



# Membrane a stampo molecolare

di Francesco Trotta, Claudio Baggiani

I fenomeni di riconoscimento a livello molecolare rappresentano una caratteristica tipica delle interazioni tra le biomolecole complesse (enzimi, recettori cellulari, anticorpi, acidi nucleici ecc.) e costituiscono un campo di grande interesse per la chimica moderna.

Negli ultimi anni sono stati compiuti molti sforzi per preparare molecole sintetiche in grado di svolgere un'attività di riconoscimento molecolare al pari delle macromolecole di origine naturale e i cosiddetti "polimeri a stampo molecolare" (*Molecular Imprinted Polymers* MIP) costituiscono un significativo esempio di tali sistemi mimetici.

La tecnica dello stampo molecolare (Figura 1) prevede la sintesi di un polimero altamente reticolato in presenza di un template capace di interazione con le molecole dei monomeri circostanti. Dopo la polimerizzazione tale template viene rimosso quantitativamente dal materiale polimerico, lasciando nanocavità complementari alla struttura del template stesso, con proprietà del tutto simili a quelle dei siti di legame caratteristici degli anticorpi (non a caso i MIP sono anche detti *plastibody*, in

analogia con *antibody*) quali la reversibilità del legame di riconoscimento molecolare e la selettività di interazione verso il template anche in presenza di molecole molto simili per dimensioni, forma e struttura elettronica.

Malgrado l'esatta origine dell'elevata affinità per la molecola stampo ( $K_{eq}$  tra  $10^3$  e  $10^8$   $M^{-1}$ ) sia ancora fonte di discussione tra gli addetti ai lavori, è certo che le proprietà di riconoscimento molecolare dei MIP sono dovute principalmente a due fattori: la presenza nella miscela di polimerizzazione di elevate quantità di agenti reticolanti, fino al 90% delle moli totali di monomeri presenti e la capacità della molecola stampo di preorganizzare e mantenere attorno a sé una serie di interazioni non covalenti con i monomeri, interazioni basate su legami idrogeno, a coppia ionica o di coordinazione metallica.

Attualmente i polimeri a stampo molecolare si producono secondo due procedure generali: nell'approccio pre-organizzato [1] (principalmente dovuto a Wulff e collaboratori) le aggregazioni tra la molecola template ed i monomeri vengono mantenute grazie ad un vero e proprio legame covalente (reversibile) e solo successivamente si fa avvenire la polimerizzazione. Nella seconda metodologia [2] (ideata principalmente da Mosbach e collaboratori), il pre-arrangiamento con i monomeri è dovuto semplicemente a legami non-covalenti o di coordinazione metallica.

Risultati importanti sono stati raggiunti con entrambe le metodologie, ma la tecnica non-covalente appare essere sicuramente di più semplice esecuzione e molto versatile.

Sebbene i primi esempi di interazione non covalente dovute alle ricerche di Dickey [3] risalgano a più di 50 anni fa e riguardino la preparazione di silice per il riconoscimento molecolare del metil arancio, il grande sviluppo dei MIP è derivato sicuramente dai polimeri e copolimeri organici.

In effetti negli ultimi anni si è verificata una crescita esponenziale delle pubblicazioni e brevetti riguardo i MIP [4]. Le applicazioni spaziano dalle separazioni cromatografiche, a sistemi di preconcentrazione, allo sviluppo di sensori, all'azione anticorpale mimetica ed al trasporto selettivo di specie molecolari attraverso membrane a stampo molecolare.

Quest'ultima applicazione è stata sviluppata molto di recente soprattutto per il lavoro di Yoshikawa [5] e Kobayashi [6]. Secondo la prima procedura

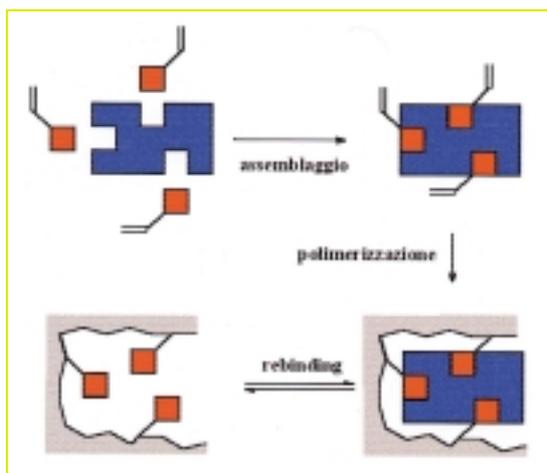


Figura 1 - Formazione di un polimero a stampo molecolare

Francesco Trotta, Dipartimento di Chimica Inorganica, Chimica Fisica e Chimica dei Materiali dell'Università di Torino Via P. Giuria, 7 - 10125 Torino - trotta@ch.unito.it.

Claudio Baggiani, Dipartimento di Chimica Analitica dell'Università di Torino - Via P. Giuria, 5 - 10125 Torino - baggiani@ch.unito.it.





membrane contenenti tetrapeptidi hanno dimostrato di essere in grado di svolgere un'efficace e selettiva separazione di miscele racemiche di numerosi aminoacidi.

La seconda procedura, decisamente più semplice a eseguire, è parimenti efficace. In questo caso la membrana viene ottenuta tramite la tecnica di inversione di fase per precipitazione in un non solvente di una soluzione omogenea viscosa di un opportuno polimero contenente percentuali significative della molecola stampo. Il successivo allontanamento della molecola stampo per prolungato lavaggio, lascia nella membrana siti in grado di discriminare la molecola stampo da altre molto simili per struttura, polarità e dimensioni. È questo il caso, ad esempio, della teofillina nei confronti della caffeina. La membrana trattiene il stampo fino a raggiungere la saturazione dei siti disponibili. Ma la rimozione della teofillina per successivi lavaggi consente il ripristino delle condizioni iniziali ed il riuso della membrana.

Recentemente il nostro gruppo ha provato a valutare l'efficacia di questa metodologia su molecole più complesse e di grande interesse industriale [7].

La nostra attenzione è stata infatti rivolta alla naringina (Figura 2) Quest'ultima è un componente delle arance e contribuisce insieme ad altre molecole come la limonina, l'esperidina ed altre a formare il gusto amaro dei succhi di arancia. La naringina è un flavonoide presente nella buccia delle arance e viene riasciato nei processi di spremitura. Seppure presente in pochi  $\mu\text{g}/\text{litro}$ , alcune *cultivar* del sud Italia presentano un contenuto in questi componenti troppo elevato e sono responsabili del sapore amaro dei succhi. La loro rimozione selettiva

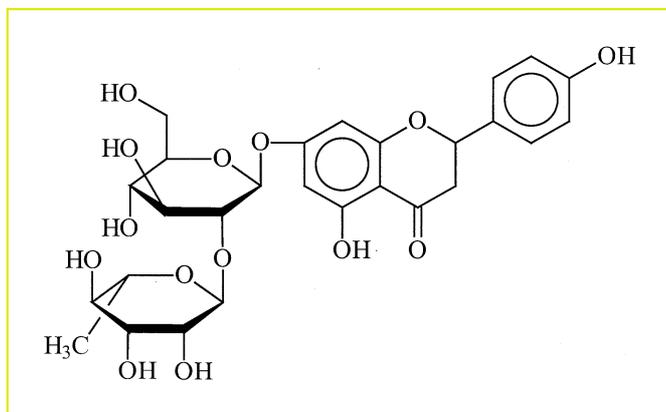


Figura 2 - Molecola di Naringina

dal succo di arancia rappresenta un importante obiettivo dell'industria alimentare del settore, in quanto succhi troppo amari riducono la qualità ed il valore del prodotto.

Per queste ragioni vi è un grande interesse nello studio e nello sviluppo di tecniche alternative per la rimozione selettiva della naringina. Le membrane a stampo molecolare possono dare un importante contributo alla risoluzione di questo problema anche grazie alla loro possibilità di operare in un processo a flusso continuo e con grandi volumi da trattare.

Una soluzione contenente naringina (2%) in DMSO di un copolimero acido acrilico - acrilonitrile dà luogo a membrana per inversione di fase tramite precipitazione in acqua. La rimozione della naringina per prolungato e controllato lavaggio con soluzione di acido acetico in etanolo e poi con acqua ultra pura genera siti in grado di ritenere la naringina.

La Figura 3 riporta alcuni dati preliminari ottenuti su una membrana sopra descritta in confronto con una analoga mem-

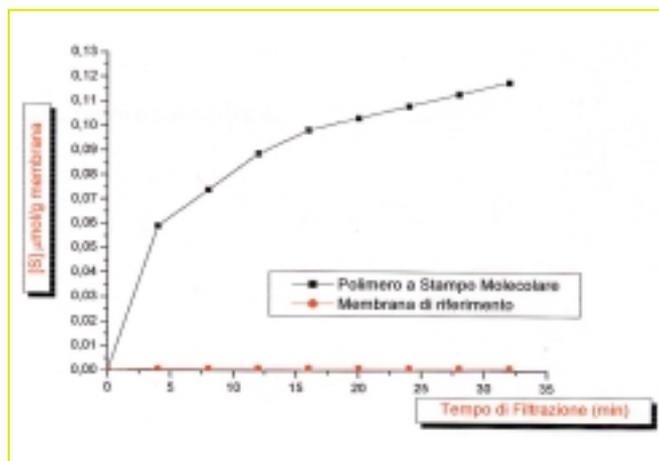


Figura 3 - Ritenzione di Naringina su membrana a stampo molecolare e su membrana di controllo

brana ottenuta nelle stesse identiche condizioni, ma in assenza di molecola stampo ed usata come riferimento. Come si può facilmente notare il contenuto di naringina sulla membrana aumenta nel tempo fino a raggiungere un valore limite legato alla saturazione dei siti presenti. Prove di controllo condotte sulla stessa matrice polimerica, ma in assenza di molecola stampo nella formazione della membrana non mostrano alcuna significativa ritenzione della naringina.

Come già accennato in precedenza un semplice lavaggio della membrana libera nuovamente i siti ed il processo può essere ripetuto senza perdite di selettività per un tempo indefinito.

Seppure si possa pensare alla presenza di siti leganti a diversa specificità, le corrette interazioni della catena polimerica della membrana con i gruppi funzionali della naringina sono pre-requisiti essenziali per l'osservazione del fenomeno. Infatti, la completa esterificazione dei gruppi ossidrilici presenti nella molecola di naringina produce una molecola decisamente più lipofila che non è ritenuta dalla membrana a stampo molecolare, dimostrando l'importanza delle interazioni polari in questo processo.

Questa alta selettività di azione, la semplicità di esecuzione del processo oltre che la versatilità verso le più svariate molecole organiche rendono le membrane a stampo molecolare adatte separazione di miscele anche complesse e ne fanno un processo con notevoli prospettive di sviluppo per numerose applicazioni di base ed industriali.

**Ringraziamenti:** gli autori desiderano ringraziare il prof. Enrico Drioli e il suo gruppo dell'Università degli studi della Calabria per la fattiva collaborazione in questa ricerca.

#### Bibliografia

- [1] G. Wulff, A. Sarhan, *Angew Chem. Int. Ed. Engl.*, 1972, **11**, 341.
- [2] K. Mosbach, *Trends Biochem*, 1994, **19**, 9.
- [3] F.H. Dickey, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1949, 227.
- [4] R.A. Bartsch, M. Maeda, "Molecular and Ionic Recognition with Imprinted Polymers" ACS, Washington, DC 1998.
- [5] M. Yoshikawa, J. Izumi, T. Kitao; *J. Membr.Sci.*, 1995, **108**, 171.
- [6] T. Kobayashi, T. Nagai *et al.*, *J. Membr.Sci.*, 1994, **86**, 47.
- [7] F. Trotta, C. Baggiani *et al.*, 1<sup>st</sup> International Workshop on Molecular Imprinting, Cardiff UK 2000 book of abstract, 104.

