

分子印迹聚合物功能化二氧化硅纳米颗粒的合成 及其分离识别马兜铃酸

张悦美¹, 郭丽华¹, 李一峻¹, 何锡文¹, 陈朗星^{1*}, 张玉奎^{1,2}

(1. 南开大学化学学院, 生物传感与分子识别天津市重点实验室, 天津 300071;

2. 中国科学院大连化学物理研究所, 辽宁 大连 116023)

摘要:马兜铃酸是马兜铃科植物中含有硝基菲羧酸基团的一类物质,被广泛应用于各种疾病的治疗,研究表明含有马兜铃酸的植物或植物衍生产品对人体有害,需要监测药物中马兜铃酸的存在。分子印迹聚合物对目标物的高亲和力使其特别适合作为吸附剂从混合物中去除和识别目标物。以SiO₂胶体纳米颗粒为基底,利用表面分子印迹的方法合成了核-壳结构SiO₂表面印迹纳米颗粒(SiO₂@MIP NPs)。采用紫外可见光谱研究了模板分子马兜铃酸I和功能单体丙烯酸、甲基丙烯酸、2-乙烯基吡啶、丙烯酰胺及甲基丙烯酰胺的作用,发现2-乙烯基吡啶与马兜铃酸I的作用最强,被选为制备印迹聚合物的单体。采用傅立叶变换红外光谱仪(FT-IR)、透射电子显微镜(TEM)、热重分析仪、氮气吸附比表面积分析仪对分子印迹聚合物进行了表征。TEM显示印迹纳米颗粒的粒径在270 nm左右,分子印迹层的厚度为35 nm,有利于模板分子的传输。TEM、FT-IR和热重分析仪的结果均证明实验成功合成了分子印迹聚合物。实验进一步研究了印迹聚合物SiO₂@MIP NPs和非印迹聚合物SiO₂@NIP NPs的吸附性能,并结合SiO₂@MIP NPs和SiO₂@NIP NPs的比表面积和孔径测定数据,发现SiO₂@MIP NPs表面的印迹位点是导致二者吸附差异的主要原因。SiO₂@MIP NPs和SiO₂@NIP NPs的动力学吸附表明SiO₂@MIP NPs具有快的吸附平衡时间(120 s),而且SiO₂@MIP NPs的吸附行为符合Langmuir单分子层吸附。SiO₂@MIP NPs的选择性通过印迹因子(IF)和选择性系数(SC)来评价。实验结果表明,SiO₂@MIP NPs具有高的印迹因子(4.9),对模板结构类似物有较好的选择性,选择系数为2.3~6.6。最后将制备的SiO₂@MIP NPs作为吸附剂用于加标中药样品川木通的预处理,用HPLC进行分析测定,方法的回收率为73%~83%,实验结果显示SiO₂@MIP NPs可作为高选择性材料用于中药中马兜铃酸的选择性分离分析。

关键词:表面印迹技术;二氧化硅纳米颗粒;马兜铃酸;中药

中图分类号:O658

文献标识码:A

文章编号:1000-8713(2021)10-1137-09

Preparation of molecularly imprinted polymers-functionalized silica nanoparticles for the separation and recognition of aristolochic acids

ZHANG Yuemei¹, GUO Lihua¹, LI Yijun¹, HE Xiwen¹, CHEN Langxing^{1*}, ZHANG Yukui^{1,2}

(1. College of Chemistry, Tianjin Key Laboratory of Biosensing and Molecular Recognition,

Nankai University, Tianjin 300071, China; 2. Dalian Institute of Chemical Physics,

Chinese Academy of Science, Dalian 116023, China)

Abstract: Aristolochic acids (AAs), which is commonly found in *Aristolochia* and *Asarum* plants, has been widely used in several traditional medicine practices due to their anti-inflammatory, anti-malarial, and anti-hyperglycemic activities. Recently, researchers have found a “decisive link” between liver cancer and aristolochic acid after analyzing a large number of liver cancer samples around the world. Therefore, a highly sensitive and selective method is required for the analysis of AAs in traditional Chinese medicines (TCM). For the determination of AAs in

收稿日期:2021-06-19

* 通讯联系人.E-mail:lxchen@nankai.edu.cn.

基金项目:国家自然科学基金项目(22074067).

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 22074067).

TCM, pretreatment is indispensable because in actual TCM samples, AAs is present in trace amounts and the complex matrix exerts interference. In the past decades, molecularly imprinted polymers (MIPs) have attracted considerable attention as an alternative for the trace analysis in complicated matrices.

In this study, MIP-coated SiO₂ nanoparticles (SiO₂@MIP NPs) was prepared for the determination of aristolochic acid by surface molecular imprinting using aristolochic acid I (AAI) as the template molecule, 2-vinylpyridine (VPY) as the functional monomer, and ethyleneglycol dimethacrylate (EGDMA) as the cross-linking agent. Core-shell-structure SiO₂@MIP NPs were obtained by modifying vinyl groups on the surface of SiO₂ NPs, coating MIPs films onto the silica surface via selective polymerization, and final extraction of template AAI and generation of the recognition site.

To find a suitable functional monomer for the best imprinting effect, the interaction between the template and the functional monomers, including acrylic acid (AA), methyl acrylic acid (MAA), 2-vinyl pyridine (VPY), acrylamide (AM), and methacrylamide (MAM) was investigated. Electrostatic interaction between AAI and VPY resulted in the maximum decrease in absorbance of AAI at 250 nm. Therefore, VPY was chosen for the preparation of MIP. The morphological and physical properties of the MIPs were characterized by transmission electron microscopy (TEM), Fourier-transform infrared (FT-IR) spectroscopy, thermogravimetric analysis, and N₂ adsorption and desorption surface analysis. TEM images showed that SiO₂ NPs were monodispersed with diameter of about 200 nm. The clear core-shell structure of SiO₂@MIP NPs was observed, and the thickness of MIPs coating was about 35 nm. The FT-IR spectra of SiO₂ NPs, vinyl group modified SiO₂ and SiO₂@MIP NPs revealed that the vinyl group and organic MIP layer were successfully modified at SiO₂ sequentially. The results of thermogravimetric analysis were consistent with the FT-IR data for different SiO₂ NPs. The nitrogen gas adsorption-desorption experiments showed that SiO₂@MIP NPs and non-imprinted polymer (SiO₂@NIP NPs) have the same pore volumes, while the surface area and pore size of MIPs were slightly larger than those of NIPs. Therefore, the difference in adsorption between SiO₂@MIP NPs and SiO₂@NIP NPs resulted from the imprinted sites on the MIP surface, rather than the difference in their surface areas.

The adsorption properties of SiO₂@MIP NPs were demonstrated by kinetic, isothermal, and selective adsorption experiments. The results of these experiments displayed that SiO₂@MIP NPs reached adsorption equilibrium within a short period (120 s) and possessed a much higher rebinding ability than SiO₂@NIP NPs. To verify the selectivity of SiO₂@MIP NPs for AAI, three structural analogues (viz. tanshinone IIA, 2-methoxy-5-nitrophenol, and benzoic acid) were selected. The results showed that the binding capacity of SiO₂@MIP NPs was much higher than those of these analogues. SiO₂@MIP NPs have high adsorption capacity (5.74 mg/g), high imprinting factor (4.9), good selectivity coefficient (2.3–6.6) towards the structural analogues. SiO₂@MIP NPs was used as an adsorbent and combined with HPLC for the selective separation of AAI in

引用本文:张悦美,郭丽华,李一峻,何锡文,陈朗星,张玉奎. 分子印迹聚合物功能化二氧化硅纳米颗粒的合成及其分离识别马兜铃酸. 色谱, 2021, 39(10):1137–1145.

ZHANG Yuemei, GUO Lihua, LI Yijun, HE Xiwen, CHEN Langxing, ZHANG Yukui. Preparation of molecularly imprinted polymers-functionalized silica nanoparticles for the separation and recognition of aristolochic acids. Chinese Journal of Chromatography, 2021, 39(10):1137–1145.

TCM. The recoveries of *Kebia trifoliata* samples spiked with three levels of AAI (0.3, 0.5, and 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ranged from 73% to 83%. The results suggested that the proposed $\text{SiO}_2@ \text{MIP}$ NPs could be used for selective enrichment of AAI from real complex TCM samples.

Key words: surface imprinting technique; silica nanoparticles; aristolochic acids (AAs); traditional Chinese medicine (TCM)

马兜铃酸是衍生自马兜铃科植物、结构含有硝基菲羧酸基团的一类物质。近十几年来,以马兜铃酸为有效成分制成的各种药物被广泛应用于各种疾病的治疗,但是最近有报道^[1-4]指出,含有马兜铃酸的植物或植物衍生产品对人具有肾毒性、致突变性和致癌性。因此为了维护人体的健康,需要监测药物中马兜铃酸的存在。目前马兜铃酸的测定方法主要有薄层色谱法、高效液相色谱法、高效液相色谱-质谱法、毛细管电泳法等^[5-9]。但是实际中药样品中马兜铃酸含量低,且中药成分复杂,增加了马兜铃酸的检测难度。因此开发合理的预处理方法对于从复杂中药样品中提取马兜铃酸十分必要。

分子印迹聚合物(MIPs)是一类对特定物质具有特异性吸附的分离材料。近年来,分子印迹聚合物常作为吸附剂被用于药物、环境污染物、兽药的提取^[10-13]。但是大多数MIPs采用传统本体分子印迹方法制备而得,大部分印迹识别位点被包埋在内部,导致其识别位点不均一,传质阻力大,动力学平衡慢。表面分子印迹技术由于印迹效率高、传质速率快成为分子印迹中应用广泛的技术。在表面分子印迹的基底中, SiO_2 胶体纳米颗粒(SiO_2 NPs)表面富含羟基易于官能化反应,而且合成 SiO_2 NPs的条件简单、方法已经十分成熟,另外 SiO_2 NPs具有化学性质稳定、机械强度较高、耐热、耐腐蚀、无毒性且生物相容性较好等优点,使其成为最常用的核-壳型分子印迹聚合物的核^[14-16]。目前以马兜铃酸为模板的分子印迹聚合物的研究^[9,17,18]报道不多。本课题组前期^[9]采用简便、绿色的溶胶-凝胶方法合成磁性碳纳米管MIPs,并用于中药中马兜铃酸I(AAI)的检测分析。Xiao等^[17]采用可逆加成-断裂链转移聚合(RAFT)制备MIPs并用于AAI的去除。Ge等^[18]合成一种磁性介孔碳分子印迹聚合物,并作为磁性固相萃取吸附剂选择性识别大鼠尿液中的马兜铃酸I和II。

本工作以 SiO_2 NPs为核,以AAI为模板分子,2-乙基吡啶(VPY)为功能单体,乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA)为交联剂,利用表面分子印迹的

方法合成分子印迹聚合物包覆的 SiO_2 纳米颗粒($\text{SiO}_2@ \text{MIP}$ NPs)。将此 $\text{SiO}_2@ \text{MIP}$ NPs作为吸附剂,并与HPLC相结合,用于中药中AAI的选择性分离和识别。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

SPD-M20A 高效液相色谱仪(配置两台 LC-20AD 泵、一台在线脱气机 DGU-20A5 以及一个二极管阵列检测器,色谱数据的采集和处理在 LCsolution 工作站完成)、UV-2450 型紫外/可见分光光度计(日本岛津公司);G2 F20 透射电子显微镜(美国 FEI 公司);AVATAR 360 傅里叶红外光谱(美国 Nicolet 公司);NETZSCH-TG209C 热重分析仪(德国 NETZSCH 公司);ASAP 2460 型 N_2 吸附表面分析仪(美国麦克公司);实验用高纯水由 AWL-0502-U 艾科浦超纯水系统(重庆颐洋企业发展有限公司)提供。

AAI 购自天津希恩思奥普德科技有限公司;丙烯酸(AA)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;甲基丙烯酸(MAA)购自天津艾利安电子科技有限公司;丙烯酰胺(AM)、甲基丙烯酰胺(MAM)、四乙氧基硅烷(TEOS)、甲基丙烯酰氧丙基三甲氧基硅烷(MPS)、EGDMA 及偶氮二异丁腈(AIBN)购自阿法埃莎(中国)化学有限公司;2-甲氧基-5-硝基苯酚(MENP)购自北京华威锐科化工有限公司;丹参酮 II A(TAN II A)和苯甲酸(BA)购自上海麦克林生化科技有限公司;VPY 购自凯玛特(天津)化工科技有限公司;中药川木通购自安国新药都药材市场。其他化学试剂均为分析纯及以上级别。

1.2 核-壳结构马兜铃酸分子印迹聚合物纳米颗粒的制备

1.2.1 双键修饰的 SiO_2 NPs ($\text{SiO}_2@ \text{MPS}$ NPs) 的制备

利用传统的 Stöber 法首先制备 SiO_2 NPs^[19]。具体步骤如下:量取 170 mL 无水乙醇至 250 mL 圆底烧瓶中,快速加入 9.40 mL TEOS,磁力搅拌,转

速为 600 r/min;油浴加热至 40 ℃,搅拌 30 min 后,用恒压滴液漏斗将 4.5 mL 蒸馏水和 12 mL 氨水的混合液缓慢滴入烧瓶中,保持温度反应 12 h,得到乳白色 SiO₂ 胶体纳米颗粒分散液;将 SiO₂ 胶体纳米颗粒分散液以 8 000 r/min 转速离心,弃去上清液,离心产物再次分散到无水乙醇中,反复离心、分散循环;最后一次离心得到 SiO₂ NPs。

称取 400 mg SiO₂ NPs,加入到含有 20 mL 超纯水和 80 mL 无水乙醇的三口烧瓶中,超声 30 min 使 SiO₂ NPs 分散均匀;开启机械搅拌,以 500 r/min 的转速剧烈搅拌;依次加入 3 mL 氨水和 1.6 mL MPS,置于 65 ℃ 油浴中反应 24 h;所得白色产物以 800 r/min 的转速离心,弃去上清液,离心产物反复用无水乙醇分散、离心循环 3 次,最后一次离心产物于 40 ℃ 真空干燥 6 h,得到 SiO₂@MPS NPs。

1.2.2 SiO₂@MIP NPs 的制备

称取 13.6 mg (0.04 mmol) 模板分子 AAI,置于 50 mL 离心管中,加入 40 mL 甲醇,超声溶解得到深黄色透明液体;在该溶液中加入 0.16 mmol VPY,超声进行预聚合;然后将 100 mg SiO₂@MPS NPs 完全分散在上述溶液中;再将 150 μL (0.8 mmol) EGDMA 和 20 mg AIBN 转移至离心管中,混合,将离心管中的液体全部转移到 100 mL 三口烧瓶中,冰浴中通入 N₂ 除氧,持续 30 min;除氧后将三口烧瓶密封好,磁力搅拌 800 r/min,油浴加热,于 50 ℃ 预聚合 1 h,于 60 ℃ 反应 24 h,得到的产物为乳黄色悬浊液。将产物离心分离,弃去上清液,离心产物用甲醇重新分散并再次离心分离,上述过程重复直至上清液在 320 nm 下无紫外吸收,证明已经除去模板分子 AAI;将最终所得产物于 40 ℃ 真空干燥 6 h,最终得到 SiO₂@MIP NPs。

作为对照,用同样的方法合成非印迹聚合物 SiO₂@NIP NPs,只是不加入模板分子 AAI。

1.3 SiO₂@MIP NPs 选择吸附性能的研究

将 5 mg SiO₂@MIP NPs 分别置于 1.5 mL 含

不同浓度 AAI 的乙腈溶液中,超声 2 min 使 NPs 完全分散,振荡 10 min;随后以 10 000 r/min 的转速高速离心,于 320 nm 处用紫外可见分光光度计测定上清液中 AAI 浓度,计算 SiO₂@MIP NPs 的吸附容量。

选择 TAN II A、BA、MENP 作为马兜铃酸的结构类似物进行 SiO₂@MIP NPs 选择性吸附的探究。分别配制 1.5 mL 含 25.0 μg/mL TAN II A、BA、MENP 和 AAI 的乙腈溶液。称取 5 mg SiO₂@MIP NPs 置于上述 4 种溶液中,超声 2 min 充分分散后,于室温振荡 10 min,高速离心后取上清液用紫外可见分光光度计测定吸光度并计算吸附容量。

1.4 SiO₂@MIP NPs 在中药实际样品中的应用

参照 Li 等^[9]的方法,称取川木通粉末 1 g,置于 250 mL 单口烧瓶中,加入 80 mL 甲醇和 20 mL 超纯水,于 80 ℃ 下回流 3 h,收集回流液,重新加入 80 mL 甲醇、20 mL 超纯水后,再次于 80 ℃ 回流 3 h。重复 4 个循环,将所有回流液经过旋蒸后得到棕黄色固体。棕黄色固体超声分散在 20 mL 甲醇(色谱纯)中,离心除去不能溶解的固体,提取液经 0.1 μm 有机微孔滤膜过滤后进行 HPLC 检测。

1.5 分析条件

色谱柱为 Shim-pack VP-ODS C18 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm),柱温为 25 ℃,流动相为甲醇-0.1% 乙酸水溶液(3:1, v/v),等度洗脱,流速为 0.5 mL/min,检测波长为 320 nm,进样量为 10 μL。

2 结果与讨论

2.1 SiO₂@MIP NPs 制备条件的优化

SiO₂@MIP NPs 的制备过程如图 1 所示。先以 Stöber 法^[19]合成 SiO₂ NPs,然后以含有双键的硅烷试剂 MPS 为反应物,经过溶胶-凝胶反应在 SiO₂ NPs 表面形成双键基团,即可与功能单体作用, SiO₂ NPs 作为载体,具有较小的粒径和较高的比表面积,更易于对模板分子的吸附。待模板分子洗脱后,得

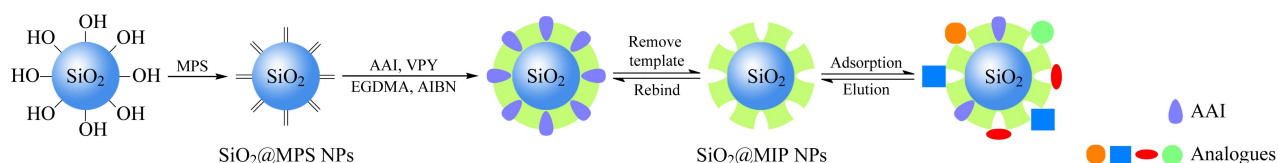


图 1 SiO₂@MIP NPs 合成示意图

Fig. 1 Synthetic route of SiO₂@MIP NPs

MIP: molecularly imprinted polymer; NPs: nanoparticles; MPS: methacryloxy propyl trimethoxyl silane; AAI: aristolochic acid I; VPY: 2-vinyl pyridine; EGDMA: ethyleneglycol dimethacrylate; AIBN: azobisisobutyronitrile.

到表面含有印迹位点的 $\text{SiO}_2@ \text{MIP NPs}$ 。

在进行分子印迹的过程中,模板分子和功能单体之间作用力越强,越有利于二者形成预聚合混合物后的印迹过程。因此选择合适的功能单体,对提高印迹效果十分重要。AAI 的分子结构中具有羧基,因而呈现一定的酸性。AA 和 MAA 属于酸性的功能单体,与同样呈现酸性的 AAI 之间的结合力较弱;AM 和 MAM 的结构中有氨基,而氨基具有吸电子能力,因此可以与 AAI 中的羧基通过氢键、静电作用形成可逆的复合物;VPY 作为碱性功能单体中的一种,其吡啶环上的氮原子带有正电荷离子,可与羧基中的氢离子发生静电作用,所以理论上 VPY 更适合作为印迹 AAI 的功能单体。

从功能单体 AA、MAA、AM、MAM、VPY 分别与 AAI 混合的预聚合溶液的紫外可见光谱图发现,在功能单体与模板分子比例相同时,VPY 与 AAI 的混合液在 250 nm 的吸光度较 AAI 溶液的吸光度下降的最多(见图 2a),说明 VPY 更容易与 AAI 形成稳定的复合物。为了进一步验证功能单体与 AAI 的作用,选取 VPY 按照不同的物质的量之比与 AAI 混合,当增加 VPY 的物质的量时,功能单体与模板分子的混合溶液的吸光度随之下降(见图 2b),而 AAI 和 AA 的混合溶液的吸光度随 AA 物质的量的增加并没有发生明显的变化(见图 2c),实验结果进一步证明了 VPY 与 AAI 具有强的非共价作用力。因此,在后续实验中选择 VPY 作为功能单体。

2.2 $\text{SiO}_2@ \text{MIP NPs}$ 的性能表征

采用透射电子显微镜对合成的 $\text{SiO}_2 \text{ NPs}$ 和 $\text{SiO}_2@ \text{MIP NPs}$ 进行形貌表征。如图 3 所示, $\text{SiO}_2 \text{ NPs}$ 和 $\text{SiO}_2@ \text{MIP NPs}$ 呈规整的球形结构,表明表面印迹后球形形貌得到了保留,较大的比表面积有利于后续较快的传质过程。 $\text{SiO}_2 \text{ NPs}$ 粒径约为 200 nm,微球大小均一,具有很好的单分散性(见图 3a)。制备的 $\text{SiO}_2@ \text{MIP NPs}$ 呈明显的核-壳结构, SiO_2 胶体纳米颗粒核完全被印迹聚合物壳层包裹(见图 3b),表明在 SiO_2 胶体微球表面成功包覆上了印迹聚合物,得到的印迹层包裹均匀,厚度约为 35 nm。

通过傅立叶变换红外光谱仪的测定,得到了 $\text{SiO}_2 \text{ NPs}$ 、 $\text{SiO}_2@ \text{MPS NPs}$ 和 $\text{SiO}_2@ \text{MIP NPs}$ 表面官能团分布的信息。图 4a 中 3 条 FT-IR 谱图中均在 1089 cm^{-1} 处出现了吸收峰,对应 Si-O-Si 的不对称伸缩振动峰; 3430 cm^{-1} 处出现的宽峰是由 Si-OH

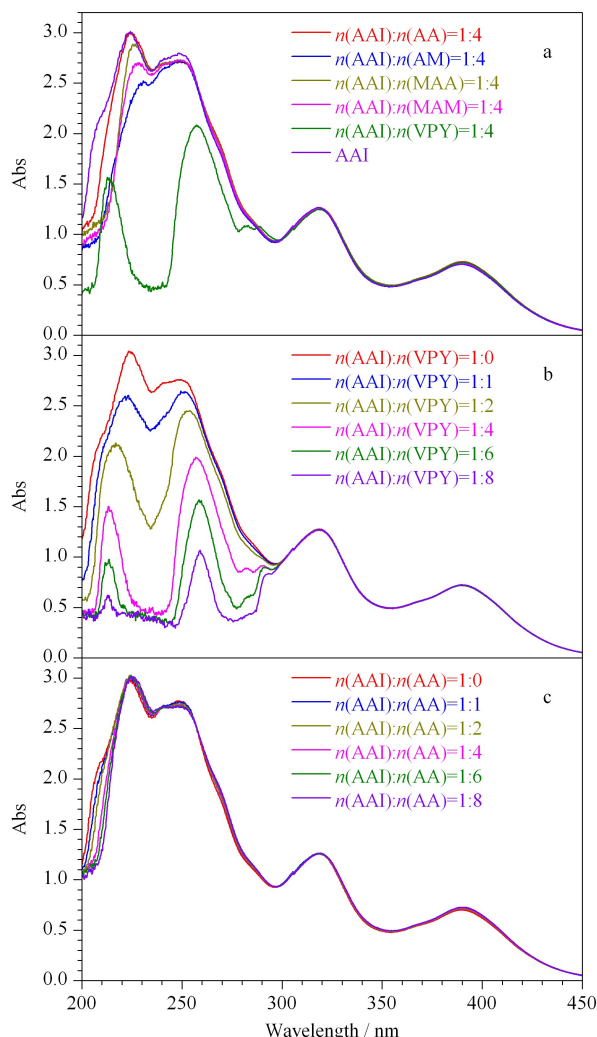


图 2 马兜铃酸和不同功能单体混合溶液的紫外可见光谱图

Fig. 2 UV-Vis spectra of the mixture solutions with AAI and different functional monomers

AA: acrylic acid; AM: acrylamide; MAA: methyl acrylic acid; MAM: methacrylamide.

的伸缩振动引起。在 $\text{SiO}_2@ \text{MPS NPs}$ 的谱图中,在 1623 cm^{-1} 和 1708 cm^{-1} 处出现了新特征峰,分别对应 MPS 中 C=C 振动峰和 C=O 振动峰,说明已经成功在 SiO_2 胶体微球表面修饰双键。在 $\text{SiO}_2@ \text{MIP NPs}$ 谱图中, 1461 cm^{-1} 处的吸收峰与 EGDMA 中与醚键相连的亚甲基中 C-H 的特征振动有关; 2935 cm^{-1} 处的吸收峰对应着饱和 C-H 伸缩振动峰;与 $\text{SiO}_2@ \text{MPS NPs}$ 谱图相比,由于 EGDMA 中 C=O 的引入,使得 $\text{SiO}_2@ \text{MIP NPs}$ 谱图中 C=O 的吸收峰强度大大增加;在 $\text{SiO}_2@ \text{MIP NPs}$ 谱图中 C=C 峰强度也有所降低,是由于 $\text{SiO}_2@ \text{MPS NPs}$ 表面上的 C=C 与功能单体 VPY、交联剂 EGDMA 进行了共聚反应。

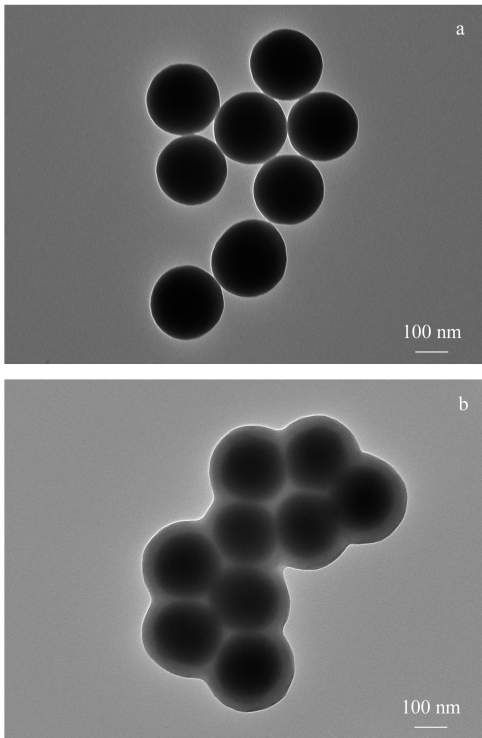


图 3 (a) SiO_2 NPs 和 (b) SiO_2 @MIP NPs 的透射电镜图

Fig. 3 TEM images of (a) SiO_2 NPs and (b) SiO_2 @MIP NPs

利用热重分析仪分析了 SiO_2 NPs、 SiO_2 @MPS NPs、 SiO_2 @MIP NPs 和 SiO_2 @NIP NPs 的热稳定性,结果进一步证实 SiO_2 NPs 表面成功包裹了聚合物。图 4b 的热重分析结果显示 SiO_2 NPs 失重约为 15%, 归因于 SiO_2 NPs 所含水分的蒸发和表面羟基的分解; SiO_2 @MPS NPs 约有 19% 的失重, 比 SiO_2 NPs 的失重增加了约 4%, 归因于硅球表面成功接枝的双键; SiO_2 @MIP NPs 从 300 °C 开始发生明显的失重, 失重约 56%, 比 SiO_2 @MPS NPs 增加了约 37%, 这归因于表面分子印迹层的分解, 进一步证明了硅球表面聚合物层的存在; SiO_2 @NIP NPs 从 300 °C 开始也存在明显的失重, 失重约为 60%, 略高于 SiO_2 @MIP NPs。在 500 °C 之后, SiO_2 NPs、 SiO_2 @MPS NPs、 SiO_2 @MIP NPs 和 SiO_2 @NIP NPs 没有继续发生明显的失重, 说明材料均具备热稳定性。

对 SiO_2 @MIP NPs 和 SiO_2 @NIP NPs 进行了比表面积和孔径的分析。 SiO_2 @MIP NPs 和 SiO_2 @NIP NPs 的 N_2 吸附-脱附曲线非常类似(见图 5), 说明二者的物理吸附没有太大差别。采用 Brunauer-Emmett-Teller (BET) 方程和 Barrett-Joyner-Halenda (BJH) 方法分析了 SiO_2 @MIP NPs

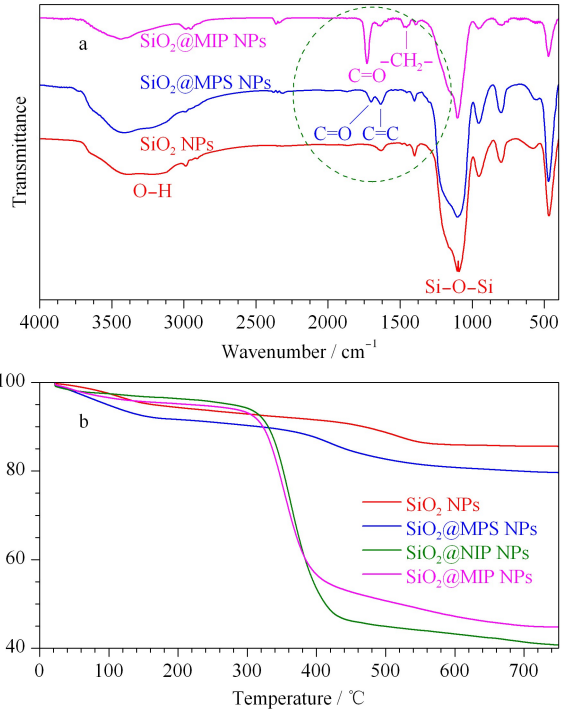


图 4 SiO_2 NPs、 SiO_2 @MPS NPs 和 SiO_2 @MIP NPs 的 (a) 傅里叶红外谱图和 (b) 热重分析谱图

Fig. 4 (a) FT-IR spectra and (b) thermogravimetric analysis curves of SiO_2 NPs, SiO_2 @MPS NPs and SiO_2 @MIP NPs

NIP: non-imprinted polymer.

和 SiO_2 @NIP NPs 的比表面积和孔径分布参数, SiO_2 @MIP NPs 的比表面积 ($15.56 \text{ m}^2/\text{g}$) 稍微高于 SiO_2 @NIP NPs 的比表面积 ($14.49 \text{ m}^2/\text{g}$), 二者的孔径大小相同 (1.590 nm), SiO_2 @MIP NPs 的孔容 ($0.01820 \text{ cm}^3/\text{g}$) 略大于 SiO_2 @NIP NPs ($0.01765 \text{ cm}^3/\text{g}$)。结合热重分析结果, 说明 SiO_2

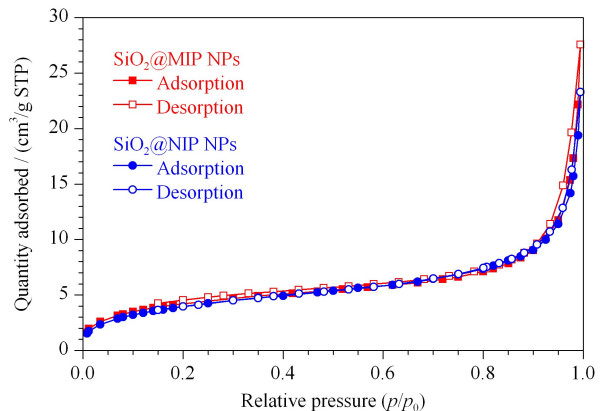


图 5 SiO_2 @MIP NPs 和 SiO_2 @NIP NPs 的 N_2 吸附-脱附等温曲线

Fig. 5 N_2 adsorption-desorption isotherm of SiO_2 @MIP NPs and SiO_2 @NIP NPs

@ NIP NPs 表面包覆上了更多的聚合物。因此,可以认为 MIPs 表面的印迹位点是导致吸附差异的主要原因,而不是由于制备材料比表面积的不同。

2.3 SiO₂@MIP NPs 的吸附性能

SiO₂@MIP NPs 和 SiO₂@NIP NPs 对马兜铃酸的动力学吸附如图 6a 所示。从图中可以看出,吸附剂的吸附量随着时间的增加逐渐增大,前 60 s 吸附量增加明显,归因于吸附剂表面的印迹位点尚未被完全占据;在大约 120 s 时吸附量基本保持不变,证明达到了吸附平衡。快速的吸附平衡证明了采用表面印迹方法合成的 SiO₂@MIP NPs 具有快速的传质过程和结合能力。此外,还观察到 SiO₂@MIP NPs 的吸附量明显大于 SiO₂@NIP NPs,说明相比于 SiO₂@NIP NPs 的非特异性吸附, SiO₂@MIP NPs 的特异性吸附发挥了作用。

为了进一步研究所制备印迹材料的吸附性能, SiO₂@MIP NPs 和 SiO₂@NIP NPs 对不同初始浓度 AAI 标准溶液进行了等温吸附平衡实验,从图 6b 中可以观察到, SiO₂@MIP NPs 出现吸附平衡时对应的 AAI 浓度较高,且 SiO₂@MIP NPs 的吸附量明

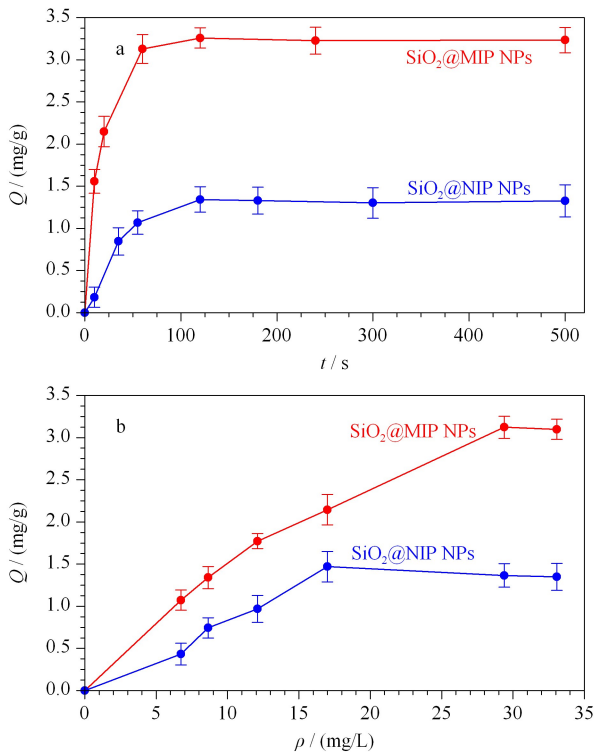


图 6 SiO₂@MIP NPs 和 SiO₂@NIP NPs 的 (a) 动力学吸附曲线和 (b) 热力学吸附曲线 ($n=3$)

Fig. 6 (a) Adsorption kinetic curves and (b) adsorption thermodynamic curves of SiO₂@MIP 和 SiO₂@NIP NPs ($n=3$)

显大于 SiO₂@NIP NPs,这也印证了 SiO₂@MIP NPs 具有与 AAI 相匹配的特异性识别位点,能够结合更多的 AAI。对 SiO₂@MIP NPs 的热力学吸附曲线分别做了 Langmuir 拟合和 Freundlich 拟合,二者均具有较高的拟合程度,可能是因为 SiO₂@MIP NPs 除了依靠氢键结合 AAI 外,还有离子间相互作用。由于 Langmuir 拟合 ($r=0.9966$) 优于 Freundlich 拟合 ($r=0.9933$),因此推断吸附剂的吸附行为为单分子层吸附,主要发生在吸附剂的表面且吸附剂具有均匀的与 AAI 相匹配的结合位点。根据 Langmuir 拟合方程,得出理论最大吸附量为 5.74 mg/g。

在实际中药样品分析中,复杂的基质干扰往往会影响分子印迹聚合物的识别结果。因此,在识别过程中需要分子印迹聚合物具有较好的选择性。根据 AAI 的分子结构,实验分别选择了具有多苯环结构的丹参酮 II A,具有硝基的 2-甲氧基-5-硝基苯酚和具有酸性的苯甲酸作为 AAI 的结构类似物。SiO₂@MIP NPs 的吸附选择性通过目标物在印迹聚合物颗粒和溶液之间的分配系数 (K)、印迹因子 (IF) 和选择性系数 (SC) 来评价^[20]。实验结果表明, SiO₂@MIP NPs 具有高的印迹因子(4.9),对模板结构类似物有较好的选择性,选择系数为 2.3~6.6。

对比 SiO₂@MIP NPs 或 SiO₂@NIP NPs 对 AAI 及其结构类似物吸附的结果(见图 7),发现 SiO₂@MIP NPs 对模板分子 AAI 的吸附量显著高于其他 3 种类似物,此外对 AAI 的 IF 也比其他类似物更高,这表明 SiO₂@MIP NPs 表面的印迹层具有特定的识别位点,这些位点在大小、形状和功能基团

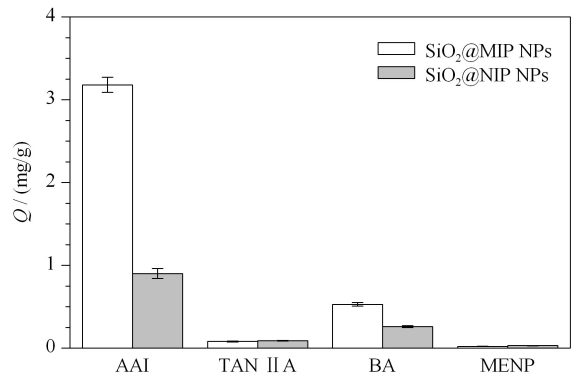


图 7 SiO₂@MIP NPs 和 SiO₂@NIP NPs 对 AAI、TAN II A、BA 和 MENP 的吸附容量 ($n=3$)

Fig. 7 Adsorption capacities of SiO₂@MIP NPs and SiO₂@NIP NPs towards AAI, tanshinone II A (TAN II A), benzoic acid (BA) and 2-methoxy-5-nitrophenol (MENP) ($n=3$)

方面都能够和 AAI 匹配互补,因而模板 AAI 能够比其他 3 种类似物更容易占据所形成的空腔。在 3 种结构类似物中,无论 $\text{SiO}_2@ \text{NIP NPs}$ 还是 $\text{SiO}_2@ \text{MIP NPs}$,对苯甲酸的吸附量均较高,这可能是因为苯甲酸中的羧基和功能单体 VPY 有类似于 AAI 和 VPY 之间的离子间作用力,因此导致了较高的非特异性吸附。对比 $\text{SiO}_2@ \text{NIP NPs}$ 对 AAI, TAN II A、BA 和 MENP 的吸附量,可以发现 $\text{SiO}_2@ \text{NIP NPs}$ 对 AAI 的吸附量最高。这一实验结果与 Baggiani 等^[21]的报道一致,即如果 NIP 与目标分子也有结合特性,则同样方法合成的 MIP 表现出的印迹效应将更为显著。

样品预处理吸附剂的一个显著特点是具有良好的可重复使用性。因此,研究制备的分子印迹材料的再生能力具有重要意义。以 1% 乙酸甲醇溶液为洗脱液,进行了 5 次吸附-再生循环吸附试验,发现 $\text{SiO}_2@ \text{MIP NPs}$ 对 AAI 在 5 次吸附循环后,其吸附量与第一次相比损失了约 16%。这是因为随着洗脱次数的增加,印迹聚合物表面的特异性结合位点有可能被破坏。经过 5 次吸附-再生循环吸附试验,印迹聚合物的吸附容量虽有降低,但是仍然超过第 1 次吸附容量的 80%,可以认为所制备的印迹聚合物材料具有良好的重复使用性能,可作为吸附剂用于实际样品中 AAI 的富集和检测分析。

2.4 $\text{SiO}_2@ \text{MIP NPs}$ 对 AAI 的选择性吸附

将制备的 $\text{SiO}_2@ \text{MIP NPs}$ 用作吸附剂并结合 HPLC 对加标中药川木通样品进行分析。在 0.050 ~ 200.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内,AAI 浓度与其色谱峰面积具有较好的线性关系 ($r = 0.9999$),该方法的检出限 (LOD) 和定量限 (LOQ) 分别为 0.033 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 0.11 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。加入 AAI 到川木通提取液中,使 AAI 的加标水平分别为 0.3、0.5 和 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$,通过 HPLC 检测,发现 AAI 的加标回收率为 73% ~ 83%,相对标准偏差 (RSD) 小于 3.5%。

将 $\text{SiO}_2@ \text{MIP NPs}$ 加入到中药川木通的提取液中,分析后,相应的色谱图如图 8 所示。没有加 AAI 的川木通样品在保留时间为 17.5 min 处没有出现色谱峰;而加标 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 AAI 川木通样品中出现了 AAI 的色谱峰;用 $\text{SiO}_2@ \text{MIP NPs}$ 吸附剂对加标的川木通样品进行吸附后,发现 AAI 的色谱峰消失,这证明合成的 $\text{SiO}_2@ \text{MIP NPs}$ 具有对 AAI 的特异性吸附,并能够用于中药样品中 AAI 的选择性去除。

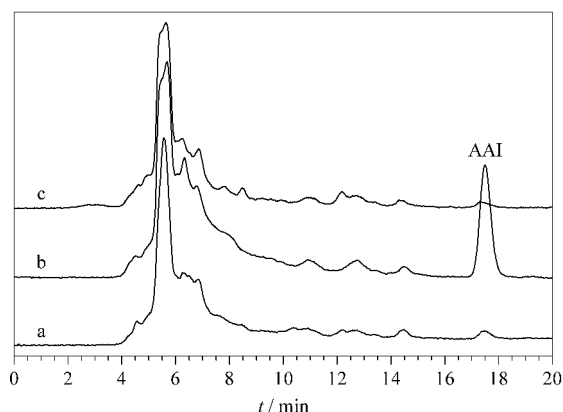


图 8 川木通提取液的色谱图

Fig. 8 Chromatograms of *Kebia trifoliata* extracts

a. blank solution without pretreatment; b. spiked with 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ AAI without pretreatment; c. spiked with 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ AAI after pretreatment by $\text{SiO}_2@ \text{MIP NPs}$.

3 结论

本工作采用表面分子印迹技术制备了核-壳结构的马兜铃酸分子印迹聚合物,并作为吸附剂应用于中药川木通中 AAI 的选择性去除。一系列吸附实验表明,制备的分子印迹聚合物对 AAI 的吸附平衡时间短、吸附容量理想、选择性高。本文建立了 $\text{SiO}_2@ \text{MIP NPs}$ 作为吸附剂的 HPLC 方法,并应用于中药中马兜铃酸的选择性分离分析。基于核-壳结构 $\text{SiO}_2@ \text{MIP NPs}$,可作为高选择性材料用于中药有效成分的分离富集和化学有害物质的去除。

参考文献:

- [1] Yang H Y, Chen P C, Wang J D. *Bio Med Res Int*, 2014, 2014: 569325
- [2] Heinke B, Tabea Z, Kerstin S, et al. *Toxicology*, 2019, 420: 29
- [3] Zhao Y, Chan C K, Chan K K J, et al. *Chem Res Toxicology*, 2019, 32(10): 2086
- [4] Ludivine R V, Camille W, Jerome L, et al. *Toxicol*, 2019, 172: 53
- [5] Agrawal P, Laddha K. *J Food Drug Anal*, 2017, 25(2): 425
- [6] Ye J P, Cai X, Zhou Q, et al. *Microchim Acta*, 2020, 187(11): 623
- [7] Ji F Q, Jin R R, Luo C. *J Chromatogr A*, 2020, 1609: 460455
- [8] Zhang J H, Wan Y A, Sun J, et al. *RSC Adv*, 2020, 10(58): 35597
- [9] Li F, Gao J, Li X X, et al. *J Chromatogr A*, 2019, 1602: 168
- [10] Chen L X, Liu Y X, He X W, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2015, 33(5): 481
陈朗星, 刘雨星, 何锡文, 等. 色谱, 2015, 33(5): 481

- [11] Sun Z A, Qi Y X, Wang X, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2018, 36(8): 716
孙治安, 祁玉霞, 王霞, 等. 色谱, 2018, 36(8): 716
- [12] Wang L Y, Wang J N, Li J H, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2020, 38(3): 265
王莉燕, 王加男, 李金花, 等. 色谱, 2020, 38(3): 265
- [13] Hu W Y, Long M M, Hu Y F, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2020, 38(3): 307
胡文尧, 龙美名, 胡玉斐, 等. 色谱, 2020, 38(3): 307
- [14] Dubey R S, Rajesh Y B R D, More M A. *Mater Today: Proceedings*, 2015, 2(4/5): 3575
- [15] Giesche H. *J Eur Ceram Soc*, 1994, 14(3): 205
- [16] Li F, Du P, Chen W, et al. *Anal Chim Acta*, 2007, 585(2): 211
- [17] Xiao Y H, Xiao R, Tang J, et al. *Talanta*, 2017, 162: 415
- [18] Ge Y H, Shu H, Xu X Y, et al. *Mater Sci Eng C*, 2019, 97: 650
- [19] Stöber W, Fink A, Bohn E. *J Colloid Interface Sci*, 1968, 26(1): 62
- [20] Li F, Li X X, Li Y J, et al. *J Sep Sci*, 2021, 44(10): 2132
- [21] Baggiani C, Giovannoli C, Anfossi L, et al. *J Am Chem Soc*, 2012, 134(3): 1513