培养箱(上海知楚仪器有限公司);HH-4 数控恒温

水浴锅(金坛市荣华仪器制造有限公司);万分之一天平(Shimadzu公司,日本);不锈钢柱管(150 mm × 4.6 mm, 淮安汉邦科技有限公司);S-3400N II 扫描电子显微镜(Hitachi公司,日本)。

1.2 方法

1.2.1 量化模拟

本研究采用 Gaussian 09^[21]软件模拟葛根异黄酮分子印记预组装体系。模拟分为3步:首先,用密度泛函 B3LYP/6-31G+(*d,p*) 的方法在气相中对染料木素、4-乙炔吡啶、丙烯酰胺和甲基丙烯酸分别进行优化;然后利用优化好的模板分子与功能单体搭建不同比例的模型,并优化;最后在优化好的复合物模型的基础上进行频率计算。

功能单体和模板分子之间总的相互作用能用公式(1)进行计算:

$$\Delta E = E_{\text{complex}} - E_{\text{template}} - \sum_{n=1} n E_{\text{monomer}} \quad (1)$$

其中 E_{template} 、 E_{monomer} 和 E_{complex} 分别是模板分子、功能单体和功能单体-模板分子复合物的能量。

功能单体和模板分子之间的氢键能用 Kopleva 和 Shigorin 的经验公式来精确计算,见公式(2):

$$E_{\text{H-B}} = \frac{245.9 \times (v - v_0)}{4.2 \times v_0} \quad (2)$$

其中 v_0 和 v 分别是 H-B(B 为氢供体)在未形成氢键与形成氢键情况下的伸缩振动频率。在本工作当中, v 可通过 B3LYP/6-31G+(*d,p*) 作频率计算得到(校正因子为 0.96)。

1.2.2 葛根异黄酮分子印记整体柱的合成

取 2.0 ml 四甲氧基硅烷、0.75 ml 无水甲醇和 0.5 ml 硝酸(1.0 mol/L)加入到三颈瓶中,室温下搅拌 2 min,将混合液注入不锈钢柱(150.0 mm × 4.6 mm)中,密封两端,竖直放入 40℃烘箱,反应过夜得凝胶柱,柱体用甲醇淋洗未反应完的物料,于 40℃干燥,再用 0.1 mol/L 的盐酸溶液淋洗 5 h,水洗至中性,甲醇浸泡 30 min,通氮气干燥。同时将 γ -(甲基丙烯酰氧)丙基三甲氧基硅烷溶解在甲醇/水(V/V, 1:1)中,以 0.05 ml/min 流速泵入上述整体柱 2 h,维持柱温 40℃,放置过夜,甲醇反复淋洗,40℃干燥,备用。

另将 0.270 g (1.0 mmol) 染料木素、0.210 g (2.0 mmol) 4-乙炔吡啶和 3.8 ml (20.0 mmol) 乙二醇二甲基丙烯酸酯溶解在 10.0 ml 二甲基甲酰胺和十二醇的混合溶剂(2:1)中,超声 10 min,通氮气 5 min,再加入 0.085 g 偶氮二异丁腈,混合后将该混合溶液缓慢泵入到修饰过的硅胶整体柱(流速

0.05 ml/min)中,迅速密封两端,50℃下恒温反应 24 h,再将其接到高效液相色谱泵上,先用乙腈冲洗,除去十二醇等残留溶剂,再用甲醇/醋酸(V/V, 4:1)洗脱去模板,最后用甲醇/水淋洗以除去残留醋酸。空白柱除不加模板分子外均按上述方法等同时制备处理。

2 结果

2.1 理论计算

对模板分子及功能单体的稳定结构作布居电荷分析(图 2)发现,4-乙炔吡啶的氮原子、丙烯酰胺的氨基和甲基丙烯酸的羟基可以作为氢受体,染料木素的 5、7、4' 位羟基可以作为氢供体。根据这些潜在的结合位点,构建可能形成的功能单体-模板分子复合物并优化,从而得到复合物的结合能和结构信息。

葛根异黄酮分子印记聚合物的稳定性与选择性取决于模板分子和功能单体之间相互作用的强度,这与功能单体的结构以及功能单体与模板之间的比例密切相关。在过去的研究当中,功能单体对模板的特异性识别能力用总相互作用能来评价。但是总相互作用是复合的,且受到单体-单体、模板-模板自身相互作用的影响,所以总相互作用能高估了功能单体-模板分子特异性识别作用。由于在非共价印记系统中,氢键被广泛认为是功能单体-模板分子特异性识别的基础,所以本研究采用 Kopleva 和 Shigorin 的经验公式来精确计算氢键能(表 1),并探讨分子识别本质。本研究挑选了 4-乙炔吡啶、丙烯酰胺和甲基丙烯酸作为功能单体,染料木素为模板分子。通过优化不同功能单体与模板分子形成的比例为 1:1 和 2:1 复合物(图 3),得到分子间总相互作用强度以及氢键强度。

2.2 葛根异黄酮分子印记整体柱的表征

葛根异黄酮分子印记整体柱如图 4 所示。从图 3B 中可以看出,合成的硅胶柱具有连续的硅胶骨架,孔径在 5 μm 左右,表面光滑。这种多孔的硅胶骨架不但具有较低的反压力和良好的渗漏性,还为进一步的化学修饰提供了足够的空间。而葛根异黄酮印记整体柱由于在硅胶骨架表面形成大量印记聚合物,所以孔隙小而稠密、表面粗糙(图 4C)。密集的小孔具有较大的比表面积,能够为选择性分子识别提供大量的识别位点。

3 讨论

3.1 模板分子的选择

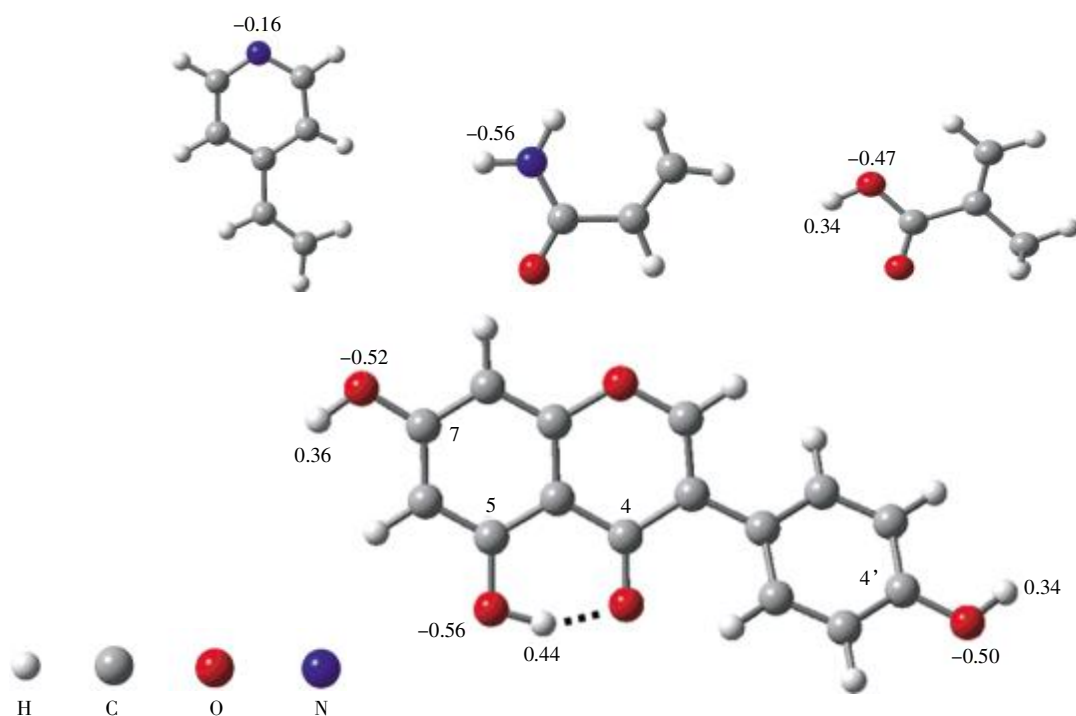


图 2 功能单体和模板分子能量最低构象

Figure 2 The energy minimized conformations of 4-vinylpyridine, acrylamide, methacrylate and genistein

表 1 染料木素和不同功能单体的总相互作用能和氢键能

Table 1 Total interaction energy and hydrogen binding energy of genistein with different monomers

	E^a (a.u.)	$\Delta E_{\text{total}}^b$ (kcal/mol)	$\Delta E_{\text{H-B}}^c$ (kcal/mol)	α^d (%)
染料木素	-917.279 3	-	-	-
丙烯酰胺	-247.316 6	-	-	-
甲基丙烯酸	-306.509 1	-	-	-
4-乙烯吡啶	-325.709 4	-	-	-
丙烯酰胺-染料木素	-1 164.603 0	-4.46	-3.23	72.4
甲基丙烯酸-染料木素	-1 223.803 4	-9.41	-7.54	80.1
4-乙烯吡啶-染料木素	-1 243.005 4	-10.48	-9.67	92.3
(丙烯酰胺) ₂ -染料木素	-1 411.927 7	-9.54	-6.90	72.3
(甲基丙烯酸) ₂ -染料木素	-1 530.328 0	-19.13	-15.34	80.2
(4-乙烯吡啶) ₂ -染料木素	-1 568.730 4	-20.27	-18.67	92.1

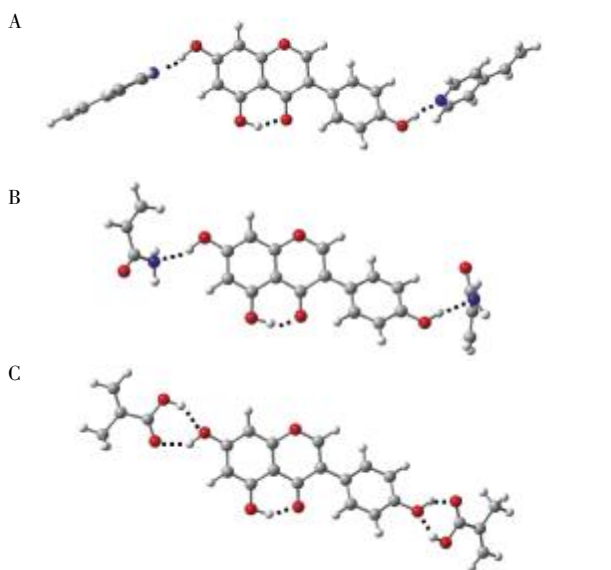
a: 单体或复合物的相对能量; b: 功能单体-模板分子间总相互作用能; c: 功能单体-模板分子间氢键能; d: 氢键能在总相互作用能中的比例。

根据所要识别分离的葛根有效部位各组分的结构和性质, 模板分子可以是单一分子化合物或虚拟分子, 也可以是多个分子混合物。近年来, 以抗原决定簇为模板的分子印记技术在蛋白质分子印记中已经得到很好的应用^[22-23]。其原理基于抗体识别抗原时, 抗体只需识别抗原决定簇, 从而能够特异性地结合具有相同决定簇的抗原。同理, 在葛根药材中, 异黄酮母核是葛根总黄酮的共同结构(抗原决定簇)(图 1)。染料木素不仅具有葛根异黄酮基本母核, 而且其结构中 5-羟基和 4-羰基又形成分子内氢键,

从而具有更大的刚性和体积。因此以染料木素为类模板制备的 MIPs, 可以形成具有适当空间结构的印记腔, 并可选择性识别含异黄酮母核的所有异黄酮, 从而达到富集葛根总黄酮的目的。

3.2 功能单体的选择

分子印记系统中功能单体的选择跟模板分子的化学性质密切相关。一般来说, 碱性模板分子选择酸性功能单体, 酸性模板分子选择碱性功能单体。由于染料木素结构中含有的 3 个酚羟基具有一定的酸性, 所以本研究设计了 2 个带有弱碱性的功能单体



A: (4-乙炔吡啶)₂-染料木素复合物; B: (丙烯酰胺)₂-染料木素复合物; C: (甲基丙烯酸)₂-染料木素复合物。

图3 功能单体-模板分子复合物(2:1)的能量最优构象
Figure 3 The optimized conformations of monomer-template complexes with ratio of 2:1

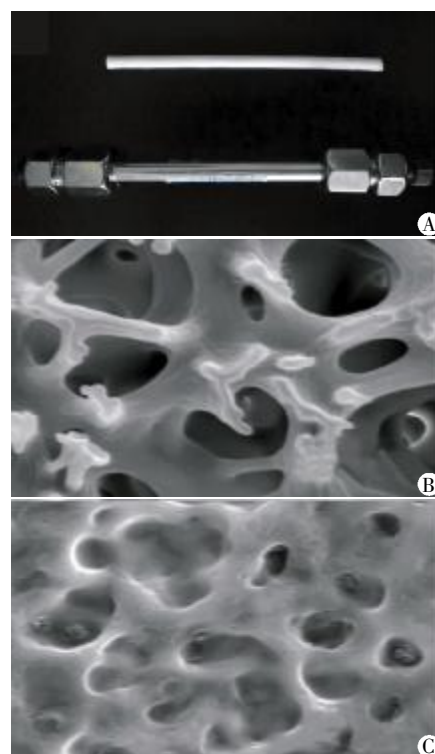
丙烯酰胺和4-乙炔吡啶,以及1个带有弱酸性的功能单体甲基丙烯酸以供筛选。

通过优化不同功能单体与染料木素的复合物可以筛选最优功能单体。从表1中可以看出,不同功能单体与染料木素的结合能力的顺序是:4-乙炔吡啶 > 甲基丙烯酸 > 丙烯酰胺。这是因为4-乙炔吡啶带有弱碱性,所以与酸性模板染料木素亲和力最强;丙烯酰胺由于结构中含有强吸电子的羰基,从而导致其碱性变弱,与染料木素亲和力变差;甲基丙烯酸虽然和染料木素形成的氢键数最多,但因其具有弱酸性,故和染料木素亲和性弱于4-乙炔吡啶(图4)。所以选择4-乙炔吡啶为最优功能单体。

3.3 功能单体与模板分子的最佳比例的选择

在制备MIPs过程中,功能单体与模板分子的配比的选择亦非常重要。由于染料木素的3个酚羟基中,5位酚羟基与4位羰基氧原子形成稳定的六元环分子内氢键,只有7和4'位酚羟基为游离态,因此,功能单体-模板分子复合物的构建主要集中在染料木素的7和4'位酚羟基上(图4),且功能单体与模板分子的比例最大不超过2:1。

另从表1可知,比例为2:1的功能单体-模板分子复合物的相互作用能均大于相应比例为1:1的复合物。这是因为2:1复合物中形成的氢键数目是相应1:1复合物氢键数目的两倍(图4A、C)。复合物的



A: 裸露的硅胶柱骨架制备; B: 裸露的硅胶柱骨架扫描电镜图($\times 5\ 000$); C: 分子印记整体柱扫描电镜图($\times 5\ 000$)。

图4 制备的分子印记整体柱照片

Figure 4 Photographs of the prepared MIP monolithic column

相互作用越强,功能单体-模板分子复合物越稳定,所以功能单体和模板分子的最佳比例为2:1。

3.4 葛根异黄酮分子印记整体柱的合成

分子印记聚合物的制备主要分为本体聚合法和原位聚合法,前者虽然简单,但其后处理过程冗长且费时,得到的颗粒不规则,对柱效影响较大。后者由于操作简单,使用方便,近年来引起了广泛关注,已在物质分离纯化领域得到广泛应用^[24-25]。分子印记整体柱是由单体、引发剂和致孔剂等混合物通过原位聚合方法制备成的一个棒状整体。整体柱与常规填充柱相比不但具有更好的多孔性和渗透性,还具有灌注色谱的特点,且稳定性很好,即色谱柱中既有流动相的流通孔又有便于溶质进行传质的中孔,同时色谱柱具有很好的稳定性。

在分子印记整体柱制备中,致孔剂的选择至关重要。良好的致孔剂需要具备以下特征:能溶解模板分子、功能单体、引发剂和交联剂;能形成大的通孔和小的微孔,从而保证流动相能在较低的压力下流过色谱柱,以降低涡流扩散;对模板分子与功能单体之间的相互作用干扰小^[26]。本研究采用二甲基酰胺和十二醇的混合溶剂为致孔剂,它能够充分溶解

4-乙烯吡啶和染料木素。实验表明该溶剂体系下制备的整体柱材料空隙结构较好(图 3B)。总之,分子印记技术和整体柱技术结合,使得分子印记整体柱既具有高选择性,又具有高吸附容量^[27]。

3.5 染料木素分子印记体系特异性识别机制探讨

在非共价键分子印记聚合物体系中,氢键能在功能单体-模板分子复合物总相互作用能中所占的比例代表该功能单体对模板分子的特异性识别能力。由于氢键在非共价分子印记体系特异性识别过程中的重要性,探究功能单体-染料木素之间的氢键性质尤为必要。本文应用了一个简便的经验公式来计算氢键能(表 1)。从中可以看出,4-乙烯吡啶-染料木素和甲基丙烯酸-染料木素复合物中的总相互作用能差异不大,约为 1.0 kcal/mol,而 4-乙烯吡啶-染料木素和甲基丙烯酸-染料木素复合物的氢键能差异扩大到 2.0 kcal/mol。并且通过计算氢键能在总的相互作用能中的比例 α 发现:4-乙烯吡啶-染料木素复合物中 α 达到 90%,在甲基丙烯酸-染料木素复合物中 α 仅为 80%。说明和甲基丙烯酸相比,4-乙烯吡啶对染料木素具有更强的特异性识别能力。因此这种用分子间氢键能代替总相互作用能来探究分子印记系统特异性识别的分子机制更加准确。

功能单体与模板分子之间的相互作用在分子印记聚合物合成中起着决定性的作用。本文以染料木素为模板分子,首次在分子印记领域应用 Kopleva 和 Shigorin 方程准确计算不同功能单体与染料木素间的氢键能,从而筛选出与染料木素结合能力最强的功能单体(4-乙烯吡啶)和最佳功能单体-模板分子比例(2:1)。根据上述结果,采用原位聚合法成功制备了葛根异黄酮分子印记整体柱,并在此基础上对葛根异黄酮分子印记整体柱分子识别机制进行了初步探讨,为进一步研究葛根异黄酮分子印记整体柱对染料木素的选择性和吸附容量提供了理论依据。虽然本工作所采用的理论计算方法是针对葛根异黄酮分子印记体系,但是这一方法具有一定的普适性,可以广泛应用到其他非共价键印记体系。

[参考文献]

[1] 中国药典一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010: 312
[2] Rong HJ, Stevens JF, Deinzer MZ, et al. Identification of isoflavones in the roots of *Pueraria lobata* [J]. *Planta Medica*, 1998, 64(7): 620-627
[3] Kang KA, Chae SW, Koh YS, et al. Protective effect of pu-

erariae radix on oxidative stress induced by hydrogen peroxide and streptozotocin[J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(7): 1154-1160
[4] Xiong FL, Sun XH, Gan L, et al. Puerarin protects rat pancreatic islets from damage by hydrogen peroxide [J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 529(1-3): 1-7
[5] Yu ZL, Li WJ. Induction of apoptosis by puerarin in colon cancer HT-29 cells[J]. *Cancer Lett*, 2005, 2389(1): 53-60
[6] Yan B, Xing D, Ding Y, et al. HPLC method for the determination and pharmacokinetic studies on puerarin in cerebral ischemia reperfusion rat plasma after intravenous administration of puerariae radix isoflavone [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2005, 37(2): 297-301
[7] Zhang Y, Xu Q, Zhang XZ, et al. High-performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry for identification of isoflavones and description of the biotransformation of kudzu root [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2005, 3839(5): 787-796
[8] Fang C, Wan X, Tan H, et al. Separation and determination of isoflavonoids in several kudzu samples by high-performance capillary electrophoresis (HPCE) [J]. *Ann Chim*, 2006, 96(1-2): 117-124
[9] Dua G, Zhao HY, Zhang QW, et al. A rapid method for simultaneous determination of 14 phenolic compounds in radix puerariae using microwave-assisted extraction and ultra high performance liquid chromatography coupled with diode array detection and time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(5): 705-714
[10] Wang LQ, He D, Zheng XD, et al. Preparation of molecularly imprinting[J]. *Food Science*, 2002, 23(9): 140-142
[11] Xie Y, Chen DJ, Zhao JW, et al. An efficient hybrid design to prepare highly dense imprinted layer-coated silica particles for selective uptake of trace metsulfuron-methyl from complicated matrices[J]. *RSC Adv*, 2012(2): 273-283
[12] Wulff G. Enzyme-like catalysis by molecularly imprinted polymers[J]. *Chem Rev*, 2002, 102(1): 1-27
[13] Singh B, Chauhan N, Sharma V. Design of molecular imprinted hydrogels for controlled release of cisplatin; evaluation of network density of hydrogels[J]. *Ind Eng Chem Res*, 2011, 50(24): 13742-13751
[14] Guo ZF, Guo TT, Guo MF. Preparation of molecularly imprinted adsorptive resin for trapping of ligustrazine from the traditional Chinese herb *Ligusticum chuanxiong* Hort [J]. *Anal Chim Acta*, 2008, 612(2,7): 136-143
[15] Luo J, Zhang L, Chen D, et al. Molecularly imprinted layer-coated monodisperse spherical silica microparticles toward affinity-enrichment of isoflavonoid glycosides from

- Radix puerariae[J]. *Analyst*, 2012, 137(12):2891-2902
- [16] Yin XY, Liu QS, Jiang YF, et al. Development of andrographolide molecularly imprinted polymer for solid-phase extraction [J]. *Spectrochim Acta A*, 2011, 79 (1):191-196
- [17] Li YQ, Li X, Li Y, et al. Selective recognition of veterinary drug residues by artificial antibodies designed using a computational approach [J]. *Biomaterials*, 2009, 30 (18):3205-3211
- [18] Nicholls IA, Andersson HS, Charlton C, et al. Theoretical and computational strategies for rational molecularly imprinted polymer design [J]. *Biosen Bioelectron*, 2009, 25 (3):543-552
- [19] Mohammad BG, Nashmil K, Ghodrattollah M. Computational design and synthesis of a high selective molecularly imprinted polymer for voltammetric sensing of propazine in food samples[J]. *Talanta*, 2012, 89(30):513-520
- [20] Mojica ERE, Autschbach J, Bright FV, et al. Synthesis and evaluation of tetracycline imprinted xerogels; Comparison of experiment and computational modeling [J]. *Anal Chim Acta*, 2011, 684(1-2):72-80
- [21] Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, et al. Gaussian 09, B.01, Gaussian[Z]. Inc, Wallingford CT, 2009
- [22] Rachkov A, Minoura N. Recognition of oxytocin and oxytocin-related peptides in aqueous media using a molecularly imprinted polymer synthesized by the epitope approach[J]. *J Chromatogr A*, 2000, 889(1-2):111-118
- [23] Janiak DS, Kofinas P. Molecular imprinting of peptides and proteins in aqueous media [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2007, 389(2):399-404
- [24] Li ZY, Liu ZS, Zhang QW, et al. Chiral separation by (S)-naproxen imprinted monolithic column with mixed functional monomers[J]. *Chin Chem Lett*, 2007, 18 (3):322-324
- [25] Mu LN, Wang XH, Zhao L. Low cross-linked molecularly imprinted monolithic column prepared in molecular crowding conditions [J]. *J Chromatogr A*, 2011, 1218 (51, 23):9236-9243
- [26] Huang XD, Zou HF, Chen XM, et al. Molecularly imprinted monolithic stationary phases for liquid chromatographic separation of enantiomers and diastereomers [J]. *J Chromatogr A*, 2003, 984(2):273-282
- [27] Ou JJ, Li X, Feng S, et al. Preparation and evaluation of a molecularly imprinted polymer derivatized silica monolithic column for capillary electrochromatography and capillary liquid chromatography[J]. *Anal Chem*, 2007, 79 (2):639-646

[收稿日期] 2013-02-27

热烈祝贺《南京医科大学(自然科学版)》编辑部
荣获第四届江苏省科技期刊“金马奖”优秀团队奖!