

Молекулярно импринтированные полимеры для пенициллинов и тетрациклинов

М. И. ЯХКИНД¹, К. Р. ТАРАНЦЕВА¹, М. А. МАРЫНОВА¹, П. А. СТОРОЖЕНКО, М. М. РАСУЛОВ²

¹ Пензенская государственная технологическая академия, Пенза

² ГНЦ РФ «Государственный научно-исследовательский институт химии и технологии элементоорганических соединений», Москва

Molecular Imprinted Polymers for Penicillins and Tetracyclines

M. I. YAKHKIND, K. R. TARANTSEVA, M. A. MARYNOVA, P. A. STOROZHENKO, M. M. RASULOV

Penza State Technological Academy, Penza

State Research Institute of Chemistry and Technology of Element Organic Compounds, Moscow

Проведён анализ описанных в литературе молекулярно импринтированных полимеров (МИП) для пенициллинов и тетрациклинов, чтобы оценить возможность использования МИП для сорбционного выделения этих антибиотиков.

Ключевые слова: молекулярно импринтированные полимеры, биосинтетические пенициллины и тетрациклины, сорбционное выделение.

The molecular imprinted polymers (MIPs) for penicillins and tetracyclines described in the literature were analysed with a purpose of evaluating their possible use for the antibiotic sorption isolation.

Key words: molecular imprinted polymers, biosynthetic penicillins and tetracyclines, sorption isolation.

Молекулярно импринтированные полимеры (МИП) получают в результате молекулярного импринтинга — сополимеризации функционального и сшивающего мономеров в присутствии целевой молекулы (шаблона). После удаления такой молекулы из сетчатого полимера в структуре матрицы образуются полости, комплементарные целевой молекуле стереометрически и по расположению активных центров (образующих связи с соответствующими элементами этой молекулы). Вследствие этого МИП обладают высокой селективностью и сорбционной ёмкостью в отношении шаблона и, во многих случаях, наиболее близких к нему по структуре соединений.

Получение МИП, их свойства и применение описаны в обзорах [1, 2]. Среди работ по применению преобладают аналитические, в числе которых твердофазная экстракция (ТФЭ) при предварительной подготовке проб, хроматография, псевдоиммуноанализ (ПИА, МИП-анализ), хемосенсоры. Однако МИП также применяют и для других целей, например, для выделения и очистки целевых продуктов в химической, фармацевтической и биотехнологической промышленности, очистки питьевой и сточной воды, в качестве катализаторов вместо ферментов.

Целью данного обзора является систематизация и анализ описанной к настоящему времени в литературе информации по МИП для пенициллинов и тетрациклинов как одной из основных групп биотехнологических продуктов, чтобы оценить возможность использования МИП для их сорбционного выделения. Обзоров подобного типа нами не обнаружено, однако близкий по тематике обзор, посвященный применению МИП для анализа различных антибиотиков, включая биосинтетические, был опубликован в 2006 году [3].

Применение МИП

МИП для биосинтетических антибиотиков, предназначены для целей, которые можно объединить в три группы — фармацевтическое применение (для выделения субстанций и получения готовых форм), аналитическое применение и очистка различных сред от этих антибиотиков.

Фармацевтическое применение. Сотрудниками Института высокомолекулярных соединений РАН предложены МИП для сорбционного выделения эритромицина А [4–6]. Имеются публикации, посвящённые использованию МИП пенициллина G [7], тирозина [8] и линкомицина А [9] для выделения этих антибиотиков. К этому применению также следует отнести использование МИП сукцинил-L-тирозина для удаления этого побочного продукта при очистке клавулановой кислоты [10, 11].

Что касается готовых форм, то МИП можно использовать в препаратах, назначаемых для перорального применения, с целью замедленного высвобождения антибиотиков [12, 13].

Аналитическое применение. Из работ, рассмотренных в данном обзоре, наибольшее количество связано с МИП, используемыми в качестве сорбентов для твердофазной экстракции (ТФЭ) соответствующих биосинтетических антибиотиков при подготовке проб — когда обнаруживаемое вещество присутствует в незначительных концентрациях и необходимо его предварительное концентрирование, которое в данном случае осуществляется путём сорбции этого вещества на МИП и последующей десорбции.

По нашему мнению, значительный интерес представляет использование МИП в фармацевтической промышленности для выделения продуктов биосинтеза, что является технологически сложной задачей в связи с присутствием в культуральной жидкости заметных количеств различных соединений, мешающих этому процессу. Вследствие высокой селективности МИП в этом случае могут быть предпочтительными сорбентами.

Пенициллины

Получение МИП пенициллина G с функциональным мономером метакриловой кислотой (МАК) блочной полимеризацией¹ для ТФЭ описано в работах [14–17], МИП пенициллина V этого типа — в работе [18]. Кроме того, описано получение подобных МИП пенициллина G дисперсионной полимеризацией, дающей микро сферы [19], и пенициллина V — полимеризацией на магнитных частицах (предварительно обработанных олеиновой кислотой) [20], такие частицы удобны для использования.

МИП пенициллина G [21] и пенициллина V [22] с функциональным мономером МАК используются и для ВЭЖХ, МИП пенициллина G — для радиоизотопного [23] и флуоресцентного конкурентного ПИА [24–27]. Для ПИА также применяются, согласно [23, 26], смеси МАК с метакрилатом (МАО) или 2-гидроксиэтилметакрилатом (ГЭМА). При этом для проведения радиоизотопного ПИА использовали меченный (³H) пенициллин G [23], для флуоресцентного ПИА были синтезированы флуоресцирующие аналоги пенициллина G, содержащие пиреновую группу (пиренилацетил-6-аминопенициллановая кислота (6-АПК), ампициллин и амоксициллин, пиренилбутирил-6-АПК и ампициллин) или дансильную группу (дансил-6-АПК и ампициллин) [24, 26].

В работе [25] также описано получение флуоресцентного МИП пенициллина G, для чего к

МАК добавляли 1% флуоресцирующего мономера N-пиренилметилметакриламида. Его можно использовать для неконкурентного ПИА, поскольку при связывании пенициллина G должно происходить изменение его флуоресценции.

Ещё один флуоресцентный МИП пенициллина G описан в работе [28]. Флуоресцирующий мономер N-этил-4-[N-(4-винилфенил)-гидразин-карбоксамидил]-1,8-нафталымид (замещённый стирол) был синтезирован специально для подобных применений. Полимеризация проводилась в массе или в плёнке на стекле (в последнем случае — после предварительной функционализации поверхности 3-(триметоксисил)-пропилметакрилатом (ТМСПМА) и с добавлением бензилметакрилата при полимеризации). Для полученных образцов наблюдалось гашение флуоресценции при сорбции пенициллина G.

МИП пенициллина G с функциональным мономером N-[3,5-бис-(трифторметил)-фенил]-N'-(4-винилфенил)-мочевинной (замещённым стиролом) в смеси с МАО можно использовать для ТФЭ [29, 30], флуоресцентного ПИА [27, 31], удаления пенициллинов из биологических проб [32]. Из других ароматических виниловых мономеров описано использование 4-винилпиридина для получения МИП пенициллина V для ВЭЖХ [22].

Работы, в которых МИП используются в качестве чувствительных элементов сенсоров, целесообразно рассматривать отдельно от работ, в которых МИП используются как таковые (ТФЭ, ВЭЖХ и т.п.).

Описано получение амперометрического сенсора с использованием измельчённых частиц МИП пенициллина G (функциональный мономер МАК), которые закрепляли на поверхности электрода сенсора при помощи агарозной плёнки, получаемой испарением растворителя [33].

При использовании в качестве функциональных мономеров алкоксисиланов были получены сенсоры с МИП пенициллина G в виде плёнки на поверхности электрода — амперометрические сенсоры с использованием фенилтриметоксисилана (ФТМОС) [34], смеси ФТМОС + 3-аминопропилтриэтоксисилан [35], вольтамперометрический сенсор с использованием смеси ФТМОС + метилтриметоксисилан при электроосаждении плёнки [36].

Некоторые оригинальные работы в рамках данного обзора необходимо рассматривать отдельно. Так, в работе [37] описано покрытие внутренней поверхности кварцевых капилляров для электрофореза МИП пенициллина V. В этом случае на эту поверхность вначале действуют ТМСПМА, который присоединяется с образова-

¹ Если не указано иное (микро сферы, пленка и т. п.), МИП обычно получают блочной полимеризацией в виде твердой массы, которую затем измельчают и отделяют частицы нужного размера.

нием силоксановых связей. После этого действием на прикреплённые пропилметакрилатные группы смесью МАК + ГЭМА получают привитую поли-(2-гидроксиэтилметакрилат)-метакриловую кислоту (полиметакриловую кислоту, часть карбоксильных групп которой эстерифицирована этиленгликолем). Затем на её свободные гидроксигруппы действуют метакриловым ангидридом и получают привитую поли-(этилендиметакрилат)-метакриловую кислоту, которая является макромономером. Далее проводят полимеризацию метакрилатных групп этого макромономера в присутствии пенициллина V и получают соответствующий МИП.

Для пенициллинов обнаружена только одна работа, где МИП пенициллина G (функциональный мономер МАК) используется для выделения этого антибиотика [7].

В целом можно отметить, что число работ, посвящённых МИП пенициллина G, существенно больше числа работ для МИП пенициллина V, что соответствует их объёмам производства и применения.

Тетрациклины

Получение МИП тетрациклина с функциональным мономером МАК для ТФЭ описано в работах [38–42], МИП окситетрациклина и хлортетрациклина — в работах [38] и [18, 43] соответственно. Кроме того, описано получение подобных МИП тетрациклина осадительной полимеризацией, дающей микросферы [44, 45], в виде микро/нано-сфер [46–48], полимеризацией на магнитных наночастицах (после предварительной функционализации ТМСПМА) [49].

В работе [50] МИП окситетрациклина для ТФЭ получали с использованием МАК и стирола полимеризацией на магнитных микрочастицах (предварительно обработанных олеиновой кислотой).

Также были получены молекулярно импринтированные мембраны (МИМ) тетрациклина с измельченными частицами МИП (функциональный мономер МАК), которые включали в поливинилхлоридную (ПВХ) мембрану, получаемую испарением растворителя [51], они предназначены для удаления антибиотиков из водных сред (при этом также использовали смесь тетрациклина и продуктов его разложения, что соответствует нескольким шаблонам).

В отличие от других работ в [52, 53] МИП тетрациклина с использованием МАК были получены в виде не порошка или мембраны, а монолитной колонки, предназначенной для ТФЭ. Также описано получение МИП тетрациклина для ТФЭ с использованием акриламида (АА) (как оптимальный вариант) или МАК полимеризацией на кварцевом волокне (после предварительной функционализации ТМСПМА) [54, 55].

В работе [56] описан способ получения МИП тетрациклина для ТФЭ, в котором используют альтернативный метод получения МИП, отличающийся от описанного в начале обзора и используемого в большинстве рассмотренных работ. При этом методе сначала получают полимер без шаблона, в данной работе сополимер акриловой кислоты (АК) и акрилонитрила без сшивающего агента, который содержит активные группы (в данном случае карбоксильные и нитрильные). Затем в растворе проводят взаимодействие этого полимера (за счёт активных групп) с шаблоном и осаждают полученный МИП, в данной работе — в виде мембраны методом инверсии фаз.

Также описано использование ещё одного акрилового мономера, итаконовой кислоты, для получения МИП хлортетрациклина для ТФЭ, причём этот МИП по своим свойствам превосходил полученный с использованием МАК [43].

Из виниловых ароматических мономеров отмечено только использование 4-винилпиридина для получения МИП тетрациклина полимеризацией на кварцевом волокне, как описано выше [54, 55], но этот МИП уступал полученным с использованием АА и МАК.

Для окситетрациклина описано получение гибридного материала с кремнезёмом [57], т.е. МИП, при получении которого используются как акриловые мономеры, так и алкоксисиланы. Функциональным мономером является МАК, в качестве связующего с кремнезёмом используют ТМСПМА, кремнезём образуется в результате гидролиза тетраэтоксисилана (ТЭОС), который выступает в качестве сшивающего агента, полученный материал предназначен для ТФЭ.

Также описаны МИП тетрациклина для ТФЭ, полученные с использованием только алкоксисиланов — ТЭОС [58–60], ТЭОС, тетраметоксисилана (ТМОС), аллилтриэтоксисилана и других [61, 62]. В последнем случае было обнаружено образование примесей тетрациклина в ходе процесса, что соответствует использованию нескольких шаблонов.

Описан ряд сенсоров, в которых чувствительными элементами являются МИП тетрациклина. С использованием функционального мономера МАК были получены:

- амперометрический сенсор с плёночным покрытием электрода [63, 64];

- амперометрический сенсор с композиционным наночастицами, которые наносили на поверхность электрода высушиванием суспензии [65];

- потенциометрический сенсор, в котором микрочастицы включены в ПВХ-мембрану, получаемую испарением растворителя и затем используемую для получения электрода (также с МИП окситетрациклина и хлортетрациклина) [66–68];

— потенциометрический сенсор, использующий в электроде монолитную колонку (также с МИП окситетрациклина и хлортетрациклина) [69, 70].

Описан потенциометрический сенсор [71], схожий с упомянутым выше [66–68], в котором измельчённые частицы МИП окситетрациклина, полученные с функциональным мономером МАК, АА или их смесью, включены в ПВХ-мембрану, получаемую испарением растворителя. Таким же образом получен подобный сенсор с МИП хлортетрациклина [72].

В работе [73] описан амперометрический сенсор с покрытием электрода плёнкой МИП хлортетрациклина, полученного с использованием аддукта хитозана и глицидилметакрилата (ГМА).

Кроме того, был получен вольтамперометрический сенсор, в котором микрочастицы МИП тетрациклина, полученные осадительной полимеризацией с использованием смеси МАК + ГМА, наносили на поверхность электрода высушиванием суспензии [74]. Также описано два сенсора, в которых при получении МИП тетрациклина использовали ароматические виниловые мономеры — амперометрический с МИП, полученными с использованием стирола [64, 75], подобный рассмотренному выше [63], и потенциометрический с МИП, полученным с использованием 2-винилпиридина [76, 77], подобный описанным в [71, 72].

Еще в одном амперометрическом сенсоре использовали МИП окситетрациклина, полученный в виде плёнки на поверхности электрода электрополимеризацией 2-фенилендиамин [78].

Кроме того, предложены аналитические системы с использованием МИП окситетрациклина, при помощи которых осуществляют ферментный конкурентный ПИА с обнаружением продуктов ферментативной реакции вольтамперометрическим сенсором; в качестве функциональных мономеров при этом использовали МАК [79] (измельченные частицы МИП закрепляли на поверхности электрода при помощи угольной пасты), 2-фенилендиамин [80, 81] и берлинскую лазурь $\text{FeCl}_3 + \text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ [82, 83] (электрополимеризация с образованием плёнки). В работах [79, 80] для анализов использовали окситетрациклин, меченный пероксидазой хрена, а в [81–83] — окситетрациклин, меченный глюкозооксидазой.

Все рассмотренные выше сенсоры были электрохимическими. Однако также описан и фотонный сенсор, использующий МИП тетрациклина, окситетрациклина или хлортетрациклина в виде плёнки (функциональный мономер — смесь АК + АА) [84].

МИП тетрациклина (функциональный мономер МАК) в виде измельченных частиц можно использовать для получения препаратов с замед-

ленным высвобождением [12], для той же цели можно использовать его наночастицы, полученные осадительной полимеризацией [13].

МИП тетрациклинов также используют для ускорения процессов разложения этих антибиотиков в водных средах на диоксиде титана. В работе [85] для этой цели используют МИП тетрациклина с функциональным мономером МАК в виде плёнки на поверхности диоксида титана. В работе [86] используют МИП окситетрациклина (функциональный мономер АА) на композиционных микрочастицах с диоксидом титана, в работе [87] — МИП тетрациклина (мономер 4-винилпиридин) на частицах диоксида титана. В работе [88] поверхность диоксида титана обрабатывали гексафторотитанатом аммония $(\text{NH}_4)_2\text{TiF}_6$ с борной кислотой в присутствии тетрациклина, при этом образуется МИП, в котором полимером является диоксид титана.

Во всех рассмотренных выше работах для каждого МИП использовали один шаблон. Однако для тетрациклинов были предприняты попытки получить МИП с использованием в качестве шаблонов не одного, а одновременно двух и более антибиотиков. Такие МИП предназначены для ТФЭ, когда ставится задача экстрагировать не отдельные антибиотики, а все тетрациклины, которые могут присутствовать в пробах, включая продукты разложения.

В работе [89] описано получение МИП тетрациклина, окситетрациклина и хлортетрациклина, а также МИП с использованием двух шаблонов: окситетрациклин + хлортетрациклин и окситетрациклин + тетрациклин (функциональный мономер МАК, осадительная полимеризация, дающая микрочастицы). Было найдено, что для ТФЭ тетрациклинов лучше всего подходит МИП окситетрациклина + хлортетрациклина, который также изучен в работе [90]. Согласно [91] для получения подобных МИП в качестве функционального мономера можно использовать не только МАК, но и 4-винилпиридин.

В работе [92] описано получение МИП тетрациклина, окситетрациклина и хлортетрациклина, а также МИП с использованием одновременно двух шаблонов (все три возможные комбинации) и трёх шаблонов (функциональный мономер МАК, осадительная полимеризация, дающая частицы), оптимальным и в этом случае был признан МИП окситетрациклина + хлортетрациклина.

Кроме того, МИП окситетрациклина + хлортетрациклина (функциональный мономер МАК) получен полимеризацией на магнитных частицах (предварительно обработанных олеиновой кислотой и додецилбензолсульфатом натрия) [93].

Помимо МИП двух (или трёх) тетрациклинов, описаны МИП с использованием двух шаблонов окситетрациклин + энрофлоксацин (функцио-

нальный мономер МАК) [94], а также МИП этого типа в виде микро/наносфер [95].

Дополнительно следует отметить, что также были получены МИП, в которых шаблонами были одновременно тетрациклин и его примеси. Как уже было упомянуто, при получении МИП тетрациклина для ТФЭ с использованием алкоксисиланов (ТЭОС, ТМОС и других) происходит образование примесей [61, 62]. При этом 4-эпитетрациклин образуется в ходе процесса получения МИП, а ангидротетрациклин и 4-эпиангидротетрациклин — при дополнительной обработке измельчённых частиц МИП триметилхлорсиланом.

А при получении МИМ тетрациклина с измельчёнными частицами МИП (функциональный мономер МАК), включаемыми в ПВХ-мембрану [51], наряду с чистым тетрациклином использовали специально полученную смесь тетрациклина и трёх указанных выше продуктов его разложения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гендриксон О. Д., Жердев А. В., Дзантиев Б. Б. Молекулярно импринтированные полимеры и их применение в биохимическом анализе. Усп биол хим 2006; 46: 149—192.
2. Лисичкин Г. В., Крутяков Ю. А. Материалы с молекулярными отпечатками: синтез, свойства, применение. Усп хим 2006; 75: 998—1017.
3. Fernández-González A., Guardia L., Badía-Laiño R., Díaz-García M. E. Mimicking molecular receptors for antibiotics — analytical implications. Trends Anal Chem 2006; 25: 949—957.
4. Писарев О. А., Ежова Н. М., Гаркушина И. С. Взаимодействие эритромицина с полимерными сорбентами, «настроенными» на молекулу антибиотика. Журн физ хим 2009; 83: 142—146.
5. Ежова Н. М., Гаркушина И. С., Писарев О. А. Синтез новых гидрофильных полимерных сорбентов, несущих импринт-сайты эритромицина. Сорб хром проц 2011; 11: 828—831.
6. Ежова Н. М., Гаркушина И. С., Писарев О. А. Молекулярно-импринтированные гидрофильные сорбенты для селективной сорбции эритромицина. Прикл биохим микробиол 2011; 47: 694—698.
7. Javanbakht M., Pishro K. A., Nasab A. H., Akbari-adegani B. Extraction and purification of penicillin G from fermentation broth by water-compatible molecularly imprinted polymers. Mater Sci Eng C 2012; 32: 2367—2373.
8. Piletsky S., Piletska E., Karim K. et al. Custom synthesis of molecular imprinted polymers for biotechnological application. Preparation of a polymer selective for tylosin. Anal Chim Acta 2004; 504: 123—130.
9. Jiang X., Li W., Zhang Y. et al. Preparation and properties of lincomycin A molecular imprinted polymer microspheres. J Wuhan Inst Technol 2012; 34: 5: 16—19.
10. Патент США 7087748. Process. 2006.
11. Yu Y., Ye L., de Biasi V., Moshbach K. Removal of the fermentation by-product succinyl L-tyrosine from the β -lactamase inhibitor clavulanic acid using a molecularly imprinted polymer. Biotechnol Bioeng 2002; 79: 23—28.
12. Cai W., Gupta R. B. Molecularly-imprinted polymers selective for tetracycline binding. Separ Purif Technol 2004; 35: 215—221.
13. Mirzaei M., Najafabadi S. A. H., Abdouss M. et al. Preparation and utilization of microporous molecularly imprinted polymer for sustained release of tetracycline. J Appl Polym Sci 2013; 128: 1557—1562.
14. Заявка КНР 101139411 (2008). Preparation of molecular imprinted polymer capable of removing penicillin antibiotics in fresh milk.
15. Zhang J., Wang H., Liu W. et al. Synthesis of molecularly imprinted polymer for sensitive penicillin determination in milk. Anal Lett 2008; 41: 3411—3419.
16. Wang H., Zhang J., Mao Z., Ma N. Determination of penicillin residues in milk by molecular imprinting technology. China Dairy Ind 2008; 36: 6: 58—61.
17. Yin J., Meng Z., Du M. et al. Pseudo-template molecularly imprinted polymer for selective screening of trace β -lactam antibiotics in river and tap water. J Chromatogr A 2010; 1217: 5420—5426.
18. Заявка КНР 102135527. Method for detecting antibiotic residue in soil by using matrix solid-phase dispersion technique. 2011.
19. Kempe H., Kempe M. Influence of salt ions on binding to molecularly imprinted polymers. Anal Bioanal Chem 2010; 396: 1599—1606.
20. Zhang X., Chen L., Xu Y. et al. Determination of β -lactam antibiotics in milk based on magnetic molecularly imprinted polymer extraction coupled with liquid chromatography — tandem mass spectrometry. J Chromatogr B 2010; 878: 3421—3426.
21. Kempe H., Kempe M. QSRR analysis of β -lactam antibiotics on a penicillin G targeted MIP stationary phase. Anal Bioanal Chem 2010; 398: 3087—3096.
22. Skudar K., Brüggemann O., Wittelsberger A., Ramström O. Selective recognition and separation of β -lactam antibiotics using molecularly imprinted polymers. Anal Comm 1999 36: 327—331.
23. Cederfur J., Pei Y., Zihui M., Kempe M. Synthesis and screening of a molecularly imprinted polymer library targeted for penicillin G. J Comb Chem 2003; 5: 67—72.
24. Патент Испании 2197811. Síntesis de derivados fluorescentes de antibióticos β -lactámicos. 2005.
25. Moreno-Bondi M. C., Benito-Peña E., San Vicente B. et al. Molecularly imprinted polymers as selective recognition elements for optical sensors based on fluorescent measurements. Transducers'03: 12th Int. Conf on Transducers, Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems, Boston. 2003; 2: 975—978.
26. Benito-Peña E., Moreno-Bondi M. C., Aparicio S. et al. Molecular engineering of fluorescent penicillins for molecularly imprinted polymer assays. Anal Chem 2006; 78: 2019—2027.
27. Moreno-Bondi M. C., Urraca J. L., Benito-Peña E. et al. Molecularly imprinted polymers as biomimetic receptors for fluorescence based optical sensors. Proc. SPIE, 6619, 66190C. 2007.
28. Wagner R., Wan W., Biyikal M. et al. Synthesis, spectroscopic, and analyte-responsive behavior of a polymerizable naphthalimide-based carboxylate probe and molecularly imprinted polymers prepared thereof. J Org Chem 2013; 78: 1377—1389.
29. Urraca J. L., Hall A. J., Moreno-Bondi M. C., Sellergren B. A stoichiometric molecularly imprinted polymer for the class-selective recognition of antibiotics in aqueous media. Angew Chem Int Ed 2006; 45: 5158—5161.
30. Urraca J. L., Moreno-Bondi M. C., Hall A. J., Sellergren B. Direct extraction of penicillin G and derivatives from aqueous samples using a stoichiometrically imprinted polymer. Anal Chem 2007; 79: 695—701.
31. Urraca J. L., Moreno-Bondi M. C., Orellana G. et al. Molecularly imprinted polymers as antibody mimics in automated on-line fluorescence competitive assays. Anal Chem 2007; 79: 4915—4923.

32. Заявка США 2012/070879. Reduction of antibiotic activity or concentration in biological samples using molecularly imprinted polymers. 2012.
33. Заявка КНР 102175733. Method for fast detecting application of molecular imprinted technique in digoxin and penicillin. 2011.
34. Заявка КНР 101762630. Preparation method of molecular imprinted biosensor for on-site quick detection of penicillin. 2010.
35. Li L., Zhang J., Zhao J. *et al.* Preparation of penicillin imprinted membrane electrochemical sensor. *Chin J Bioprocess Eng* 2010; 8: 5: 53—58.
36. Hu Y., Li J., Zhang Z. *et al.* Imprinted sol-gel electrochemical sensor for the determination of benzylpenicillin based on Fe₃O₄@SiO₂/multi-walled carbon nanotubes-chitosans nanocomposite film modified carbon electrode. *Anal Chim Acta* 2011; 698: 61—68.
37. Giovannoli C., Passini C., Baravalle P. *et al.* An innovative approach to molecularly imprinted capillaries for polar templates by grafting polymerization. *J Mol Recognit* 2012; 25: 377—382.
38. Caro E., Marcé R. M., Cormack P. A. G. *et al.* Synthesis and application of an oxytetracycline imprinted polymer for the solid-phase extraction of tetracycline antibiotics. *Anal Chim Acta* 2005; 552: 81—86.
39. Xiong Y., Zhou H., Zhang Z. *et al.* Molecularly imprinted on-line solid-phase extraction combined with flow-injection chemiluminescence for the determination of tetracycline. *Analyst* 2006; 131: 829—834.
40. Yang C.-Y., Xiong Y., He C., Zhang Z.-J. Molecularly imprinted on-line solid-phase extraction combined with flow injection chemiluminescence for determination of chlortetracycline. *Chin J Appl Chem* 2007; 24: 273—277.
41. Заявка КНР 101130580. Tetracycline molecularly imprinted polymer and uses of the same. 2008.
42. Divya M. P., Rajput Y. S., Sharma R. Synthesis and application of tetracycline imprinted polymer. *Anal Lett* 2010; 43: 919—928.
43. Qu S., Wang X., Tong C., Wu J. Metal ion mediated molecularly imprinted polymer for selective capturing antibiotics containing beta-diketone structure. *J Chromatogr A* 2010; 1217: 8205—8211.
44. Jing T., Gao X. D., Wang P. *et al.* Preparation of high selective molecularly imprinted polymers for tetracycline by precipitation polymerization. *Chin Chem Lett* 2007; 18: 1535—1538.
45. Jing T., Gao X.-D., Wang P. *et al.* Determination of trace tetracycline antibiotics in foodstuffs by liquid chromatography — tandem mass spectrometry coupled with selective molecular-imprinted solid-phase extraction. *Anal Bioanal Chem* 2009; 393: 2009—2018.
46. Заявка КНР 101397163. Method for directly purifying tetracycline in water-containing sample by using molecularly imprinted polymer. 2009.
47. Заявка КНР 101402706. Method for preparing tetracycline molecular imprinted polymer used for water environment. 2009.
48. Qu G., Zheng S., Liu Y. *et al.* Metal ion mediated synthesis of molecularly imprinted polymers targeting tetracyclines in aqueous samples. *J Chromatogr B* 2009; 877: 3187—3193.
49. Dai J., Pan J., Xu L. *et al.* Preparation of molecularly imprinted nanoparticles with superparamagnetic susceptibility through atom transfer radical emulsion polymerization for the selective recognition of tetracycline from aqueous medium. *J Hazard Mater* 2012; 205—206: 179—188.
50. Chen L., Liu J., Zeng Q. Preparation of magnetic molecularly imprinted polymer for the separation of tetracycline antibiotics from egg and tissue samples. *J Chromatogr A* 2009; 1216: 3710—3719.
51. Suede R., Srichana T., Chuchome T., Kongmark U. Use of molecularly imprinted polymers from a mixture of tetracycline and its degradation products to produce affinity membranes for the removal of tetracycline from water. *J Chromatogr B* 2009; 811: 191—200.
52. Заявка КНР 101246150. Tetracycline molecular imprinted integral column preparation method. 2008.
53. Sun X., He X., Zhang Y., Chen L. Determination of tetracyclines in food samples by molecularly imprinted monolithic column coupling with high performance liquid chromatography. *Talanta* 2009; 79: 926—934.
54. Hu X., Pan J., Hu Y. *et al.* Preparation and evaluation of solid-phase microextraction fiber based on molecularly imprinted polymers for trace analysis of tetracyclines in complicated samples. *J Chromatogr A* 2008; 1188: 97—107.
55. Hu X., Pan J., Hu Y., Li G. Preparation of molecularly imprinted polymer coatings with the multiple bulk copolymerization method for solid-phase microextraction. *J Appl Polym Sci* 2011; 120: 1266—1277.
56. Trotta F., Baggiani C., Luda M. P. *et al.* A molecular imprinted membrane for molecular discrimination of tetracycline hydrochloride. *J Membr Sci* 2005; 254: 13—19.
57. Lv Y.-K., Wang L.-M., Yang L. *et al.* Synthesis and application of molecularly imprinted poly(methacrylic acid)-silica hybrid composite material for selective solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography determination of oxytetracycline residues in milk. *J Chromatogr A* 2012; 1227: 48—53.
58. Morais E. C., Correa G. G., Brambilla R. *et al.* Silica imprinted materials containing pharmaceuticals as a template: textural aspects. *J Sol-Gel Sci Technol* 2012; 64: 324—334.
59. Morais E. C., Correa G. G., Brambilla R. *et al.* The interaction of encapsulated pharmaceutical drugs with a silica matrix. *Colloids Surfaces B* 2013; 103: 422—429.
60. Morais E. C., Correa G. G., Brambilla R. *et al.* Selective silica-based sorbent materials synthesized by molecular imprinting for adsorption of pharmaceuticals in aqueous matrices. *J Separ Sci* 2013; 36: 636—643.
61. Mojica E.-R. E., Autschbach J., Bright F. V., Aga D. S. Synthesis and evaluation of tetracycline imprinted xerogels: comparison of experiment and computational modeling. *Anal Chim Acta* 2011; 684: 72—80.
62. Mojica E.-R. E., Autschbach J., Bright F. V., Aga D. S. Tetracycline speciation during molecular imprinting in xerogels results in class-selective binding. *Analyst* 2011; 136: 749—755.
63. Заявка КНР 101672820. Thermal polymerization preparation method of tetracycline molecular imprinted polymer membrane electrode. 2010.
64. Заявка КНР 201965114. Instrument for detecting tetracycline concentration in water. 2011.
65. Wang H., Zhao H., Quan X., Chen S. Electrochemical determination of tetracycline using molecularly imprinted polymer modified carbon nanotube-gold nanoparticles electrode. *Electroanalysis* 2011; 23: 1863—1869.
66. Заявка КНР 102116759. Selective electrode of tetracycline drugs and preparation method thereof. 2011.
67. Guo Z. Y., Gai P. P., Duan J. *et al.* Tetracycline selective electrode based on molecularly imprinted polymer particles. *Chin Chem Lett* 2010; 21: 1235—1238.
68. Гай П., Гюо Ж., Янг Ф. и др. Высокочувствительный ион-селективный электрод для определения тетрациклина в образцах воды на основе частиц молекулярно «отпечатанного» полимера. *Электрохимия* 2011; 47: 1005—1013.
69. Заявка КНР 102116758. Tetracycline drug selective electrode and preparation method thereof. 2011.
70. Guo Z., Gai P., Duan J., Zhang H. Study on highly-sensitive tetracycline selective electrode based on molecular imprinted monolithic column. *Chin J Pharm Anal* 2010; 30: 1904—1908.
71. Moreira F. T. C., Kamel A. H., Guerreiro J. R. L., Sales M. G. F. Mant-tailored biomimetic sensor of molecularly imprinted materials for the potentiometric measurement of oxytetracycline. *Biosens Bioelectron* 2010; 26: 566—574.
72. Guerreiro J. R. L., Freitas V., Sales M. G. F. New sensing materials of molecularly-imprinted polymers for the selective recognition of chlortetracycline. *Microchem J* 2011; 97: 173—181.
73. Lian W., Huang J., Yu J. *et al.* A molecularly imprinted sensor based on β -cyclodextrin incorporated multiwalled carbon nanotube and gold nanoparticles-polyamide amine dendrimer nanocomposites combining with water-soluble chitosan derivative for the detection of chlortetracycline. *Food Control* 2012; 26: 620—627.
74. Wang P., Fu X. F., Li J. *et al.* Preparation of hydrophilic molecularly imprinted polymers for tetracycline antibiotics recognition. *Chin Chem Lett* 2011; 22: 611—614.
75. Заявка КНР 101324541. Tetracycline molecular imprinted polymer membrane electrode and preparation and application thereof. 2008.
76. Moreira F. T. C., Guerreiro J. R. L., Azevedo V. L. *et al.* New biomimetic sensors for the determination of tetracycline in biological samples: Batch and flow mode operations. *Anal Methods* 2010; 2: 2039—2045.
77. Moreira F. T. C., Kamel A. H., Guerreiro R. L. *et al.* New potentiometric sensors based on two competitive recognition sites for determining tetracycline residues using flow-through system. *Procedia Eng* 2010; 5: 1200—1203.
78. W. Lian, S. Liu, J. Yu *et al.* Determination of oxytetracycline with a gold electrode modified by chitosan-multiwalled carbon nanotube multilayer films and gold nanoparticles. *Anal Lett* 2013; 46: 1117—1131.

79. Chen Z.-Q., Li J.-P., Li Y.-P. A strategy for constructing sensitive and renewable molecular imprinted carbon paste sensor. *Chin J Anal Chem* 2011; 39: 1009—1014.
80. Li J., Jiang F., Wei X. Molecularly imprinted sensor based on an enzyme amplifier for ultratrace oxytetracycline determination. *Anal Chem* 2010; 82: 6074—6078.
81. Li J., Jiang F., Li Y., Chen Z. Fabrication of an oxytetracycline molecular-imprinted sensor based on the competition reaction via a GOD-enzymatic amplifier. *Biosens Bioelectron* 2011; 26: 2097—2101.
82. Li J., Li Y., Zhang Y., Wei G. Highly sensitive molecularly imprinted electrochemical sensor based on the double amplification by an inorganic Prussian blue catalytic polymer and the enzymatic effect of glucose oxidase. *Anal Chem* 2012; 84: 1888—1893.
83. Заявка КНП 102621216. Method for detecting trace oxytetracycline with double-amplification-effect molecular imprinting electrochemical sensor. 2012.
84. Wang L.-Q., Lin F.-Y., Yu L.-P. A molecularly imprinted photonic polymer sensor with high selectivity for tetracyclines analysis in food. *Analyst* 2012; 137: 3502—3509.
85. Lu N., Chen S., Wang H. *et al.* Synthesis of molecular imprinted polymer modified TiO₂ nanotube array electrode and their photoelectrocatalytic activity. *J Solid State Chem* 2008; 181: 2852—2858.
86. Huo P., Lu Z., Liu X. *et al.* Preparation molecular/ions imprinted photocatalysts of La³⁺@POPD/TiO₂/fly-ash cenospheres: Preferential photodegradation of TCs antibiotics. *Chem Eng J* 2012; 198—199: 73—80.
87. Liu X., Lv P., Yao G. *et al.* Microwave-assisted synthesis of selective degradation photocatalyst by surface molecular imprinting method for the degradation of tetracycline onto Cl-TiO₂. *Chem Eng J* 2013; 217: 398—406.
88. Wang H., Wu X., Zhao H., Quan X. Enhanced photocatalytic degradation of tetracycline hydrochloride by molecular imprinted film modified TiO₂ nanotubes. *Chin Sci Bull* 2012; 57: 601—605.
89. Jing T., Wang Y., Dai Q. *et al.* Preparation of mixed-templates molecularly imprinted polymers and investigation of the recognition ability for tetracycline antibiotics. *Biosens Bioelectron* 2010; 25: 2218—2224.
90. Jing T., Niu J., Xia H. *et al.* Online coupling of molecularly imprinted solid-phase extraction to HPLC for determination of trace tetracycline antibiotic residues in egg samples. *J Separ Sci* 2011; 34: 1469—1476.
91. Заявка КНП 101857664. Preparation method of molecular imprinted polymer with specific recognition capability to tetracycline family. 2010.
92. Gong G., Jia L., Li H., Qi X. Preparation and characterization of molecular imprinted polymers of tetracycline antibiotics by mixed-templates. *Appl Mech Mater* 2012; 128—129: 407—410.
93. Kong J., Wang Y., Nie C. *et al.* Preparation of magnetic mixed-templates molecularly imprinted polymer for the separation of tetracycline antibiotics from egg and honey samples. *Anal Methods* 2012; 4: 1005—1011.
94. Заявка КНП 101650335. Molecularly imprinted membrane detecting device for tetracycline and preparation and detection methods thereof. 2010.
95. Заявка КНП 101397355. Method for preparing molecular imprinted polymer capable of identifying oxytetracycline and enrofloxacin. 2009.