

Synthesis of Disulfiram Imprinted Polymer and Electrochemical Application

Mert Soysal (Corresponding author)
Aydin Vocational School of Health Services,
Aydin Adnan Menderes University, Aydin 09010, Turkey
E-mail: mertsoysal@gmail.com

Ali Ersin Karagozler
Faculty of Arts and Sciences, Chemistry Department,
Aydin Adnan Menderes University, Aydin 09010, Turkey
E-mail: ekaragozler@gmail.com

The research is financed by Aydin Adnan Menderes University Department of Scientific Research Projects.No. FEF-11015

Abstract

Molecular imprinting has become a powerful tool for the preparation of three dimensional polymeric materials with special recognition ability. The three dimensionally cross-linked polymeric materials are obtained by polymerization of functional monomers in the presence of template molecule. Then, leaching of template molecules by a leaching procedure generates the recognition cavities complementary to the shape, size and functional groups of the template molecules. Thus, molecularly imprinted polymers are often used because of their stability, their resistance to temperature and pressure, resistance to effects of the chemicals and their re-use, as well as their selective properties against template molecule. Nowadays, molecular imprinting technique has been successfully assembled with a several of analytical techniques in chromatography, sensor etc.

In this study, disulfiram imprinted microbeads were synthesized and characterized by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) and Scanning Electron Microscopy (SEM). A carbon paste electrode (CPE) was modified with disulfiram molecular imprinted polymer (MIP) and used for the determination of disulfiram in active substance of pharmaceutical sample by Differential Pulse Voltammetry (DPV).

Keywords: Disulfiram, Electrochemical sensor, molecularly imprinted polymer, Carbon paste electrode

Disulfiram Baskılı Polimer Sentezi ve Elektrokimyasal Uygulaması

Bu çalışma, Aydin Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından FEF-11015 nolu doktora projesi olarak desteklenmiştir.

Özet

Spesifik tanıma özelliği bakımından molekül baskılama tekniği, üç boyutlu polimerik malzemelerin hazırlanmasında önemli bir araç haline gelmiştir. Üç boyutlu olarak çapraz bağlanmış polimerik malzemeler, kalıp molekülünün bulunduğu ortamdaki fonksiyonel monomerlerin polimerizasyonu ile elde edilirler. Daha sonra, uygun sökme prosedürüyle kalıp molekülünün şekil, boyut ve fonksiyonel gruplarına ait tamamlayıcı tanıma bölgeleri oluşturulur. Böylelikle, molekül baskılı polimerler, kalıp moleküle karşı seçici özellik göstermesinin yanı sıra kararlı bir yapıda bulunması, sıcaklığa ve basınca karşı dayanıklı, kimyasallara karşı dirençli olmaları ve tekrar kullanılabilirliği gibi özelliklerinden dolayı sıklıkla kullanılmaktadır. Günümüzde, moleküler baskılama tekniği, kromatografi, sensör vb. gibi çeşitli analitik tekniklerle başarı bir şekilde birleştirilmiştir.

Bu çalışmada, disulfiram baskılı mikroküreler sentezlendi ve FT-IR spektroskopisi ve Taramalı

Elektron Mikroskopu (SEM) ile karakterize edildi. Disulfiram molekülü baskılanmış polimerlerle modifiye edilmiş olan karbon pasta elektrot (CPE), difrensiyel puls voltametri (DPV) kullanılarak disulfiram etken maddesi içeren ilaç örneğinde disulfiram tayini yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Disulfiram, Elektrokimyasal sensör, Moleküler baskılı polimer, Karbon pasta elektrot

1. Giriş

Molekül baskılama tekniği temel olarak üç basamakta meydana gelir. Birinci basamakta, fonksiyonel grup veya gruplar ihtiva eden monomer, kalıp molekül ile kovalent veya kovalent olmayan etkileşimler ile ön kompleks oluşturulur. İkinci basamakta, oluşturulan bu ön kompleks, uygun bir çapraz bağlayıcı ve polimer başlatıcısı yardımıyla polimerleştirme işlemi başlatılır. Son olarak da, baskılanmış polimer uygun bir çözücü ve/veya çözücü sistemi ile yıkanarak yapıdaki kalıp molekülünün uzaklaştırılması sağlanır. Böylelikle elde edilen polimerik yapı, kalıp molekülün yani analitin üç boyutlu kimyasal yapısını tanıyan ve oldukça seçici özellik taşıyan bir akıllı malzeme elde edilir (Orozco ve ark., 2013; Soysal ve ark., 2013; Tang ve ark., 2016; Muti ve ark., 2015). Spesifik bağlanma bölgeleri ihtiva eden molekül baskılı polimerler, yüksek özgülükleri, kolay hazırlanabilmeleri, fiziksel ve kimyasal anlamda dayanıklı malzeme olması nedeniyle birçok analitik uygulamada sık olarak kullanılmaktadır. Katı faz ekstraksiyonu (Demirkurt ve ark., 2018; Garcia ve ark., 2018), kromatografi (Bayram ve ark., 2017; Xu ve ark., 2018), katalitik (Ou ve ark., 2018) ve sensör (Li ve ark., 2018; Zhang ve ark., 2018; Ou ve ark., 2018) uygulamaları gibi analitik tekniklerde molekül baskılı polimerlerin kullanımına yönelik çalışmalar, 2000'li yıllardan itibaren hızlı bir yükseliş içerisinde olduğu görülmektedir (Mayes ve Whitcombe, 2005; Spivak, 2005; Sun ve ark., 2017).

Disulfiram, alkol tedavisinde kullanılan bir ilacın ana etken maddesi olan karbamat türevi bir kimyasaldır. Disulfiram ile tedavi yapıldığı sırada birey tarafından alkol tüketilirse bulantı, kusma, kızarma ve taşikardi vb. bir çok istenmeyen etki meydana getiren asetaldehit vücutta birikmesi oluşmaktadır. *In vivo* olarak disulfiram, S-metil-N,N-dietildithiokarbamat ve S-metil-N,N-dietildithiokarbamat'a metabolize olan N,N-dietildithiokarbamat'a çok hızlı bir şekilde indirgenir. Bu metabolitler, *in vitro* olarak aldehit dehidrogenaz inhibitörleri değildir, böylelikle enzimin inhibisyonunda sorunlar meydana gelmektedir (Lam ve ark., 1997; Lövborg ve ark., 2006). Ayrıca, yapılan klinik öncesi çalışmalar neticesinde disulfiramın anti-kanser aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Disulfiramın anti-kanser aktivitesinin mekanizması tam olarak aydınlatılmamasına rağmen proteazom aktiviteyi önlediği belirtilmiştir (Skrotti ve ark., 2017).

Bu çalışmada, süspansiyon polimerizasyonu tekniği kullanılarak bir dithiokarbamat olan disulfiram, metakrilik asit, etilenglikol dimetakrilat ve azoisobütironitril kimyasalları (sırasıyla kalıp molekül, monomer, çapraz bağlayıcı ve başlatıcı) ile baskılı polimerler sentezlenmiştir. Sentezlenen disulfiram baskılı polimerin baskılama etkinliği, döngülü voltametri (CV) ve difrensiyel puls voltametri (DPV) kullanılarak, baskılanmış polimer (MIP) ve baskılanmamış polimer (NIP) ile hazırlanmış karbon pasta elektrotlarla elektrokimyasal ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

2. Materyal ve yöntem

2.1 Kimyasallar ve cihazlar

Etilen glikol dimetakrilat (EGDMA), metakrilik asit (MAA), polivinil alkol, 2,2'-azoisobütironitril, metanol, asetik asit, borik asit, sodyum monofosfat, sodyum dihidrojen fosfat, hidroklorik asit, fosforik asit, N,N'-dietilditiokarbamid sodyum tuzu trihidrat, disulfiram, thiuram, tetraizopropilthiram disülfid, mineral yağı Sigma-Aldrich (Steinheim, Almanya), kloroform ve sodyum asetat Riedel de Haen (Seelze, Almanya)'den satın alınmıştır.

Deneylerde, MTOPS 60 W Digital mekanik karıştırıcı, IVIUM Compact Stat Plus Modul elektroanalizör, IKEMAG ısıtıcı manyetik karıştırıcı, NÜVE EV018 Vakum etüvü, JSR JSON-100 Etüv, Labconco WaterPro PS ultra saf su cihazı, Thermo Scientific Orion 3 star pH metre, Rocker 600 vakum pompası, VELP Multistirrer 15 manyetik karıştırıcı, Bandolin Sonorex ultrasonik banyo ve NÜVE EV018 vakum etüvü kullanılmıştır.

Adnan Menderes Üniversitesi Bilim Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezinde bulunan Fourier Transform Infrared Speksroskopi (FT-IR) spektrofotometresi (Varian FTS 7000, ABD) kullanılarak polimer/monomer içeren KBr pellet hazırlanıp sentezlenen polimerler karakterize edilmiştir. Ayrıca, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Malzeme Araştırma Merkezinde bulunan Taramalı Elektron Mikroskopu'nda (SEM) (FEI Quanta 250 FEG, ABD) sentezlenen polimerlerin yüzeylerini Au ile iletken hale getirilmesinden sonra yüzey morfolojisi incelenmiştir.

Deneylerde kullanılan tüm çözeltiler ultra saf su kullanılarak hazırlanmıştır. Elektrokimyasal hücrelerde

kullanılan tampon çözeltiler deney aşamasına kadar cam şişelerin içerisinde +4 °C'de buzdolabında saklandı.

2.2 Karbon pasta elektrotların hazırlanması

Önerilen bu çalışmada kullanılan yalın karbon pasta elektrotlar (CPE), (Soysal ve ark, 2013) çalışması referans alınarak, 1 g karbon pasta içeriğinde 0.70 g grafit tozu ve 0.30 g nujol var olacak şekilde hazırlandı. MIP veya NIP içeren CP elektrotlar ise konulan grafit tozunun çeyreği polimer olacak şekilde grafit matrisine en az 1 gün boyunca sabit sıcaklığı 40°C olacak şekilde vakumlanmış polimerlerin eklenmesiyle hazırlandı. Elde edilen CP elektrodun yüzeyinin düzgün ve pürüzsüz yapıda olması için mumlanmış kağıt üzerinde ölçüme hazırlandı.

2.3 Elektrokimyasal ölçümler

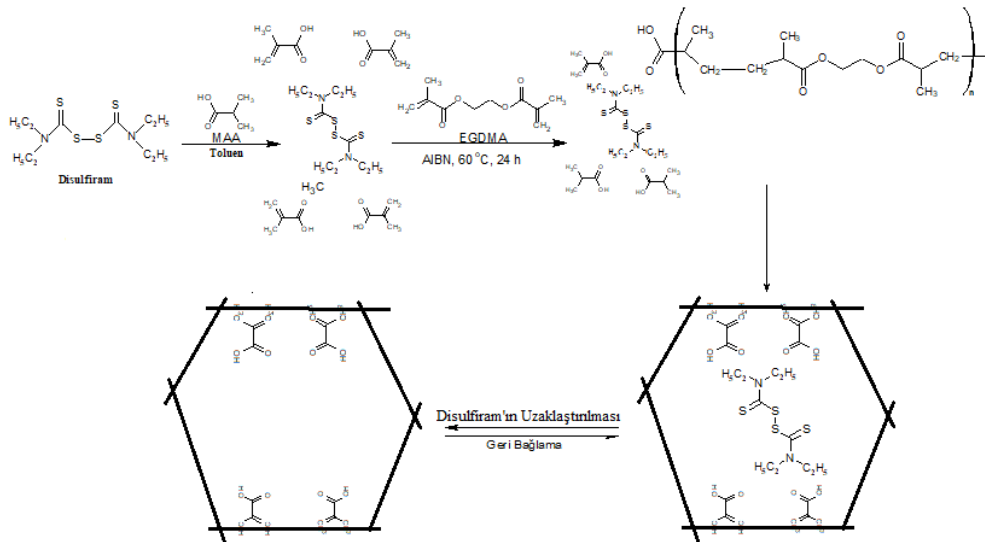
Tüm elektrokimyasal ölçümlerde, BAS model C3 Faraday kafesi içerisinde üçlü elektrot sistemi kullanılmıştır. Elektrokimyasal hücre içerisinde MIP, NIP ve yalın elektrotlar çalışma elektrodu, Ag/AgCl (3.0 M KCl) referans elektrodu ve Pt tel ise karşıt elektrot olarak kullanılmıştır.

2.4 Baskılı polimer sentezi

Metakrilik asit (MAA) monomerinin 4 mmol'ü ile 1 mmol Disulfiram (DSF) molekülü, ön kompleks meydana getirmek için yaklaşık 1 saat boyunca 5 mL toluen içerisinde herhangi bir ısı işlemi yapılmadan karıştırıldı. Oluşturulan bu komplekse 20 mmol etilenglikol dimetakrilat (EGDMA) çapraz bağlayıcısı eklenildi. Farklı bir beher içerisinde, süspansiyon polimerizasyonda kullanılması gereken su fazı için 250 mg polivinil alkol (PVA) 25 mL ultra saf suda homojenliği sağlamak için ısıtılarak çözüldü. Bu şekilde hazırlanan çözeltiler, polimerleşmenin gerçekleştirilmesi için yuvarlak dipli balona aktarıldı. Bu aşamadan sonra balonun içerisine 20 mg 2,2'-azobütironitril (AIBN) ilave edilerek polimerizasyonun başlaması sağlandı. Balonun içindeki karışım, sıcaklığı 60 °C olacak şekilde yağ banyosuna konulup mekanik karıştırıcı ile 1 gün boyunca 400 rpm hızında karıştırılması sağlandı. Aynı işlemler kalıp molekül içermeyen kontrol polimeri (NIP) elde etmek için tekrarlandı.

2.5 Disulfiram baskılı polimerden kalıp molekülünün uzaklaştırılması

Sentezlenen molekül baskılı polimerin yapısında bulunan DSF'in polimerik yapıdan uzaklaştırılması için soxhlet ekstraksiyonu yapıldı. Soxhlet haznesine selülozdan yapılmış bir kartuşun içerisine konulan polimer, metanol-asetik asit (9:1) karışımında en az 1 gün süren yıkama işlemi yapıldı. Bu aşamadan sonra, kalıp molekülü uzaklaştırılmış polimer, en az 1 gün olacak şekilde 40 °C'lik vakum etüvünde kurutuldu. Daha sonra Karbon Pasta Elektrot Hazırlanması başlığı altında anlatıldığı gibi elektrotlar hazırlandı ve polimer yapısındaki kalıp molekülün varlığının tespiti için difrensiyel puls voltametrisinden (DPV) yararlanıldı. Aynı işlemler kontrol polimer ve yalın karbon pasta elektrotlar için de yapıldı. Disulfiram baskılı polimer sentezi ve disulfiram molekülünün yapıdan uzaklaştırılması sırasında meydana gelen olası tepkimeler aşağıda Şekil 1'de gösterilmiştir.

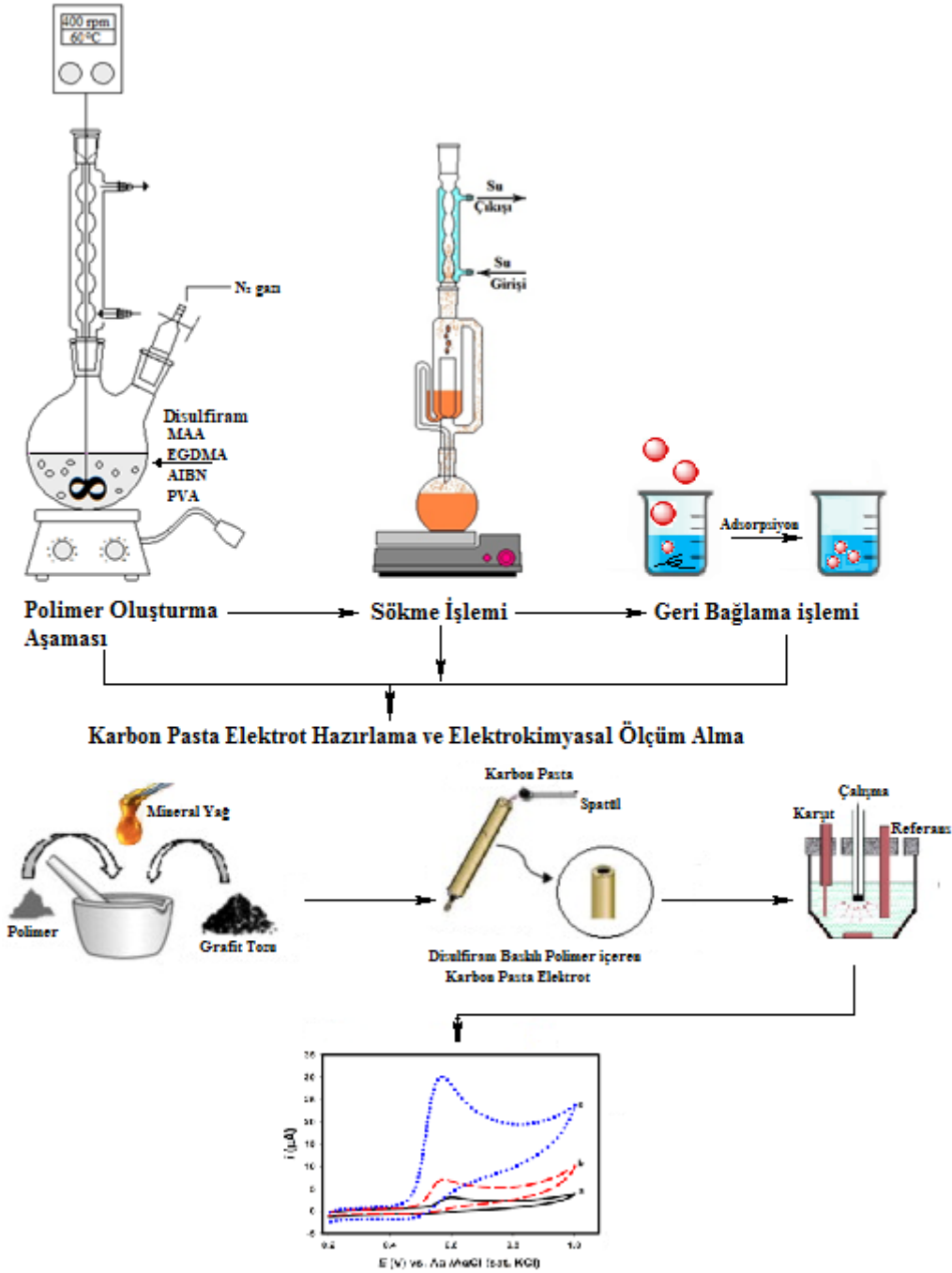


Şekil 1. Disulfiram baskılı mikroküreler hazırlanırken meydana gelen olası tepkimelerin şematik gösterimi.

2.6 Disulfiram baskılı polimerler ile yapılan elektrokimyasal ölçümler

Karbon pasta elektrotların hazırlanması başlığında anlatıldığı gibi hazırlanan karbon pasta elektrotlar ile 0.5 M pH 4.8 asetat tampon çözeltisi (ABS) içerisinde (+0.5 V) - (+1.5 V) potansiyel aralığında tarama hızı 10 mV s^{-1} olacak şekilde DPV kullanılarak elektrokimyasal ölçümler yapıldı.

Deneyde yapılan işlemlerin şeması Şekil 2'de gösterilmiştir.

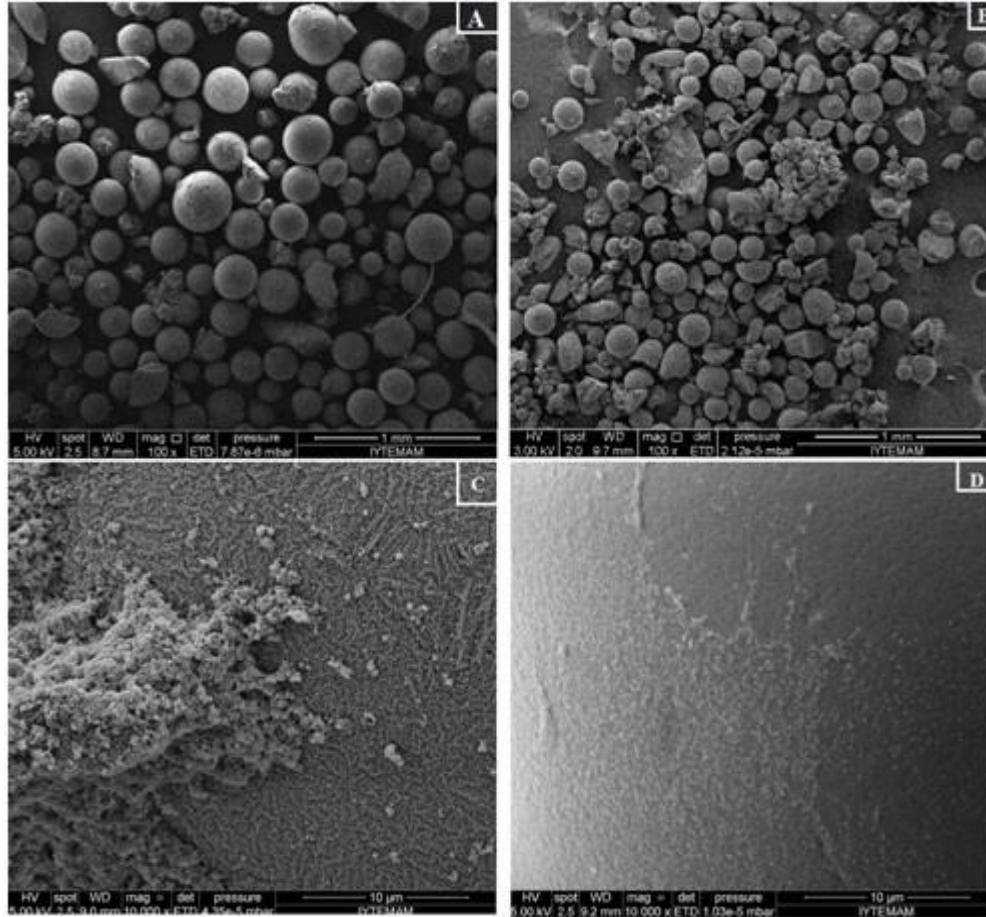


Şekil 2. Disulfiram baskılı mikroküreler hazırlanırken meydana gelen olası tepkimelerin şematik gösterimi.

3. Bulgular ve tartışma

0.5:4:20, 1:4:20 ve 2:4:20 (sırasıyla kalıp molekül:monomer:çapraz bağlayıcı) mol oranlarında olmak üzere üç farklı polimer sentezi yapıldı. 0.5:4:20 mol oranında sentezlenen polimerin yüzey morfolojisinin diğer mol oranında sentezlenen polimerin yüzey morfolojisi ile kıyaslandığında, elde edilen polimerlerin tam bir küre olduğu ayrıca boyutlarının da mikrometre çapında olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca, 0.5:4:20 mol oranında sentezlenen polimerlerle hazırlanan karbon pasta elektrotlar (CPE) ile elde edilen DSF'e ait yükseltgenme pik sinyalinin daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır.

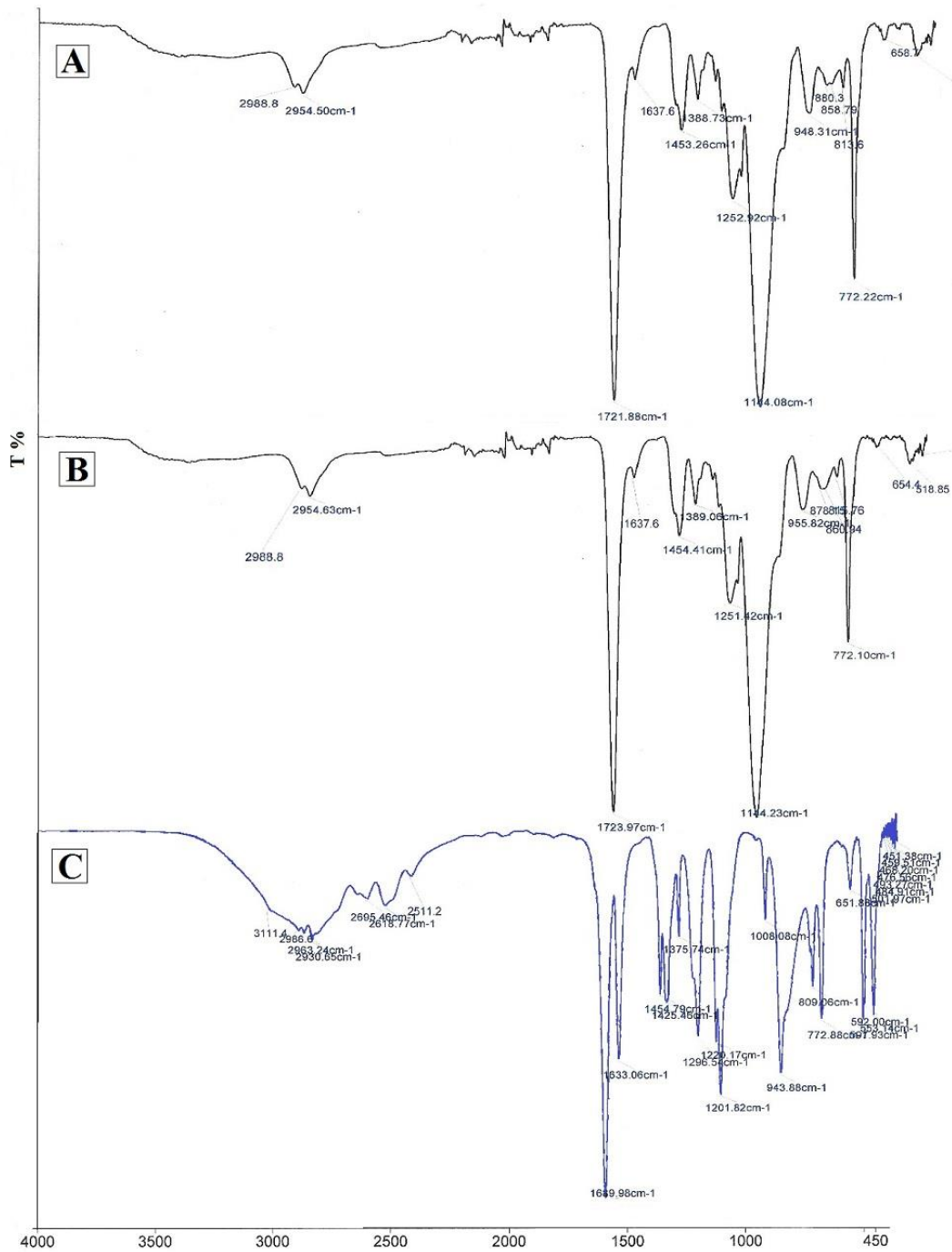
Şekil 3'de 0.5:4:20 mol oranına göre sentezlenen MIP ve NIP polimerlerinin SEM görüntüleri gösterilmektedir.



Şekil 3. Kalıp molekül, monomer, çapraz bağlayıcı (sırasıyla 0.5, 4, 20) mol oranında elde edilmiş olan A) Baskılanmış ve sökülmemiş MIP (x100), B) NIP polimeri (x100), C) Baskılanmış ve sökülmemiş MIP (x10000), B) NIP polimeri (x10000) SEM görüntüleri.

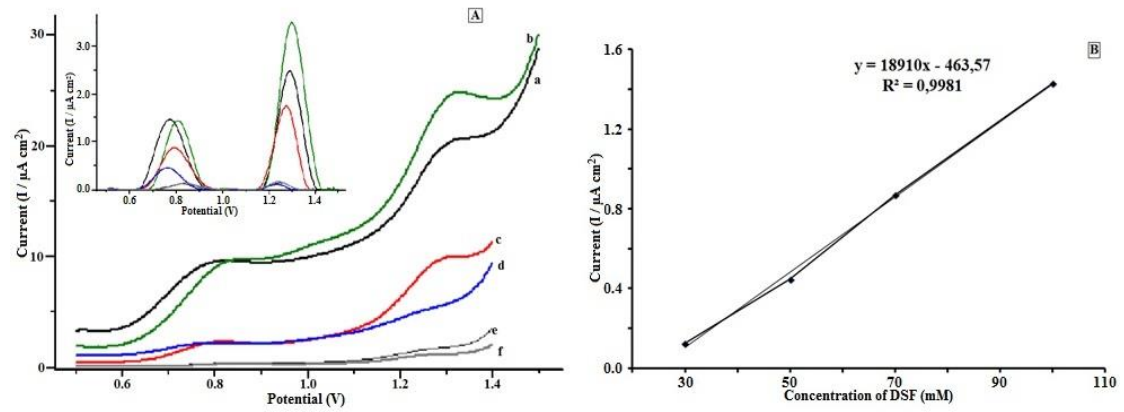
Şekil 3'e göre, elde edilen MIP ve NIP'ların şekillerinin tam bir küre olduğu ayrıca, boyutlarında istenen şekilde mikro büyüklüğünde olduğu görülmektedir.

Şekil 4'de görülen FT-IR spektrumuna göre, metakrilik asidin karboksil grubuna kalıp molekülünün bağlanması sonucunda, metakrilik asitteki C=O, C=C ve C-O gerilme piklerinin 1639.98, 1633.06, 1201.82 cm^{-1} 'den 1721.88, 1637.06 ve 1137 cm^{-1} 'e kaymıştır. MIP ve NIP spektrumlarında 1137 cm^{-1} dalga boyunda görülen C-O piki çapraz bağlayıcının yapısında bulunduğundan pik şiddeti artmıştır.



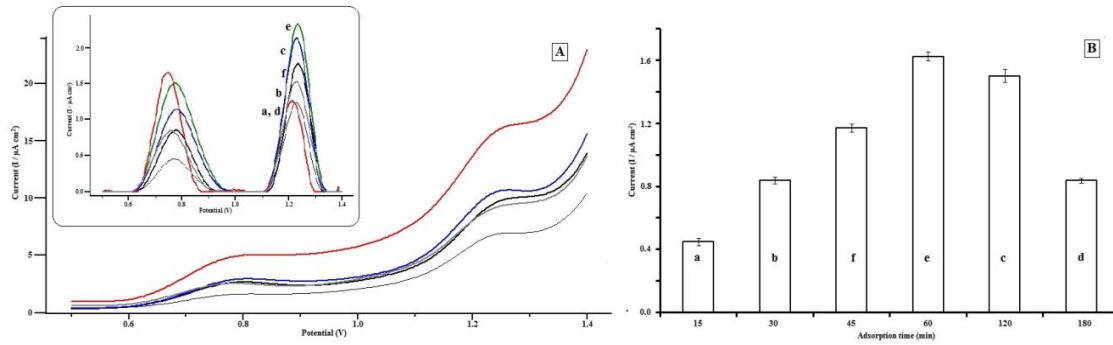
Şekil 4. A) MIP, B) NIP ve C) MAA'nın FT-IR spektrumları.

Bu aşamadan sonra, DSF-MIP ve NIP polimerlerinin en fazla ve kararlılıkta absorplayacağı disulfiram molekülünün derişiminin belirlenmesi amacıyla 0.03 M ile 0.2 M derişim aralığında beş farklı derişimde DSF çözeltisi hazırlandı. Her bir derişimden 5 mL bir behere alınarak içerisine 50 mg polimer (MIP ve NIP) ilave edilerek 1 saat boyunca polimerlere kalıp molekülünün geri bağlanması sağlandı. Bu süre sonunda, polimerler çözelti ortamından süzülerek alınıp kurutuldu. Kurutulan polimerler ile karbon pasta elektrotlar hazırlandı. Hazırlanan CP elektrotlar ile DPV tekniği kullanılarak disulfirama ait yükseltgenme pikleri ölçüldü. Elde edilen voltamogramlar ve kalibrasyon eğrisi Şekil 5'de gösterilmektedir.



Şekil 5. Farklı derişimlerde DSF çözeltileri ile DSF adsorplanmış polimerler kullanılarak hazırlanmış CPE'ler ile elde edilmiş DSF yükseltgenme sinyallerinin karşılaştırılması A) DP voltamogram B) Kalibrasyon grafiği (n:10).

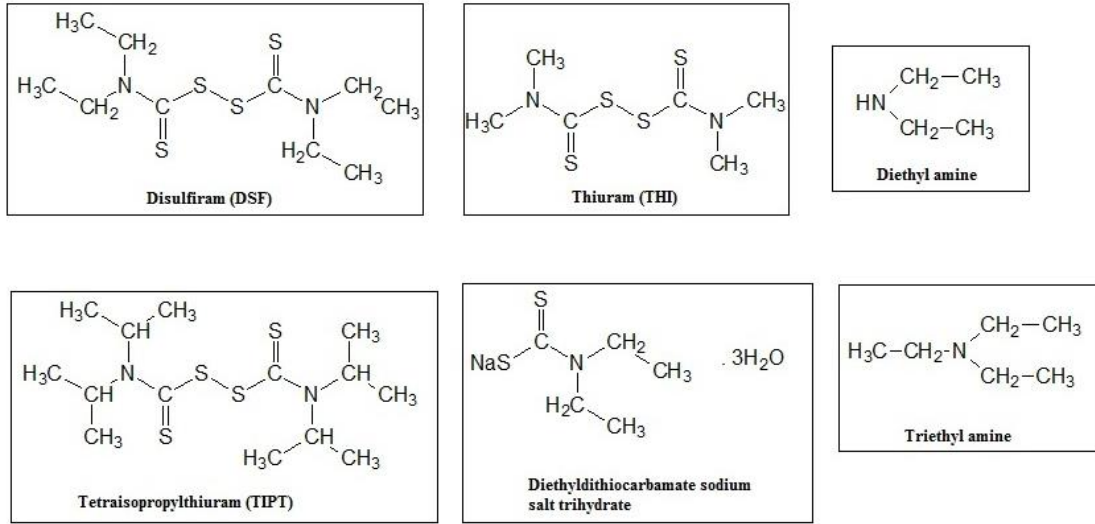
Şekil 5A incelendiğinde, 0.1 M DSF çözeltisi kullanılarak hazırlanmış CP elektrotlar ile DSF'e ait en yüksek yükseltgenme sinyalinin meydana geldiği sonucuna ulaşılmıştır. Şekil 5B'e göre, DSF derişimi ile yükseltgenme akım şiddetleri arasında bir korelasyon olduğu ($R^2 : 0.9981$) ayrıca, Miller ve Miller (2010)'deki yöntemine göre tayin sınırının 4.7 mM (%99.75) olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bir başka optimize edilmesi gereken faktör ise, adsorplanma süresidir. Bu çalışma için, derişim çalışması sonucunda belirlenen 0.1 M DSF çözeltisi içerisine 50 mg polimer konularak farklı sürelerde (15-180 dk aralığında) adsorpsiyon yapması sağlandı. Hazırlanan CP elektrotlarla DPV tekniği kullanılarak ölçümler alındı. Elde edilen voltamogramlar ve histogram grafiği Şekil 6'da gösterilmektedir.



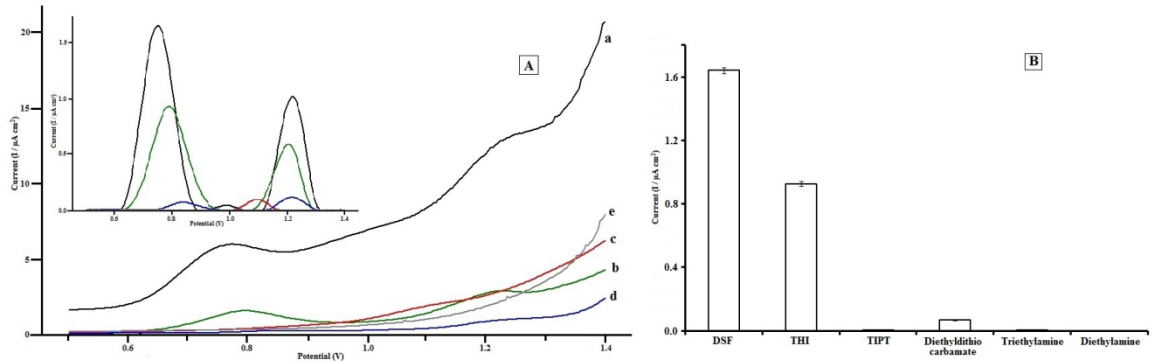
Şekil 6. Farklı sürelerde 0.1 M DSF çözeltisi kullanılarak hazırlanmış CPE'ler ile elde edilmiş DSF yükseltgenme sinyallerinin karşılaştırılması A) DP voltamogram B) Histogram (n:10).

Şekil 6'a göre, en yüksek DSF yükseltgenme sinyali, 60 dk'lık adsorpsiyon süresinde elde edildiği görülmektedir (1623.3 nA, RSD (n:10) %1.6). Bu süre optimal geri bağlanma süresi olarak seçilmiş olup bu aşamadan sonra yapılacak tüm deneylerde kullanıldı.

Kimyasal yapısı kalıp moleküle (disulfiram) ile benzer yapıya sahip, açık yapıları Şekil 7'de gösterilen analog moleküller ile seçimlilik çalışması yapıldı. 50 mg polimer, 0.1 M kalıp molekül veya analog çözeltileri içeren farklı beherlerin içerisine konularak 1 saat boyunca adsorpsiyon yapması sağlandı. Bu sürenin sonunda polimerler süzülerek kurutuldu. Kurutulan polimerler ile CP elektrotlar hazırlanarak DPV tekniği uygulandı. Elde edilen voltamogramlar Şekil 8'de gösterilmektedir.



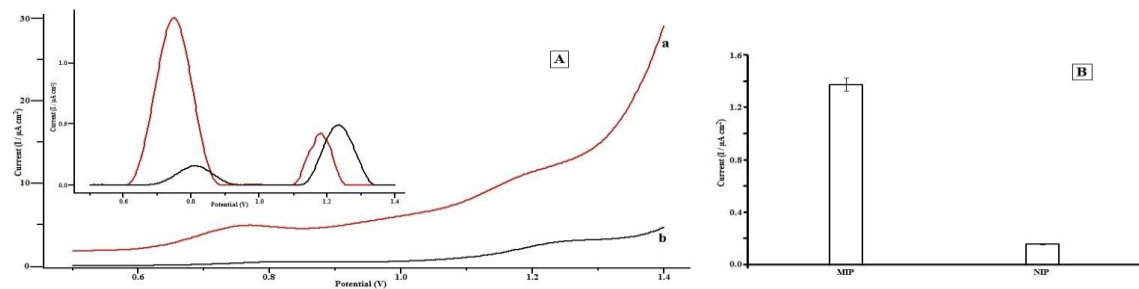
Şekil 7. DSF-MIP'in seçicilik deneylerinde kullanılan moleküllerin açık yapıları.



Şekil 8. Kalıp molekül ve analogların MIP-CPE'lerle elde edilmiş A) DP voltamogram B) Histogram (n:10).

Şekil 8'e göre, disulfiram baskılı polimerlerin disulfiram molekülüne oldukça seçimli olduğu ayrıca, kimyasal yapı bakımından kalıp moleküle benzeyen moleküllerin baskılanmış polimerlere bağlanmasının çok düşük olduğu görülmektedir.

Etken maddesi disulfiram olan tablet halindeki ilaç direkt öğütülerek toluen içerisinde çözülerek önceki çalışmalarda belirlenmiş olan derişimde hazırlandı. Hazırlanan bu analit çözeltisi içerisinde MIP ve NIP eklenerek önceki çalışmada belirlenen adsorbsiyon süresince karıştırılarak bekletildi. Böylece, MIP ve NIP'in gerçek ilaç matrisinden disulfiramı geri bağlama kapasitesi incelendi.



Şekil 9. Optimal koşulları belirlenmiş MIP ve NIP'ların gerçek numunede uygulanması ile elde edilmiş olan A) DP voltamogram B) Histogram (n:10).

Şekil 9 incelendiğinde, MIP ile yapılan adsorpsiyon işlemi sonunda disulfiram molekülü baskılanmış polimer yüzeyinde bulunan seçici yuvalara (bölgelere) NIP'a oranla yaklaşık 6 kat daha fazla bağlandığı görülmektedir.

4. Sonuç

Disulfiram baskılı polimer sentezinin istenilen biçimde, mikropartikül boyutunda sentezlenmiştir. Elde edilen polimerin matriksinde polimere herhangi bir zarar vermeden kalıp molekülünün uzaklaştırılarak disulfirama ait seçici bölgeler meydana geldiği geri bağlanma çalışmaları ile tespit edildi. Elde edilen bu baskılanmış polimerin optimal koşulları belirlenerek disulfiram molekülüne oldukça seçimli olduğu tespit edildi. Elde edilen mikroküre formundaki polimerlerin gerçek numuneye uygulanarak başarılı bir sonuç edilmiştir.

References

- Bayram, E., Yılmaz, E., Uzun, L., Say, R. & Denizli, A. (2017). Multiclonal plastic antibodies for selective aflatoxin extraction from food samples. *Food Chemistry*, 221, 829-837.
- Demirkurt, M., Olcer, Y. A., Demir, M. M. & Eroğlu, A. E. (2018). Electrospun polystyrene fibers knitted around imprinted acrylate microspheres as sorbent for paraben derivatives. *Analytica Chimica Acta*, 1014, 1-9.
- Garcia, R., Carreiro, E. P., Ramalho, J. P. P., Mirao, J., Burke, A. J., Gomes da Silva, M. D. R., Freitas, A. M. C. & Cabrita, M. J. (2018). A magnetic controllable tool for the selective enrichment of dimethoate from olive oil samples: A responsive molecular imprinting-based approach. *Food Chemistry*, 254, 309-316.
- Lam, J. P., Mays, D. C. & Lipsky, J. J. (1997). Inhibition of recombinant human mitochondrial and cytosolic aldehyde dehydrogenases by two candidates for the active metabolites of disulfiram. *Biochemistry*, 36, 13748-13754.
- Li, Y., Liu, J., Zhang, Y., Gu, M., Wang, D., Dang, Y. Y., Ye, B. C. & Li, Y. (2018). A robust electrochemical sensing platform using carbon paste electrode modified with molecularly imprinted microsphere and its application on methyl parathion detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 106, 71-77.
- Lövborg, H., Öberg, F., Rickardson, L., Gulbo, J., Nygren, P. & Larson, R. (2006). Inhibition of proteasome activity, nuclear factor-KB translocation and cell survival by the antialcoholism drug disulfiram. *International Journal of Cancer*, 18, 1577-15780.
- Mayes, A. G. & Whitcombe, M. J. (2005). Synthetic strategies for the generation of molecularly imprinted organic polymers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, 1742-1778.
- Miller, J. N. & Miller, J. C. (2010). *Statistic and chemometrics for analytical chemistry*. (6th ed.) England: Pearson Education Limited.
- Muti, M., Soysal, M., Nacak, F. M., Gencdag, K. & Karagozler, A. E. (2015). A novel DNA probe based on molecularly imprinted polymer modified electrode for the electrochemical monitoring of DNA. *Electroanalysis*, 27, 1368-13677.
- Orozco, J., Cortes, A., Cheng, G., Sattayasamitsathit, S., Gao, W., Feng, X., Shen, Y. & Wang, J. (2013). Molecularly imprinted polymer-based catalytic micromotors for selective protein transport. *Journal of the American Chemistry Society*, 135, 5336-5339.
- Ou, S. H., Pan, L. S., Jow, J. J., Chen, H. R. & Ling, T. R. (2018). Molecularly imprinted electrochemical sensor, formed on Ag screen-printed electrodes, for the enantioselective recognition of D and L phenylalanine. *Biosensors and Bioelectronics*, 105, 143-150.

- Skrotti, Z., Mistrik, M., Andersen, K. K., Friis, S., Majera, D., Gursky, J., Ozdian, T., Bartkova, J., Turi, Z., Moudry, P., Kraus, M., Michalova, M., Vaclavkova, J., Dzubak, P., Vrobel, I., Pouckova, P., Sedlacek, J., Miklovicova, A., Kutt, A., Li, J., Mattova, J., Driessen, C., Dou, Q. P., Olsen, J., Hajduch, M., Cvek, B., Deshaies, R. & Bartek, J. (2017). Alcohol-abuse drug disulfiram targets cancer via p97 segregase adaptor NPL4. *Nature*, 552, 194-199.
- Soysal, M., Muti, M., Esen, C., Gençdağ, K., Aslan, A., Erdem, K. A. & Karagözler, A. E. (2013). A novel and selective methylene blue imprinted polymer modified carbon paste electrode. *Electroanalysis*, 25, 1278-1285.
- Spivak, D. A. (2005). Optimization, evaluation, and characterization of molecularly imprinted polymers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, 1779-1794.
- Sun, Y., Pang, Y. M., Zhang, J. X., Li, Z. W., Liu, J. F. & Wang, B. (2017). Application of molecularly imprinted polymers for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in lipid matrix-based biological samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409, 6851-6860.
- Tang, Z. G., Liu, C. B., Wang, J., Li, H. M., Ji, Y. Wang, G. H. & Lu, C. (2016). Preparation and characterization of monodisperse molecularly imprinted polymers for the recognition and enrichment of oleanolic acid. *Journal of Separation Science*, 39, 1592-1602.
- Xu, Y., Tang, Y., Zhao, Y., Gao, R., Zhang, J., Fu, D., Li, Z., Li, H. & Tang, X. (2018). Bifunctional monomer magnetic imprinted nanomaterials for selective separation of tetracyclines directly from milk samples. *Journal of Colloid and Interface Science*, 515, 18-26.
- Zhang, X., Yarman, A., Erdossy, J., Katz, S., Zebger, I., Jetzschmann, K. J., Altıntaş, Z., Wollenberger, U., Gyurcsanyi, R. E. & Scheller, F. W. (2018). Electrosynthesized MIPs for transferrin: Plastibodies or nao-filters?. *Biosensors and Bioelectronics*, 105, 29-35.