

Molekulekin inprimatutako polimeroak antigorputz naturalak ordezkatzeko etorkizuneko tresna gisa

*(Molecularly imprinted polymers as promising tools for the
replacement of natural antibodies)*

Ainhoa Elejaga-Jimeno^{*1}, Amaia Alday-Izaguirre¹, Lucía Díez-Caballero¹,
Nora Unceta¹, M. Aránzazu Goicolea¹, Ramón J. Barrio¹, Gontzal García del
Caño², Alberto Gómez-Caballero¹

¹ Kimika Analitikoa Saila, Farmazia Fakultatea (Euskal Herriko Unibertsitatea, UPV/EHU)

² Neurozientziak Saila, Farmazia Fakultatea (Euskal Herriko Unibertsitatea, UPV/EHU)

LABURPENA: Molekulekin inprimatutako polimeroak (MIP) ligando (ioi, konposatu kimiko, peptido, proteina edo mikroorganismo) batekiko memoria gordetzen duten makromolekula sintetiko adimendunak dira, ligando horren presentzian sintetizatuak izaten baitira. Oro har, hartzaile artifizial biomimetiko gisa lan egiten dute, jatorri endogenoa duten hartzaileek baino afinitate handiagoa erakutsiz askotan. Azken hamarkadetan, MIPen sintesi-prozesuan aurrerapauso handiak eman dira, erradikal askeen bidezko polimerizazioetatik hasita, desaktibazio itzulkor bidezko polimerizazio erradikalean oinarritutako sintesietaraino, gero eta polimero homogeneoagoak lortuz forma eta tamainari dagokionez. Azken urteotan, MIPen aplikazioak nabarmen zabaldu dira, besteak beste, matrize ezberdinetatik konposatu kimiko ezberdinen erauzketa, purifikazio eta kontzentrazioarako, proteinen determinazioarako, farmakoen askapen kontrolaturako, immunoentsegu mota ezberdinetan, edota sentsores kimikoen ezagutza-elementu gisa. Oro har, antigorputz naturalak ordezkatzeko erabil daitezkeela frogatu da. Artikulu honetan, MIPen garapenerako erabiltzen diren ohiko polimerizazio- eta inprimatze-estrategia ezberdinak deskribatuko dira, bioanalisiaren arloan dituzten aplikazio ezberdinak ere jorratuz.

GAKO-HITZAK: MIP, molekulekin inprimatutako polimeroak, hartzaile artifiziala.

ABSTRACT: *Molecularly imprinted polymers (MIP) are synthetic macromolecules that retain chemical memory for a certain ligand. They work as biomimetic artificial receptors, often demonstrating higher affinity than their natural counterparts. Over the past few decades, the synthesis of MIPs has advanced significantly, evolving from the bulk polymerisation method to reversible deactivation radical polymerisation, giving rise to more homogeneous MIPs as regards size and shape. Applications of MIP have expanded notably in recent years, being employed for separation, purification, and concentration of chemicals, for protein determination, as drug carriers for controlled release, in different types of immunoassays, and as recognition elements in chemical sensor devices. Overall, these materials have proven their potential to replace natural antibodies in the bioanalytical field. In this article, the most common polymerisation strategies and imprinting methods for MIP production will be summarised, including their most relevant applications in bioanalysis.*

KEYWORDS: MIP, molecularly imprinted polymers, artificial antibody.

*** Harremanetan jartzeko/Corresponding author:** Ainhoa Elejaga-Jimeno, Kimika Analitikoa Saila, Farmazia Fakultatea (UPV/EHU), <https://orcid.org/0000-0001-8017-0517>, ainhoa.elejaga@ehu.eus

Nola aipatu/How to cite: Elejaga-Jimeno, Ainhoa; Alday-Izaguirre, Amaia; Díez-Caballero, Lucía; Unceta, Nora; Goicolea, M. Aránzazu; Barrio, Ramón J.; García del Caño, Gontzal; Gómez-Caballero, Alberto (2025). «Molekulekin inprimatutako polimeroak antigorputz naturalak ordezkatzeko etorkizuneko tresna gisa», *Ekaia*, 48, 2025, DOI: <https://doi.org/10.1387/ekaia.27254>

Jasoa: urtarilak 31, 2025; Onartua: apirilak 07, 2025

ISSN 0214-9001-eISSN 2444-3225 / © UPV/EHU Press

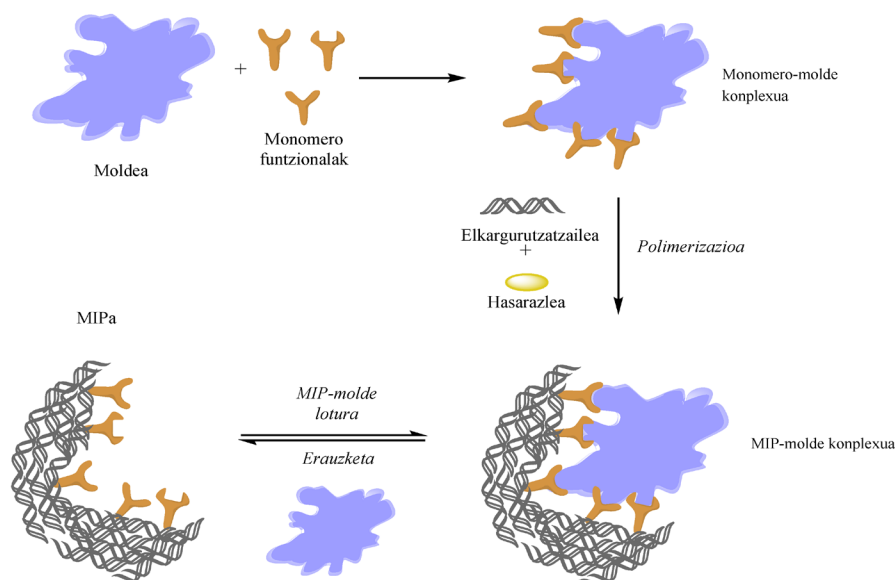


Lan hau Creative Commons Aitortu-EzKomertziala-PartekatuBerdin 4.0 Nazioartekoa lizentzia baten mende dago

1. SARRERA

Molekulekin inprimatutako polimeroak (MIP, *molecularly imprinted polymers*) konposatu kimiko, makromolekula edo mikroorganismo batekiko memoria gordetzen duten polimeroak dira. MIPak, oro har, hartzaile artifizial gisa ezagutzen dira, eta, askotan, jatorri endogenoa duten hartzaileek baino selektibitate eta afinitate handiagoak izaten dituzte [1]. Antigorputz naturalekin alderatuz, MIPEk hainbat abantaila dituzte; besteak beste, sintesia errazagoa da, egonkortasun termiko eta mekaniko altuagoak dituzte, kostua baxuagoa da, eta lotura guneen dentsitatea handiagoa da [2]. Abantaila horiei esker, MIPEk antigorputzak, entzimak eta antzeko hartzaile biologikoak ordezkatzeko tresna paregabeak direla erakutsi dute eremu askotan, hala nola banaketa- eta purifikazio prozesuetan, katalisi entzimatiakoetan entzimen ordezeko gisa, sentsoreetan, farmakoen askapen kontrolatuan, eta beste hainbat aplikazio biomedikotan ere bai [3].

MIPak ligando batekiko selektiboak dira. Horretarako, itu den ligando bera, edo egitura kimiko antzekoa duen konposatu bat erabili ohi da beren sintesirako, molde edo pseudomolde bezala izendatzen direnak, hurrenez hurren [4]. Molde edo *template* hori izan liteke ioi metalikoa, masa molar txikiko konposatu organikoa, peptidoa, proteina, gluzidoa edo lipidoa. Horiek monomero funtzionalez eta elkargurutzatzaileez osatutako nahasketa batera gehituko dira, eta, polimerizazioa abiarazteko, erradikal askeen iturri izango den hasarazle bat ere bai (1. irudia).



1. irudia. MIPen inprimatze-mekanismoaren irudi eskematikoa.

Prozesu horretan, molde eta monomero funtzionalen artean gertatzen diren elkarrekintzen ondorioz, monomero-molde konplexu bat eratu, eta, elkargurutzatzaile baten eraginagatik, moldearen inguruan hiru dimentsioko sare polimeriko bat sortuko da polimerizazio-erreakzio baten bidez. Horren ostean, moldea sare polimerikotik erauziko da, ituarekiko osagarriak diren barrunbeak libre gera daitezen, eta, hartara, polimeroa erabilgarria izan dadin itua lotzeko [5, 6].

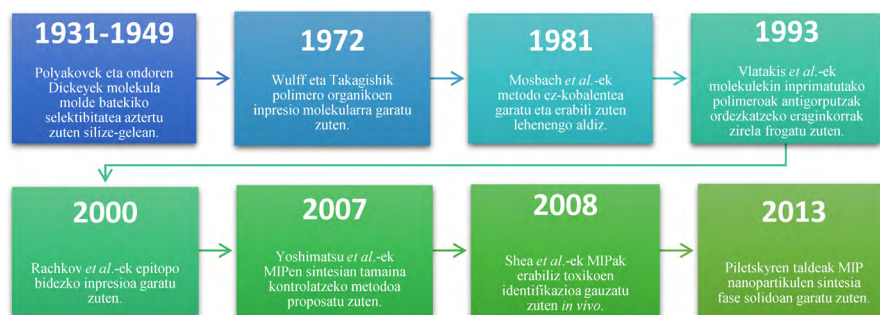
Inprimatutako polimeroekin erlazionatutako lehenengo artikulua Polyakov-ek argitaratu zuen 1931. urtean [7] (2. irudia). Lan horretan, uretan gauzatu zuen sodio silikatoaren polimerizazioa, $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ erabiliz gelifikatzaile moduan. Jarraian, gehigarri gisa, bentzenoa, toluenoa, xilenoa eta antzeko konposatuak gehitu zizkion sortutako silize-gel ezberdinei, eta 20-30 egunez lehortzen utzi zituen. Lehortutako silizeak ur beroarekin garbitu zituen, gehigarriak erauz zitezen, eta, jarraian, absortzio-froga ezberdinak gauzatu zituen gel bakoitzarekin. Silizeek adierazitako gehigarriekiko absortzio-ahalmen handiagoa zutela adierazi zuen, antzeko egitura zuten beste konposatu batzuen aurrean. Selektibitate hori silizean sortutako egitura-aldaketen ondorioa zela ondorioztatu zuen, erabilitako gehigarrien natura islatzen zuten aldaketak, alegia. 1949. urtean, Dickey-ek [8], Polyakov-en antzeko prozedura bat erabiliz, metilo laranja eta homologoak ziren beste hainbat koloratzaile alkilatu gehitu zituen sodio silikatozko disoluzio ezberdinen gain. Harrezkero, gehigarrien presentzian sortutako silizegelezko polimeroei aplikazio ezberdinak ematen hasi zitzairen. Horren harira, 1950eko hamarkadan, azido mandeliko eta azido kanforsulfonikoaren enantiomeroekiko selektibitate kirala zuten silizeak garatu, eta bereizketa kromatografikorako fase geldikor bezala erabiltzen hasi ziren. Horri esker, konposatu horien nahasketa errazemikoetatik abiatuz, enantiomero ezberdinak bereizi ahal izan ziren [9].

1970eko hamarkadatik aurrera silize-gelen erabilerak nabarmenki egin zuen behera, batez ere silizearen gainazalaren heterogeneotasuna, adsortzio-ahalmen ahula, eta sintetizatzeako eskuragarri zeuden errektibo kopuru txikiagatik [10]. Horrek guztiak bat egin zuen Wulff-ek [11] eta Takagishi-k [12] polimero organikoetan egindako inprimatze molekularren lehen aurrerapausekin. Ikertzaile horiek monomero funtzionalen eta moldearen arteko lotura kobalentean oinarritu ziren. Era horretan lortutako sare polimerikoetan, moldearen inprimatzea eraginkorragoa zen, inprimatze gune homogeneoagoak lortuz silize-gelezko matrizeekin baino. Aitzitik, behin polimerizazioa amaituta, zailagoa zen inprimatze guneetatik moldea askatzea, eta, ondorioz, polimeroek itua lotzeko ahalmen txikiagoa zuten.

1981. urtean, Mosbach eta lankideak, metodo kobalentearen desabantailai aurre egiteko, monomero funtzionalen eta moldearen arteko lotura era ez-kobalentean oinarritu ziren [13]. Metodo horretan, molde-monomero konplexuaren eraketa itzulgarria da, sintesia gauzatu ostean moldea-

ren askatzea errazten duena. Aurkikuntza horri esker, 1990eko hamarkadatik aurrera, MIPen inguruko ikerkuntzek garapen handia izan zuten. 1993. urtean, Vlatakis-ek eta lankideek frogatu zuten, interes kliniko handiko biomolekulentzat existitzen ziren antigorputzak ordezkatzeko, molekulekin inprimatutako polimeroak eraginkorrak izan zitezkeela [14]. Hala ere, proteina handien (>50-100 kDa) inpresioak zailtasun handiak zituela ikusi zen, egoera ez-fisiologikoetan zuten egonkortasun faltagatik, eta agregazio- edota konformazio-aldaketak eragin zitzakeen disolbagarritasun mugatuagatik [15]. Arazo horiek saihesteko, Rachkov-ek eta Minou-rak epitopo bidezko inpresioa garatu zuten 2000. urtean [16]. Sintesi mota horretan, molde bezala proteina osoa erabili beharrean, proteina horren sekuentzia peptidiko bat soilik erabiltzea proposatu zuten.

Ordura arte garatutako MIPen tamaina eta morfologia irregularrak zirenez, 2007an, Yoshimatsuk eta lankideek polimerizazio-baldintza ezberdinak proposatu zituzten ezaugarri horiek kontrolatzeko [17]. Horri esker, tamaina nanometrikoa zuten MIP homogeneousak garatzea lortu zuten. 2008an, Sheak eta lankideek selektibotasun eta afinitate altuko MIP nanopartikulak sintetizatu zituzten ingurune urtsuan [18]. Sintesi-estrategia berri horren garapenak garrantzi biologikoa zuten beste molde batzuen erabilera sustatu zuen. Aurkikuntza horietan oinarriturik, bi urte beranduago, Shearen taldeak molekulekin inprimatutako nanopartikulak *in vivo* entseguetan aplikatzea lortu zuen toxiko peptidikoaren identifikazio eta neutralizaziorako [19]. Aurrerapauso horrek MIPen toxikotasunari, biobateragarritasunari eta internalizazioari buruzko ikerkuntzak bultzatu zituen ondorengo urteetan [20].

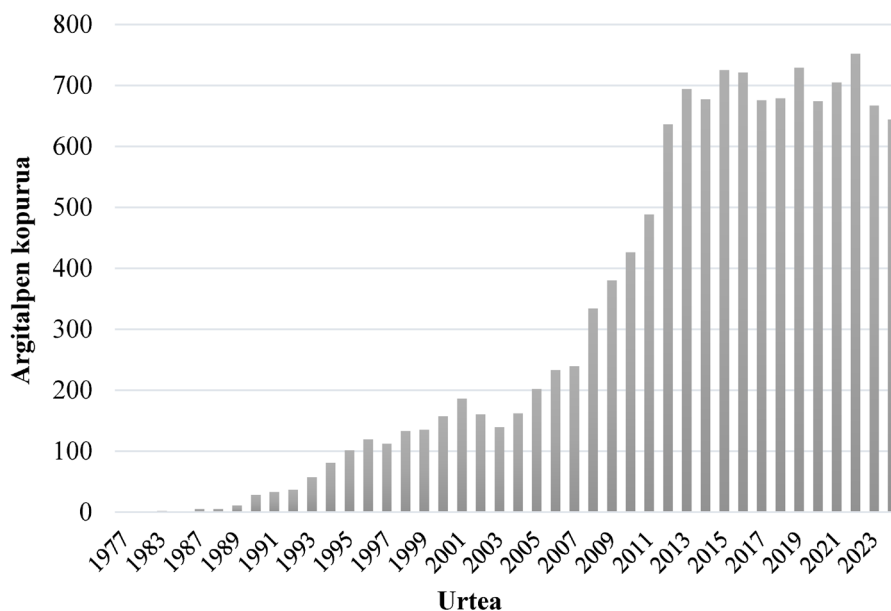


2. irudia. Inprimatze molekularren garapen kronologikoa.

Ordura arte erabiltzen ziren inprimatutako nanomaterialen sintesirako estrategiek moldea polimerizaziorako nahasketan disolbatuta egotea eskatzen zuten, horrek dakartzan desabantailekin, inprimatze-tokien heterogeneotasunari dagokionez batik bat. Horren aurrean, 2013. urtean, Piletsky-

ren taldeak proposatu zuen MIP nanopartikulen sintesia fase solidoan egitea [21]. Teknika horretan moldea beirazko partikulen gainean immobilizatzen da, eta itu molekularekiko afinitate oso altuko nanopartikulak lortzen dira.

MIPek ituarekiko duten selektibitate eta espezifikotasun handiari esker, eta bereziki antigorputzekin alderatuz eskaintzen dituzten abantailei esker, sintesi-estrategia berri eta eraginkorrak garatzen ari dira etengabe. Gainera, MIPen aplikazioak esparru desberdinetara hedatzen ari dira, batez ere biomedikuntzaren arloan. Horren adierazgarri da azken 20 urteotan egon den MIPEi buruzko argitalpen kopuruaren gorakada (3. irudia). Horregatik guztiatik, MIPen garapen-prozesuan gaur egun gehien erabiltzen diren mekanismoak aztertuko dira artikulu honetan, baita polimerizazio-teknika desberdinak, inprimatze-metodoak, eta garatu daitezkeen MIPen formatu desberdinak ere.

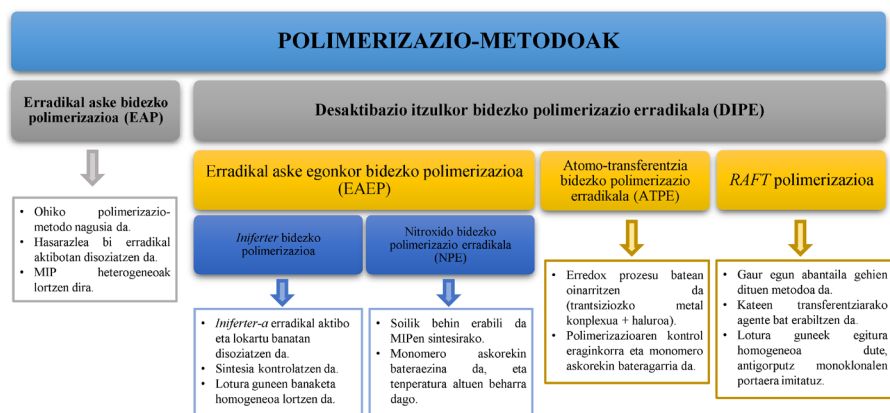


3. irudia. Inprimatze molekularri buruzko argitalpen kopuruaren garapena azken hamarkadetan [22].

2. INPRIMATUTAKO POLIMEROEN SINTESIA

Gaur egun, MIPen sintesia polimero organikoen inprimatze molekularren bidez gauzatzen da nagusiki. Horretarako, polimerizaziorako inguru-

nean hainbat konposatu kimiko dira beharrezkoak: moldea, monomero funtzionalak, elkargurutzatzailea, hasarazlea eta disolbatzaile egoki bat [23]. Monomero funtzionalen eginkizun nagusia izango da moldearekin aurrepolimerizazio konplexu edo aduktu bat eratzea, eta elkarrekintza horien indarrak eta estekiometriak baldintzatuko dute sortuko diren barrunbeen heterogeneotasuna eta afinitatea. Elkargurutzatzaileek monomero funtzionalekin erreakzionatuko dute polimerizazio-erreakzio batean, eta molde-monomero konplexua espazialki finkatuko dute hiru dimentsioko egitura egonkor bat eratuz. Disolbatzaileak dispartzio-ingurune bezala jarduten du, eta bere funtsezko eginkizuna MIPei egitura porotsua ematea izango da. Azkenik, hasarazlea polimerizaziorako beharrezkoak diren erradikal aktiboen iturria izango da. Konposatu horren ezaugarrien arabera, polimerizazio-metodo ezberdinak garatu dira, MIPen sintesirako ere aplikatu izan direnak (4. irudia).

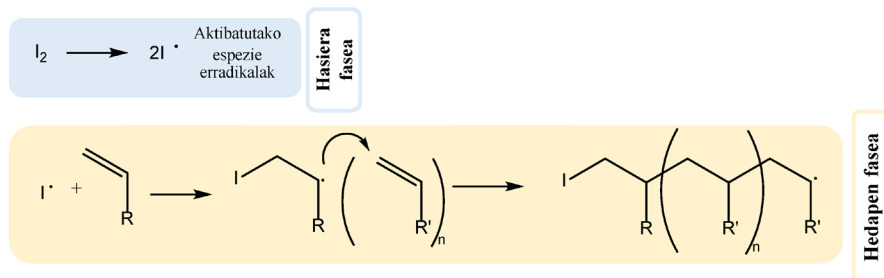


4. irudia. MIPen polimerizazio-metodoen sailkapena eta ezaugarri orokorrak.

2.1. Polimerizazio-metodoak

Erradikal askeen bidezko polimerizazioa (EAP) izan da ohiko polimerizazio-metodo nagusia MIPak sortzeko; haatik, azken urteotan polimerizazio kontrolatuan oinarritutako metodoek hartu dute horren lekukoa. EAP prozeduran, hasarazlearen aktibazio termikoa edo fotokimikoa bultzatuz ematen zaio hasiera polimerizazioari, beroa edo erradiazio ultramorea dela medio. Hasarazlea bi erradikal aktiboetan disoziatzen da, lotura bikoitzeekin erreakzionatuko dutenak, kate-polimerizazioaren hasiera eraginez (5. irudia). EAP estrategiaren bidez lortzen diren polimeroak oso heterogeneoak dira masa molarri dagokionez; alegia, polidispersitate-maila altua dute. Teknika horren desabantailak aurre egiteko, mekanismo kontrolatuan oinarritzen diren polimerizazio-estrategia berriak garatu dira [24].

Erradikal aske bidezko polimerizazioa (EAP)



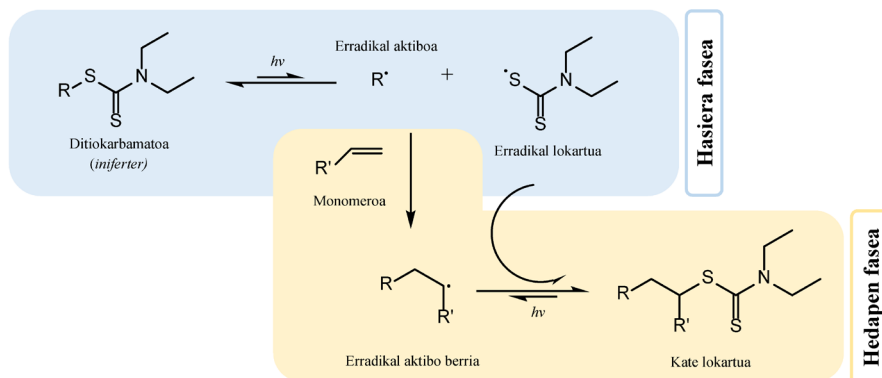
5. irudia. EAP polimerizazio-metodoaren eskema orokorra.

Polimerizazio erradikal kontrolatuaren edo desaktibazio itzulkor bidezko polimerizazio erradikalaren (DIPE) bidez polimero homogeneouskoak lor daitezke EAPrekin konparatuz [25]. Gainera, DIPE metodoetan polimerizazioa edozein momentutan eten liteke, eta, nahi izanez gero, berriro hasi; alegia, kontrolpeko erreakzio polimerikoak lirateke [24]. Gaur egun, polimerizazio kontrolatua oinarritutako teknika ezberdinak aurki daitezke literaturan [26], besteak beste, erradikal aske egonkorren bidezko polimerizazioa (EAEP), atomo-transferentzia bidezko polimerizazio erradikala (ATPE) eta adizio-zatikatzeko eta kateen transferentzia itzulgarrian oinarritutako polimerizazioa (RAFT, *Reversible Addition-Fragmentation chain Transfer polymerization*). Aldi berean, EAEPren barruan, *iniferter* bidezko polimerizazioa eta nitroxidoen bidezko polimerizazio erradikala (NPE) bereizten dira (4. irudia).

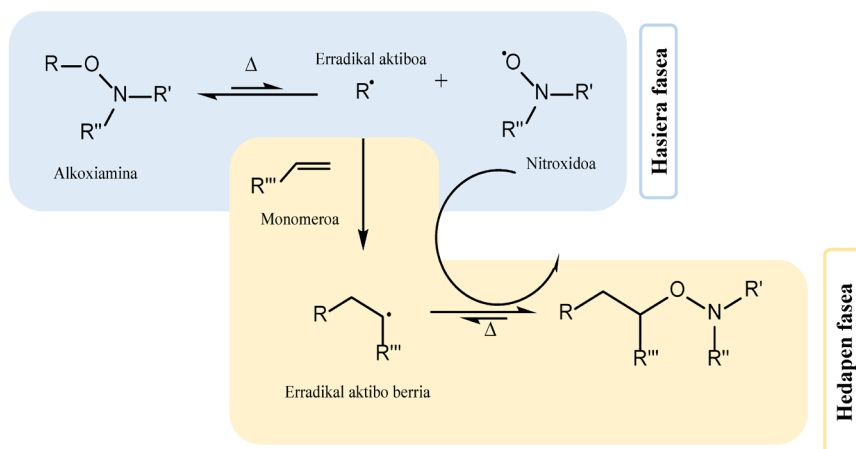
Iniferter bidezko polimerizazioa Otsuk eta lankideek garatu zuten 1982. urtean, DIPEen artean lehenengo deskribatu zen polimerizazio-metodoa izanik [27]. *Iniferter* izeneko konposatuek hasarazle (*initiator*), kate-transferentziarako agente (*chain transfer agent*) eta bukarazle (*terminator*) gisa parte hartzen dute polimerizazio-erreakzioetan (6. irudia). Polimerizazio horrek, EAPen aurrean, sintesi-prozesuaren kontrol handiagoa eta polimeroetan sortu diren lotuneen banaketa homogeneouskoagoa bermatzen du [6]. Bestetik, NPE polimerizazioa, 1986. urtean lehenengoz deskribatua, *iniferter* bidezko polimerizazioaren antzeko mekanismo kontrolatua oinarritzen da, baina nitroxido konposatuak erabiliz (6. irudia) [28]. Hala ere, teknika horrek dituen desabantailengatik (monomero askorekin duen bateraezintasuna eta erabili beharreko tenperatura altuak direla-eta), behin soilik erabili izan da inprimatutako polimeroen arloan [29]. ATPE metodoari dagokionez, erredox-prozesu batean oinarritzen da, non trantsiziozko metal konplexu eta haluro organiko banak parte hartzen baitute. Metodo horren bitartez polimerizazioa modu eraginkorrean kontrolatzen da, eta, gainera, bateragarria da monomero askorekin [29].

Erradikal aske egonkorren bidezko polimerizazioa (EAEP)

Iniferter bidezko polimerizazioa



Nitroxidoen bidezko polimerizazio erradikala (NPE)

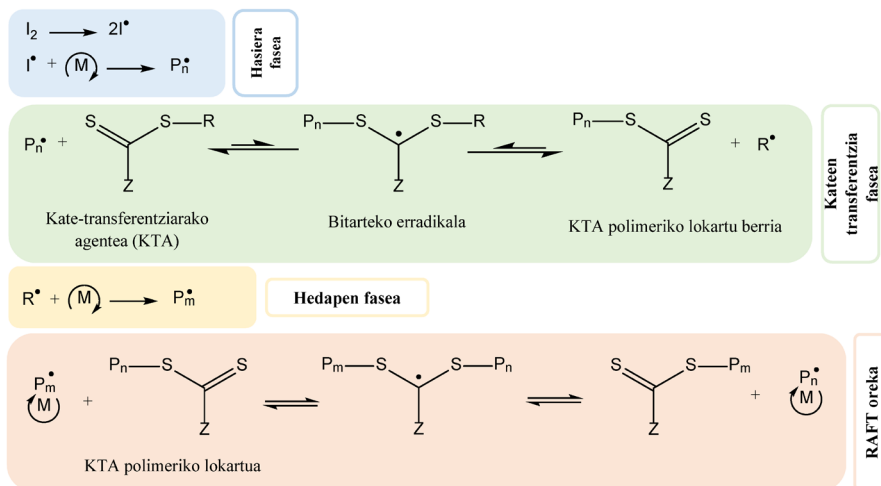


6. irudia. Iniferter bidezko eta nitroxidoen bidezko polimerizazio-estrategien eskema orokorra.

1998. urtean, eraginkortasun oso altua zuen polimerizazio kontrolatu teknika berri bat garatu zen, alegia, RAFT polimerizazioa (7. irudia) [30]. Gaur egun, polimerizazio mota hori da abantaila gehien dituen: erreakzio-baldintza ezberdinetan eta monomero ezberdinekin gauzatu daiteke, polimeroen masa molekularren kontrola ahalbidetzen du, eta horien heterogeneotasuna murriztu. Hala ere, polimerizazio-denborak motelak dira, eta zaila izaten da masa molekular handiko polimeroak lortzea estrategia horren bitartez. Teknika hori MIPen garapenerako erabiltzen diren polimeri-

zazio-estrategien artean egokiena dela uste da [31], lortzen diren MIPen lotuneek EAP teknikarekin lortutakoek baino egitura askoz homogeneoagoa dutelako, antigorputz monoklonalen portaera hobe imitatuz afinitateari eta selektibotasunari dagokienez.

Adizio-zatikatze eta kateen transferentzia itzulgarriari oinarritutako polimerizazioa (RAFT)

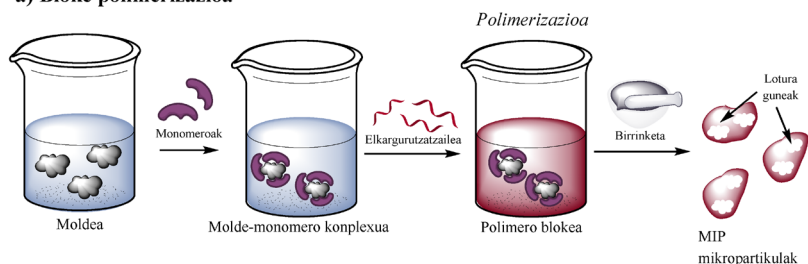


7. irudia. RAFT polimerizazioaren eskema orokorra. I: hasarazlea; M: monomeroa; P_n eta P_m : espezie erradikal hedatzaileak.

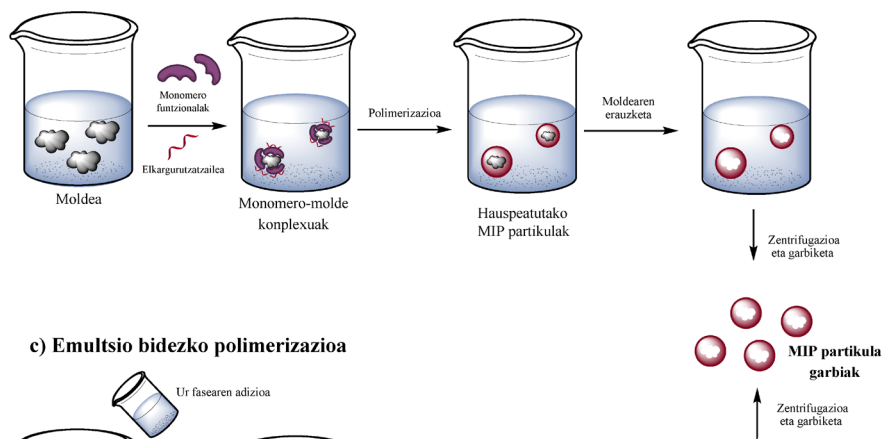
2.2. Inprimatze-metodoak

Inprimatze molekularren historian zehar, molekula moldearen eta polimerizazioan parte hartzen duten monomero funtzionalen artean eratzen den elkarrekintzaren arabera, inprimatze-metodo desberdinak garatu dira: kobalentea, ez-kobalentea eta erdikobalentea [11, 12]. Metodo kobalentearen abantaila nagusia da sintesia baldintza estekiometrikoei gertatzen dela, eta, horrela, talde funtzionalak beti modu homogeneoan banatzen diren lotura guneetan kokatu, eta espezifikoak ez diren elkarrekintzak murrizten dira. Haatik, metodo honen desabantaila nagusia da molde bezala erabil daitezkeen konposatu motak (besteak beste, diolak, aldehidoak, zetonak, aminak eta azido karboxilikoak) mugatuak direla [32]. Mekanismo ez-kobalentean, aldiz, gertatzen diren loturak ionikoak, hidrogeno-zubiak, Van der Waals loturak eta disulfuro-zubiak dira. Elkarrekintza horiek, lotura kobalenteekin alderatuz, ahulagoak dira, baina zenbait lotura ahulek gune berean parte hartzen dutenean, elkarrekintza sendoak sor ditzakete.

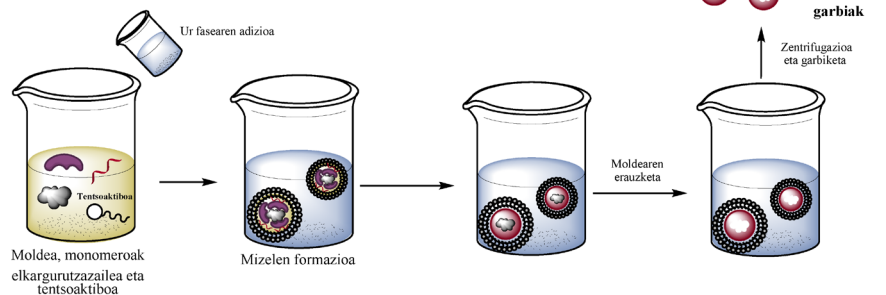
a) Bloke polimerizazioa



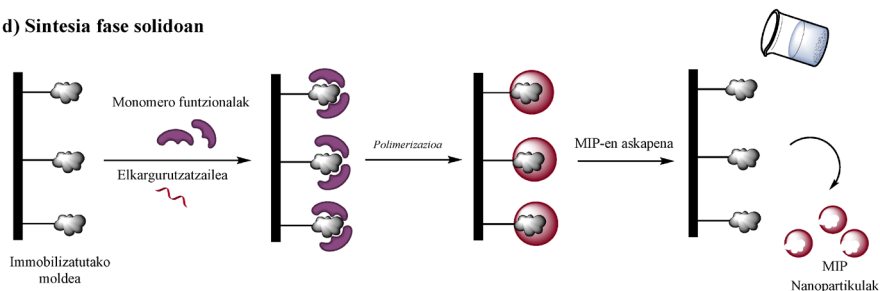
b) Hauspatze bidezko polimerizazioa



c) Emultsio bidezko polimerizazioa



d) Sintesia fase solidoan



8. irudia. MIPen sintesirako erabiltzen diren ohiko prozedura ezberdinen irudi eskematikoa.

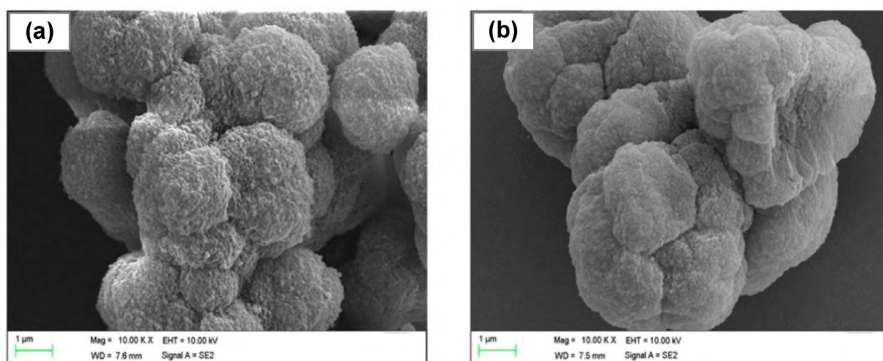
Metodo erdikobalenteak, azkenik, metodo kobalentearen eta ez-kobalentearen abantailak batzen ditu. Kasu horretan, moldearen monomero funtzionalari kobalentekei lotzen zaionez, lotura guztiak banaketa homogeneoa da. Aitzitik, iturri molekularen birlotzea elkarrekintza ez-kobalente bidez gertatzen da; beraz, difusioaren bidezko murrizketaz gain, ez da inongo mugaketa zinetikorik egongo [32, 33].

2.3. Inprimatutako polimeroen formatuak

EAP eta DIPE estrategiak erabiliz, MIPen sintesia burutzeko teknika desberdinak garatu dira: bloke-polymerizazioa, hauspeatze edo emulsio bidezko polymerizazioak eta sintesia fase solidoan (8. irudia). Teknika horien bidez MIP formatu desberdinak lortzen dira, besteak beste, polimero monolitikoak, mikro- edo nanopartikulak eta mintzak.

2.3.1. Polimero monolitikoak

Bloke-polymerizazioa da MIPen sintesia gauzatzeko lehenengo garatu zen teknika eta, haatik, sinpleena. Polymerizazio mota horretan, monomeroa, elkargurutzatzailea eta hasarazlea disolbatzaile batean nahasten dira, moldearekin batera (8.a irudia). Ondoren, hasarazlearen aktibazioa eragiten duen energia (argi ultramorearen edo beroa, adibidez) aplikatzen da, polymerizazio-erreakzioa has dadin. Lortzen diren polimeroak bloke- edo monolito-itxura izango dute (9. irudia). Hala ere, oro har, bloke-polymerizazioarekin lortzen diren polimero monolitikoak xehatu eta bahetu behar direnez, tamaina handia eta forma irregularrak dituzten partikulak lortzen dira. Ondorioz, horrela garatutako MIPek masa-transferentzia moteleko zinetika izan ohi dute. Desabantaila horiei aurre egiteko, MIP mikropartikula edo nanopartikula esferiko eta homogeneoak ematen dituzten beste teknika batzuk garatu dira [24].



9. irudia. Roxitromizina molde bezala erabilita makrolidoen adsortzioa lortzeko sintetizatutako (a) MIP eta (b) kontrol monolitoen ekorketazko elektro-mikroskopioa (SEM) irudiak. [34]-tik egokitua.

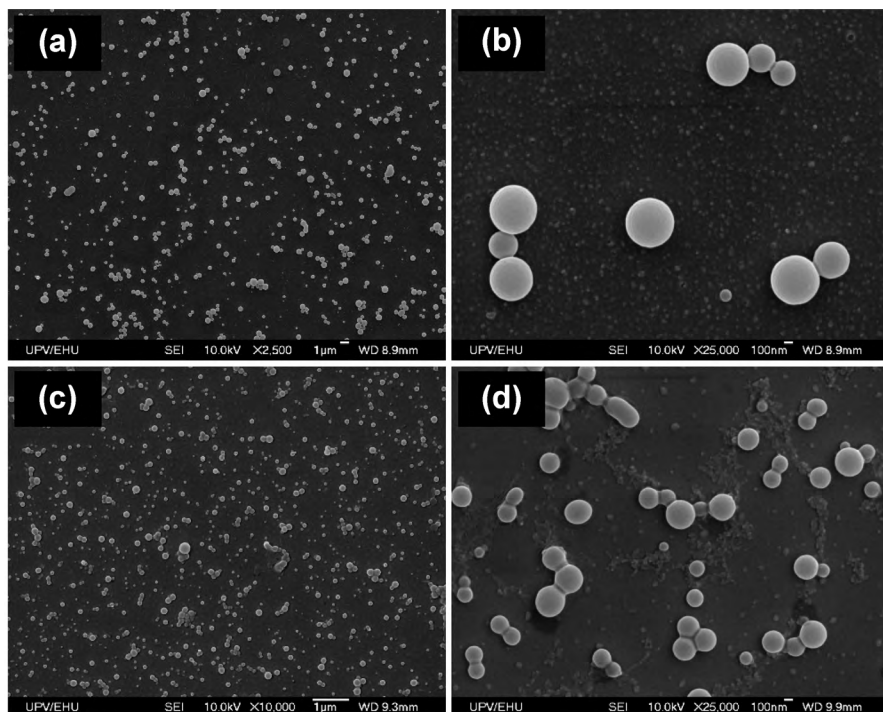
2.3.2. MIP esferikoak

Polimero homogeneousagoak lortzeko asmoz, hauspeatze edo emulsio bidezko polimerizazioak eta sintesia fase solidoan izeneko teknikak garatu dira (8.b, c eta d irudia). Hauspeatze edo prezipitazio bidezko sintesian, monomeroak disolbagarriak dira polimerizazioan erabiltzen den disolbatzailean; ez, ordea, lortzen den polimeroa. Beraz, polimerizazioak aurrera egin ahala, sortzen den polimeroa hauspeatu egiten da, eta horrek ondoren bere erauzketa erraztuko du (8.b irudia) [35]. Teknika hori bateragarria da elkargurutzatzaile askorekin eta disolbatzaile polar aprotiko organikoekin, eta polimerizazioa uretan gauzatzen bada, tentsoaktiboak erabil daitezke. 2013. urtean, Zhang-ek proposatu zuen DIPE estrategia prezipitazio bidezko polimerizazioarekin konbinatzea, MIP partikulen tamainaren kontrol zehatza lortzeko [36].

Emulsio bidezko polimerizazioan, bestalde, monomeroak erreakzio-ingurunean disolbaezinak dira, eta lortzen den polimeroa, aldiz, tentsoaktibo baten bidez orekatzen da (8.c irudia) [37]. Nahasketa irabiatuz eta ultrasoinuak aplikatuz, polimeroaren suspentsio koloidala lortzen da. Lortutako polimeroak esferikoak izaten dira, eta tamaina nanometrikoa izan dezakete. Hala ere, teknika horrek baditu zenbait desabantaila. Alde bate-tik, tentsoaktiboak edo emulsionatzaileak, zenbaitetan, monomero edota molekula moldeekin erreakzionatzen du. Bestetik, urak hidrogeno-zubiak sortzeko duen gaitasunagatik, monomero-molde elkarrekintzaren egonkortasuna murriztu egiten da. Urak eragiten dituen zailtasun horiei aurre egiteko, Dvorakovak eta lankideek teknika berri bat garatu zuten, non beren artean nahastezinak diren bi disolbatzaile organiko eta tentsoaktibo polimeriko ez-ioniko bat erabiltzen baitziren [38].

Fase solidoan egiten diren sintesietan, molekula moldea lotura kobalenteen bidez euskarri solido baten gainean immobilizatzen da, beirazko esferen gainazalean gehienetan (8.d irudia). Ostean, monomeroen nahasketarekin kontaktuan jarriko da, eta, nanopartikulen sintesiaren hasiera bultzatuko duten baldintzetan, polimerizazioa gertatuko da. Polimerizazio-prozesua bukatzean, afinitate handieneko MIP nanopartikulak molekula moldeari indar handiagoz lotuta egongo direnez, garbiketa-prozesu bat egin daiteke erreakzionatu ez duten monomero, oligomero eta afinitate baxuko nanopartikulak aska daitezen. Ondoren, itu molekulekiko afinitate eta espezifikotasun altua duten nanopartikulak erauziko dira (10. irudia). Gainera, fase solidoan sintetizatutako MIP nanopartikulek afinitate altuko lotura guneen banaketan homogeneousotasun handiagoa adierazi dute beste tekniken bidez sintetizatutako polimeroekin alderatuz [6]. MIP horietan eratutako lotura gune guztiak orientazio berean kokatuta daude, partikularen gainazalean, antigorputz monoklonalekin konparagarriak izanik [39]. Sintesi-estrategia horren desabantaila nabarmenena etekin baxua da. Horri konponbidea emateko, 2018. urtean,

Ashley-k eta lankideek, beirazko esferak euskarri solido bezala erabili beharrean, mikrosfera magnetikoak erabili zituzten [40]. Esfera magnetikoek, beirazko esferak baino gainazal espezifiko handiagoa izatean, molekula molde kantitate handiagoa immobilizatzea ahalbidetzen dute. Gainera, afinitate baxuko MIPak banatzeko pausoa iman baten laguntzaz eman daiteke, afinitate altuko partikulen erauzketa erraztuz eta, beraz, sintesiaren etekina hobetuz.

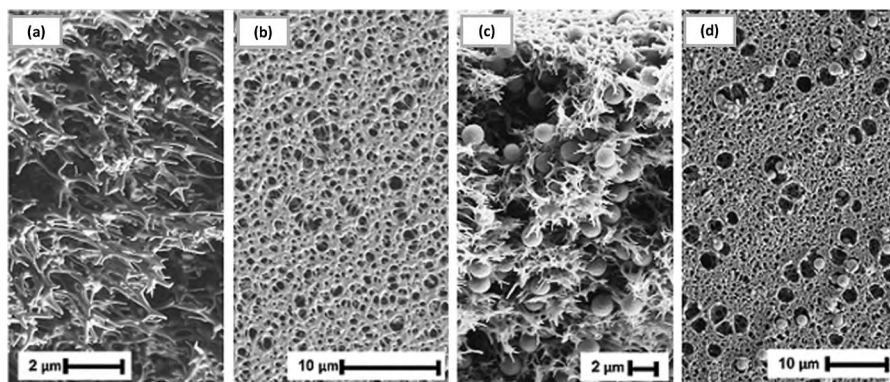


10. irudia. CB₁ hartzaile kannabinoidearentzat, fase solidoan eta epitopo bidezko inpresioa erabiliz, sintetizatutako MIP eta NIP nanopartikulen SEM bidezko irudiak eskala ezberdinetan. [41]-etik egokitua.

Gaur egun, biomedikuntzaren arloan tamaina nanometrikoa duten MIPen sintesia hobesten da (MIN, *molecularly imprinted nanoparticle*). Batez ere, gainazal espezifiko handiagoa izateagatik itu molekularekiko lotura hobetzen delako eta, beraz, antigorputz artifizial bezala erabiltzeko garaian propietate hoberenak aurkezten dituztelako. Gainera, nanopartikula esferikoak oso erregularrak eta tamaina handiagoa duten MIPak baino egonkorragoak direnez, hobeto sakabanatzen dira ingurune likidoetan [3].

2.3.3. MIP mintzak

Molekulekin inprimatutako polimerozko mintzek (*molecularly imprinted membranes*, MIM), azalera espezifiko handia duten egitura porotsu finak direnez, itua inprimatutako guneetara iristea errazten dute (11. irudia). Orain arte, itu moduan erabili diren makromolekula biologikoen artean, proteinak eta DNA nagusitzen dira.

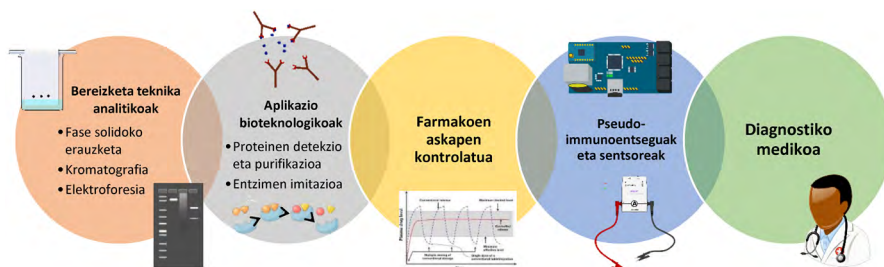


11. irudia. Polietsulfonazko mintz hutsaren SEM irudia, a) zeharkako ebaketan eta b) goitik begiratuta; eta MIPak dituen mintzak c) zeharkako ebaketan eta d) goitik begiratuta. [44]-tik moldatua.

Mintz horien sintesirako, gaur egun, hiru estrategia erabiltzen dira. Alde batetik, hiru dimentsioko sare polimerikoan oinarritzen den teknika dago, baina zenbait desabantaila ditu itu biomakromolekularrak erabiltzerako orduan; hala nola, egituren konplexutasuna eta malgutasun konformazionala. Bestalde, bi dimentsiotan oinarritutako MIMen sintesian, oinarritzko mintz baten gainean MIPen geruza mehe bat sortzen da, eta, horri esker, hiru dimentsiotako inpresioan agertzen diren lotura guneen eskurgarritasun-arazoei edota molekula molde handiak harrapatuta geratzea bezalako zailtasunei aurre egiten zaie [42]. Azken estrategia MIMak aurretik sintetizatutako MIP partikuletatik abiatuta sortzean datza, non mintz batean MIPak txertatzen baitira [43].

3. APLIKAZIOAK

Molekulekin inprimatutako polimeroek antigorputz naturalak imitatzeko aurkeztzen duten gaitasuna eta itu batekiko erakusten duten espezifikotasuna eta selektibotasuna direla eta, aplikazio ugari izan ditzakete (12. irudia) [3, 45, 46].



12. irudia. MIPen aplikazioen eskema.

3.1. Bereizketa-teknika analitikoak

Bereizketa-tekniken artean, gaur egun, fase solidoko erauzketak (*solid phase extraction*, SPE) erabilera hedatua dauka lagin biologikoen aurretratatamenduan. Teknika horretan erabiltzen diren ohiko erauzleekin konparatuta, MIPak analitoarekiko selektiboagoak dira, eta, ondorioz, interferentzien ezabatze eraginkorragoa lortzen dute. 1994. urtean, lehen aldiz, Selligren-ek pentamidina farmakoarekiko selektiboa zen MIPa garatu, eta SPErako erauzle bezala gernu-laginetan aplikatu zuten [47]. Harrezkero, MIPetan oinarritutako erauzleek bilakaera esanguratsua jasan dute, eta, SPE teknikaren modalitateen garapenarekin batera, analisi-metodoen selektibitatea hobetzea lortu da [48].

Era berean, kromatografia eta elektroforesia bezalako bereizketa-tekniketan, fase geldikorrak bezala erabil daitezke MIPak. Likido kromatografian, MIP partikulekin paketatutako zutabeak eta zutabe monolitikoak dira fase geldikorraren formatu nagusiak [49]. MIPetan oinarritutako estaldura-materialek ere (zutabe tubular irekia, geruza fineko kromatografia, gas-kromatografia, etab.) interes handia sortu dute, konposatuak bereizteko dituzten propietate bikainengatik. Elektroforesi kapilarrean erabili diren fase geldikorrak, nagusiki, zutabe barruan zuzenean polimerizatutako MIP monolitikoak, edota MIP geruza fin bat duten zutabe tubular irekiak dira [50].

MIPetan oinarritutako fase geldikorrekin bereizketa kromatografiko eta elektroforetikoren selektibitatea izugarri hobetu duten arren, oraindik ez dira guztiz egokiak gailur kromatografikoen simetria eta erresoluzioa. Desabantaila horiek MIP fase geldikorrekin lagin errealean analisiaren duten aplikazioa mugatu dute, eta ildo horretan ikerketa gehiago garatzeko beharra dago [51].

3.2. Aplikazio bioteknologikoak

MIPak proteinen detekzio eta purifikaziorako ere erabil daitezke [52]. Ildo horretatik, azken urteotan, molekulekin inprimatutako kriogelaren erabi-

lera handitu da [53]. MIP horiek poro-tamaina handiagoa, difusio-bide motzagoak eta biobateragarritasun eta egonkortasun handiagoa dituzte ohiko hidrogelekin alderatuz [54, 55].

Entzimak imitatzen dituzten MIPak, aldiz, erreakzio kimikoen katalizatzaile bezala erabil daitezke. Aplikazio hori, bereziki, jatorri naturaleko entzimen bidez gauzatu ezin zitezkeen erreakzioetara bideratzeko sortu zen. MIP horien sintesian, molde bezala erreakzio entzimatikoen bitarteko konposatu bat erabiltzen da. Horrela, MIPa presente dagoenean, erreakzioaren substratuen aldaketa bitarteko konposatu moldera bultzatzen da, eta, azkenik, erreakzioaren oreka produktuen formakuntzara eramaten da [56, 57]. Gaur egun, inprimatze molekularren bitartez, arreta handia jasotzen ari dira katalisi- eta sintesi-erreakzioak helburu dituzten entzima artifizialen sintesiak, eta, bereziki, nanoentzima artifizialen sintesiak [58].

3.3. Farmakoen askapen kontrolatua

Farmakoen askapen kontrolatuaren helburua da aktibitate farmakologikoa duten osagai aktiboak ehun zehatz batean, eta abiadura kontrolatuan, askatzea, eragin terapeutiko egokiagoa lortuz eta albo-efektuak murriztuz edota saihestuz. Formulazio farmazeutiko horiek oso erabilgarriak dira tarte terapeutiko estua duten medikamentuen kasuan. MIPek, orain arte erabiliak izan diren farmakoen askapen kontrolaturako sistemen aurrean, zenbait abantaila dituzte; hala nola, farmakoak gordetzeko ahalmen handiagoa, farmakoen askapen pertsonalizatua, biobateragarritasuna eta biodegradazioa [59].

MIParen matrize polimerikoak, hiru dimentsiotako sare-egitura sortzeko ahalmena duenez, farmakoa bereganatzeko gaitasuna du. Osagai aktiboaren askapena mekanismo desberdinen bidez gerta daiteke. Hidrogele kasuan, disolbatzaile baten presentziak polimeroa putzea eragiten du, osagai aktiboa askatuz. Bestalde, askapena eman behar den ingurunean dagoen eta farmakoaren egitura analogoa duen konposatu bat MIPari lotzean, farmakoa ordezkatu eta ingurunera askatzen du. Azkenik, aldaketa fisikokimikoek (pH, tenperatura) ere farmakoaren askapena eragin dezakete. Mekanismo horiei esker, kanpoko estimuluen aldaketen ondorioz, farmakoaren adsortzioa eta askapena tratamenduaren beharretara doitzen da [60].

3.4. Pseudoimmunoentseguak eta sentsoreak

MIPak pseudoimmunoentseguetan antigorputz naturalen ordezkoko gisa erabil daitezke [61,62]. Vlatakis-ek eta lankideek, 1993an, teofilina eta diazepamarentzako MIPak garatu eta erradioligandoekin egindako entse-

guetan aplikatu zituzten, antigorputz naturalekin konparagarriak ziren lotura-afinitate handia eta erreaktibotasun gurutztatu baxua erakutsiz [14]. MIPetan oinarritutako pseudoimmunoentseguak buruzko ikerketa-lan ugari argitaratu dira azken hamarkadan, farmakoen monitorizazio terapeutikoan [63], abusu-drogen [64] eta elikagai eta ingurumeneko substantzia toxikoen detekzioan [65]. Halere, oraindik ez dago komertzialki eskuragarri MIPetan oinarritutako immunoentsegurik.

MIPEk garrantzi handia dute sentsoeren garapenean, itu baten neurketa zuzena ahalbidetzen baitute matrize konplexuetan (lagin biologikoe-tan, adibidez), zenbaitetan laginaren prestaketarako inolako tratamenduren beharrik gabe [66]. MIPak sentsoere mota ezberdinetan erabiliak izan dira orain arte; hala nola, sentsoere elektrokimikoetan, sentsoere optikoetan (*surface plasmon resonance*, SPR) edota sentsoere piezoelektrikoetan (*quartz crystal microbalance*, QCM) [65]. Aplikazioen artean nabarmentzekoak dira farmakoen monitorizazioa [67, 68], drogen kontsumoa [69], eta ingurunerako toxikoak diren substantzien detekzioa [70]. Immunoentseguetan ez bezala, merkatuan aurki daitezke lehergai, toxina edota pestiziden detekzioarako MIP sentsoerak [70, 71].

3.5. Diagnostiko medikoa

Aipatu den bezala, MIPEk aplikagarritasun handia dute sentsoeren munduan, eta, ondorioz, frogatu da diagnostiko medikoan erabiltzen diren *Point of Care* (POC) gailuetan duten erabilera.

Esparru honetan gehien ikertu den MIPen aplikazioa minbiziaren biomarkatzaileen detekzioa da. Besteak beste, alfa-fetoproteina, antigeno kartzinoenbrionikoa, minbiziko 125 antigenoa, matrize nuklearreko 22 proteina, bilirrubina eta neopterina detektatzeko MIPak sortu dira [72]. Antigeno horien kontzentrazioa handitu egiten da minbizi ezberdinen kasuan (prostatako minbizia, kartzinoma hepatozelularra, koloneko minbizia, obarioetako minbizia, *transitional cell carcinoma*, tiroideseko minbizia, biriketako minbizia edo immunitate zelularra aktibatua dagoenean, hurrenez hurren). Sentsoere horiek minbizia goiz detektatzeko beharrezko sentsibilitaterik ez izan arren, erabilgarriak izan daitezke gaixotasunaren baheketa eta monitorizazioa gauzatzeko [73].

MIPen teknologia erabili izan da, minbiziaz gain, bestelako gaixotasunen biomarkatzaileak detektatzeko ere. Goyalek eta lankideek estresarekin lotutako gaixotasun kronikoak detektatzeko listuan kortisol-mailak neur-tzeko POC gailua sortu zuten [74]. Serotonina eta dopamina neurotransmi-soreak detektatzeko, MIPetan oinarritzen diren hainbat sentsoere ere garatu eta matrize biologiko desberdinetara aplikatu dira, hala nola listua, mal-koak, odola edota likido zefalorrakidea [75, 76].

4. ONDORIOAK

Azken urteotan, MIPen teknologian aurrerapauso handiak eman dira, eta garatu diren inprimatze-metodo eta polimerizazio-estrategia berriek polimero askoz homogeneo eta eraginkorrakoak lortzea ahalbidetu dute. Tamaina nanometrikoko MIPen garapenak, bereziki, inprimatutako materialen erabilera ahalbidetu du arlo biomedikoan.

Inprimatutako polimeroen eta antigorputz naturalen ezaugarriak aldeatuta, agerikoa da MIPak hartzaile naturalen ordezkotresna eraginkorrek izan daitezkeela. Horretaz gain, material horien aplikazio berrien garapena ere espero da etorkizun hurbilean.

Hala ere, MIPen inguruan egindako aurrerapenak nabarmenak izan diren arren, argi dago arlo honek ikerketa-eremu luzea duela aurretik. Beraz, funtsezkoa da sintesi-estrategien eraginkortasuna eta polimeroen sensibilitatea hobetzea, baita biobateragarritasuna bermatuko duten monomero eta elkargurutzatzaileen garapena ere. Horrek guztiak polimero horiek antigorputz naturalak benetan ordezkatzeko gaitasuna izatera eraman ditzake etorkizun laburrean.

ESKER ONAK

Artikulu hau Espainiako Zientzia, Berrikuntza eta Unibertsitate Ministerioko PID2022-138266NB-I00 finantziazioari (MCIN/AEI/10.13039/501100011033) eta Euskal Unibertsitate Sistemako ikerketa-taldearen Eusko Jaurlaritzaren IT1492-22 laguntzari esker argitaratu da. Eskertu nahi dira, halaber, Eusko Jaurlaritzako Zientzia, Unibertsitate eta Berrikuntza Sailak emandako doktorego aurreko programaren laguntzak (PRE_2020_1_0249, A. Elejaga-Jimeno, eta PRE_2022_1_0252, L. Diez-Caballero-) eta EHUK emandako doktorego aurreko programaren laguntza (PIF21/11, A. Alday-Izaguirre) ere.

BIBLIOGRAFIA

- [1] MEDINA RANGEL, P. X., LACLEF, S., XU, J., PANAGIOTOPOULOU, M., KOVENSKY, J., TSE SUM BUI, B., HAUPT, K. 2019. «Solid-phase synthesis of molecularly imprinted polymer nanolabels: Affinity tools for cellular bioimaging of glycans». *Scientific Reports*, **9**, 3923.
- [2] REGAN, B., BOYLE, F., O'KENNEDY, R., COLLINS, D. 2019. «Evaluation of molecularly imprinted polymers for point-of-care testing for cardiovascular disease». *Sensors*, **19**, 3485.

- [3] ZHANG, H. 2020. «Molecularly imprinted nanoparticles for biomedical applications». *Advanced Materials*, **32**, 1806328.
- [4] WANG, Y., LI, J., WANG, L., QI, J., CHEN, L. 2021. «Recent advances in applications of fragment/dummy molecularly imprinted polymers». *Chinese Journal of Chromatography*, **39**, 134-141.
- [5] CANFAROTTA, F., PILETSKY, S. A., TURNER, N. W. 2020. «Generation of high-affinity molecularly imprinted nanoparticles for protein recognition via a solid-phase synthesis protocol». *Methods in Molecular Biology* 183-194.
- [6] CANFAROTTA, F., POMA, A., GUERREIRO, A., PILETSKY, S. 2016. «Solid-phase synthesis of molecularly imprinted nanoparticles». *Nature Protocols*, **11**, 443-455.
- [7] POLYAKOV, M. V. 1931. «Adsorption properties and structure of silica gel». *Zhurnal Fizieskoj Khimii/Akademiya SSSR*, **2**, 799-805.
- [8] DICKEY, F. H. 1949. «The preparation of specific adsorbents». *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **35**, 227-229.
- [9] CURTI, R., COLOMBO, U. 1952. «Chromatography of stereoisomers with «tailor made» compounds». *Journal of the American Chemical Society*, **74**, 3961-3961.
- [10] GUTIÉRREZ-CLIMENTE, R., CLAVIÉ, M., DUMY, P., MEHDI, A., SUBRA, G. 2021. «Sol-gel process: the inorganic approach in protein imprinting». *Journal of Materials Chemistry B*, **9**, 2155-2178.
- [11] WULF, G., SARHAN, A., ZABROCKI, K. 1973. «Enzyme-analogue built polymers and their use for the resolution of racemates». *Tetrahedron Letters*, **14**, 4329-4332.
- [12] TAKAGISHI, T., KLOTZ, I. M. 1972. «Macromolecule-small molecule interactions; introduction of additional binding sites in polyethyleneimine by disulfide cross-linkages». *Biopolymers*, **11**, 483-491.
- [13] ARSHADY, R., MOSBACH, K. 1981. «Synthesis of substrate-selective polymers by host-guest polymerization». *Die Makromolekulare Chemie*, **182**, 687-692.
- [14] VLATAKIS, G., ANDERSSON, L. I., MÜLLER, R., MOSBACH, K. 1993. «Drug assay using antibody mimics made by molecular imprinting». *Nature*, **361**, 645-647.
- [15] TSE SUM BUI, B., MIER, A., HAUPT, K. 2023. «Molecularly imprinted polymers as synthetic antibodies for protein recognition: The next generation». *Small*, **19**.
- [16] RACHKOV, A., MINOURA, N. 2000. «Recognition of oxytocin and oxytocin-related peptides in aqueous media using a molecularly imprinted polymer synthesized by the epitope approach». *Journal of Chromatography A*, **889**, 111-118.
- [17] YOSHIMATSU, K., REIMHULT, K., KROZER, A., MOSBACH, K., SODE, K., YE, L. 2007. «Uniform molecularly imprinted microspheres and nanoparticles prepared by precipitation polymerization: The control of particle size suitable for different analytical applications». *Analytica Chimica Acta*, **584**, 112-121.

- [18] HOSHINO, Y., KODAMA, T., OKAHATA, Y., SHEA, K. J. 2008. «Peptide imprinted polymer nanoparticles: A plastic antibody». *Journal of the American Chemical Society*, **130**, 15242-15243.
- [19] HOSHINO, Y., KOIDE, H., URAKAMI, T., KANAZAWA, H., KODAMA, T., OKU, N., SHEA, K. J. 2010. «Recognition, neutralization, and clearance of target peptides in the bloodstream of living mice by molecularly imprinted polymer nanoparticles: A plastic antibody». *Journal of the American Chemical Society*, **132**, 6644-6645.
- [20] CANFAROTTA, F., WATERS, A., SADLER, R., MCGILL, P., GUERREIRO, A., PAKOVSKY, D., HAUPT, K., PILETSKY, S. 2016. «Biocompatibility and internalization of molecularly imprinted nanoparticles». *Nano Research*, **9**, 3463-3477.
- [21] POMA, A., GUERREIRO, A., WHITCOMBE, M. J., PILETSKA, E. V., TURNER, A. P. F., PILETSKY, S. A. 2013. «Solid-phase synthesis of molecularly imprinted polymer nanoparticles with a reusable template—“plastic antibodies”». *Advanced Functional Materials*, **23**, 2821-2827.
- [22] *PubMed Timeline Results for Molecular Imprinting*, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=molecular+imprinting&timeline=expanded> (last time accessed: November 28, 2024).
- [23] SAJINI, T., MATHEW, B. 2021. «A brief overview of molecularly imprinted polymers: Highlighting computational design, nano and photo-responsive imprinting». *Talanta Open*, **4**, 100072.
- [24] GÓMEZ-CABALLERO, A., UNCETA, N., GOICOLEA, M. A., BARRIO, R. J. *Reactive and Functional Polymers Volume Three*. Springer International Publishing, Cham 2020, pp. 69-116.
- [25] SALIAN, V. D., BYRNE, M. E. 2013. «Living radical polymerization and molecular imprinting: Improving polymer morphology in imprinted polymers». *Macromolecular Materials and Engineering*, **298**, 379-390.
- [26] PARKATZIDIS, K., WANG, H. S., TRUONG, N. P., ANASTASAKI, A. 2020. «Recent developments and future challenges in controlled radical polymerization: A 2020 Update». *Chem*, **6**, 1575-1588.
- [27] OTSU, T., YOSHIDA, M. 1982. «Role of initiator-transfer agent-terminator (iniferter) in radical polymerizations: Polymer design by organic disulfides as iniferters». *Die Makromolekulare Chemie, Rapid Communications*, **3**, 127-132.
- [28] SOLOMON, D. H., RIZZARDO, E., CACIOLI, P. *Polymerization process and polymers produced thereby*, 4581429, publ. date April 8, 1986.
- [29] BOMPART, M., HAUPT, K. 2009. «Molecularly imprinted polymers and controlled/living radical polymerization». *Australian Journal of Chemistry*, **62**, 751.
- [30] CHIEFARI, J., CHONG, Y. K. (BILL), ERCOLE, F., KRSTINA, J., JEFFERY, J., LE, T. P. T., MAYADUNNE, R. T. A., MEIJES, G. F., MOAD, C. L., MOAD, G., RIZZARDO, E., THANG, S. H. 1998. «Living Free-Radical Polymerization by Reversible Addition–Fragmentation Chain Transfer: The RAFT process». *Macromolecules*, **31**, 5559-5562.

- [31] BEYAZIT, S., TSE SUM BUI, B., HAUPT, K., GONZATO, C. 2016. «Molecularly imprinted polymer nanomaterials and nanocomposites by controlled/living radical polymerization». *Progress in Polymer Science*, **62**, 1-21.
- [32] GARCIA MUTIO, D. *New strategies for developing receptors based on molecular imprinting for analytical applications*, UPV/EHU, 2016.
- [33] BASOZABAL MOYUA, I. *Desarrollo y evaluación de polímeros sintéticos para su aplicación como receptores moleculares/Development, evaluation and application of synthetic polymers as molecular receptors*, UPV/EHU, 2014.
- [34] SONG, X., ZHOU, T., ZHANG, J., SU, Y., ZHOU, H., HE, L. 2019. «Preparation and application of molecularly imprinted monolithic extraction column for the selective microextraction of multiple macrolide antibiotics from animal muscles». *Polymers*, **11**, 1109.
- [35] YOSHIMATSU, K., REIMHULT, K., KROZER, A., MOSBACH, K., SODE, K., YE, L. 2007. «Uniform molecularly imprinted microspheres and nanoparticles prepared by precipitation polymerization: The control of particle size suitable for different analytical applications». *Analytica Chimica Acta*, **584**, 112-121.
- [36] ZHANG, H. 2013. «Controlled/“living” radical precipitation polymerization: A versatile polymerization technique for advanced functional polymers». *European Polymer Journal*, **49**, 579-600.
- [37] WANG, M., GE, X., ZHANG, Z. *Radiation technology for advanced materials*. Elsevier 2019, pp. 183-205.
- [38] DVORAKOVA, G., HASCHICK, R., CHIAD, K., KLAPPER, M., MÜLLEN, K., BIFFIS, A. 2010. «Molecularly imprinted nanospheres by nonaqueous emulsion polymerization». *Macromolecular Rapid Communications*, **31**, 2035-2040.
- [39] CHEN, L., WANG, X., LU, W., WU, X., LI, J. 2016. «Molecular imprinting: perspectives and applications». *Chemical Society Reviews*, **45**, 2137-2211.
- [40] ASHLEY, J., FENG, X., HALDER, A., ZHOU, T., SUN, Y. 2018. «Dispersive solid-phase imprinting of proteins for the production of plastic antibodies». *Chemical Communications*, **54**, 3355-3358.
- [41] ELEJAGA-JIMENO, A., GÓMEZ-CABALLERO, A., GARCÍA DEL CAÑO, G., UNCETA, N., SAUMELL-ESNAOLA, M., SALLÉS, J., GOICOLEA, M. A., BARRIO, R. J. 2024. «Tuning the properties of peptide imprinted nanoparticles for protein immunoprecipitation using magnetic streptavidin beads». *Microchimica Acta*, **191**, 709.
- [42] BOYSEN, R. I., SCHWARZ, L. J., NICOLAU, D. V., HEARN, M. T. W. 2017. «Molecularly imprinted polymer membranes and thin films for the separation and sensing of biomacromolecules». *Journal of Separation Science*, **40**, 314-335.
- [43] COWIESON, D., PILETSKA, E., MOCZKO, E., PILETSKY, S. 2013. «Grafting of molecularly imprinted polymer to porous polyethylene filtration membranes by plasma polymerization». *Springer*, **405**, 6489-6496.
- [44] NIAVARANI, Z., BREITE, D., PRAGER, A., THOMAS, I., KUEHNERT, M., ABEL, B., GLÄSER, R., SCHULZE, A. 2023. «Synthesis of composite imprinted poly-

- mer membranes for the selective removal of 17 β -estradiol from water». *Materials Chemistry Frontiers*, **7**, 4460-4472.
- [45] SUZAEI, F. M., DARYANAVARD, S. M., ABDEL-REHIM, A., BASSYOUNI, F., ABDEL-REHIM, M. 2023. «Recent molecularly imprinted polymers applications in bioanalysis». *Chemical Papers*, **77**, 619-655.
- [46] AYERDURAI, V., LACH, P., LIS-CIEPLAK, A., CIEPLAK, M., KUTNER, W., SHARMA, P. S. 2024. «An advantageous application of molecularly imprinted polymers in food processing and quality control». *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **64**, 3407-3440.
- [47] SELLERGREN, Boerje. 1994. «Direct drug determination by selective sample enrichment on an imprinted polymer». *Analytical Chemistry*, **66**, 1578-1582.
- [48] SOBIECH, M., LULIŃSKI, P. 2024. «Molecularly imprinted solid phase extraction – recent strategies, future prospects and forthcoming challenges in complex sample pretreatment process». *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **174**, 117695.
- [49] CHEONG, W. J., YANG, S. H., ALI, F. 2013. «Molecular imprinted polymers for separation science: A review of reviews». *Journal of Separation Science*, **36**, 609-628.
- [50] TURIÉL, E., MARTIN-ESTEBAN, A. 2004. «Molecularly imprinted polymers: Towards highly selective stationary phases in liquid chromatography and capillary electrophoresis». *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **378**, 1876-1886.
- [51] SONG, Z., LI, J., LU, W., LI, B., YANG, G., BI, Y., ARABI, M., WANG, X., MA, J., CHEN, L. 2022. «Molecularly imprinted polymers based materials and their applications in chromatographic and electrophoretic separations». *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **146**, 116504.
- [52] LIU, S., LI, Z., YU, B., WANG, S., SHEN, Y., CONG, H. 2020. «Recent advances on protein separation and purification methods». *Advances in Colloid and Interface Science*, **284**, 102254.
- [53] BERELI, N., YAVUZ, H., DENIZLI, A. 2020. «Protein chromatography by molecular imprinted cryogels». *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, **43**, 657-670.
- [54] ANDAÇ, M., YU GALAEV, I., DENIZLI, A. *Biomaterials from nature for advanced devices and therapies*. Wiley 2016, 401-428.
- [55] ASLIYUCE, S., MATTIASSON, B., MAMO, G. 2016. «Synthesis and use of protein G imprinted cryogel as affinity matrix to purify protein G from cell lyaste». *Journal of Chromatography B*, **1021**, 204-212.
- [56] MIRATA, F., RESMINI, M. 2015. «Molecularly imprinted polymers for catalysis and synthesis». 107-129.
- [57] ROBINSON, D. K., MOSBACH, K. 1989. «Molecular imprinting of a transition state analogue leads to a polymer exhibiting esterolytic activity». *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* 969-970.
- [58] TIAN, R., LI, Y., XU, J., HOU, C., LUO, Q., LIU, J. 2022. «Recent development in the design of artificial enzymes through molecular imprinting technology». *Journal of Materials Chemistry B*, **10**, 6590-6606.

- [59] KUMAR, A., KASHAP, S., MAZAHIR, F., SHARMA, R., YADAV, A. K. 2024. «Unveiling the potential of molecular imprinting polymer-based composites in the discovery of advanced drug delivery carriers». *Drug Discovery Today* 104164.
- [60] HE, S., ZHANG, L., BAI, S., YANG, H., CUI, Z., ZHANG, X., LI, Y. 2021. «Advances of molecularly imprinted polymers (MIP) and the application in drug delivery». *European Polymer Journal*, **143**, 110179.
- [61] DI NARDO, F., ANFOSSI, L., BAGGIANI, C. 2023. «MIP-based immunoassays: A critical review». *Analytica Chimica Acta*, **1277**, 341547.
- [62] REFAAT, D., AGGOUR, M. G., FARGHALI, A. A., MAHAJAN, R., WIKLANDER, J. G., NICHOLLS, I. A., PILETSKY, S. A. 2019. «Strategies for molecular imprinting and the evolution of MIP nanoparticles as plastic antibodies-synthesis and applications». *International Journal of Molecular Sciences*, **20**.
- [63] LI, Y., GUAN, C., LIU, C., LI, Z., HAN, G. 2024. «Disease diagnosis and application analysis of molecularly imprinted polymers (MIPs) in saliva detection». *Talanta*, **269**, 125394.
- [64] DAGAR, M., YADAV, S., SAI, V. V. R., SATIJA, J., BHATIA, H. 2022. «Emerging trends in point-of-care sensors for illicit drugs analysis». *Talanta*, **238**, 123048.
- [65] CHEN, C., LUO, J., LI, C., MA, M., YU, W., SHEN, J., WANG, Z. 2018. «Molecularly imprinted polymer as an antibody substitution in pseudo-immunoassays for chemical contaminants in food and environmental samples». *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **66**, 2561-2571.
- [66] CUI, F., ZHOU, Z., ZHOU, H. S. 2020. «Molecularly imprinted polymers and surface imprinted polymers based electrochemical biosensor for infectious diseases». *Sensors*, **20**, 996.
- [67] ALTINTAS, Z., FRANCE, B., ORTIZ, J. O., TOTHILL, I. E. 2016. «Computationally modelled receptors for drug monitoring using an optical based biomimetic SPR sensor». *Sensors and Actuators B: Chemical*, **224**, 726-737.
- [68] OVEZOVA, M., YILMAZ, F., GÖKTÜRK, I., GÜLER, K. Ç., DENIZLI, A. 2024. «Molecularly imprinted polymers for pharmaceutical and biomedical analysis». *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis Open*, **4**, 100038.
- [69] KIM, K., STOLL, S., SINGH, R., LEE, W. H., HWANG, J. H. 2023. «Recent advances in illicit drug detection sensor technology in water». *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **168**, 117295.
- [70] WACKERLIG, J., SCHIRHAGL, R. 2016. «Applications of molecularly imprinted polymer nanoparticles and their advances toward industrial use: A review». *Analytical Chemistry*, **88**, 250-261.
- [71] CALDARA, M., KULPA, J., LOWDON, J. W., CLEIJ, T. J., DILIËN, H., EERSELS, K., GRINSVEN, B. VAN. 2023. «Recent advances in molecularly imprinted polymers for glucose monitoring: From fundamental research to commercial application». *Chemosensors*, **11**, 32.

- [72] BHAKTA, S., MISHRA, P. 2021. «Molecularly imprinted polymer-based sensors for cancer biomarker detection». *Sensors and Actuators Reports*, **3**, 100061.
- [73] SELVOLINI, G., MARRAZZA, G. 2017. «MIP-based sensors: Promising new tools for cancer biomarker determination». *Sensors 2017, Vol. 17, Page 718*, **17**, 718.
- [74] GOYAL, A., SAKATA, T. 2022. «Development of a redox-label-doped molecularly imprinted polymer on β -cyclodextrin/reduced graphene oxide for electrochemical detection of a stress biomarker». *ACS Omega*, **7**, 33491-33499.
- [75] TERTIS, M., SÎRBU, P.-L., SUCIU, M., BOGDAN, D., PANA, O., CRISTEA, C., SIMON, I. 2022. «An innovative sensor based on chitosan and graphene oxide for selective and highly-sensitive detection of serotonin». *Wiley Online Library*, **9**.
- [76] YANG, J., HU, Y., LI, Y. 2019. «Molecularly imprinted polymer-decorated signal on-off ratiometric electrochemical sensor for selective and robust dopamine detection». *Biosensors and Bioelectronics*, **135**, 224-230.