

# 分子印迹技术在药学中的应用

吴正红\*

(中国药科大学药剂学教研室, 南京 210009)

**【摘要】** 分子印迹技术是高分子科学、材料科学、生物学、化学工程等学科的有机结合。本文就分子印迹技术的产生、原理、制备方法及其在药学中的应用研究进行了综述, 并展望了分子印迹技术在药学领域的发展趋势。

**【关键词】** 分子印迹技术; 药学; 应用; 综述

**【中图分类号】** R914.2    **【文献标识码】** A    **【文章编号】** 1000—5048(2005)05—0477—04

分子印迹技术(molecular imprinting technique, MIT)又称分子烙印, 是将高分子科学、材料科学、生物化学、化学工程等学科有机结合在一起, 为获得在空间结构和结合位点上与模板分子完全匹配的聚合物(即分子印迹聚合物, molecular imprinting polymer, MIP)的一种新型实验制备技术。目前, MIT 已应用于手性拆分<sup>[1,2]</sup>、仿生传感器<sup>[3]</sup>、固相萃取<sup>[4,5]</sup>、抗体模拟<sup>[6]</sup>、酶催化模拟<sup>[7]</sup>以及控释药物<sup>[8]</sup>等领域。本文对 MIT 的基本原理、MIP 的制备方法和性质以及它在药学中的应用与发展趋势进行了较为详细的介绍与论述。

## 1 MIT 的制备原理与方法

MIT 一般包括 3 个步骤: (1)在一定溶剂(也称致孔剂)中, 模板分子(即印迹分子)与功能单体依靠官能团之间的共价或非共价作用形成主客体配合物; (2)加入交联剂, 通过引发剂引发进行光或热聚合, 使主客体配合物与交联剂通过自由基共聚在模板分子周围形成高交联的刚性聚合物; (3)将聚合物中的印迹分子洗脱或解离出来, 这样在聚合物中便留下了与模板分子大小和形状相匹配的立体孔穴, 同时孔穴中包含了精确排列的与模板分子官能团相互补的由功能单体提供的功能基团。这便赋予该聚合物特异的“记忆”功能, 即类似生物自然的识别系统<sup>[9]</sup>, 其具有预定性、识别性和实用性<sup>[10]</sup>。

根据功能单体与印迹分子的作用机理, 分子印迹技术可分为: (1)预组装方式, 印迹分子和功能单体之间通过共价键作用制备 MIP 的方法, 使用较多的共价作用包括硼酸酯、亚胺、西佛碱、缩醛酮、酯和鳌合键合作用, 其中最具代表性的是硼酸酯<sup>[11]</sup>; (2)自组装方式, 印迹分子与功能单体之间预先自组织排列, 以非共价键包括静电引力(离子交换)、氢键作用、π-π 作用、疏水作用、金属鳌合作用、电荷转

移以及范德华力等形成多点相互作用而聚合, 其中最重要的类型是离子作用, 氢键作用次之<sup>[12]</sup>; (3)半共价分子印迹技术(共价键与非共价键共用)<sup>[13]</sup>。在 3 种印迹方式中, 自组装方式是制备分子印迹聚合物最有效且最常用的方法。

目前, 制备 MIP 的方法有: 本体聚合法、分散聚合法、沉淀聚合法、悬浮聚合法、乳液聚合法以及表面印迹法等<sup>[14]</sup>。

## 2 MIT 在药学中的应用

### 2.1 MIT 在药物传递系统中的应用

在新型药物传递系统(DDS)的设计上分子印迹技术具有巨大潜力, 尽管它在此领域的应用还处于初始的阶段, 但已倍受关注, 其给药方式亦可采用不同途径, 如口服、经眼、经皮给药等<sup>[8,15]</sup>。

Hilt 和 Byrne<sup>[16]</sup>认为 MIP 与印迹分子之间有高亲合性, 这种作用可以通过外部条件的改变(如 pH、光、热等)精确控制, 选择生物相容性材料来印迹药物分子, 然后通过外部条件的改变就可以实现药物分子的控制释放。为了充分发挥药效确保用药安全, DDS 必须具备调节药物的释放速率(延迟或延缓释放)和/或将药物靶向到特定部位的功能。Alvarez-Lorenzo 等<sup>[18]</sup>认为基于 MIP 的 DDS 可通过以下 3 种方式来控制药物的开始释放时间和/或药物的释放速率: (1)速率程控释药, 即药物按某一特定的速率程序从体系中扩散出来, 属于常规 DDS 释药方式; (2)激活调控释药, 即药物的释放是由某些物理、化学或生化作用(如 pH、温度和酶等)触发而引起的, 如结肠定位释药系统; (3)反馈调节释药, 即药物的释放速率是由某种触发剂的浓度调节, 如某一生化物质, 它的浓度本身就依赖于体内药物浓度, 当触发剂浓度达到某一水平时, 药物开始释放, 而低于此水平时, 药物停止释放, 如葡萄糖调节胰岛素释放系统。另外, 如果给印迹聚合物偶联靶向分子, 那么药物分子还可在特定部位

释放<sup>[17]</sup>。

Norell 等<sup>[18]</sup>在氯仿中以甲基丙烯酸为功能单体, 以乙二醇二甲基丙烯酸酯为交联剂, 采用非共价方式制备了茶碱印迹颗粒, 在 pH 7.0 的缓冲液中能持续释药数小时。

Allender 等<sup>[19]</sup>将以甲基丙烯酸为功能单体制备了心得安 MIP 用作经皮给药装置的赋形剂, 在水-乙醇(50:50)的介质中进行扩散实验, 结果表明含 MIP 的给药装置释药速度明显低于含非 MIP 的给药装置, 具有明显缓释效应。

Hiratani 和 Alvarez Lorenzo 等<sup>[19, 20]</sup>制备了噻吗心安(timolol)分子印迹聚合物的眼内释药的软隐形镜, 在 37 °C 的人工泪液中可持续释药 10 h 以上。

Peppas 等<sup>[21]</sup>运用  $\gamma$ -辐射法制备具有分子印迹的 PEG 星型聚合物, 通过 MIP 的三维结构来控制药物的释放, 将其作为蛋白质类药物的 DDS。

目前, 绝大多数 MIP 的合成工艺及其性能的研究都是基于药物的分离技术, 与用于 DDS 的 MIP 应有所不同, 但其可以作为制备用于 DDS 的 MIP 的起点, 并对以下几个方面予以考虑:

刚性和柔性 MIP 的印迹孔穴结构应有足够刚性来维持孔穴的构象, 同时也要有适当的柔性以便药物的释放与装载。通常非共价键 MIP 比共价键 MIP 更适合于 DDS。另外, MIP 的机械性能以及印迹孔穴构象很大程度上依赖于交联剂的比例。绝大多数药物分析用的 MIP 其交联剂高达 25% ~ 90%, 如此高比例的交联剂会使 MIP 网状结构的疏水性增强、硬度增大, 从而导致 MIP 的生物黏附性下降, 不利于药物的吸收; 同时, 也难以制成适合于给药部位的形态, 并对周围组织因机械摩擦而产生损伤(尤其是局部、眼或作为植入剂给药时), 因而作为药物载体的 MIP 应有适宜的刚性和柔性。

化学稳定性 用于药物传递的 MIP 应尽可能具备足以抵御各种酶和化学物质侵袭的能力, 以便适用于复杂、多变的体内环境。Yonette 等<sup>[22]</sup>研究表明在体外条件下, 采用乙二醇二甲基丙烯酸酯及其有关的交联剂制得的 MIP 网状结构在较广的 pH 值和温度范围内能保持稳定。但在体内酯酶和极端 pH 条件下, 有加速其水解的可能。

安全性 用作药物载体的 MIP 及其残留的功能单体、杂质以及降解产物均应无毒。为了确保 MIP 的生物相容性, 在 MIP 合成时应采用经实验证实不产生毒性的原料。另外, 绝大多数 MIP 是通过静电和氢键作用在有机溶剂中合成的, 其残留的有机溶剂会对细胞产生损害, 因而要严格控制有机溶剂的残留量。

Bures 等<sup>[15]</sup>认为, 由丙烯酸或甲基丙烯酸为功能单位所制得的 MIP 具有良好的亲水性、生物黏附性和生物相容性, 以其作为口服药物载体, 可以控制药物释放, 改善药物的口服吸收。

## 2.2 MIT 在药物分离中的应用

目前, 绝大多数光学活性物质为外消旋体形式, 无法分别测定其药物动力学和毒理学指标, 利用 MIT 可以分离及纯化这些对映异构体混合物。Wulff<sup>[23]</sup>首先把分子印迹聚合物作为高效液相色谱的固定相, 拆分模板  $\alpha$ -D-甘露糖苷的外消旋体; Haginaka 等<sup>[24, 25]</sup>以 S-萘普生为模板分子制备 MIPs 对其消旋混合物拆分, 同时还可将 S-萘普生与其结构类似物布洛芬和酮洛芬进行分离。还报道了睾丸酮<sup>[26]</sup>、胆固醇<sup>[27]</sup>、唾液酸<sup>[28]</sup>、磺酞胺<sup>[29]</sup>、辛可尼丁<sup>[30]</sup>等分子印迹聚合物分离模板分子与其类似物。何锡文等利用分子印迹法对药物对乙酰氨基酚<sup>[31]</sup>、头孢氨苄<sup>[32]</sup>、氧氟沙星<sup>[33]</sup>等分子印迹聚合物的合成和结合选择性进行了报道; 董襄朝等利用分子印迹技术对水杨酸<sup>[34]</sup>、氧氟沙星<sup>[35]</sup>等药物的分离效果作了系列研究。

## 2.3 MIT 在中药活性成分的提取与分离中的应用

利用分子印迹技术还可以分离中药活性成分, 如以(—)-伪麻黄碱和(—)-降麻黄碱为模板的分子印迹聚合物<sup>[36]</sup>; 以苦参碱<sup>[37]</sup>、黄酮类<sup>[4, 38-40]</sup>、萜烯类<sup>[41]</sup>为模板制备的分子印迹聚合物等可用于相应的药物的提取与分离。

## 3 展望

随着化学、生物学、材料学和分析技术的不断进步, MIT 将在药学领域发挥越来越大的作用。目前 MIT 在药物分析中的应用较为成熟, 但在整个药学领域的应用研究方面 MIT 还有许多课题值得进一步探索和研究。首先, 进一步从分子水平上弄清楚分子印迹和识别的过程, 定量地描述其机理, 提高 MIP 制备的预知性和可控性; 其次, 如何保持 MIP 的刚性与柔性的平衡, 使其适合于 DDS; 第三, 如何在水相中合成 MIP, 将分子印迹和识别过程从亲脂性药物拓展到亲水性药物; 第四, 将分子印迹研究领域从目前的小分子领域拓展到大分子领域, 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。第五, MIP 的印迹药物分子不经洗脱或解离, 以及再装载过程, 而可将 MIP 直接作为 DDS。总之, 随着生物技术、电子技术、合成手段和现代分析检测手段的迅猛发展, MIP 的合成、表征方法和理论系统将日臻完善, 其在药学领域应用前景将更加深入。

## 【参考文献】

- [1] Kandimalla V B, Ju H. Molecular imprinting: a dynamic technique for diverse applications in analytical chemistry[ J ]. *Anal Bioanal Chem*, 2004, **380**(4): 587—605.
- [2] Andersson LI. Molecular imprinting: developments and applications in the analytical chemistry field[ J ]. *J Chromatogr B*, 2000, **745**(1): 3—13.
- [3] Pampi P, Kofinas P. Biomimetic glucose recognition using molecularly imprinted polymer hydrogels[ J ]. *Biomaterials*, 2004, **25**(10): 2199—2204.

- 1 969—1 973.
- [4] Weiss R, Molinelli A, Jakusch M, et al. Molecular imprinting and solid phase extraction of flavonoid compounds [J]. *Biosparation*, 2001, **10**(6): 379—387.
- [5] Andersson H. Molecular imprinting for drug bioanalysis. A review on the application of imprinted polymers to solid-phase extraction and binding assay [J]. *J Chromatogr B*, 2000, **739**(1): 163—173.
- [6] Ye L, Haupt K. Molecularly imprinted polymers as antibody and receptor mimics for assays, sensors and drug discovery [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2004, **378**(8): 1 887—1 897.
- [7] Gui A, Singh A, Kaplan DL. Enzyme-based molecular imprinting with metals [J]. *Biomacromolecules*, 2002, **3**(6): 1 353—1 358.
- [8] Alvarez-Lorenzo C, Concheiro A. Molecularly imprinted polymers for drug delivery [J]. *J Chromatogr B*, 2004, **804**(1): 231—245.
- [9] Allender CJ, Richardson C, Woodhouse B, et al. Pharmaceutical applications molecularly imprinted polymers [J]. *Int J Pharm*, 2000, **195**(1—2): 39—43.
- [10] 张学炜(Zhang XW), 孙慧(Sun H), 董襄朝(Dong XC), 等. 分子印迹技术及其应用研究进展 [J]. 天津农学院学报, 2002, **9**(3): 23—28.
- [11] Wulff G, Grobe Ersler R, Vesper W, et al. Enzyme-analogue built polymer [J]. *Macromol Chem*, 1977, **178**(10): 2 817—2 825.
- [12] Sellengren B, Lepisto M, Moshach K. Highly enantioselective and substrate-selective polymers obtained by molecularly imprinting utilizing non-covalent interactions: NMR and chromatographic studies on the nature of recognition [J]. *J Am Chem Soc*, 1988, **110**(20): 5 853—5 860.
- [13] Whitcombe MJ, Rodrigue ME, Villar P, et al. A new method for the introduction of recognition site functionality into polymers prepared by molecular imprinting: synthesis and characterization of polymeric receptors for cholesterol [J]. *J Am Chem Soc*, 1995, **117**(27): 7 105—7 111.
- [14] 郑细鸣(Zheng XM), 涂伟萍(Tu WP). 分子印迹聚合物微球的粒径尺寸及分布 [J]. 化工时刊, 2004, **18**(6): 12—15.
- [15] Bures P, Huang Y, Oral E, et al. Surface modifications and molecular imprinting of polymers in medical and pharmaceutical applications [J]. *J Controlled Release*, 2001, **72**(1—3): 25—33.
- [16] Hilt JZ, Byme ME. Configurational biomimetics in drug delivery: molecular imprinting of biologically significant molecules [J]. *Adv Drug Del Rev*, 2004, **56**(11): 1 599—1 620.
- [17] Sreenivasan K. On the applicability of molecularly imprinted poly(HEMA) as a template responsive release system [J]. *Appl Polym Sci*, 1999, **71**(12): 1 819—1 821.
- [18] Norell MC, Andersson HS, Nicholls IA. Theophylline molecularly imprinted polymer dissociation kinetics: a novel sustained release drug dosage mechanism [J]. *J Mol Recognit*, 1998, **11**(1): 98—102.
- [19] Hiratani H, Fujiwara A, Tamai Y, et al. Ocular release of timolol from molecularly imprinted soft contact lenses [J]. *Biomaterials*, 2005, **26**(11): 1 293—1 298.
- [20] Alvarez-Lorenzo C, Hiratani H, Timolol uptake and release by imprinted soft contact lenses made of *N, N*-diethylacrylamide and methacrylic acid [J]. *J Controlled Release*, 2002, **83**(2): 223—230.
- [21] Peppas NA, Keys KB, Torres-Lugo M, et al. Poly(ethylene glycol)-containing hydrogels in drug delivery [J]. *J Controlled Release*, 1999, **62**(1—2): 81—87.
- [22] Younce DM, Smith RE, Russo KA, et al. The stability of methacrylate biomaterials when enzyme challenged: kinetic and systematic evaluations [J]. *Biomed Mater Res*, 2001, **57**(4): 522—531.
- [23] Wulff G, Vesper W. Preparation of chromatographic sorbents with chiral cavities for racemic resolution [J]. *Chromatographia*, 1978, **16**(2): 171—186.
- [24] Hagiwara J, Sanbe H. Uniformly sized molecularly imprinted polymer for (S)-naproxen retention and molecular recognition properties in aqueous mobile phase [J]. *J Chromatogr A*, 2001, **913**(2): 141—146.
- [25] Hagiwara J. Uniform-sized molecularly imprinted polymer for (S)-naproxen selectively modified with hydrophilic external layer [J]. *J Chromatogr A*, 1999, **849**(2): 331—339.
- [26] Cheong SH, Me Niven S, Radikov A, et al. Testosterone receptor binding mimic constructed using molecular imprinting [J]. *Macromolecules*, 1997, **30**(8): 1 317—1 322.
- [27] Kugimiyama A, Matsui J, Hiroshi A, et al. Synthesis of castasterone selective polymers prepared by molecular imprinting [J]. *Anal Chim Acta*, 1998, **365**(1—3): 75—79.
- [28] Kugimiyama A, Takeuchi T, Matsui J, et al. Recognition in novel molecularly imprinted polymer sialic acid receptors in aqueous media [J]. *Anal Lett*, 1996, **29**(7): 1 099—1 107.
- [29] Zheng N, Li YZ, Chang WB, et al. Sulfonamide imprinted polymers using co-functional monomers [J]. *Anal Chim Acta*, 2002, **452**(1—3): 277—283.
- [30] Takeuchi TT, Mukawa T, Matsui J, et al. Molecularly imprinted polymers with metalloporphyrin-based molecular recognition sites coassembled with methacrylic acid [J]. *Anal Chem*, 2001, **73**(16): 3 869—3 874.
- [31] 郭洪声(Guo HS), 何锡文(He XW), 邓昌辉(Deng CH), 等. 药物扑热息痛分子模板聚合物的选择性富集与识别特性研究 [J]. 高等学校化学学报(Chen J Chin Univ), 2000, **21**(3): 363—367.
- [32] 郭洪声(Guo HS), 何锡文(He XW), 周杰(Zhou J). 药物头孢氨苄分子模板聚合物水中结合性质的研究 [J]. 分析化学(Anal Chem), 2000, **28**(10): 1 214—1 219.
- [33] 郭洪声(Guo HS), 何锡文(He XW). 药物氟哌酸分子模板聚合物分子识别特性的研究 [J]. 分析化学(Anal Chem), 2001, **29**(2): 128—132.
- [34] 董襄朝(Dong XC), 孙慧(Sun H), 吕宪禹(Liu XY), 等. 邻羟基苯甲酸分子印迹聚合物对于异构体的识别及色谱行为研究 [J]. 化学学报(Acta Chim Sin), 2002, **60**(11): 2 035—2 042.
- [35] 孙慧(Sun H), 董襄朝(Dong XC), 吕宪禹(Liu XY), 等. 以分子印迹聚合物为固定相分离和测定氟喹诺酮类药物 [J]. 色谱 (Chin J Chromatogr), 2003, **21**(3): 233—238.

- [36] Beach JV, Shea KJ. Designed catalysts: a synthetic network polymer that catalyzes the dehydrofluorination of 4-fluoro-4-(p-nitrophenyl) butan-2-one[J]. *J Am Chem Soc*, 1994, **116**(1): 379–380.
- [37] Iai JP, He XW, Jiang Y. 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**(2): 264–269.
- [38] Xie JC, Luo HP, Zhu LL, et al. Extracting active compounds from herbs using molecular imprinting technology[J]. *Acta Phys Chim Sin*, 2001, **17**(7): 582–587.
- [39] Molinelli A, Janotta M, Mizaikoff B. Molecularly imprinted polymers for biomolecular recognition[J]. *Methods Mol Biol*, 2005, **300**: 243–254.
- [40] Suárez-Rodríguez JL, Díaz-García ME. Flavonol fluorescent flow-through sensing based on a molecular imprinted polymer[J]. *Anal Chim Acta*, 2000, **405**(1–2): 67–76.
- [41] Percival CJ, Stanley S, Galle M, et al. Molecular imprinted polymer coated quartz crystal microbalances for the detection of terpenes[J]. *Anal Chem*, 2001, **73**(17): 4225–4228.

## Application of Molecular Imprinting Technique in Pharmaceutical Science

WU Zheng-Hong

(Department of Pharmaceutics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

**【ABSTRACT】** Molecular imprinting technique (MIT) is a new field which originates from multiple disciplines such as macromolecule science, material science, biology and chemical engineering. This paper reviews the origin, preparation principle, methods of MIT and its application in pharmaceutical science. The trend of MIT in pharmaceutical sciences is also forecast.

**【KEY WORDS】** Molecular imprinting technique; Pharmaceutical science; Application; Review

·新趋势·

## 中国将逐渐成为生物技术和产业强国

在日前发表的《中国的生物技术与生物经济》蓝皮书提出,到2020年,中国生物技术及产业化发展的战略目标是成为生物技术强国和生物产业大国,力争经过15年的努力,使中国生物技术与产业化率先进入世界先进行列。

这份由科技部中国生物技术发展中心推出的蓝皮书称,中国要通过“三步走”战略来实现生物技术强国、生物产业大国的目标。

第一步为技术积累阶段,力争2010年前完成。生物技术研发整体水平处于发展中国家领先地位,论文、专利数量均进入世界前6位,生物产业总产值达到8000亿元人民币左右;

第二步为产业崛起阶段,力争2015年左右完成。生物技术研发整体水平跻身世界先进行列,论文和专利总数均达世界前3~4位,生物产业总产值力争达到15000亿元人民币左右;

第三步为持续发展阶段,从2020年开始进入。生物技术研发与产业化整体水平达到世界先进国家水平,成为世界生命科学和生物技术的顶尖人才聚集中心和主要创新中心之一,生物产业总产值达到25 000~30 000亿元人民币,占当时GDP 7~8个百分点,成为国民经济的支柱产业之一。

未来20年中国生物产业的九大发展重点,包括农业生物技术推动第2次绿色革命;医药生物技术推动第4次医学革命,促进中华民族平均寿命进一步提高;工业生物技术推进“绿色制造业”,发展绿色GDP;能源生物技术使“绿金”代替“黑金”,缓解能源短缺压力;环境生物技术促进循环经济发展,利用生物资源的深度开发培育一批新的生物产业;逐步兴起海洋生物产业,促进海洋经济发展;生物安全与生物反恐技术取得重大突破,建立健全生物安全保障体系;形成中西医有机结合的医疗保健体系,构筑中医药产业。

(中国医药数字图书馆)