

Reconocimiento molecular mediante materiales biomiméticos: impresión molecular

Resumen: El reconocimiento molecular es el fenómeno mediante el cual una especie química es reconocida e identificada selectivamente por un receptor adecuado. Este mecanismo es el que logra, por ejemplo, que el sistema inmune identifique a los microorganismos o que los enzimas actúen sobre sus respectivos sustratos. Los científicos han dedicado gran parte de su esfuerzo investigador a imitar este fenómeno, lo cual ha dado origen al desarrollo de materiales *biomiméticos*, entre los que destacan los obtenidos mediante *impresión molecular*. Dicha tecnología recurre al principio de utilizar una molécula para la creación de su sitio de reconocimiento. En este artículo se resumen los principios básicos de la impresión molecular.

Palabras claves: Reconocimiento molecular, materiales biomiméticos, impresión molecular.

Introducción: Concepto de impresión molecular

La naturaleza ha sido siempre una inagotable fuente de inspiración para el hombre. Los fenómenos que en ella ocurren y sus características no han dejado indiferentes a los científicos, que a lo largo de la Historia han tratado de explicarlos e imitarlos. A través de los años se ha buscado comprender cómo transcurren los procesos biológicos, en particular aquellos relacionados con actividades catalíticas y/o de *reconocimiento molecular* de un sustrato.

El reconocimiento molecular puede describirse como la unión específica de una molécula a un receptor molecular. Entre los sistemas biológicos en que se da este tipo de procesos están los enzimas, anticuerpos o receptores hormonales capaces de identificar selectivamente a un sustrato, antígeno u hormona, respectivamente. Por supuesto, estos sistemas de identificación química selectiva son de enorme interés en la ciencia actual en campos como la química analítica, médica o farmacéutica.

Ya en 1894 Emil Fischer^[1] empleó la analogía "llave-cerradura" para esquematizar el modo en que los sustratos interactúan con los enzimas. Según esta propuesta los enzimas están provistos de "grietas" y/o "depresiones" superficiales que son complementarias al sustrato, de modo que encaja sobre estos sitios activos del enzima como si se tratase de una llave en su cerradura. Con el paso del tiempo, los científicos han dedicado gran parte de su esfuerzo investigador al desarrollo de procesos *biomiméticos*, que hoy en día han sido definidos por la IUPAC como aquéllos que se refieren a un procedimiento de laboratorio diseñado para imitar un proceso químico natural^[2], o dicho de manera más coloquial, aquellos procesos de imitación de la naturaleza. Uno de los que recientemente está recibiendo un gran impulso es el conocido como *impresión molecular*.

La tecnología de impresión molecular recurre al simple principio de utilizar una molécula como molde para la creación de su sitio de reconocimiento. Esto se consigue mediante la formación de una matriz polimérica altamente entrecruzada alrededor de dicha molécula (o de un análogo estructural de la misma). La clave del éxito de este proceso reside en maximizar el número de interacciones entre los grupos funcionales de la molécula seleccionada y los de la matriz, tal como ocurre en la naturaleza.

Departamento de Química Física y Analítica, Universidad de Oviedo, c/ Julián Clavería 8, 33006 Oviedo.
C-e: guardialaura.uo@uniovi.es; fernandezgalfonso@uniovi.es
Recibido 25/07/2006. Aceptado 22/12/2006



Alfonso
Fernández-González



Laura
Guardia

El papel fundamental que desempeñan las interacciones intermoleculares, hace que la impresión molecular se englobe dentro de la *química supramolecular*, que abarca toda la química del diseño, síntesis y estudio de entidades formadas por asociaciones de dos o más especies. Más concretamente, la impresión molecular pertenece a la rama de la química supramolecular denominada *química biomimética*, la cual se ocupa de la síntesis y caracterización de materiales en los que

participan fundamentalmente interacciones del tipo huésped-receptor (llave-cerradura).

El proceso se describe esquemáticamente en la Figura 1. En una primera etapa [Figura 1(a)], la llave seleccionada (molécula molde) se pone en contacto con una variedad de bloques (monómeros funcionales) que construirán la cerradura (matriz polimérica); [Figura 1(b)]. Finalmente, una vez que la unión entre los componentes es firme, la extracción de la llave dejará un molde selectivo para la misma que, idealmente, no reconocerá a ninguna otra [Figura 1(c)].

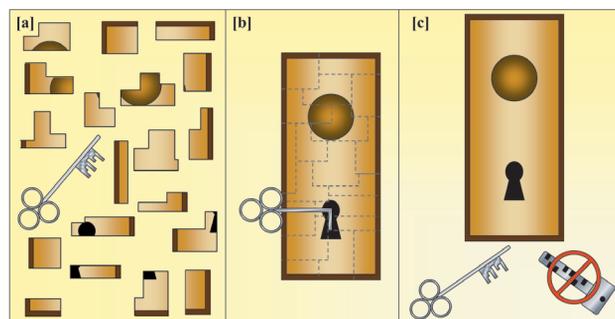


Figura 1: Símil del proceso de impresión molecular basado en el mecanismo llave-cerradura.

El proceso químico de impresión molecular

En el proceso químico de generación de materiales molecularmente impresos pueden distinguirse básicamente tres pasos:

Elección de la molécula molde: *analito de interés*

Hasta la fecha se han desarrollado materiales molecularmente impresos para una amplia variedad de analitos, como por ejemplo: fármacos^[3,4], herbicidas^[5] y otras muchas sustancias de importancia e interés biológico^[6] y/o medioambiental. En general se han utilizado moléculas molde de bajo peso mole-

cular, ya que cuanto mayor es el tamaño y menor la rigidez del compuesto a imprimir, menor es la probabilidad de crear una cavidad bien definida y selectiva para la molécula. Por otra parte, dado que los procesos de reconocimiento y extracción de la molécula molde del polímero implican fundamentalmente la difusión de la misma a través de la matriz polimérica hacia y desde la cavidad impresa, una molécula de gran tamaño encontrará impedimentos estéricos más importantes que una de menor tamaño.

Rachkov y Minoura^[7], han sugerido una solución para paliar esta situación inspirados nuevamente en la naturaleza. Dado que cuando un anticuerpo reconoce a un antígeno, por lo general, no lo hace en su totalidad sino sólo una pequeña porción del mismo (epítipo), de la misma manera se puede sintetizar un material molecularmente impreso que solamente reconozca una zona característica de la molécula voluminosa. Gracias a esta solución, se han desarrollado materiales impresos capaces de reconocer no sólo a macromoléculas sino incluso células enteras en disolución^[8].

Generación de la huella molecular

De forma general es posible elegir entre dos rutas de síntesis: no covalente y covalente. En la síntesis no covalente, Figura 2 (a), la molécula molde interacciona con los monómeros funcionales en una primera etapa denominada de preorganización, en la que tiene lugar un ordenamiento de los monómeros alrededor de la misma. A través de interacciones de tipo van der Waals, $\pi-\pi$, electrostáticas y de enlaces de hidrógeno, entre los grupos funcionales de la molécula molde y de los monómeros funcionales, se forma un "complejo" que es el prelude de lo que más adelante será la huella de la molécula.

En los procesos de impresión molecular no covalente, el disolvente juega un papel muy importante, ya que es el que gobierna la fuerza de las interacciones, además de influir en la morfología final del polímero en función de su capacidad porogénica. De forma general, cuanto más polar es un disolvente menor es la capacidad de reconocimiento en el material resultante. Los disolventes que tienen tendencia a acentuar la fuerza de las interacciones no covalentes son aquéllos que poseen una baja constante dieléctrica, como el tolueno o el diclorometano. Por otro lado, el disolvente también controla el área superficial y el tamaño medio de poro que se genera en los polímeros, lo que puede llegar a ser crítico en el proceso de reconocimiento molecular.

En la ruta covalente [Figura 2 (b)] se requiere un paso previo adicional para transformar la molécula molde en un derivado polimerizable, que jugará el mismo papel en la síntesis que el "complejo" anteriormente descrito.

Proceso de polimerización.

En cualquiera de las dos rutas propuestas, covalente y no covalente, es necesario iniciar el proceso de polimerización. Tras la mezcla de los monómeros funcionales con la molécula molde

(en el caso de la síntesis no covalente) o la síntesis del derivado polimerizable (en el caso de la covalente) se adiciona un agente entrecruzador, típicamente dimetacrilato de etilenglicol, en mayor proporción molar que el monómero. Asimismo, se agrega también un agente iniciador de la polimerización. Dicho iniciador es el encargado de generar los radicales que darán comienzo a la polimerización.

El proceso de iniciación de la polimerización puede ser de tipo térmico o fotoquímico. La elección entre uno u otro, depende fundamentalmente del tipo de molécula que se esté usando como molde. Si es una molécula termosensible, se utiliza una fuente de radiación ultravioleta, llevando a cabo la polimerización a 4°C. En el caso de una molécula fotosensible, se recurre a la temperatura como fenómeno generador de radicales.

Si una molécula es a la vez termo y fotosensible, es preferible recurrir a procesos de síntesis que no requieran iniciación radicalaria. La alternativa se encuentra en el empleo de materiales sol-gel, cuya polimerización se inicia simplemente mediante catálisis ácida o básica, eliminando la necesidad de temperatura o radiación que pueda dañar a la molécula molde.

Extracción de la molécula molde.

Esta etapa tiene como finalidad la eliminación de la molécula molde del interior de la matriz polimérica, de manera que se genere una cavidad estable y complementaria en forma y distribución de grupos funcionales a la de dicho compuesto. Esto puede llevarse a cabo, por ejemplo, mediante procesos de lavado, extracción sólido/líquido, tratamiento térmico, digestión en microondas, e incluso utilizando agentes químicos que destruyan la molécula molde. La elección del proce-

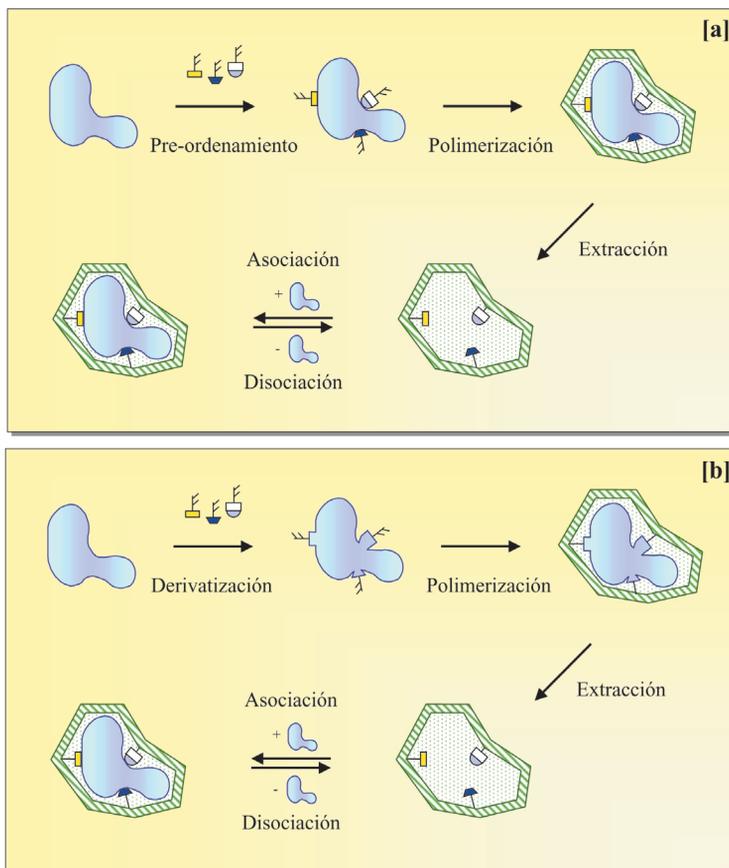


Figura 2: [a] Proceso de impresión molecular no covalente; [b] Proceso de impresión molecular covalente.

dimiento de lavado depende fundamentalmente de la ruta de síntesis elegida. Una simple etapa con un disolvente más polar que el empleado en la síntesis para los polímeros no covalentes o una hidrólisis ácida en el caso de polímeros preparados por vía covalente suelen ser los métodos más ampliamente utilizados.

A la luz de todo lo anterior, se deduce que ambas estrategias presentan ventajas y desventajas. La impresión molecular covalente nos permite obtener sitios de reconocimiento más homogéneos con una elevada constante de afinidad, lo que genera una alta especificidad de reconocimiento hacia la molécula molde. Sin embargo, debido precisamente a estas características, posee como desventajas una baja cinética de enlace y una mayor dificultad a la hora de encontrar reacciones que puedan utilizarse en esta ruta de síntesis. Por otra parte, la impresión no covalente es simple y versátil, con la generación durante su síntesis de una amplia variedad de uniones (iónicas, dipolares, enlaces de H, etc.), análogas a las que tienen lugar en los procesos biológicos. Si bien el tipo de interacciones que se originan son en sí mismas débiles y no específicas, la presencia de múltiples puntos de unión ocasiona la creación de un sitio de reconocimiento altamente selectivo. Esta ruta de síntesis es, además, más flexible en la elección de reactivos y por lo tanto más fácil de implementar. Como desventaja, la impresión no covalente se caracteriza por dejar una distribución no uniforme de sitios de unión debido al alto número de asociaciones que pueden formarse entre la molécula molde y los precursores durante la etapa de preorganización. La consecuencia directa de esto es que, así como una parte del material impreso puede reaccionar de manera favorable con el analito de interés, otra puede hacerlo de forma menos favorable e incluso reaccionar con otras especies químicas.

La mayoría de los trabajos y publicaciones realizadas hasta el momento se basan en el modelo no covalente dada su mayor simplicidad práctica. De hecho, el auge de la técnica de impresión molecular se ha producido a partir de la síntesis de los primeros materiales molecularmente impresos por vía no covalente.

Materiales empleados

La correcta elección de los reactivos a utilizar en la síntesis del material impreso es de máxima importancia ya que de la misma depende que el fenómeno de reconocimiento molecular sea selectivo.

Es posible sintetizar polímeros molecularmente impresos empleando compuestos de diferente naturaleza^[9], por ejemplo: orgánicos (de base acrílica, poliuretanos, poliésteres, etc.), inorgánicos (p.e. polisiloxanos, polisilanos, policarbosilanos) u organometálicos (p.e. poligermanatos o poliestannatos), así como combinaciones de los anteriores.

En la mayor parte de los materiales molecularmente impresos desarrollados hasta el momento se han empleado precursores / monómeros orgánicos; sin embargo, en la última década está cobrando interés la síntesis de materiales

similares pero con base inorgánica, lo que requiere el uso de la tecnología sol-gel.

Polímeros orgánicos

Como se infiere de lo anteriormente expuesto, los componentes fundamentales para la preparación de polímeros molecularmente impresos de naturaleza orgánica son: los monómeros funcionales, el entrecruzador, el iniciador de la polimerización y el disolvente porogénico [Figura 3]. Dado que la técnica más utilizada es la síntesis por vía no covalente, en lo que sigue nos centraremos en este proceso.

a) Monómero funcional

En general, el monómero funcional se selecciona en función de la naturaleza de la molécula molde^[10]. Por ejemplo, si existen en ella grupos funcionales básicos, será adecuado para generar interacciones iónicas o de enlace de hidrógeno el empleo de precursores con grupos funcionales ácidos (ácido acrílico, ácido metacrílico, ácido *p*-vinilbenzoico, etc). Por el contrario, si en la molécula molde hay presentes grupos ácidos la elección más apropiada sería la de bases heteroatómicas débiles como vinil-piridina. Finalmente, en el caso de que la molécula molde fuera capaz de formar complejos con determinados iones, el empleo de monómeros funcionales quelantes como el vinil-imidazol sería la opción más conveniente.

b) Entrecruzador

Para conseguir un reconocimiento molecular adecuado es necesario obtener materiales con una nanoestructura tridimensional apropiada. Esto se logra mediante la copolimerización del "complejo" preformado con agentes entrecruzadores. Entre los más comúnmente utilizados se pueden mencionar el dimetacrilato de etilenglicol y trimetacrilato de trimetilpropano para polímeros acrílicos y metacrílicos, el divinilbenceno para polímeros de estireno así como el triacrilato/tetraacrilato de pentaeritrol para polímeros selectivos a péptidos.

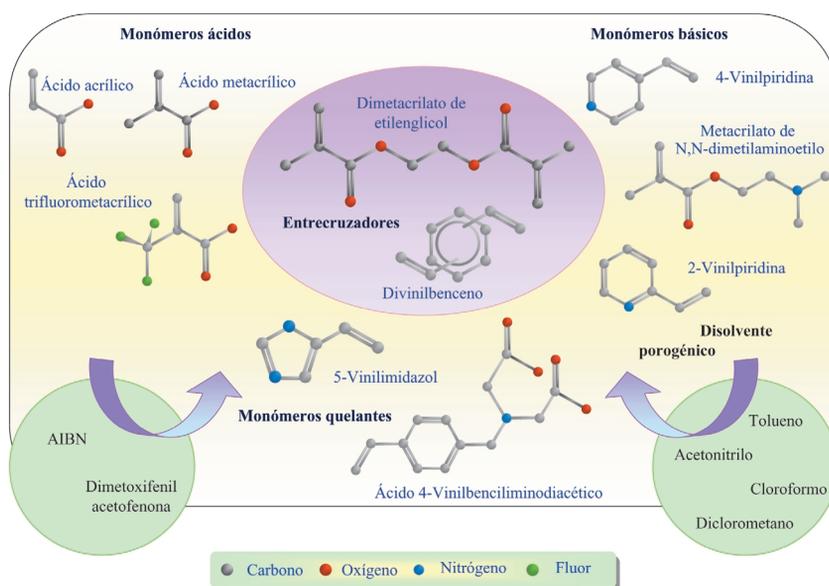


Figura 3: Ejemplo de reactivos necesarios para la obtención de un polímero orgánico.

c) *Iniciador radicalario*

Los iniciadores de la polimerización más empleados son compuestos de tipo azo, tales como el 2,2'-azobisisobutironitrilo o el azobisdimetilvaleronitrilo, con los cuales se consigue una velocidad de descomposición apropiada con un calentamiento de la mezcla de reacción moderado (50–60 °C). Cuando la molécula molde es térmicamente inestable es posible generar radicales libres a baja temperatura, por debajo de 4 °C, mediante radiación UV empleando un fotoiniciador radicalario como, por ejemplo, la dimetoxifenil acetofenona.

d) *Disolvente porogénico*

La elección del disolvente en el que será llevada a cabo la síntesis es crítica en la mayoría de los polímeros impresos. Esto se debe a que la naturaleza del disolvente gobierna la fuerza de las interacciones e influye en la morfología final del material (tamaño y distribución de poros, área superficial), particularmente cuando la síntesis se lleva a cabo por vía no covalente.

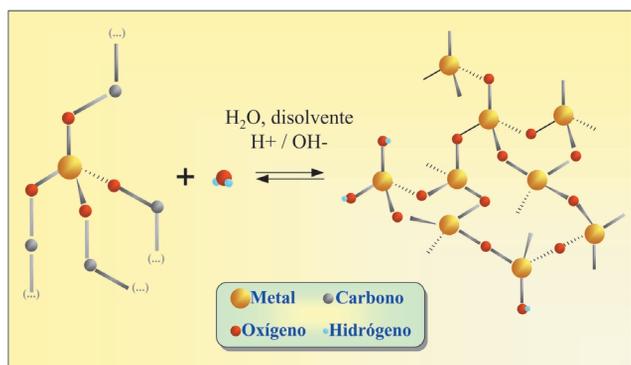


Figura 4: Formación de la red sólida tridimensional en el proceso sol-gel

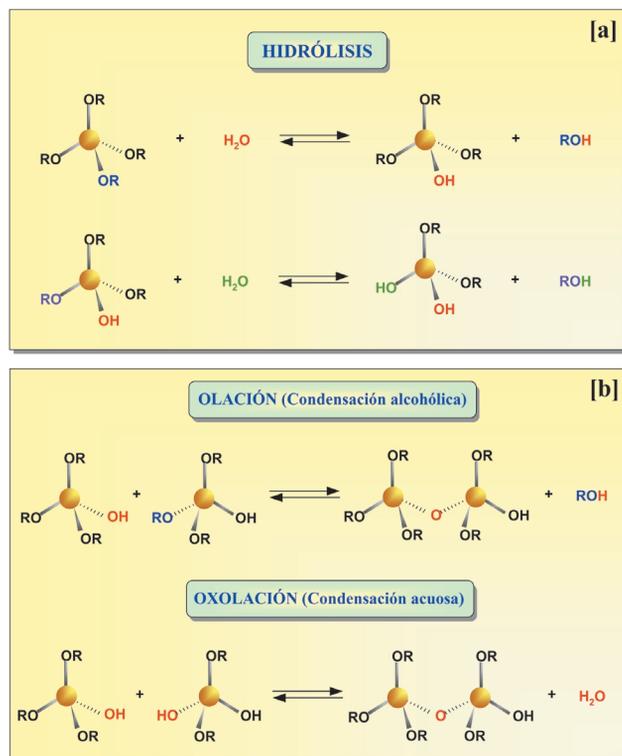


Figura 5: Pasos involucrados en la preparación de un material xero-gel [a] Hidrólisis que involucra la preparación; [b] Condensación.

lente. Debido a la importante participación en la morfología, se suele referir al disolvente como porógeno. Así por ejemplo, los disolventes con polaridad moderada (por ejemplo: acetonitrilo, cloroformo), o con baja constante dieléctrica (por ejemplo: tolueno, diclorometano) son los más utilizados en la síntesis de polímeros orgánicos por vía no covalente ya que favorecen las interacciones entre molécula molde y monómeros funcionales. Si el disolvente es polar, compite con los monómeros funcionales por los puntos de interacción con la molécula molde.

Polímeros inorgánicos

Como ya se ha mencionado, en la última década ha ido ganando importancia el desarrollo de materiales molecularmente impresos derivados de compuestos inorgánicos, sintetizados fundamentalmente a partir del empleo de la tecnología sol-gel.

El proceso sol-gel involucra la fabricación de materiales cerámicos o similares al vidrio a través de la hidrólisis y condensación de alcóxidos metálicos^[11] adecuados. Podríamos describir globalmente este proceso diciendo que se trata de la creación de una red sólida a través de sucesivas reacciones de policondensación en un medio líquido (Figura 4).

Generalmente los precursores alcóxidos que se emplean son del tipo $M(OR)_n$, donde M puede ser Si, Ti, Zr, Al, B, etc. y R es un grupo alquilo (C_xH_{2x+1}). Estos precursores son utilizados disueltos en un disolvente orgánico polar, por ejemplo un alcohol, como agente porogénico y en presencia de una determinada proporción de agua.

Una vez que se ha iniciado la reacción de hidrólisis, las etapas de hidrólisis y condensación sucesivas ocurren simultáneamente. De esta forma, la viscosidad de la disolución se va incrementando gradualmente, desde un sol (suspensión coloidal de partículas muy pequeñas, 1–100 nm) hasta formar una red porosa y rígida de gel. Dependiendo de las condiciones de reacción (por ejemplo, relación $[M]:[H_2O]$, tipo y concentración de catalizador, precursores alcóxidos, etc.) la gelificación puede tener lugar en segundos, minutos, días e incluso hasta meses^[12].

Los pasos de hidrólisis [Figura 5 (a)] y condensación (olación y oxolación) [Figura 5 (b)] generan como subproductos moléculas de bajo peso molecular, tales como alcoholes y agua, que se eliminan durante el proceso de secado originando así una red de MO_2 porosa (Figura 4).

Según sea la elección de los precursores y su proporción, el tipo de catálisis (ácida o básica), el empleo o no de aditivos y el disolvente (Figura 6), el material xero-gel presentará diferente morfología, distribución de tamaño de poro, área superficial específica, polaridad, etc., por lo que esta tecnología permite obtener una gran variedad de materiales con propiedades muy diversas.

Las suaves condiciones de reacción (temperatura ambiente) en las que tiene lugar la formación de esta clase de materiales admiten la inclusión en su estructura de moléculas termo- y/o fotosensibles para las cuales está limitada la síntesis de polímeros orgánicos impresos. Por otra parte, al utilizar la tecnología sol-gel, es posible la síntesis de materiales impresos en medio acuoso, situación complicada en la impresión molecular orgánica, donde el uso de disolventes orgánicos limita su aplicación a moléculas que sean solubles en estos medios.

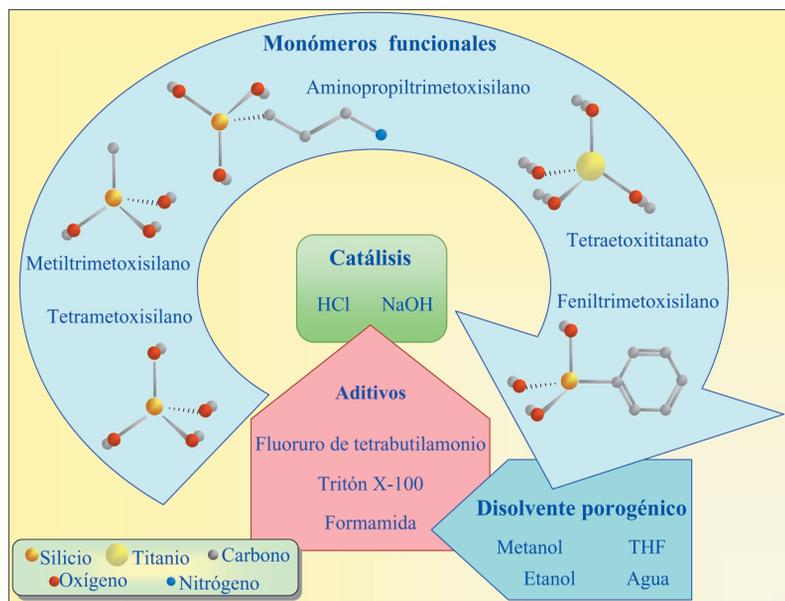


Figura 6: Ejemplo de reactivos necesarios para la obtención de un polímero mediante el proceso sol-gel.

a) Monómeros funcionales: Precursores alcóxidos

Como en el caso de los polímeros orgánicos, la correcta elección del tipo y proporción de los precursores empleados para la síntesis de un xero-gel impreso es un factor sumamente importante, ya que determinará la naturaleza del material, como por ejemplo: balance hidrofílico/hidrofóbico, capacidad de generar enlaces π - π , porosidad, etc.

En los primeros trabajos de impresión molecular empleando la tecnología sol-gel se usaban como precursores silice, metalo-silicatos y óxidos de titanio, aluminio y zirconio. Si bien estos resultan apropiados en muchos casos, también presentan limitaciones en su utilización debido a la carencia de grupos funcionales modificables y a que generan materiales de baja porosidad. Actualmente, la posibilidad de sintetizar materiales híbridos inorgánicos/orgánicos ha abierto un abanico de nuevas opciones. Estos precursores híbridos utilizados en el proceso sol-gel son denominados comúnmente *ormosils* (silanos orgánicamente modificados) y su empleo permite obtener una amplia diversidad de materiales sólo con variar la proporción de los mismos.

b) Aditivos

Durante el proceso de secado los materiales xero-gel pueden sufrir fracturas. Para controlar este fenómeno, se suelen agregar a la mezcla de reacción agentes habitualmente denominados "aditivos químicos para el control del secado" (DCCAs), tales como Tritón X-100, formamida^[13] o sales de amonio cuaternario, los cuales evitan o minimizan las fracturas por secado^[11,14,15].

Entre los DCCAs destaca, en forma especial, en el caso de los geles de silicio, el uso del *fluoruro de tetrabutilamonio*, ya que su presencia juega simultáneamente dos papeles durante el proceso sol-gel. Por un lado, evita las fracturas que se originan en el material durante la etapa de secado debido a la formación de enlaces de hidrógeno entre la superficie de silanoles y el amonio cuaternario^[16] y por otra parte tiene funciones de catalizador, ya que el anión F^- actúa promoviendo la

activación del enlace Si-O, induciendo mediante un mecanismo de catálisis nucleofílica la policondensación de la red a través de enlaces Si-O-Si^[17].

c) Disolvente porogénico

Para la preparación de un material xero-gel se utilizan en general disolventes de elevada polaridad, por ejemplo: agua, etanol, metanol, THF, mezclas de ellos. Tanto la elección del disolvente como su proporción en la mezcla de reacción será un factor de relevancia a considerar ya que variará las características finales del material.

En primer lugar, la relación disolvente/precursor modificará el tamaño de poro y el entrecruzamiento que presentará el material; en segundo lugar, el tipo de disolvente juega un papel importante en la cinética de la etapa de gelificación; siendo en general, mayor el tiempo de este proceso cuanto más voluminosa sea la molécula de éste. Es posible, en consecuencia, alcanzar la viscosidad del sol deseada y determinadas características, con sólo controlar dicho tiempo. Por ejemplo, cuanto mayor sea el tiempo de gelificación mayor será la viscosidad del sol inicial, lo cual originará materiales xero-gel con un mayor grado de entrecruzamiento. Finalmente, es importante tener presente en todo momento las posibles interacciones del disolvente con el resto de los reactivos; por ejemplo: si se utiliza THF y fluoruro de tetrabutilamonio como aditivo, el poder nucleofílico del F^- será menor que si utilizásemos un alcohol, de manera que el poder catalítico de este ión sufrirá una cierta inhibición^[17].

d) Catálisis

El pH del medio de reacción y por lo tanto el tipo de catálisis empleado en el proceso sol-gel es un parámetro que influye notablemente en las características del material^[14].

En condiciones de catálisis ácida^[18], la etapa de hidrólisis [Figura 5 (a)] es la determinante de la velocidad global de reacción lo cual origina materiales débilmente entrecruzados que se compactan fácilmente durante la etapa de secado y generan xero-geles densos, microporosos y de elevada área superficial. Por el contrario, bajo condiciones de catálisis básica^[18], la hidrólisis pasa a ser la etapa rápida, siendo la condensación [Figura 5 (b)] la que determina la velocidad global de reacción dando como resultado cadenas más largas y con mayor entrecruzamiento. Estos materiales no sufren cambios significativos de estructura durante la etapa de secado, generando xero-geles mesoporosos y de porosidad elevada.

Materiales molecularmente Impresos: Configuraciones

Los materiales molecularmente impresos pueden ser preparados en diferentes configuraciones: bloques, láminas, partículas, o esferas, cada una de las cuales presenta ventajas y desventajas según las diferentes aplicaciones para las que se pretenda utilizar el material^[19].

Preparación en bloque

Para la preparación de polímeros impresos de tipo monolítico, una vez que se efectúa la mezcla de reactivos, es necesario esperar el tiempo suficiente para que tenga lugar la polimerización, llevándose a cabo este proceso en un recipiente adecuado. Siguiendo éste procedimiento se obtiene un polímero en bloque que puede ser posteriormente particulado, moliéndolo y tamizándolo antes de su uso [Figura 7 (a)].

Entre las principales desventajas de este proceso podemos mencionar la pérdida de material durante el tamizado, la amplia distribución de tamaño de las partículas y la forma irregular de las mismas. Por otra parte, durante el proceso de molienda se generan calor y tensiones en el material que pueden modificar las características físico-químicas del polímero originando, por ejemplo, nuevos sitios de enlace no específicos.

A pesar de sus desventajas, gracias a su simplicidad, este formato es muy utilizado para evaluar el éxito del proceso de impresión tanto por técnicas dinámicas como estáticas.

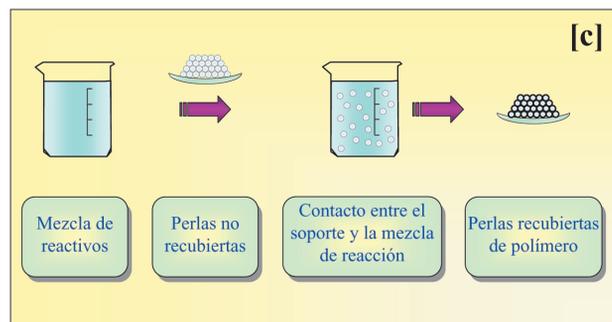
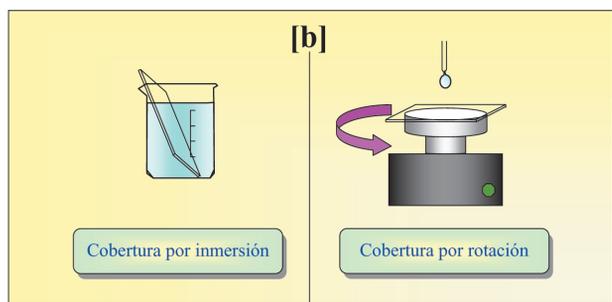
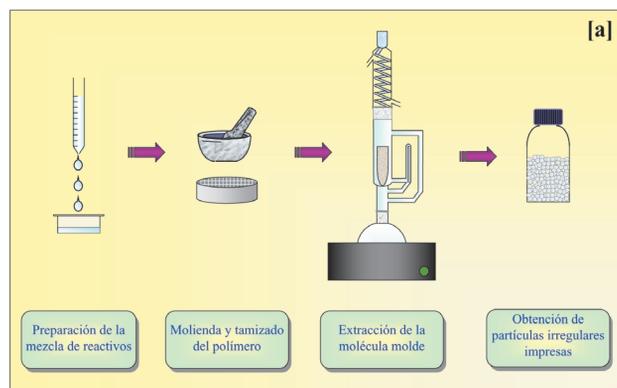


Figura 7: Diferentes configuraciones en las cuales es posible obtener una material molecularmente impreso. [a] Bloque; [b] Láminas delgadas; [c] Esferas recubiertas

Láminas delgadas

Es posible efectuar la preparación de un polímero impreso en láminas delgadas por inmersión del elemento seleccionado como soporte (placa de vidrio, placas de oro, electrodos, etc) en la mezcla de reactivos (cobertura por inmersión o *dip-coating*) o mediante el empleo de un *spin-coater* (cobertura por rotación, o *spin-coating*) [Figura 7 (b)].

Este formato presenta como ventajas la obtención de cavidades con forma y tamaño bien definidos que no sufren alteraciones debido a que no son necesarios procesos de acondicionamiento posteriores (molienda, tamizado) y por la fácil accesibilidad de la molécula en estudio a prácticamente la totalidad de los sitios activos del material. Debido a estas características la configuración en láminas delgadas es la más utilizada para aplicaciones en sensores, principalmente debido a sus rápidos tiempos de respuesta y sencillez de uso.

Partículas esféricas recubiertas

Los polímeros impresos pueden obtenerse en forma de pequeñas esferas del tamaño deseado, si la síntesis del mismo se realiza en condiciones operacionales adecuadas, por ejemplo en presencia de un exceso de disolvente. Ésta configuración presenta el inconveniente de que la partícula en ocasiones no ofrece un fácil acceso al centro de la misma, hecho que dificulta los procesos de lavado y reconocimiento. Para solventar este inconveniente se han venido utilizando partículas esféricas recubiertas. En esta configuración una capa de material molecularmente impreso recubre la superficie de una esfera que ha sido previamente activada. En general se utilizan como soporte perlas de sílice, poliestireno y trimetacrilato de politrimetilolpropano. Los grupos funcionales presentes en estas perlas permiten el anclaje del polímero y por lo tanto un recubrimiento superficial efectivo [Figura 7 (c)]. Al utilizar esta configuración, los sitios de enlace son más accesible para la molécula molde, por lo que la transferencia de masa y cinética de enlace son más rápidas.

Aplicaciones de los Polímeros de Impresión Molecular

Como ha quedado reflejado en los apartados anteriores, la capacidad artificial de reconocer especies (bio)químicas a escala molecular (*biomimetismo*) se desarrolló al tratar de imitar a la naturaleza en el mismo proceso. Así pues, no es de extrañar que las aplicaciones de estos materiales traten, en cierto modo, de imitar también a la naturaleza. Por ejemplo, algunas de las más importantes aplicaciones de los materiales poliméricos impresos son como anticuerpos artificiales y como catalizadores. En el primer caso actúan como sustituyentes de los anticuerpos naturales en algunos ensayos clínicos. En esto, los materiales artificiales ofrecen una mayor estabilidad a largo plazo, condiciones de trabajo más flexibles así como un costo significativamente inferior, aunque es cierto que su selectividad y sensibilidad en algunos casos no son tan buenas como las de los materiales biológicos. En el campo de la catálisis, se emplean materiales impresos que han sido preparados con un análogo estructural del estado de transición de una reacción química. El material así obtenido, tiene entonces la capacidad de incorporar y estabilizar al estado de transición de la reacción en la matriz polimérica, originando

así un efecto catalítico, actuando como un enzima artificial. De esta forma se han catalizado reacciones de hidrólisis^[20], cicloadiciones Diels-Alder^[21] o reacciones en las que participan compuestos organofosforados^[22].

Algunas de las aplicaciones más usuales de los polímeros de impresión molecular se hallan en el campo del análisis clínico, medioambiental y agroalimentario, donde dadas sus características se emplean como fases sensoras, o de retención/liberación selectiva del analito de interés.

Sensores

Un sensor es un dispositivo que debe responder de forma sensible, selectiva, continua, reversible y, en la medida de lo posible, rápida a los cambios espaciales y temporales de concentración de una(s) determinada(s) especie(s) en una muestra. Está implícito, pues, en la definición, que los sensores deben disponer de un elemento de reconocimiento iónico o molecular que le otorgue la capacidad de respuesta selectiva. Si bien los materiales biológicos se emplean con cierta frecuencia como elementos de reconocimiento en los sensores (biosensores), presentan también las desventajas de tener un tiempo de vida muy limitado y unas condiciones físico-químicas (pH, temperatura, concentración salina, disolventes) muy estrictas para su correcto funcionamiento y/o almacenamiento. Por esta razón siempre ha sido deseable el desarrollo de materiales artificiales que, teniendo una selectividad similar a la biológica, no presenten tales limitaciones, siendo los polímeros impresos una alternativa ideal en este sentido.

Además, la versatilidad que muestran estos materiales respecto a su configuración y propiedades hace que sean fácilmente adaptables a diferentes sistemas de transducción (parte del sensor que convierte la información química resultante de la interacción con la fase sensora en una señal medible, generalmente de tipo eléctrico). Así, los materiales impresos se han utilizado en sensores de naturaleza óptica, por ejemplo un sol-gel impreso para el antibiótico nafcilina con transducción por fosforescencia^[23], de tipo metalo-orgánico impreso para histamina con transducción fluorescente^[24], un sensor compuesto por un conjunto de siete polímeros impresos para reconocer siete diferentes aminas aromáticas^[25], o el desarrollo de una nueva clase de inmunoensayo donde se sintetizan polímeros impresos para teofilina y diazepam los cuales actúan imitando los anticuerpos generalmente utilizados para la determinación en suero humano de estas drogas^[26]; sensores másicos empleando microbalanzas de cristal de cuarzo para la detección de vapores de tolueno y p-xileno^[27], para la determinación enantioselectiva de L-triptófano^[28], así como sensores electroquímicos para el análisis de colesterol^[29] o el reconocimiento enantioselectivo de L- y D-tirosina^[30].

Separaciones cromatográficas

Dentro de la química analítica, las técnicas cromatográficas de separación, son las que probablemente se han visto más beneficiadas con el advenimiento de la tecnología de impresión molecular. Pese a la gran selectividad que presentan estos materiales, en ocasiones las adsorciones inespecíficas o las cinéticas lentas dificultan su utilización en el campo de los sensores. Sin embargo, gracias al elevado número de platos teóricos que caracterizan a las técnicas cromatográficas, al

utilizar el material impreso como fase estacionaria, la capacidad de reconocimiento del mismo se ve enormemente potenciada. Se ejerce así una fuerte retención sobre la molécula molde cuando ésta atraviesa el polímero, permitiendo su separación.

La combinación de la impresión molecular con la cromatografía líquida de alta resolución ha resultado tan eficaz, que se han descrito trabajos que permiten la separación de enantiómeros en mezclas racémicas, utilizando como fase estacionaria un polímero impreso con uno de los enantiómeros puros^[31,32].

Extracción en fase sólida (SPE) y adsorbentes

Como extensión de la aplicación como fase estacionaria en cromatografía, los polímeros impresos han sido también ampliamente utilizados como fases estacionarias para la adsorción, preconcentración y purificación de compuestos. De esta forma, se han descrito procedimientos de extracción en fase sólida que emplean polímeros impresos para la preconcentración de pesticidas o herbicidas en muestras acuosas^[33,34].

El procedimiento es muy similar al cromatográfico, y consiste en empaquetar el polímero impreso en un cartucho de extracción en fase sólida donde, posteriormente, se retiene el analito de interés. Recientemente, la compañía *MIP Technologies* ha empezado a comercializar un cartucho para extracción en fase sólida empleando un polímero impreso para cloramfenicol; la importancia de la detección de este compuesto se debe a que su nivel de tolerancia en alimentos es cero debido a sus posibles efectos cancerígenos^[35]

Dispensadores de medicamentos

Desde el punto de vista de alguien no dedicado a la química analítica, las aplicaciones de la tecnología de impresión molecular en farmacología y química médica resultan mucho más fascinantes y atractivas, aproximándose en algunas ocasiones a la ciencia-ficción.

La aplicación más sencilla de estos materiales es como dispensadores de medicamentos en forma controlada (en inglés, *Drug-deliverers*). La habilidad del polímero molecularmente impreso para unirse al analito (fármaco) de interés con elevada afinidad ha permitido su aplicación, por ejemplo como excipiente^[36]. La permeabilidad a través del material impreso será más lenta que la que ocurre si se utilizase uno no impreso; de esta forma, es posible extender el perfil de liberación del principio activo modificando la composición del polímero empleado^[37].

Pero el potencial de estos materiales va más allá. Recientemente, se están llevando a cabo investigaciones que pretenden utilizar polímeros impresos como portadores inteligentes de medicamentos. Una de las formas más sencillas de hacerlo consiste en liberar el producto mediante un desplazamiento competitivo del mismo con una molécula estructuralmente análoga, que actuaría como activador de la dosificación. Alternativamente, podrían diseñarse polímeros impresos con actividad "alostérica"^[37], es decir, con capacidad de liberar el medicamento al reaccionar con una molécula diferente, que sería el activador en este caso.

En teoría, sería incluso posible que este diseño alostérico de

los polímeros impresos permitiera la liberación del medicamento en el interior de determinadas células, convirtiéndose en una poderosa herramienta contra enfermedades como las producidas por algunos virus o el cáncer^[38].

Catalizadores

Otra de las aplicaciones más extendidas de los polímeros de impresión molecular es como catalizadores. Se ha demostrado que si se obtienen anticuerpos para moléculas similares al estado de transición de una reacción química, pueden ser empleados como catalizadores de la misma^[39]. Basándose en este principio, otros autores diseñaron y sintetizaron materiales impresos con análogos estructurales, de forma que los polímeros obtenidos pueden ser empleados como catalizadores^[40]. El primer ejemplo de sílice impresa empleada para catalizar una reacción química fue publicado por Morihara y colaboradores^[41]. En este trabajo la sílice se imprimió con un análogo estructural del estado de transición para la butanolisis del anhídrido benzoico, resultando un polímero con capacidades catalíticas para la mencionada reacción. Una variante a la impresión clásica de sílice es la llevada a cabo por Katz y Davis, en la que se modifica superficialmente la sílice amorfa empleando un compuesto aromático con sustituyentes silanos. La posterior eliminación de los grupos aromáticos, genera un material que actúa como catalizador morfoselectivo^[42]. Los polímeros orgánicos también pueden utilizarse con esta finalidad. Zhang y colaboradores, han empleado monómeros orgánicos para sintetizar materiales impresos empleados como nanorreactores para una reacción regioselectiva de cicloadición^[43].

Adicionalmente, pueden generarse materiales impresos a partir de complejos metálicos polimerizables. Becker y Gagné, por ejemplo, aprovechan la sinergia entre la química de coordinación y el fenómeno de impresión molecular para la búsqueda de nuevos materiales catalíticos^[44].

Conclusiones

La técnica de impresión molecular se ha establecido recientemente como una alternativa prometedora a los materiales biológicos empleados clásicamente en diferentes aplicaciones químicas, con características atractivas como por ejemplo su bajo coste, resistencia, versatilidad, alta selectividad y sencillez de preparación. Aunque el método más empleado para la optimización de la composición de los materiales impresos sigue siendo meramente experimental, cada vez se tiende más a las aproximaciones más racionales como son el empleo de programas de ordenador basados en cálculos computacionales de dinámica molecular.

Las aplicaciones de los materiales impresos se han orientado fundamentalmente a la rama analítica de la química, donde su empleo como fases estacionarias en cromatografía de líquidos supone uno de sus usos más extendidos. Sin embargo, estos materiales han sido empleados con resultados satisfactorios en otros campos del análisis químico como los sensores o la extracción en fase sólida, así como en otras áreas de la química como la catálisis.

Aunque en las últimas décadas se ha avanzado mucho en la tecnología de impresión molecular, aún queda mucho camino por delante, especialmente en lo que se refiere a la síntesis y diseño racional de los materiales. Especialmente, los mate-

riales inorgánicos e híbridos merecen una mayor atención, dado su potencial y su escaso desarrollo hasta la fecha.

Más información

Para los lectores que deseen ampliar sus conocimientos sobre el tema de la tecnología de la impresión molecular, los autores recomiendan la siguiente bibliografía:

- "Molecularly Imprinted Polymers", M. E. Díaz-García, A. Fernández-González, *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, **2005**, Ed. Elsevier, 2ª edición.
- "Molecularly Imprinted Materials: Science and Technology", M. Yan, O. Ramström, Ed. CRC, **2004**, 1ª edición.
- "Molecular imprinting in Sol-Gel materials: Recent developments and applications", M. E. Díaz-García, R. Badía, *Microchimica Acta*, **2005**, *149*, 19–36.
- "Sol-Gel Materials: Chemistry and Applications", J. D. Wright, N. A. J. M. Sommerdijk, Ed. CRC, **2001**, 1ª edición.
- "Mimicking molecular receptors for antibiotics – analytical implications", A. Fernández-González, L. Guardia, R. Badía, M. E. Díaz-García, *Trends in Analytical Chemistry*, **2006**, *25(10)*, 949–957.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento a las doctoras Marta Elena Díaz-García y Rosana Badía, (responsables del grupo de investigación "Sensores Ópticos y Bioanálisis" del Departamento de Química Física y Analítica, Facultad de Química, Universidad de Oviedo) por la orientación y aportaciones recibidas en la confección del presente artículo.

Laura Guardia y Alfonso Fernández González agradecen a la Consejería de Educación y Ciencia del Principado de Asturias y a la Fundación para el Fomento en Asturias de la Investigación Científica Aplicada y la Tecnología (FICYT) la concesión de una beca predoctoral y la financiación mediante el proyecto IB05-012, respectivamente.

Bibliografía

- [1] E. Fischer, *Ber Dtsch. Chem. Ges.* **1894**, *27*, 2985–2993.
- [2] M. W. G. Bolster, *Pure & Applied Chemistry*, **1997**, *69(6)*, 1251–1303.
- [3] R. E. Fairhurst, C. Chassaing, R. F. Venn, A. G. Mayes, *Biosensors and Bioelectronics*, **2004**, *20(6)*, 1098–1105.
- [4] A. Olwill, H. Hughes, M. O'Riordain, P. McLoughlin, *Biosensors and Bioelectronics*, **2004**, *20*, 1045–1050.
- [5] M. N. Velasco García, T. Mottram, *Biosystems Engineering*, **2003**, *84(1)*, 1–2.
- [6] P. Manesiotis, A. J. Hall, J. Courtois, K. Irgum, B. Sellaergren, *Angewandte Chemie*, **2005**, *44(25)*, 3902–3906.
- [7] A. Rachkov, N. Minoura, *Biochemical and Biophysical Acta*, **2001**, *1544(1–2)*, 255–266.
- [8] F. L. Dickert, O. Hayden, *Analytical Chemistry*, **2002**, *74(6)*, 1302–1306.
- [9] V. Chandrasekhar, "Inorganic and organometallic polymers", Springer Ed., **2005**.
- [10] S. Al-Kindy, R. Badía, J. L. Suárez-Rodríguez, M. E. Díaz-García, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, **2000**, *30(4)*, 291–309.
- [11] C. Brinker, G. Scherer, *Academic Press, New York*, **1990**, 907.

- [12] M. M. Collinson, *Trends in Analytical Chemistry*, **2002**, 21(1), 30–38.
- [13] R. F. S. Lenza, W. L. Vasconcelos, *Materials Research*, **2001**, 4(3), 189–194.
- [14] G. Orcel, L. L. Hench, I. Artaki, J. Jones, T. W. Zerda, *Journal of Non-Crystalline Solids*, **1988**, 105(3), 223–231.
- [15] N. de la Rosa, L. Esquivias, *Journal of Material Science Letters*, **1991**, 10(21), 1237–1242.
- [16] O. Lev, *Analisis*, **1992**, 20(9), 543–553.
- [17] B. Boury, R. J. P. Corriu, V. Le Strat, P. Delord, *New Journal of Chemistry*, **1999**, 23, 531–538.
- [18] A. M. Buckley, M. Greenblatt, *Journal of Chemical Education*, **1994**, 71(7), 599–602.
- [19] M. E. Díaz-García, A. Fernández-González, "Molecularly imprinted polymers". *Encyclopedia of Analytical Sciences*, 2ª edición, Elsevier Ltd., **2005**, 172–182.
- [20] Y. Kawanami, T. Yunoki, A. Nakamura, K. Fujii, K. Umamo, H. Yamauchi, K. Masuda, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, **1999**, 145(1–2), 107–110.
- [21] A. Visnjovski, R. Schomäcker, E. Yilmaz, O. Brüggemann, *Catalysis communications*, **2005**, 6(9), 601–606.
- [22] R. Say, M. Erdem, A. Ersöz, H. Türk, A. Denizli, *Applied Catalysis A: General*, **2005**, 286(2), 221–225.
- [23] A. Fernández-González, R. Badía, M. E. Díaz-García, L. Guardia, A. Viale, *Journal of Chromatography. B.*, **2004**, 804, 247–254.
- [24] A. Tong, H. Dong, L. Li, *Analytical Chimica Acta*, **2002**, 446(1), 31–37.
- [25] N. T. Greene, K. D. Shimizu, *Journal of the American Chemical Society*, **2005**, 127(15), 5695–5700.
- [26] G. Vlatakis, L. I. Andersson, R. Müller, K. Mosbach, *Nature*, **1993**, 361, 645–647.
- [27] M. Matsuguchi, T. Uno, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **2006**, 113(1), 94–99.
- [28] F. Liu, X. Liu, S-C. Ng, H. S-O. Chan, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **2006**, 113(1), 234–240.
- [29] L. C. S. Chou, C-C. Liu, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **2005**, 110(2), 204–208.
- [30] H-J. Liang, T-R. Ling, J-F. Rick, T-C. Chou, *Analytica Chimica Acta*, **2005**, 542(1), 83–89.
- [31] D. Wistuba, V. Schurig, *Journal of Chromatography A*, **2000**, 875 (1–2), 255–276.
- [32] H. Y. Aboul-Enein, R. I. Y. Stefan, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, **1998**, 28(3), 259–266.
- [33] R. Carabias-Martínez, E. Rodríguez-Gonzalo, E. Herrero-Hernández, M. E. Díaz-García, *Journal of Separation Sciences*, **2005**, 28, 453–461.
- [34] J. Bastide, J. P. Cambon, F. Breton, S. A. Piletsky, R. Rouillon, *Analytica Chimica Acta*, **2005**, 542(1), 97–103.
- [35] MIP Technologies (<http://www.miptechnologies.com>).
- [36] C. J. Allender, C. Richardson, B. Woodhouse, C. M. Heard, K. R. Brain, *International Journal of Pharmaceutics*, **2000**, 195, 39–43.
- [37] S. Shinkai, M. Takeuchi, *Biosensors and Bioelectronics*, **2004**, 20(6), 1250–1259.
- [38] B. Sellergren, C. J. Allender, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2005**, 57, 1733–1741.
- [39] X. Zhu, A. Heine, F. Monnat, K. N. Houk, K. D. Janda, I. A. Wilson, *Journal of Molecular Biology*, **2003**, 329, 69–83.
- [40] G. Wulff, *Chemical Reviews*, **2002**, 102(1), 1–27.
- [41] K. Morihara, S. Kurihara, J. Suzuki, *Bulletin Chemical Society of Japan*, **1988**, 61, 3991–3998.
- [42] A. Katz, M. E. Davis, *Nature*, **2000**, 403(6767), 286–289.
- [43] H. Zhang, T. Piacham, M. Drew, M. Patek, K. Mosbach, L. Ye, *Journal of the American Chemical Society*, **2006**, 128(13), 4178–4179.
- [44] J. J. Becker, M.R. Gagné, *Accounts of Chemical Research*, **2004**, 37(10), 798–804.



CURSOS DE VERANO 2007

Escuela de Verano sobre Historia de la Química

Programa

El curso se estructura en seis bloques docentes durante tres días.

- Bloque 1. Alquimia y tecnología química hasta el Renacimiento.
- Bloque 2. La Química a lo largo de la Historia. Siglos XVIII y XIX.
- Bloque 3. La Química de los siglos XIX y XX.
- Bloque 4. El año de Mendeléiev (1834–1907).
- Bloque 5. Aspectos metodológicos y didácticos de la Historia de la Química.
- Bloque 6. La Historia de la Química como asignatura.

Director

Dr. D. Pedro J. Campos García - Catedrático de Química Orgánica.
Universidad de La Rioja.

Entidades colaboradoras

RSEQ – Ministerio de Educación y Ciencia.

Más Información:

Fundación de la Universidad de La Rioja
Cursos de Verano
Avenida de la Paz, 107
26006 Logroño (La Rioja) España
Tel: + (34) 941 299 184
Fax: + (34) 941 299 183
C-e: cursosdeverano@unirioja.es