

# SZAKMAI ZÁRÓJELENTÉS

OTKA azonosító: T048912

Vezető kutató: Dr. Horváth Viola

A téma címe: Molekuláris lenyomatot tartalmazó polimerek vizsgálata

A kutatás időtartama: 2005. 01.01.-2008. 12. 31.

## A PROJEKT EREDMÉNYEINEK KÖZLÉSE

A kutatási periódusban munkánk eredményeként 6 tudományos közlemény jelent meg és 3 tudományos közlemény kéziratát beküldtük, amelyből egyet már közlésre elfogadtak. 11 konferencián ismertettük a kutatással kapcsolatos eredményeinket. A munka során 2 diplomamunka született és egy Ph.D. értekezés írása van folyamatban.

## A PROJEKT CÉLKITŰZÉSEI

A pályázat munkatervében célul tűztük ki, hogy tisztázzuk a molekuláris lenyomatú polimerek (MIP-ek) működésének mechanizmusát, a kötőhelyek szelektivitásának és affinitásának eredetét a polimerek szerkezetének függvényében vizsgálva. A kapott eredmények alapján a MIP-ek működésével kapcsolatos problémákra, úgymint a pl. a kötőhely heterogenitás, vizes közegben történő imprintelés, illetve templát felismerés szerettünk volna megoldást kapni. A MIP-ek előállításának felgyorsítására egy új módszert kívántunk bevezetni, ahol nem egy adott templáthoz keresünk megfelelő polimerizációs rendszert, hanem adott polimerizációs rendszerhez screenelünk sokféle templátot.

## SZEMÉLYI VÁLTOZÁSOK

A kutatásban az egyik résztvevő kutató, Zsebi Zoltán doktoráns nem tudott a teljes projekt időtartama alatt résztvenni, csak az első két évben, mivel időközben lejárt az ösztöndíja.

## KÖLTSÉGTERVTŐL VALÓ ELTÉRÉSEK INDOKLÁSA

A tervezett beruházások helyett a Műszaki és Természettudományi Kollégium engedélyével egy víztisztító készüléket vásároltunk, mivel a korábbi készülékünk meghibásodott és enélkül gyakorlatilag lehetetlen volt dolgoznunk.

Az Egyéb rovaton történt költségűllépést az indokolta, hogy az új polimerizációs módszerrel, viszkózus oldószerben előállított MIP-ek porozitásának feltérképezéséhez nitrogén adszorpciós izoterma mérést végeztünk 200.000 Ft-ért.

## A TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK BEMUTATÁSA

### **A molekuláris lenyomatú polimerek kötőhely heterogenitásának, szelektivitásának vizsgálata**

A MIP-ek nagyteljesítményű kromatográfiai (HPLC) alkalmazásait bemutató közlemények általában olyan elválasztásokat mutatnak be ahol a szelektivitás kiváló, de az oszlop hatékonysága rendkívül alacsony. A rossz hatékonyság, vagyis a jelentős csúcshézesedés és a csúcsok feltűnő aszimmetriájának magyarázatául általában a MIP szemcsék nem gömbszerű alakját, túl nagy méretét és széles méreteloszlását, illetve a templát kötőhelyek inhomogenitását hozzák fel.

Több eredményes kísérlet is történt homogén méreteloszlású, néhány mikrométer átmérőjű gömbszimmetrikus MIP szemcsék előállítására, de ezek nem hozták meg a várt hatékonyság javulást. Mosbach és munkatársai szilikagél alapú kromatográfiás állófázispórusaiba való polimerizációval készítettek szilikagél-MIP kompozitokat és jelentős tányérszám növekedésről számoltak be<sup>1</sup>.

Vizsgálataink során fenitoinra szelektív szilikagél-MIP kompozitot és hagyományos tömbpolimert készítettünk és a kapott anyagokat elektronmikroszkóppal és a nitrogén adszorpciós izoterma felvételével, továbbá kromatográfiás oszlopba töltve jellemeztük. A szilikagél-MIP kompozit fenitoin injektálásakor kapott kromatográfiás csúcsának áramlási sebesség függését és oszlophossz függését vizsgálva megállapítottuk, hogy az állófázis a nem-lineáris kromatográfiás elméletnek megfelelően viselkedik, a csúcs a kezdeti, szinte függőleges felszálló ág után nagyon elnyúltan csökken, amely szakaszt a következő összefüggés ír le.

$t(c) = t_0(1 + F \frac{dq}{dc})$ , ahol  $t_0$  az oszlop holtideje,  $F$  a fázisarány és az utolsó kifejezés az izoterma deriváltja  $c$  koncentrációnál.

Összehasonlítva a kompozitot a tömbpolimerrel azt kaptuk, hogy a két állófázis adszorpciós izotermája jó közelítéssel megegyezik. A szilikagél-MIP kompozit állófázison kapott kromatográfiás csúcs látszólagos nagyobb tányérszáma abból adódik, hogy az oszlopba töltött MIP mennyisége kisebb, mintha a tömb MIP-et töltjük az oszlopba, így a fázisarány kisebb és a csúcs előbbre tolódik, félértékszélessége csökken. Méréseinkkel bebizonyítottuk, hogy a kompozit szilikagél-MIP-ek kromatográfiásan kedvezőbb csúcsalakja nem a gömbszimmetrikus kis szemcseméret eredménye, hanem a nem-lineáris kromatográfiás viselkedésből vezethető le. (Tóth B., László K., Horvai G. *Chromatographic behavior of silica-polymer composite molecularly imprinted materials* *J. Chromatogr. A*, **1100**, 60-67 (2005) IF=3,641)

Guiochon és munkatársai néhány MIP esetében korábban megállapították, hogy ezek kromatográfiás viselkedése a nem-lineáris kromatográfia elméletével magyarázható<sup>2</sup>. Saját- és irodalmi kísérleti adatok alapján általánosítottuk a Guiochon csoport eredményeit. Állításukkal szemben, mely szerint nagyon kis koncentrációk esetén az izoterma lineárisává válik, igazoltuk, hogy a MIP-ek adszorpciós izotermája sok esetben még nagyon kis koncentrációk esetén sem lineáris. A csúcsalak javulása a MIP szemcsealakjának és méretének szabályozásával, vagy a kötőhelyek heterogenitásának csökkentésével (amikre sok próbálkozás irányult eddig) tehát alig várható. A nem-lineáris izoterma további következménye, hogy az eddig a MIP-ek jellemzésére alkalmazott mennyiségek (retenciós tényező, szelektivitás, imprintelési tényező) a koncentrációfüggésük miatt nem felelnek meg ennek a célnak. Ezt az állításunkat kísérletileg is bizonyítottuk a fenitoin MIP-en, mint állófázison mérve a templátot és egy zavaró komponenst, timint. Helyette a MIP izotermájának valamilyen módon történő megadása az, amely jellemző az adott polimerre és összehasonlíthatóvá teszi más polimerekkel. (Tóth B., Pap T., Horváth V., Horvai G. *Nonlinear adsorption isotherm as a tool for understanding and characterizing molecularly imprinted polymers* *J. Chromatogr. A* **1119**, 29-33 (2006) IF=3,641; Tóth B., Pap T., Horváth V., Horvai Gy. *Molekuláris lenyomatú polimerek: kombinatorikus előállítás, nemlineáris kromatográfia és pszeudo-immunanalítika* *Magy. Kém. Foly.* **111**(3), 110-113 (2005))

<sup>1</sup> Yilmaz E., Ramstrom O., Moller P., Sanchez D., Mosbach K. *J. Mater. Chem.* **12**, (2002) 1577

<sup>2</sup> Sajonz P., Kele M., Zhong G.M., Sellergren B., Guiochon G. *J. Chromatogr. A* **810**, (1998) 1  
Chen Y.B., Kele M., Sajonz P., Sellergren B., Guiochon G. *Anal. Chem.* **71**, (1999) 928

Vizsgáltuk az összefüggéseket a MIP-ek jellemzésére használt különböző paraméterek, mint pl. az izoterma, a kötőhely modellek, a kromatográfiás  $k$  és  $\alpha$  értékek stb. között, mivel ezek a MIP-ek különböző alkalmazásaihoz (HPLC, SPE, ligandum kötő assay, extrakció szorbens, szenzor) kapcsolódnak. Számítógépes szimulációval bebizonyítottuk, hogy az elúciós kromatográfiás jellemzéskor kapott  $\alpha$  értékek olyan látszólag jelentéktelen tényezőktől is függenek, mint az oszlop hossza, vagy átmérője. Ezért az elúciós kromatográfia - ami a legelterjedtebben alkalmazott módszer a MIP-ek jellemzésére - nem igazán alkalmas erre a feladatra. A MIP-ek jellemzésére az adszorpciós izoterma kimérése lenne a legpontosabb, de ez nagyon sok és nagy precizitású mérést igényel. Az újonnan készült MIP-ek gyors és összehasonlítható jellemzésére a megoszlási hányadost és a hozzátartozó egyensúlyi oldatkoncentrációt, mint könnyen mérhető és könnyen értékelhető mennyiséget javasoljuk, mert ez kielégítő információt nyújt a MIP különböző applikációkban (szenzor, szorbens, ligandum kötő assay stb.) való alkalmazhatóságáról. ((Tóth B., Pap T., Horvath V., Horvai G. *Which molecularly imprinted polymer is better?* *Anal. Chim. Acta* **591**, 17-21 (2007) IF=3,186; Pap T., Horvath V., Horvai G. *Molecularly imprinted polymer for analytical chemistry* *Chemia Analityczna* **50**(1), 129-137 (2005) IF=0,529)

A molekuláris lenyomatú polimerekben előállításuk során különböző erősségű kötőhelyek alakulnak ki. Általános vélekedés, hogy a templát kis koncentrációjú oldatában elsősorban a nagy affinitású kötőhelyek kötnek, a templát koncentrációját növelve a kisebb erősségű kötőhelyek is elkezdődnek telítődni. Ez azt jelenti, hogy a zavaró anyag jelenlétében a MIP szelektivitása a zavaró anyagra nézve csökken a koncentráció növelésével. Ennek kísérleti igazolására fenitoinra imprintelt polimeren vizsgáltuk a polimer szelektivitását zavaró komponens (hidroxifenitoin, illetve metilfenitoin) jelenlétében. Az eredmények azt mutatják, hogy a templát és zavaró anyag koncentrációját változtatva bő két nagyságrenden keresztül, a polimer szelektivitása szinte alig változik.

### **A molekuláris lenyomatképzés vizsgálata a polimerizáció során. Új polimerizációs eljárások.**

#### *Polimerizáció gamma-sugárzással történő iniciálással*

A termikusan és UV fényel inicializált polimerizációval ellentétben a gamma-sugárzással történő láncindítás lehetővé teszi az iniciátor nélküli polimerizációt, használatához nem szükséges magas hőmérséklet, és a gamma sugárzás nagy áthatoló képessége miatt a polimerizálandó elegy nagy térfogatában is homogén a láncindítás. Az irodalomban korábban kevés gamma-polimerizációval előállított MIP-et írtak le<sup>3</sup> és nem foglalkoztak a polimerizációs folyamat vizsgálatával. A különböző ideig tartó besugárzás és a keletkezett polimer, illetve az átalakulatlan monomerek mennyiségének mérése alkalmas a polimerizációs reakció előrehaladásának vizsgálatára. Ily módon fenitoinra szelektív MIP polimerizációs reakciójának kinetikáját követtük a besugárzási dózis változtatásával és vizsgáltuk a dózisteljesítmény hatását is. A MIP és a NIP (nem imprintelt polimer) esetében a monomerek konverziója hasonló kinetikát követ, a templátnak tehát nincs hatása a polimerizáció sebességére. A keresztkötő etilén-glikol dimetakrilát (EDMA) sokkal gyorsabban elreagál azonban, mint a metakrilamid funkcionális monomer. Vizsgáltuk a polimerizációs folyamat előrehaladtával a kialakuló MIP-en, illetve NIP-en a fenitoin megoszlási hányadosát. Nagyon érdekes, hogy a polimerizációs folyamatnak a korai szakaszában is már jóval nagyobb a MIP kötőkapacitása, mint a NIP-é. Ekkor a polimer még gélszerű állapotban van. Ez azt jelenti, hogy a szelektív kötőhelyek már akkor kialakulnak,

<sup>3</sup> Milojkovic S.S., Kostoski D., Comor J.J., Nedeljkovic J.M. *Polymer* **38**, (1997) 2853

Sreenivasan K. *Polymer Gels Netw.* **5**, (1997) 17.

Sreenivasan K. *Polym. Int.* **42**, (1997) 169.

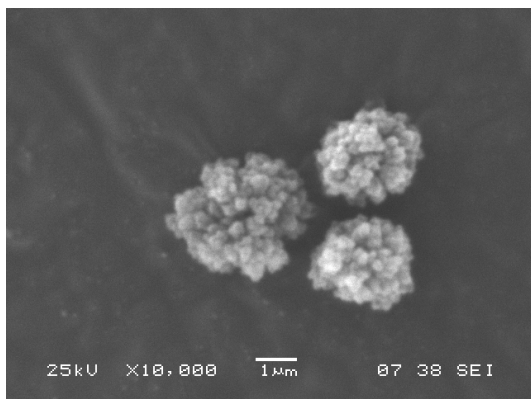
amikor a merev struktúra még nem jött létre. A szükséges sugárdózis optimumának meghatározása után megállapítottuk, hogy a gamma-polimerizációval készült MIP a termikusan, vagy UV-polimerizált MIP-ekhez hasonló szelektivitással bír, azonban fenitoinkötő kapacitása határozottan nagyobb. (Zsebi Z., Horvath V., Safrany Á., Horvai G. *Analytical followup of the gamma initiated synthesis of a molecularly imprinted polymer Anal. Chim. Acta* 608, 197-203 (2008) IF=3.186)

Vizsgáltuk három gyakran alkalmazott funkcionális monomer felhasználásával termikus polimerizáció esetén is a NIP-ek polimerizációs kinetikáját. A három vizsgált polimer a poli-(metakrilamid-ko-EDMA), poli-(metakrilsav-ko-EDMA) és poli-(vinilpiridin-ko-EDMA) kopolimerek voltak. Ezek amid-, bázikus, illetve savas jellegű vegyületek megkötésére alkalmasak. Időben követve a monomerek konverzióját azt tapasztaltuk, hogy a metakrilsav és metakrilamid esetén a keresztkötő gyorsabban elfogy és a polimerizáció vége felé már csak a funkcionális monomerek épülnek be. A vinilpiridin esetén a funkcionális monomer és a keresztkötő végig azonos százalékban épül be a polimerbe.

#### Polimer szemcsék előállítása viszkózus polimerizációs oldószerben

A szabályos gömb alakú MIP szemcsék előállítása számos alkalmazásnál előnyös. Az egyik legegyszerűbb és legeredményesebb módszer erre az ún. precipitációs polimerizáció, ahol a polimerizációs elegy nagyon híg, a monomer koncentráció kisebb, mint 5 m/m%, szemben a hagyományos tömbpolimerizációval, ahol a monomer koncentráció 40-50 m/m%. Sikertű szabályos szemcsés, terbutilazinra szelektív molekuláris lenyomatú polimert előállítanunk tömény polimerizációs elegyből (25-40 m/m%) úgy, hogy a polimerizációs oldószer (toluol) egy részét paraffinolajjal helyettesítettük. Vizsgáltuk, hogy a szemcsék milyen monomer koncentrációnál, és milyen paraffinolaj tartalomnál jönnek létre. Elektronmikroszkóppal megállapítottuk ezek morfológiáját (1. ábra), N-adszorpciós izoterma mérésel pedig a pórusszerkezetüket.

#### **1. ábra: Viszkózus oldószerben készült MIP szemcsék elektronmikroszkópos képe**



Batch visszakötődés mérésel meghatároztuk a polimerek megoszlási hányadosát és szelektivitását. Meglepő módon a paraffinolaj jelenlétében készült nem-imprintelt polimerek egyáltalán nem kötötték a templátot, míg az összehasonlításként hagyományos tömbpolimerizációval, illetve precipitációs eljárással készültek igen. Vizsgálataink bebizonyították, hogy ezek a hagyományos eljárással készült MIP-ekkel szemben sokkal kevésbé hidrofóbak, vizes közegben sokkal kisebb a nonspecifikus kötődés a polimeren. A paraffinolajat más

oldószerrel (pl. növényi olaj, disznózsír, glicerin, lanolin) helyettesítve sikerült felderítenünk ennek a polimer szemcséket eredményező, szokatlan polimerizációs mechanizmusnak az okát, amely az oldószer nagy viszkozitásában keresendő. (Horvath V., Lorántfy B., Tóth B., Bognár J., Horvai G. *Preparation of terbutylazine imprinted polymer microspheres using viscous polymerization solvents* kézirat beküldve a „Talanta”-ba IF=3.374)

#### **Inverz kombinatorikus szintézis MIP-ek előállítására**

A MIP-ek egyik ígéretes alkalmazási területe a szilárd fázisú extrakció (SPE) szorbensként való felhasználás analitikai mintaelőkészítésekhez. Ilyen polimerek már kereskedelemben is

kaphatók néhány templátra, illetve a gyártó cégek vállalják egyedi igény szerinti templátokra is ezen SPE szorbensek kifejlesztését. Ennek a meglehetősen hosszadalmas folyamatnak a lerövidítését úgy próbáltuk megoldani, hogy nem a templáthoz keresünk megfelelő polimerizációs körülményeket (funkcionális monomert, keresztkötőt stb.) hanem a leggyakrabban sikerrel alkalmazott polimer receptúrákkal „screen-elünk” egyszerre sokféle templátot. A kísérleteket az irodalomban leírt ún. miniMIP technikával<sup>4</sup> végeztük, amely lehetővé teszi egyszerre sok, néhány milliméter vastag polimer minta előállítását pl. mintaváltó üvegcsékben, vagy mikrotiter tálcán, ezek kimosását és a templátkötő képességük vizsgálatát és elkerüli a nagyobb mennyiségben tömbpolimerizációval előállított MIP-ek hosszadalmas feldolgozását, amely a polimer porításából és szemcseméret szerinti frakcionálásából áll. Az inverz kombinatorikus megközelítés alapján három alapreceptúrát használtunk, melyek savas, bázikus, illetve amid csoportokat tartalmazó templátokra általában jól működnek irodalmi adatok alapján.

Több bázikus sajátságú gyógyszermolekulára készítettünk kis mennyiségű miniMIP-et metakrilsvav funkcionális monomert, etilén-glikol-dimetakrilát (EDMA) keresztkötő monomert és termikus inicializálást alkalmazva. A polimerek szelektivitását batch adszorpcióval értékeltük. A gyógyszermolekulák közül két nagyon ígéretes adódott, a cimetidin és a papaverin. Ezeket a MIP-eket előállítottuk nagy mennyiségben, tömbpolimerizációval. A papaverin MIP nagy mennyiségben előállítva sajnos nem mutatott olyan jó kötőkapacitást és szelektivitást, mint kis mennyiségben szintetizálva. Ez valószínűleg annak köszönhető, hogy nagy mennyiségű tömbpolimer előállításakor a tömbfázis belsejének hőmérséklete jóval meghaladja a polimerizációra beállított termosztálási hőmérsékletet, ami a templát-monomer komplexek felbomlásához vezethet. A cimetidin MIP viszont nagy mennyiségben előállítva is szelektívnek és kiemelkedően nagy kapacitásúnak bizonyult, ami előnyössé teszi szelektív adszorbensként való felhasználását (G. Ceolin, F. Navarro-Villoslada, M. C. Moreno-Bondi, G. Horvai, V. Horvath *Accelerated development procedure for molecularly imprinted polymers using membrane filter plates* kézirat beküldve a “Journal of Combinatorial Chemistry”-hez IF=3,154).

Több savas karakterű gyógyszermolekulát választottunk ki, és a mini-MIP technikával vinil-piridin funkcionális monomer és EDMA keresztkötő segítségével termikus inicializálással állítottunk elő kis mennyiségben polimereket. A kapott szorbensek templát kötő sajátságait batch adszorpcióval értékeltük. A vizsgált templátok közül az atorvastatinra és losartanra imprintelt MIP-en viszonylag erős és szelektív kötődést tapasztaltunk.

Az amid csoportokat tartalmazó vegyületek közül több, a fenitoinhoz hasonló molekulát imprinteltünk. Ezek a fenitoin egy szerkezeti részletét tartalmazó, *difenilmetán*, *dimetilhidantoin* és *hidantoin*, a fenitoinnal farmakológiai szempontból rokon *barbitál*, és a fenitoinnal rokon szerkezetű, nála egy metil-csoporttal nagyobb *metil-fenitoin* voltak. Ezeket a fenitoinnal azonos körülmények között termikus polimerizációval készítettük metakrilamid funkcionális monomer és EDMA keresztkötő segítségével. Megállapítható, hogy az amid csoportokat tartalmazó polimer (a nem imprintelt polimert –NIP - is beleértve) viszonylag erősen megköti az összes hidantoin, illetve barbiturát komponenset, míg a difenil-metánt szinte alig. Feltehető az előbbieket esetében a megfelelő heteroatomok közötti H-hidak kialakulása. A legerősebb kötődést mind a MIP-en, mind a NIP-en a barbitál esetében tapasztaltuk. Ez adódhat abból, hogy a barbitál molekulában több a H-híd képzésre hajlamos csoportok száma, mint a fenitoin esetében. A hidantoin MIP és a NIP között gyakorlatilag alig tapasztaltunk különbséget a hidantoin kötődésében. A legnagyobb különbség a MIP és NIP között a metil-fenitoin esetében volt mérhető.

---

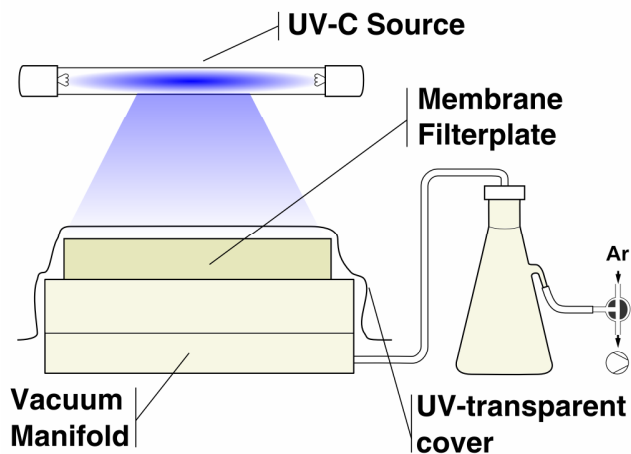
<sup>4</sup> Takeuchi T., Fukuma D., Matsui *Anal. Chem.* **71**, (1999) 285  
Lanza F., Sellergren B. *Anal. Chem.* **71**, (1999) 2092

Vizes közegben működő molekuláris lenyomatú polimerek fejlesztéséhez is alkalmaztuk az inverz kombinatorikus módszert. Az irodalomban leírt, 2,4-diklórfenoxiecetsav herbicidre részben vizes polimerizációs közegben (metanol:víz elegyben) sikeresen polimerizált MIP<sup>5</sup> alapján több, savas jellegű molekulát, losartant, ibuprofent, ketoprofent, naproxent, metotrexátot, biotint, illetve bázikus jellegű amlodipint és  $\alpha$ -fenil-etilamint imprinteltünk ebben az oldószerkeletben. A savas karakterű templátokhoz 4-vinil-piridin, a bázikus jellegűekhez metakrilsav, illetve p-vinilbenzoesav funkcionális monomert és EDMA keresztkötőt alkalmaztunk. A vizsgált templátokra mini-MIP-eket készítettünk és a kapott szorbensek kötő sajátságait batch adszorpcióval értékeltük. A 2,4-D a metanol:víz elegyből kiemelkedően jó kötődést mutatott a MIP-en, míg a kontrollként készített nem imprintelt polimeren (NIP) sokkal kevésbé kötődött. A biotinra, metotrexátra és  $\alpha$ -feniletilaminra készült polimerek egyáltalán nem kötötték meg a templátot a metanol:víz elegyből. Az ibuprofenre, ketoprofenre naproxenre és losartanra imprintelt MIP-ek jobb visszakötődést mutattak, mint a megfelelő NIP-ek. Viszonylag nagy szelektivitást mutatott az amlodipin MIP is.

Az általunk használt mini-MIP technika a MIP-ek fejlesztésében, optimalizálásában és ennek automatizálásában korábban nagy előrelépést jelentett. Tapasztalataink azonban azt mutatták, hogy a miniMIP-ek előállítása továbbra is nagyon hosszadalmas folyamat, akár egy-két hetet is igénybe vesz. Ez annak köszönhető, hogy a templát kimosása a polimerbéli lassú diffúzió miatt rendkívül időigényes.

Ezen problémák kiküszöbölésére kidolgoztunk egy új, nagy átteresztőképességű szintézis és tesztelési módszert, amely egy, a HPLC mintaelőkészítésben, a kombinatorikus kémiában és a biokémiai vizsgálatoknál elterjedten alkalmazott 24-lyukú membrán szűrőtálca (a mikrotiter tálcához hasonló, az alján mikroszűrőt tartalmazó tálca) alkalmazásán alapul (2. ábra).

**2. ábra: MIP-ek polimerizációja a mikroszűrőtálcán**



A polimerizációs elegy felvitele a szűrőre történik, ahol UV fényel megvilágítva megtörténik a polimerizáció a szűrő szálaira, mégpedig nagyon vékony rétegben. Ennek köszönhetően a kapott MIP-ek a mosófolyadék kis adagjainak félfolyamatos átáramoltásával gyorsan kimoshatóak (fél óra alatt, szemben a miniMIP-eknél szükséges 3-5 nappal) majd az egyes MIP-ekre a templát adott koncentrációjú oldatát mérve a polimerek batch visszakötődés vizsgálatával könnyen tesztelhetőek. A teljes folyamat a

szintézistől a tesztelésig 2 nap alatt könnyen elvégezhető.

Kiválasztottuk a megfelelő polimerizációs körülményeket, a templátot nem kötő, de megfelelő mennyiségű polimerizációs elegyet adszorbeáló szűrőtípust, a nem illékony polimerizációs oldószert és összeállítottuk a polimerizációs rendszert, amely lehetővé teszi az inert atmoszférában történő UV polimerizációt, majd a templát eltávolítását és a MIP-ek templátkötő képességének tesztelését. Optimalizáltuk a templát kimosását és a visszakötés idejét. A rendszer gyakorlati alkalmazhatóságának vizsgálatára a korábban az inverz kombinatorikus szintézissel talált cimetidin MIP összetételének optimalizálását végeztük el. Maria Moreno-Bondi professzorasszonnyal és csoportjával (UCM, Madrid)

<sup>5</sup> K. Haupt et. al., *Anal. Chem.* 70, (1998) 628

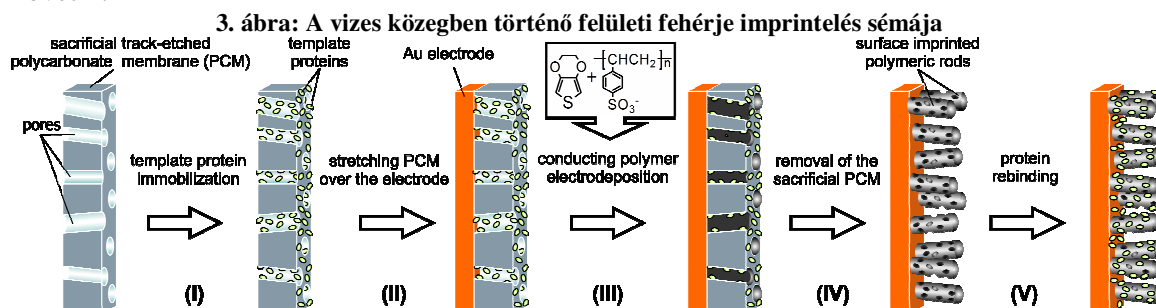
együttműködésben kísérleti tervet állítottunk fel a kísérletek számának csökkentése érdekében és numerikus optimalizálással megállapítottuk a MIP-en a legnagyobb szelektív templát kötődést és ezzel párhuzamosan a nem-imprintelt polimeren a legkisebb kötődést mutató polimer összetételt. (G. Ceolin, F. Navarro-Villoslada, M. C. Moreno-Bondi, G. Horvai, V. Horvath *Accelerated development procedure for molecularly imprinted polymers using membrane filter plates* kézirat beküldve a “Journal of Combinatorial Chemistry”-hez IF=3,154)

### Fehérjék imprintelése mikroméretű vezető polimer rudacsok felületén

A kutatásaink során nyert tapasztalatokat sikeresen alkalmaztuk fehérjék vizes közegben való imprintelésére.

Kis molekulákra már számos jól működő MIP-et előállítottak, a fehérjék imprintelése azonban még mindig nem megoldott feladat. Ennek okai többértékűek: a jól működő MIP-ek általában apoláros aprotikus oldószerben készülnek, mellyel a fehérjék nem kompatibilisek, a nagyméretű molekulák imprintelés után nehezen távolíthatók el a polimer belsejéből, a fehérjéken levő sok funkció csoport növeli a nem-specifikus kölcsönhatások kialakulásának lehetőségét.

Egy teljesen új megközelítéssel felületen imprintelt mikro-, illetve nanorudakat állítottunk elő vizes közegből elektrokémiai polimerizációval, mely a fenti nehézségeket mind kiküszöböli. Egy hidrofób polikarbonát membránszűrő mikron/nano méretű pórusaiba poli(3,4-etiléndioxitiofén) poli(sztirolszulfonát)-ot (PEDOT PSS) növesztettünk. A hidrofób membránszűrő felületére előzőleg a templát fehérjét, avidint adszorbeáltattuk. A polikarbonát szűrőt a polimerizáció után leoldottuk, ez a fehérjét is eltávolította. A pórusokban képződő mikron/nanoméretű PEDOT rudacsok felületén így a fehérje lenyomata alakult ki (3. ábra). A fluoreszcensen jelzett fehérjék visszakötődését epifluoreszcens mikroszkóppal tudtuk követni.



Kompetitív ligandum kötő assay-t dolgoztunk ki avidinre  $10^{-4}$ -1 mg/ml koncentrációtartományban. Igazoltuk a képződött polimer szelektivitását más fehérjékkel szemben, illetve azt is, hogy a nem imprintelt PEDOT felületén rendkívül kicsi a nem specifikus kötődés. Az új koncepció számos előnyt egyesít a korábbi fehérje imprintelési módokkal szemben: 1. a fehérje templát immobilizálása egyszerű adszorpcióval történik; 2. a vezető polimer szintézise, ezzel együtt a lenyomatképzés vizes, a fehérjék számára ideális közegben történik; 3. az elektropolimerizáció lehetővé teszi az imprintelt mikrostruktúráknak csak a pórusokban történő kontrollált növekedését; 4. a fehérje lenyomat a felületen képződik, a fehérjének nem kell a polimer belsejébe vándorolnia; 5. a PEDOT/PSS rendszeren rendkívül kicsi a nem-specifikus fehérje kötődés. (Menaker A., Syritski V., Reut J., Öpik A., Horváth V., Gyurcsányi R.E. *Electrosynthesized surface imprinted conducting polymer microrods for selective protein recognition* kézirat elfogadva az „Advanced Materials”-ben (IF=8.191), a két bíráló véleménye alapján top 15%, illetve top 20% „highly important”, megjegyzéssel, és felajánlva a címlapon történő megjelenést.)