

doi: 10.12452/j.fxcxb.26060303

虎杖苷分子印迹聚合物制备及其在复杂基质精准识别中的应用

龚刚^{1,2}, 郑欣欣², 胡敏², 张泽熙², 史紫月², 张骞文², 唐为扬^{2*},
谢恬^{1,2*}

(1. 成都中医药大学 药学院, 四川 成都 611137; 2. 杭州师范大学 药学院, 浙江 杭州 311121)

摘要: 针对中药复杂基质中活性成分虎杖苷的高效、精准分离难题, 该研究基于理论模拟指导, 采用沉淀聚合成功制备了具有高特异性识别性能的虎杖苷分子印迹聚合物 (Polydatin MIPs)。利用密度泛函理论 (DFT) 理论从量子化学水平深入阐明了功能单体 4-乙烯基吡啶与模板分子间通过氢键及 π - π 堆积作用形成的协同识别机理, 利用复合物能隙的显著降低 ($\Delta E=2.760$ eV) 以及结合能显著优于其他单体 ($\Delta H=-91.83$ kJ/mol) 的结果从热力学角度证实了预聚合体系的稳定性。此外, 表征结果表明, 制备的 Polydatin MIPs 呈现出微米级不规则多孔结构, 比表面积达 162.55 m²/g, 且在 300 °C 以内具有良好的热稳定性。吸附动力学与热力学研究表明, Polydatin MIPs 遵循准二级动力学和 Langmuir 模型, 表现出优异的吸附容量 (23.65 mg/g), 印迹因子达 7.25 。将 Polydatin MIPs 作为固相萃取填料应用于实际虎杖提取物的分离净化, 在优化的上样、淋洗、洗脱条件下, 实现了目标成分与复杂背景杂质的高效分离, 平均洗脱回收率达 84.5% 。方法学验证结果显示虎杖苷在 $10\sim 900$ μ g/mL 范围内呈现良好的线性关系 ($y=23632.36x-30705.03$, $r^2=0.9993$), 检出限为 2.9 ng/mL, 定量下限为 9.8 ng/mL, 精密度的 RSD $< 1.6\%$; 加标回收率为 $103\%\sim 105\%$, RSD $< 3.3\%$ 。该研究不仅为虎杖苷的规模化制备提供了高效分离材料, 也为基于理论模拟驱动的天然产物活性成分精准富集提供了参考策略。

关键词: 虎杖苷; 分子印迹聚合物; 理论模拟; 固相萃取

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(XXXX)XX-0001-14

Preparation of Polydatin Molecularly Imprinted Polymers and Their Application in Precise Recognition in Complex Matrices

GONG Gang^{1,2}, ZHENG Xin-xin², HU Min², ZHANG Ze-xi², SHI Zi-yue², ZHANG Qian-wen², TANG Wei-yang^{2*}, XIE Tian^{1,2}

(1. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 2. College of Pharmacy, Hangzhou Normal University, Hangzhou 311121, China)

Abstract: Polydatin exhibits anti-inflammatory, antitumor, and antioxidant bioactivities, holding promising application prospects in the fields of medicine and health products. However, polydatin mainly exists in the traditional Chinese medicine *Polygonum cuspidatum*, and its complex matrix composition poses significant challenges for efficient and precise separation. Guided by theoretical simulations, this study successfully prepared polydatin molecularly imprinted polymers (polydatin molecularly imprinted polymer, Polydatin MIPs) with high specific recognition performance using precipitation polymerization. Characterization results showed that the prepared Polydatin MIPs exhibited an irregular micro-sized porous structure with a specific surface area of 162.55 m²/g and good thermal stability below 300 °C. Adsorption kinetics and thermodynamics studies indicated that Polydatin MIPs followed the pseudo-second-order kinetic model and Langmuir isotherm model, demonstrating excellent specific binding capacity (23.65 mg/g) with an imprinting factor of 7.25 . When applied as solid-phase extraction sorbents for the separation and purification of actual *Polygonum cus-*

收稿日期: 2026-06-03; 修回日期: 2026-07-15

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目 (LQ24B060003)

* 通讯作者: 唐为扬, 博士, 副教授, 研究方向: 药物分离分析技术开发, E-mail: tangweiyang@hznu.edu.cn;
谢恬, 博士, 教授, 研究方向: 中药天然药物研发, E-mail: xbs@hznu.edu.cn

网络首发日期: XXXX-XX-XX

pidatum extracts, under optimized loading, washing, and elution conditions, efficient separation of the target compound from complex background impurities was achieved, with an average elution recovery of 84.5%. The results of methodological validation demonstrated that polydatin exhibited a good linear relationship within the range of 10-900 $\mu\text{g/mL}$ ($y=23\,632.36x-30705.03$, $r^2=0.9993$). The limit of detection (LOD) was 2.9 ng/mL, and the limit of quantitation (LOQ) was 9.8 ng/mL. The precision RSD was <1.6%. The spike recovery rates ranged from 103% to 105%, with RSD <3.3%. This method provides a new technical approach for the pretreatment of active components from complex matrices of traditional Chinese medicines, offers high-performance materials for the scalable preparation of polydatin, and presents a reference strategy for the mechanism-driven precise enrichment of natural product active ingredients.

Key words: polydatin; molecularly imprinted polymers; theoretical simulation; solid-phase extraction

虎杖苷 (Polydatin) 是一种主要源于中药虎杖的天然二苯乙烯类化合物^[1], 现代药理研究表明, 虎杖苷具有抗炎^[2]、抗肿瘤^[3]、抗氧化^[4]以及心血管保护^[5]等生物活性, 相较于其苷元 (白藜芦醇), 虎杖苷展现出更优的水溶性与生物利用度, 在医药及保健品领域具有广阔的应用前景^[6]。然而, 作为虎杖苷主要来源的虎杖药材, 由于其基质成分复杂, 目标组分常与结构相似的其他成分共存, 给虎杖苷的高效分离和纯化带来了巨大困难。目前, 虎杖苷的提取分离多采用回流提取、浸渍法及煎煮法等传统工艺^[7]。这些方法普遍存在溶剂耗量大、提取周期长、能耗高且选择性差等弊端, 易导致热敏性成分降解或引入大量复杂杂质 (如多糖、色素等)^[8]。尽管柱色谱^[9]、高速逆流色谱^[10]等现代技术提升了分离纯度, 但往往受限于成本高昂、设备复杂及处理量小等因素, 难以满足精准分析与规模化生产的需求^[11]。因此, 开发一种兼具高选择性、高稳定性的分离新材料与新方法具有重要的学术价值和现实意义。

分子印迹聚合物 (MIPs) 由于具备“预定性、识别性、实用性”及在恶劣环境下性能稳定等优势, 已成为天然产物前处理领域的有力工具^[12]。翟明翠等^[13]以花簇状球形介孔二氧化硅为载体, 在其表面制备具有特异识别功能的马尿酸分子印迹聚合物, 其最大吸附量达到了 85.32 mg/g。Xie 等^[14]制备了香木叶素分子印迹聚合物, 具备较高的特异性识别和吸附能力, 对香木叶素的最大吸附量达到了 20.25 mg/g。固相萃取 (SPE) 作为一种高效的样品前处理技术, 具有回收率高、富集能力强、操作简便等特点^[15]。SPE 技术与 MIP 固定相的联合使用为复杂样品的分离纯化提供了一种可行的方案。Hao 等^[16]制备了磁性分子印迹聚合物, 将其作为吸附剂构建分子印迹固相萃取体系, 成功应用于真实牛奶样品中四环素的特异性吸附和分离, 回收率高达 94.5%。Cao 等^[17]制备了磁性胺化香蒲孢粉素分子印迹聚合物, 结合固相萃取技术, 成功应用于虎杖中的白藜芦醇的分离, 回收率高达 94.33%。

目前, 分子印迹聚合物的合成主要依赖于经验驱动的试错法, 即通过借鉴文献中报道的常用功能单体以及模板分子进行组合尝试。然而, 这种传统的设计模式不仅过程烦琐、效率低下, 且难以精准预测最优组成, 极大地限制了 MIPs 的研发周期与应用拓展。因此, 建立一种高效、理性的设计策略来指导 MIPs 的合成, 对于推动其发展具有重要意义。目前, 密度泛函理论 (DFT) 作为分子相互作用的理论模型, 可以为印迹聚合物与模型之间的弱相互作用力提供重要的理论依据。通过模拟模板与功能单体间的相互作用, 可基于结合能大小与分子构型优化来筛选最佳合成方案。Yang 等^[18]利用 DFT 理论模拟模板分子与低共熔溶剂类功能单体之间的最佳作用方式, 并通过表面印迹技术合成了相应的印迹材料。因此, 利用 DFT 理论指导特定模板 MIP 的设计对推进 MIP 技术在分离纯化领域的应用具有重要意义。

本研究针对虎杖苷分子结构特征, 采用 DFT 理论模拟结合实验优化的策略, 筛选出 4-乙烯基吡啶 (4-VP) 为最佳功能单体, 通过沉淀聚合法制备了高性能虎杖苷分子印迹聚合物 (Polydatin MIPs)。并对材料形貌与结构进行了系统表征, 考察了其动力学与热力学吸附行为。进一步通过密度泛函理论进行量子化学计算, 从分子水平阐明了单体与模板间的氢键及 π - π 键协同识别机制。最后, 构建了基于 MIP-SPE 的样品分离纯化装置, 并成功应用于虎杖提取物中虎杖苷的选择性分离与纯化, 为中药复杂体系中活性组分的精准分离提供了高效、可靠的技术支撑。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

S6000 高效液相色谱仪（北京华谱科仪科技），LC-SPE-24 固相萃取仪（上海力辰邦西仪器），WEL-REX-25A 真空泵（上海月旭科技），SDC-200S 接触角测量仪（东莞晟鼎精密仪器），JWBK300 比表面积及孔径分析仪（北京精微高博仪器），TG209 热重分析仪（德国耐驰仪器），IR-Affinity-1 傅里叶变换红外光谱计（日本岛津仪器）等仪器在本研究中使用。

虎杖苷、4-乙烯基吡啶（4-VP）、甲基丙烯酸酯（MAA）、丙烯酰胺（AM）、偶氮二异丁腈（AIBN）、乙二醇二甲基丙烯酸酯（EGDMA）、甲醇、乙腈、无水乙醇、乙酸、乙酸乙酯、二氯甲烷均购自上海阿拉丁试剂有限公司；中药虎杖购于亳州市千翁堂药业有限公司。

1.2 DFT 理论计算研究方法

本研究在密度泛函理论指导下，使用 Gaussian 16 软件，采用 B3LYP/6-311G (d, p) 基组对功能单体 4-VP、MAA、AM，模板分子虎杖苷（Polydatin）及复合物 Polydatin-4VP、Polydatin-AM、Polydatin-MAA 进行几何结构优化与频率计算。采用 SMD（Solvation Model based on Density）隐式溶剂化模型模拟致孔剂乙腈的溶剂环境。全部振动频率计算验证所得构型无虚频，确认为稳定最优结构后基于频率分析结果，获取复合物与单体的热力学能量参数即结合能，通过能量差公式计算得到主客体结合焓变 (ΔH) 与吉布斯自由能变 (ΔG)，用以评价不同功能单体与模板分子的液相分子识别与结合稳定性。通过静电势 (ESP) 分析预测分子间的活性识别位点；利用独立梯度模型 (IGMH) 与约化密度梯度 (RDG) 方法表征氢键及 π - π 堆积等非共价相互作用的本质；此外，计算各体系的前线轨道 (HOMO, LUMO) 分布，从能隙 ΔE 角度评价预聚合体系的稳定性。ESP、RDG、IGMH、LUMO-HOMO 均通过 Multiwfn 软件进行分析^[19-20]。通过上述理论模拟，从分子水平揭示 Polydatin MIP 的合成策略与特异性识别机理。

1.3 虎杖苷分子印迹聚合物的制备及色谱检测条件

本研究采用沉淀聚合法制备虎杖苷分子印迹聚合物。制备过程如图 1 所示，首先，将模板分子虎杖苷（0.2 mmol）与功能单体 4-乙烯基吡啶（4-VP，3 mmol）溶解于致孔剂乙腈（70 mL）中，转移至圆底烧瓶，于室温下避光静置预聚合 12 h，以实现模板与单体的充分自组装。随后，向体系中加入交联剂乙二醇二甲基丙烯酸酯（EGDMA，12 mmol）和引发剂偶氮二异丁腈（AIBN，0.381 mmol），室温下磁力搅拌 30 min 使其混合均匀。超声处理 10 min 并通入氮气于 60 °C 油浴中恒温反应 24 h。所得产物经减压抽滤，于 45 °C 真空干燥 12 h，以甲醇-乙酸（8:2，体积比）为洗脱剂经索氏提取法去除模板分子直至洗脱液中无法检测出虎杖苷。随后，甲醇洗涤聚合物三次，以去除残留乙酸。并于真空干燥箱中 45 °C 干燥 12 h。非印迹聚合物（Polydatin NIPs）的制备方法与 Polydatin MIPs 制备方法相同（未添加模板分子）。虎杖苷对照品高效液相检测方法：色谱柱为 Agilent C₁₈（250 mm×4.6 mm，5 μ m）；流动相为甲醇（A）和去离子水（B），以 30% 的流动相 A 与 70% 流动相 B 等度洗脱 10 min；检测波长 317 nm；流速 1 mL/min；柱温 30 °C；进样量 5 μ L。

1.4 静态/动态吸附实验

静态吸附实验：将 20 mg Polydatin MIPs 和 Polydatin NIPs 分别置于不同浓度（5~300 μ g/mL）的虎杖苷对照品溶液中。随后，将其放置于恒温振荡器中，在 25 °C 下于 120 r/min 吸附 12 h；测定吸附量：MIPs 或 NIPs 对模板分子（虎杖苷）的吸附量 (mg/g) 的计算公式如下 (1)：

$$Q = (C_i - C_s) \times \frac{V}{m} \quad (1)$$

式中， Q (mg/g) 为吸附平衡时 MIPs 或 NIPs 对模板分子的吸附量， C_i (μ g/mL) 为模板分子的初始浓度， C_s (μ g/mL) 是吸附后剩余液中模板分子的浓度， V (mL) 为吸附溶液的体积， m (mg) 为 MIPs 或 NIPs 的质量。

动态吸附实验：将 20 mg Polydatin MIPs 和 Polydatin NIPs 分别置于浓度为 50 μ g/mL 虎杖苷标准溶液中，利用恒温振荡器（25 °C，120 r/min）测定其在不同时间的吸附量（5~600 min）。

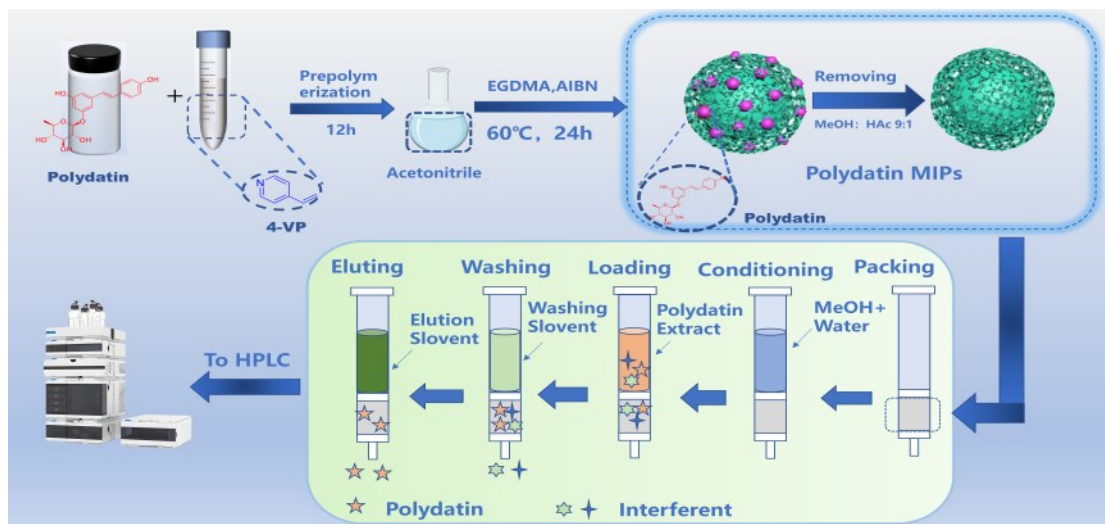


图1 Polydatin MIPs/NIPs 制备过程及固相萃取应用示意图

Fig. 1 Schematic diagram of preparation process and solid-phase extraction application of Polydatin MIPs/NIPs

1.5 虎杖粗提物的制备及在分子印迹固相萃取技术中的应用研究

采用回流提取法制备虎杖提取物：精密称取虎杖粉末 50 g，加入 350 mL 体积分数为 70% 的乙醇溶液，于 90 °C 条件下加热回流提取 1 h，重复提取 3 次，合并各次所得提取液。将合并后的提取液置于旋转蒸发仪中，减压浓缩至黏稠状，转移至蒸发皿内，在 60 °C 下真空干燥 48 h；然后制备分子印迹固相萃取柱，其流程如图 1 所示，称取 200 mg Polydatin MIPs 材料，将其干法填充进 3 mL 规格的固相萃取空柱中，用 5 mL 甲醇与 5 mL 纯水充分活化，制得 Polydatin MIPs SPE 柱；固相萃取流程为：取 1 mL 1 mg/mL 的虎杖提取液上样，然后用 1 mL 纯水、1 mL 乙腈：纯水=3：7（体积比）淋洗，最后用乙酸乙酯/醋酸（9：1，体积比，4×1 mL）洗脱，依次收集上样液、淋洗液和洗脱液。各收集液在氮气流下干燥，残留物用甲醇溶解并过 0.22 μm 微孔滤膜，进行高效液相色谱分析。

1.6 虎杖苷分子印迹聚合物及空白印迹聚合物的表征

通过赛默飞 Apreo 2S 超高分辨场发射扫描电子显微镜对 Polydatin MIPs/NIPs 的外观形貌及尺寸进行测定；通过岛津 IR-Affinity-1 傅里叶红外光谱仪对 Polydatin MIPs/NIPs 的特征官能团进行分析；通过耐驰 TG209 热重分析仪测定 Polydatin MIPs/NIPs 的热稳定性；基于 BET 理论，利用气体吸附法通过精微高博 JWBK300 比表面积及孔径分析仪精确测定 Polydatin MIPs/NIPs 的比表面积，孔径分布及孔容；通过晟鼎 SDC-200S 接触角测量仪对材料表面的亲水性和疏水性进行评估；通过弗布斯 FBS-1076Z 粒度分析仪对材料颗粒大小、分布和形状等特性进行测定。

1.7 方法学验证

线性关系考察：配制虎杖苷对照品 1 mg/mL 母液，将其浓度稀释为 10、50、100、300、500、700、900 μg/mL 的浓度梯度，按上述色谱条件方法进行测定，以峰面积为纵坐标，虎杖苷的浓度为横坐标进行线性回归，建立标准曲线；利用信噪比法获得定量限与检测限：检出限（LOD）定义为以基线信噪比 $S/N=3$ 对应的浓度，代表方法可定性检出目标物的最低浓度。定量下限（LOQ）定义为 $S/N=10$ 对应的浓度，为满足定量精密度与准确度要求的最低定量浓度。精密度实验：取 3 份目标样品低、中、高 3 个浓度的溶液，分别重复进样 3 次，以峰面积为考察指标，测定峰面积值，获得相对标准偏差（RSD）值；加标回收实验：取同一批虎杖提取物样品，分别加入低、中、高浓度的虎杖苷对照品溶液，每个水平做 3 个平行样，按照上述固相萃取方法和条件进行固相萃取实验，通过液相测定样品初始虎杖苷含量，以及最终经固相萃取后洗脱液中的虎杖苷含量计算加标回收率。

2 结果与讨论

2.1 虎杖苷与 3 种单体及其复合物 DFT 理论计算结果

为了从量子化学层面深入揭示 Polydatin MIP 对目标分子产生高特异性识别的内在机制，本研究对

模板分子 (Polydatin)、功能单体 (4-VP、AM、MAA) 及其形成的复合物进行了 DFT 计算。首先是 ESP 分布与识别位点分析, 这是预测分子间相互作用位点的有效手段。如图 2A 所示, 4-VP 的最负电势区域 (-45.27 kcal/mol) 精确锁定在吡啶环的氮原子上, 表明其具有极强的电子供给能力; 而 Polydatin 的强正电势区 (最高达 55.44 kcal/mol) 主要分布在多个羟基氢原子附近。这种显著的电势差异构成了两者间形成强效氢键的驱动力。复合物形成的 ESP 图谱显示, 两者的极值区域在空间上实现了高度互补与重塑, 电荷分布的重新分配预示着稳定预聚合复合物的生成, 为印迹孔穴的结构稳定性奠定了基础。将虎杖苷分别与 4-VP、AM、MAA 形成的复合物的静电势图进行对比 (图 2A), 发现 AM、MAA 的有效静电匹配位点相对集中 (AM 集中于酰胺、MAA 集中于羧基), 可匹配位点偏少; 而 4-VP 的吡啶环能提供分布更广的正负电势位点, 和虎杖苷多处羟基、糖苷位点的互补适配度更佳。

为了深入探究 Polydatin 与 4-VP、AM、MAA 之间的分子间相互作用本质, 采用了独立梯度模型 (IGMH) 和约化密度梯度 (RDG) 方法进行分析, Polydatin 和 4-VP 复合物结果如图 2B 所示: 左侧的 IGMH 散点图分析中, δg 与 $\text{sign}(\lambda_2)\rho$ 的分布清晰地展示了相互作用的类型与强度。数据点主要集中在 $\text{sign}(\lambda_2)\rho < 0$ 的区域, 即蓝色和绿色部分, 表明复合物中存在显著的吸引力相互作用。IGMH 等值面图直观地显示了相互作用的空间位置。绿色和蓝色等值面主要分布在 Polydatin 的羟基与 4-VP 的吡啶环及乙烯基之间, 这对应于典型的氢键 ($\text{O}-\text{H}\cdots\text{N/O}$) 和范德华力作用。蓝色等值面的出现, 表明部分相互作用 (如强氢键) 带有一定的共价性特征。在右侧的 RDG 散点图分析中, 在 $\text{sign}(\lambda_2)\rho < 0$ 且 ρ 较小的区域出现了明显的信号峰, 这是范德华力和氢键等弱相互作用的典型特征。图 2B 显示 Polydatin 与 AM、MAA 复合物的散点图的蓝色氢键区段范围偏窄, 三维等值面里氢键色块数量偏少, 少量蓝绿色色块, 氢键位点稀少, 仅依托酰胺基团形成少量氢键; 范德华作用覆盖范围有限, 整体分子间弱相互作用的总强度偏弱。将虎杖苷分别与 4-VP、AM、MAA 形成的复合物 IGMH、RDG 结果进行对比, 发现 Polydatin 与 4-VP 复合物散点向横轴负方向延伸距离最长, 蓝色区域跨度更大, 表明氢键作用强度优于 AM、MAA 两组。这正是 4-VP 在实验中表现出优于 MAA 和 AM 吸附性能的原因。

图 2C 展示了 Polydatin、4-VP、AM、MAA 单体及其复合物的最高占据分子轨道 (HOMO) 和最低未占据分子轨道 (LUMO) 的空间分布, 以及对应的 HOMO-LUMO 能隙 (ΔE), 能量单位为 eV。游离虎杖苷的 HOMO-LUMO 能隙 ΔE 为 4.011 eV ; 游离单体当中, 4-VP 能隙为 5.220 eV 小于 AM (5.730 eV)、MAA (6.030 eV), 固有电子活性更强。形成复合物之后, Polydatin-AM、Polydatin-MAA 的能隙分别仅降至 4.020 、 3.990 eV , 降幅有限; 而 Polydatin-4VP 的能隙大幅下降至 2.760 eV , 为三组复合物的最低值, 电子跃迁壁垒更低, 模板与 4-VP 之间电荷转移程度更深, 轨道重叠现象更加明显, 电子层面的相互作用强于另外两组体系, 从前线轨道角度佐证 4-VP 是最优功能单体。

虎杖苷与 3 个单体及其复合物的几何优化频率计算在 SMD 乙腈溶剂模型下完成并确认无虚频为能量极小值点后, 对各个单体和虎杖苷的结合能进行了计算, 其结果如表 1 所示, 3 个单体与虎杖苷结合的 ΔH 均呈现负值, 表明模板与单体的结合过程均为放热过程, 其中 Polydatin-4VP 的 $\Delta H = -91.83 \text{ kJ/mol}$, 放热幅度显著高于 AM (-43.18 kJ/mol) 及 MAA (-33.25 kJ/mol)。意味着 4-VP 和虎杖苷之间相互作用强度更强。从吉布斯自由能 ΔG 分析, 仅 4-VP 体系的 ΔG 为负值 (-53.52 kJ/mol), 说明该体系模板与单体的结合过程可自发进行, 而 MAA、AM 体系吉布斯自由能为正值, 难以自发结合, 进一步证明 4-VP 为最优功能单体。

2.2 虎杖苷分子印迹聚合物制备工艺优化

根据理论计算的结果, 4-VP 作为功能单体具有较优的结合能以及氢键与 $\pi-\pi$ 堆积协同作用, 为了验证这一结果, 对其他两种功能单体甲基丙烯酸 (MAA)、丙烯酰胺 (AM) 进行实验对比测试验证理论计算的结果。3 种功能单体合成的 MIPs 吸附结果如图 3A 所示, 以 4-VP 为功能单体制备的 MIPs 吸附量最高, 达 8.30 mg/g , 显著优于以 MAA (4.48 mg/g) 和 AM (5.59 mg/g) 为功能单体的 MIPs, 表明 4-VP 为最佳功能单体, 进一步验证了理论计算 4-VP 为最佳功能单体的结果。然后开始优化模板分子-功能单体-交联剂的摩尔比例, 首先固定模板与单体比例为 1: 5, 调整交联剂比例, 制备了模板: 交联剂摩尔比分别为 1: 20、1: 40、1: 60、1: 80 的 MIPs (MIP4~MIP7)。吸附结果如图 3B 所示, 随着交联剂比例增加, 吸附量呈先升高后降低趋势, 在 1: 60 时达到最大吸附量 10.46 mg/g 。分析认为, 交

联剂比例过低会导致交联密度不足,印迹位点稳定性差;而比例过高则可能引起孔道堵塞、比表面积下降及非特异性吸附增强,进而降低吸附性能。因此,确定模板与交联剂的最佳比例为1:60。随后,在固定模板与交联剂比例为1:60的基础上,调整功能单体比例,制备模板:单体:摩尔比分别为1:10、1:15、1:20、1:25的MIPs(MIP8~MIP11)。结果如图3B所示,随单体比例增加,吸附量同样呈现先升高后降低的趋势,在1:15时吸附量最高,达17.53 mg/g,较其他比例提高12.66%~42.87%。其原因可能是适当增加功能单体有助于形成更多特异性结合位点,但单体过量则易导致非特异性吸附增多、识别位点杂乱,影响选择性。综合上述实验结果,最终确定以4-VP为功能单体,功能单体4-VP与交联剂EGDMA的摩尔比为1:15:60,作为制备虎杖苷分子印迹聚合物的最优合成工艺。

2.3 虎杖苷分子印迹聚合物及非印迹聚合物表征实验结果

采用扫描电子显微镜对Polydatin MIPs/NIPs的微观形貌与粒径特征进行了观察。如图4A(a、b)所示,Polydatin MIPs表现为不规则的微米级颗粒,表面呈现出明显的粗糙感与多孔隙特征。这种多孔形貌不仅显著增大了材料的表面积,还暴露出更多可利用的特异性识别位点,有利于模板分子的快速传质与富集,从而提升了吸附容量。与之形成鲜明对比的是,图4A(c、d)中Polydatin NIPs呈现出高度交联的块状聚集体形态,表面平整且致密。可能会导致缺乏识别位点影响吸附性能,后续热力学吸附数据中MIP(23.56 mg/g)和NIP(3.26 mg/g)的结果也验证了该观点。

采用FT-IR技术对洗脱后的Polydatin MIPs/NIPs的化学结构进行了表征。如图4B所示,Polydatin MIPs(曲线a)与Polydatin NIPs(曲线b)的红外特征吸收峰位置基本一致,表明模板分子的洗脱过程非常彻底,且两者的聚合物骨架组成高度相似。在 3544 cm^{-1} 处出现的宽吸收峰归属于羟基(—OH)的伸缩振动,这主要来源于聚合物表面的物理吸附水或功能单体参与反应后的残余基团。 2952 cm^{-1} 处的吸收峰对应于饱和C—H键的对称与非对称伸缩振动,而 1723 cm^{-1} 处出现的强吸收峰则归属于交联剂EGDMA中酯基羰基(C=O)的特征伸缩振动。此外, 1635 cm^{-1} 处的特征峰归属于4-VP吡啶环上的C=N或C=C骨架振动,结合 1455 cm^{-1} 处的吡啶环内振动峰,充分证明功能单体4-VP已成功嵌入聚合物网络中。 1251 cm^{-1} 和 1142 cm^{-1} 处的峰位则分别对应于C—O—C键的伸缩振动。综上所述,红外光谱结果证实了以EGDMA为交联骨架、4-VP为功能识别单元的分子印迹聚合物已成功构建。

为探究Polydatin MIPs/NIPs的热稳定性,对其进行热重分析,结果如图4C所示,当温度在 $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以内时,Polydatin MIPs与Polydatin NIPs的质量仅损失15%;当温度超过 $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,聚合物开始分解,当温度超过 $450\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,质量损失接近100%,几乎完全分解。结果表明,Polydatin MIPs与Polydatin NIPs在 $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以内具有良好的热稳定性。

采用 N_2 吸附-脱附实验对Polydatin MIPs/NIPs的孔隙结构参数进行了精确测定。如图4D、E所示,两者的吸附-脱附等温线均呈现出典型的IUPAC IV型特征,且在相对压力(P/P_0)为0.5~1.0范围内表现出明显的滞后环,表明制备的聚合物具有丰富的介孔结构。具体的实验数据显示Polydatin MIPs的比表面积达到 $162.55\text{ m}^2/\text{g}$,明显优于Polydatin NIPs的 $115.59\text{ m}^2/\text{g}$ 。Polydatin MIPs比表面积的显著提升归因于模板分子的“占位效应”及后续洗脱过程形成的特异性识别孔穴,这为目标分子提供了更多的空间接触位点。此外,尽管两者的孔容相近(分别为0.24和 $0.25\text{ cm}^3/\text{g}$),但Polydatin MIPs的平均孔径(5.93 nm)小于Polydatin NIPs(8.80 nm),这表明印迹过程诱导产生了大量分布均匀且孔径较小的识别微孔。这种高比表面积与介孔结构的协同效应,不仅验证了扫描电镜观察到的疏松形貌,也为后续实验中展现出的高吸附容量(23.65 mg/g)提供了坚实的物理结构支撑。

采用激光粒度仪对材料进行粒度分布测试,其结果如图4F所示,Polydatin MIPs D_{10} 、 D_{50} 和 D_{90} 分别为5.34、46.83、 $103.33\text{ }\mu\text{m}$,中位粒径较大,整体颗粒偏粗,且粒径分布范围宽。与之相比,图4G中Polydatin NIPs的 D_{10} 、 D_{50} 和 D_{90} 为0.41、6.61、 $35.55\text{ }\mu\text{m}$,分布曲线为双峰分布,说明样品中存在细颗粒与较粗颗粒两种粒径组分,颗粒体系呈现明显的多级分布特征。

为探究Polydatin MIPs/NIPs材料表面的亲水性与疏水性,对其进行了接触角测试,由图4I、H接触角测试结果所示,Polydatin MIPs接触角为 91° ,表现为弱疏水性,接近亲水/疏水的临界点,为弱疏水材料;Polydatin NIPs接触角为 110° ,表现为强疏水性,为疏水材料。综上分析,Polydatin NIPs的疏水性远强于Polydatin MIPs,Polydatin MIPs表面更易被水润湿。然而,虎杖苷具有很好的水溶性,因此

Polydatin MIPs 体系对虎杖苷显示出更强的兼容性。

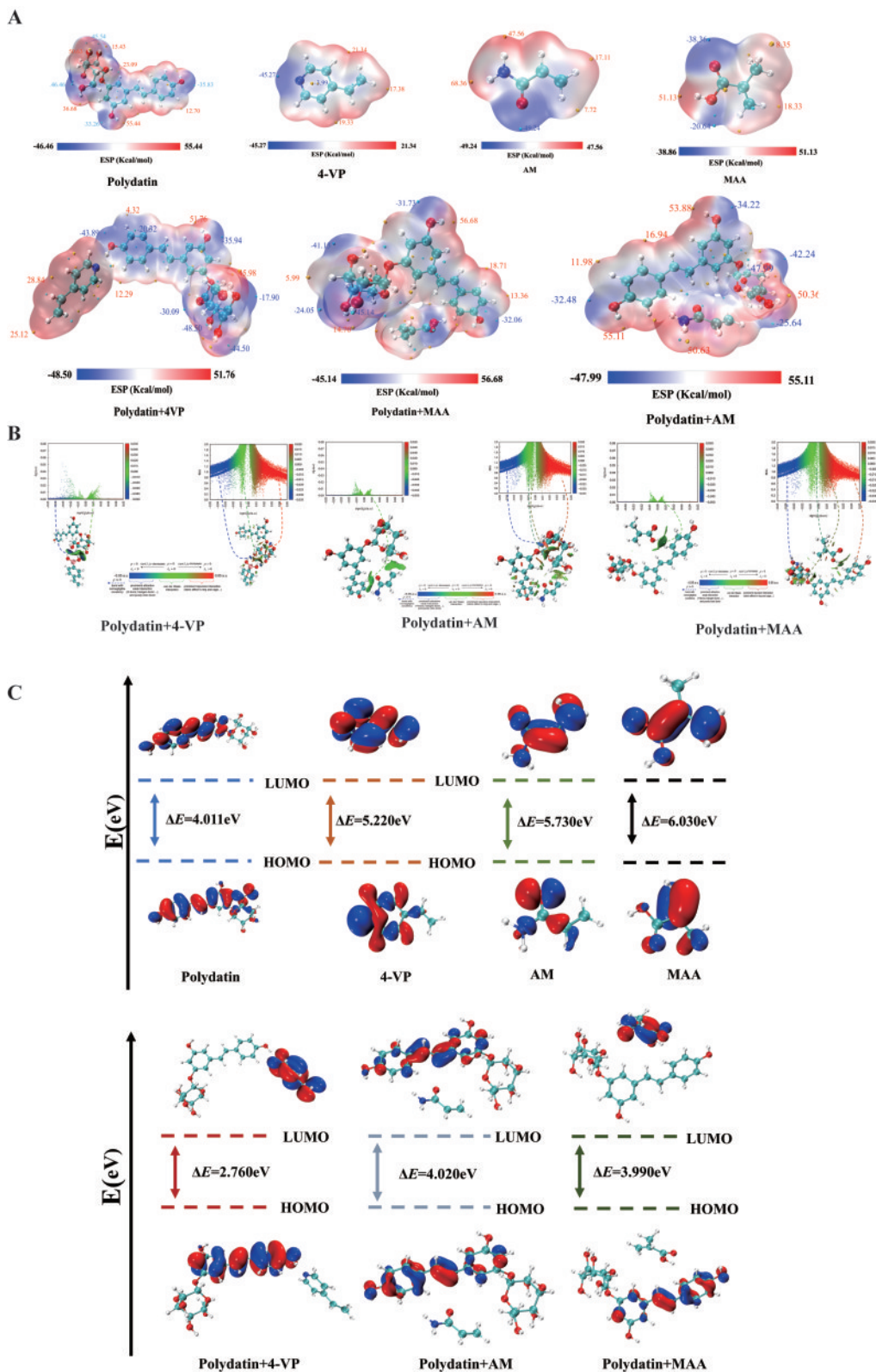


图2 4-VP、MAA、AM单体、Polydatin、Polydatin+4VP、Polydatin+AM、Polydatin+MAA复合物的静电势图 (A)、IGMH与RDG分析图 (B)、LOMO HOMO能级计算 (C) 结果图

Fig. 2 Results of electrostatic potential map (A), IGMH and RDG analysis map (B), and LUMO/HOMO energy level calculation (C) for 4-VP, Polydatin, MAA, AM monomer, Polydatin+AM, Polydatin+MAA and Polydatin+4-VP complex

2.4 动力学与热力学吸附实验结果

为探究 Polydatin MIPs/NIPs 对虎杖苷的吸附效果，通过热力学吸附测试和动力学吸附测试方法进行

了测定, 并通过分别采用 Langmuir、Freundlich、Scatchard、准一级动力学、准二级动力学模型对吸附数据进行拟合。其结果如图 5、表 2 所示。

表 1 不同功能单体与虎杖苷的结合能参数

Table 1 Binding energy parameters between polydatin and different functional monomers

Functional monomer	$\Delta H/(\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$	$\Delta G/(\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$
4-VP	-91.83	-53.52
AM	-43.18	0.39
MAA	-33.25	7.84

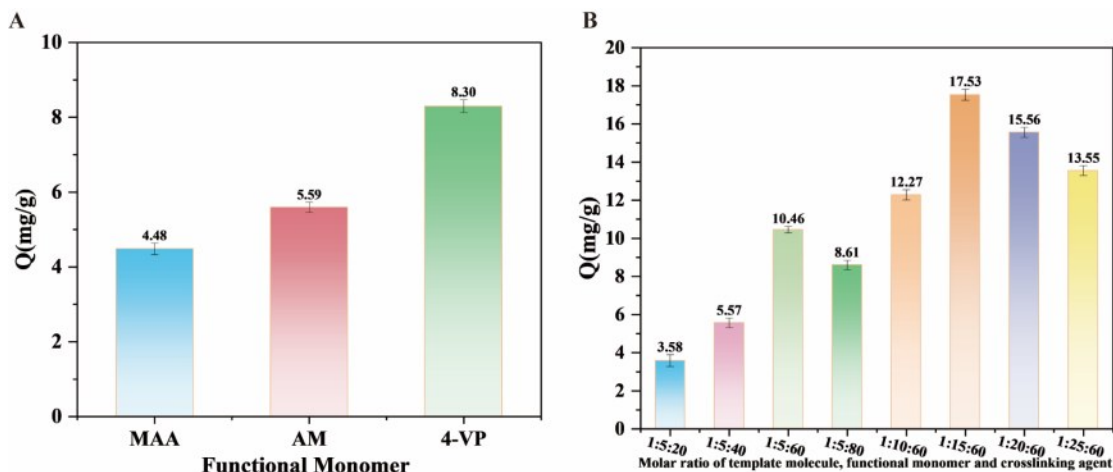


图 3 不同功能单体制备的 MIPs 对虎杖苷的吸附量的影响 (A) 以及不同摩尔比的模板分子-功能单体-交联剂制备的 MIPs 对虎杖苷的吸附量的影响 (B)

Fig. 3 Effects of MIPs prepared with different functional monomers on the adsorption capacity of polydatin (A) and effects of MIPs prepared with different molar ratios of template molecule - functional monomer - crosslinker on the adsorption capacity of polydatin (B)

实验考察了不同初始浓度下 Polydatin MIPs 与 Polydatin NIPs 对虎杖苷的吸附性能。如图 5A、B 所示, 随着虎杖苷初始浓度的增加, 两者的吸附量均呈现出先快速增长后趋于平衡的趋势, 且在 $300\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 附近达到吸附饱和。为进一步评价吸附性质, 采用 Langmuir 和 Freundlich 模型对实验数据进行拟合。结果如表 2 所示, Polydatin MIPs 的吸附过程与 Langmuir 模型 ($R^2=0.968$) 具有更高的拟合度, 优于 Freundlich 模型 ($R^2=0.942$)。这表明虎杖苷在 Polydatin MIPs 表面主要发生单分子层均相吸附, 且每个印迹位点具有相近的吸附能力。根据拟合结果, Polydatin MIPs 的最大理论吸附容量 (Q_m) 为 $23.65\ \text{mg}/\text{g}$, 约为 NIPs ($3.26\ \text{mg}/\text{g}$) 的 7.25 倍。这种显著的吸附差异充分证明了分子印迹技术在聚合物内部成功构建了与虎杖苷高度匹配的特异性识别位点。也印证了此前 BET 表征结果中 MIPs 比表面积大于 NIPs 的比表面积的结果, NIPs 较小的比表面积限制了其与目标分子的结合几率, 进而在宏观上表现出较低的吸附结合量。此外, 通过 Scatchard 模型分析 (图 5C) 可发现拟合曲线具有良好的线性关系, 再次印证了材料表面结合位点的均一性。

吸附平衡时间是评价印迹材料性能的重要指标。由图 5D 可知, Polydatin MIPs/NIPs 对虎杖苷的吸附在起始阶段增长迅速, 随后速度减缓, 最终在约 9 h 达到动力学平衡。采用准一级动力学与准二级动力学模型对实验数据进行处理 (见表 2)。计算结果表明, 准二级动力学模型对 Polydatin MIPs 的吸附过程具有优异的描述能力 ($R^2=0.984$), 且计算所得平衡吸附量 ($Q_e=3.36\ \text{mg}/\text{g}$) 与实验观测值 ($Q_{e,\text{exp}}=3.53\ \text{mg}/\text{g}$) 高度契合。相比之下, 准一级动力学模型的拟合度相对较低 ($R^2=0.928$)。这有力地证明了 Polydatin MIPs 对虎杖苷的吸附过程受化学结合作用 (如氢键、 $\pi-\pi$ 相互作用) 控制, 而非简单的物理扩散。Polydatin MIPs 表面的多孔结构 (由前述 SEM 与 BET 表征证实) 显著缩短了传质路径, 协同化学识别力共同实现了对目标物的高效捕获。

2.5 虎杖苷分子印迹固相萃取条件的优化

对上样溶剂进行筛选, 实验对比了水、甲醇/水 (1:1, 体积比) 及纯甲醇对回收率的影响 (图 6A)。结果表明, 以纯水作为上样溶剂时, 虎杖苷的选择性保留效果最佳, 回收率达 74.31%。这主要

归因于 Polydatin MIPs 的弱疏水性（接触角 91° ），在水相体系中有利于增强模板分子与印迹孔穴间的氢键及疏水相互作用。淋洗液优化考察了 15 种淋洗体系对虎杖苷保留及杂质洗脱的影响，结果（图 6B）显示，各体系下虎杖苷的损失率均 $\leq 5.43\%$ 。为系统比较不同淋洗液的除杂能力，逐一分析了 15 种体系的淋洗色谱图，其中，30% 乙腈（Acetonitrile, ACN）淋洗液的色谱分析结果（图 6D）表明，淋洗液中可检测到多种除虎杖苷以外的杂质成分，证实该淋洗体系杂质去除效果显著。洗脱液优化考察了 4 种洗脱液研究对虎杖苷回收率的影响，其结果如图 6C 所示，乙酸乙酯/乙酸（9:1，体积比）的洗脱液，表现出最高的洗脱效率，平均回收率达 84.49%，明显优于其他 3 种洗脱液。综上所述，最终确定 MIP-SPE 实验优化的实验条件为，上样溶剂为水、淋洗液为 30% 的乙腈-水溶液、洗脱液为乙酸乙酯/乙酸（9:1，体积比）。

将优化的 MIP-SPE 方法应用于虎杖实际药材提取物的净化。由图 6E 观察可知，初始提取物基质极其复杂。经 MIP-SPE 柱净化后，洗脱液中目标成分的响应值虽有所降低，但绝大部分基质干扰被剔除，色谱基线平稳。这充分证明 Polydatin MIPs 具有卓越的基质排除能力与特异性识别性能，可用于复杂天然产物体系中微量活性组分的精准分析。

2.6 方法学验证结果

线性关系考察：最终得到的线性回归方程为 $y=23632.36x-30705.03$ ， $R^2=0.9993$ 。结果表明，虎杖苷在 $10\sim 900\ \mu\text{g/mL}$ 范围内呈现良好的线性关系，方法 LOD 为 $2.9\ \text{ng/mL}$ ，LOQ 为 $9.8\ \text{ng/mL}$ 。该 LOD、LOQ 值远低于实际样品中虎杖苷的最低浓度，表明本方法的灵敏度足以对样品中微量的虎杖苷进行准确性鉴别与定量分析，完全满足本实验的分析检测要求。精密度实验结果中虎杖苷的 RSD 值均 $< 1.6\%$ ，加标回收实验结果中虎杖苷平均加标回收率为 $103\%\sim 105\%$ ，RSD 值 $< 3.3\%$ ，说明该方法的准确度较高，满足方法学要求。

3 结 论

本研究通过理论模拟驱动与实验优化结合的策略，以虎杖苷为模板分子，4-VP 为功能单体，制备了一种对虎杖苷具有高特异性识别性能的分子印迹聚合物。量子化学计算从分子水平阐明了基于 4-VP 的氢键与 $\pi-\pi$ 协同识别机制以及与其他单体的结合能的差异。所构建的 MIP-SPE 平台成功实现了虎杖药材中虎杖苷的高效净化与富集，具有吸附量大（ $23.65\ \text{mg/g}$ ）、回收率高（平均回收率为 84.49% ）、选择性强（印迹因子达 7.25）及稳定性好等优势。该方法为中药复杂体系中活性成分的前处理提供了新的技术途径，同时也为虎杖苷的规模化制备提供了高效材料，也为基于机理驱动的天然产物活性成分精准富集提供了参考策略。

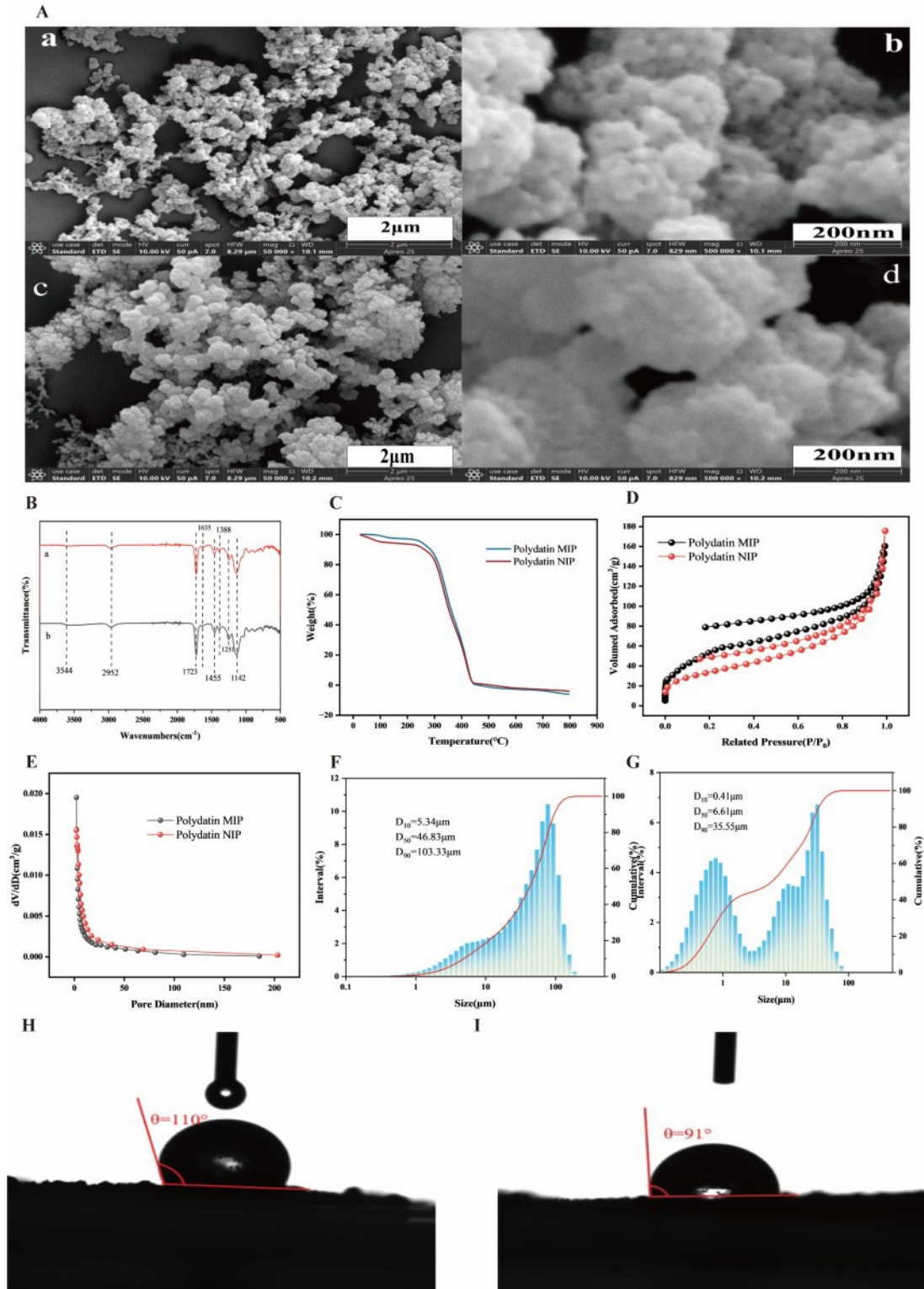


图4 Polydatin MIPs (a, b), Polydatin NIPs (c, d) 的SEM图 (A), Polydatin MIPs (a), Polydatin NIPs (b) 的FT-IR 光谱图 (B), 热重分析图 (C), 氮气吸-脱附等温曲线 (D), 孔径分布图 (E), Polydatin MIPs 的粒径分布图 (F), Polydatin NIPs 的粒径分布图 (G), Polydatin MIPs 的接触角测试图 (I), Polydatin NIPs 的接触角测试图 (H)

Fig. 4 SEM images (A) of Polydatin MIPs (a, b) and Polydatin NIPs (c, d); FT-IR spectra (B) of Polydatin MIPs (a) and Polydatin NIPs (b); TGA curves (C); N₂ adsorption-desorption isotherms (D); pore size distribution (E); particle size distribution of Polydatin MIPs (F) and NIPs (G); contact angle images of Polydatin MIPs (I) and NIPs (H)

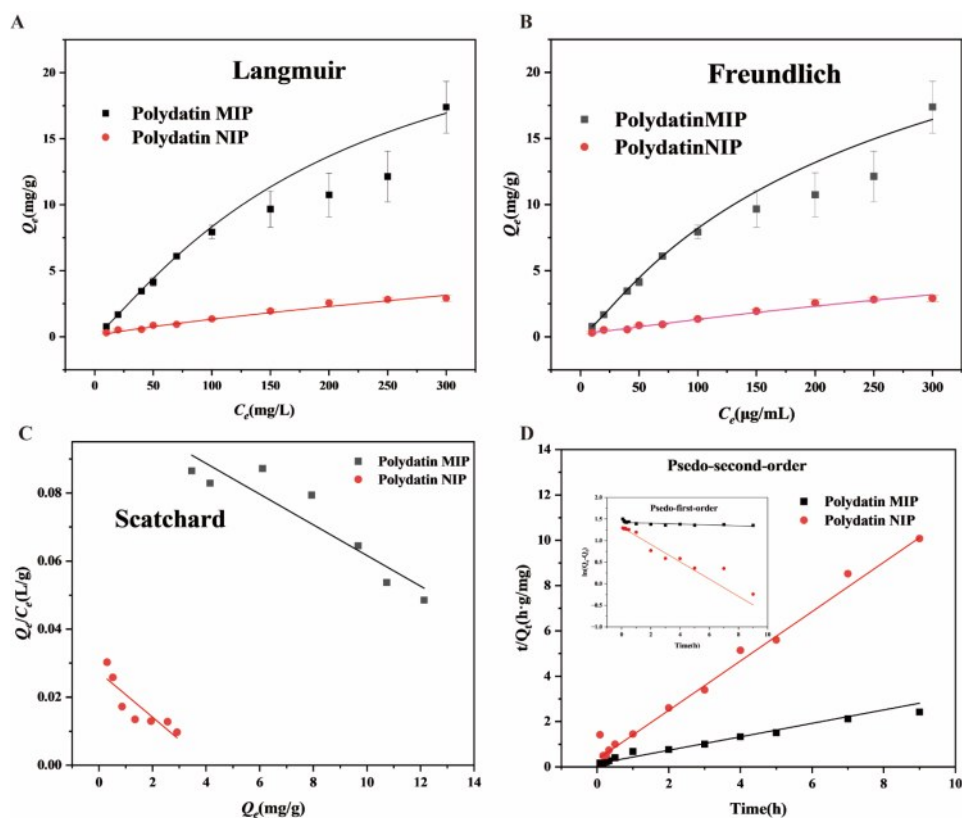


图5 Polydatin MIP/NIP 静态吸附 Langmuir 吸附模型 (A)、Freundlich 吸附模型 (B)、Scatchard 吸附模型 (C)、动态吸附准一级、准二级吸附模型 (D)

Fig. 5 Static adsorption of Polydatin MIP/NIP: Langmuir adsorption model (A), Freundlich adsorption model (B), Scatchard adsorption model (C), and dynamic adsorption pseudo-first-order and pseudo-second-order adsorption models (D)

表2 Polydatin MIPs/Polydatin NIPs 的热力学模型拟合参数以及动力学模型拟合参数

Table 2 Thermodynamic model fitting parameters and Kinetic model fitting parameters of Polydatin MIPs and Polydatin NIPs

	Thermodynamic model fitting parameter	
PolymerLangmuirFreundlichScatchard	$Q_m / (\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	$K_d R^2 \text{MIPs}_{23}$ 650. 820. 96815. 360. 720. 94223. 66221. 730. 860NIPs3. 260. 350. 4353. 561. 160. 8324. 13151. 290. 765
Polymer	$Q_{eq} / (\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	$R^2 K_s Q_i / (\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$ $R^2 K_s Q_i / (\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$ MIPs3. 530. 9280. 014. 150. 9840. 633. 36NIPs1. 240. 5320. 201. 520. 9123. 770. 91

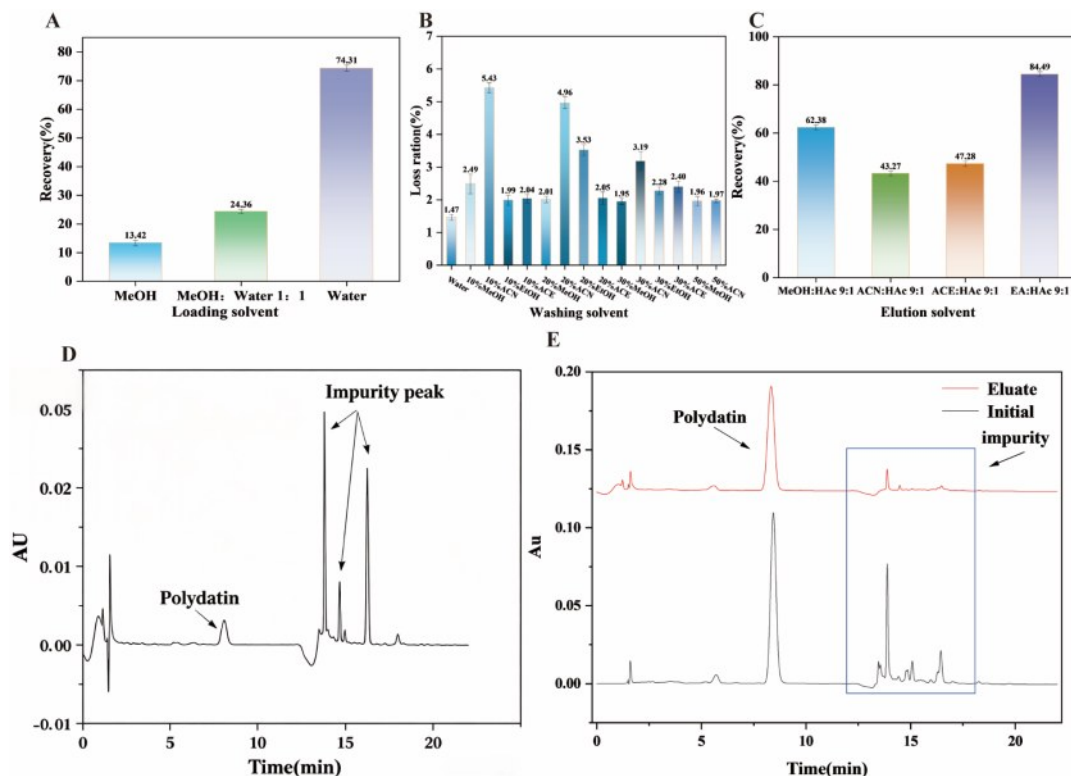


图6 不同上样溶剂对虎杖苷的回收率的影响 (A)、不同淋洗液的损失率 (B)、不同洗脱液对虎杖苷的回收率的影响 (C)、30%ACN淋洗液色谱图 (D)、洗脱液色谱图 (E)

Fig. 6 Effects of different loading solvents on the recovery rate of polydatin (A), loss rates with different washing solutions (B), effects of different eluents on the recovery rate of polydatin (C), chromatogram of 30% ACN eluent (D) and chromatograms of eluents (E)

参考文献:

- [1] Sun B, Zheng Y L, Yang S K, Zhang J R, Cheng X Y, Reza G, Ma Z, Wang J, Deng W W. *Food Chem.*, **2021**, 343: 128498.
- [2] Zhang X N, Wang Z P, Li X Y, Chen J Y, Yu Z L, Li X, Sun C X, Hu L Q, Wu M, Liu L T. *J. Ethnopharmacol.*, **2023**, 309: 116304.
- [3] Zhang W H, Liu Z W, Pei X H, Hao P Y, Jiang L, Shi M Y, Yuan X L, Zhu Z M. *Cell Commun. Signal.*, **2026**, 24: 21.
- [4] Niccolini B, Riente A, Hatem D, Bottoni P, Pizzoferrato M, Tringali G, Tabolacci E, Maulucci G, Marini S, Ciaccio C, Clementi M E. *Cells*, **2025**, 14 (21): 1702.
- [5] Wang B K, Qi X Y, Yang R P, Xu X, Li S Y, Zhang C L, Yu H T. *Chem. Eng. J.*, **2025**, 524: 168855.
- [6] Zhu F C, Dai J L, Yan Z X, Xu Q L, Ma M H, Chen N D, Liu D D, Zang Y J. *Food Chem.*, **2024**, 460: 140698.
- [7] Li S H, Zhang C, Yang R Q, Zhang Y P, Zheng Y F, Huang M Q, Chen D W. *Ind. Crops Prod.*, **2024**, 212: 118386.
- [8] Pilařová V, Plachká K, Herbsová D, Kosturko Š, Svec F, Nováková L. *Green Chem.*, **2024**, 26 (11): 6480–6489.
- [9] Lu G Q, Zhang L Y, Zhang W B. *J. Instrum. Anal.* (卢国庆, 张凌怡, 张维冰. 分析测试学报), **2025**, 44 (9): 1924–1932.
- [10] Lu Y, Liu Z H, Xiao W J, Fu D H, Xie H Q, Zeng J G. *J. Instrum. Anal.* (陆英, 刘仲华, 肖文军, 傅冬和, 谢红旗, 曾建国. 分析测试学报), **2018**, 37 (9): 1027–1033.
- [11] Marchel M, Przyjazny A, Boczkaj G. *Talanta*, **2025**, 292: 127963.
- [12] Zhou T Y, Che G B, Ding L, Sun D S, Li Y H. *Trac Trends Anal. Chem.*, **2019**, 121: 115678.
- [13] Zhai M H, Liu S W, Wang Y, Su L Q, Han S, Song Y Z, He X F. *J. Instrum. Anal.* (翟明翠, 刘世伟, 王颖, 苏立强, 韩爽, 宋裕卓, 何锡凤. 分析测试学报), **2025**, 44 (11): 2277–2284.
- [14] Xie D L, Kuang Y, Yuan B N, Zhang Y L, Ye C Y, Guo Y Y, Qiu H, Ren J N, Alshammari S O, Alshammari Q A, El-Bahy Z M, Zhao K, Guo Z H, Rao Q Q, Yang S X. *J. Mater. Sci. Technol.*, **2025**, 211: 159–170.
- [15] Liu H M, Jin P, Zhu F C, Nie L, Qiu H D. *Trac Trends Anal. Chem.*, **2021**, 134: 116132.
- [16] Hao Y, Shang J, Liu S Y, Tian X M, Yao X, Liu F J, Zhu R Z, Wang Y, Gao R X, Wang S C. *Talanta*,

- 2025**, 287: 127678.
- [17] Cao R Z, Zhang Z Y, Jiao J, Gai Q Y, Liu Y, Wang Y, Qu D, Fu Y J. *Int. J. Biol. Macromol.*, **2024**, 280: 136168.
- [18] Yang Y M, Du K Z, Liu M, He X C, Li H, Li H X, Li X X. *Food Chem.*, **2025**, 491: 145219.
- [19] Lu T, Chen F W. *J. Comput. Chem.*, **2012**, 33 (5): 580-592.
- [20] Lu T. *J. Chem. Phys.*, **2024**, 161: 082503.

(责任编辑: 盛文彦)