

Polymères à empreintes moléculaires : principe et applications

Karsten Haupt*, maître de conférences et Alain Fradet**, professeur

Summary

Molecularly imprinted polymers : concept and applications

Molecularly imprinted polymers (MIPs) are crosslinked polymer networks where cavities specific for a particular molecule have been created. The affinity between MIPs and their guest molecules is of the same kind as that observed between antibodies and antigens or between enzymes and substrates in biological systems. This article reviews the various preparation methods of MIPs, and discusses recent applications in chromatographic separations, immunoassays, sensors, screening of combinatorial libraries and in catalysis and organic synthesis.

Mots-clés

Impression moléculaire, biomimétisme, chromatographie, capteurs, catalyse.

Key-words

Molecular imprinting, biomimicry, chromatography, sensors, catalysis.

Anticorps, récepteurs et enzymes sont des biomolécules couramment utilisées en chimie et biochimie analytiques dans différentes techniques visant à détecter et quantifier une molécule cible. Ces techniques ont en commun une première étape où la molécule cible est reconnue et adsorbée sélectivement par la biomolécule réceptrice. Leurs applications types sont la chromatographie d'affinité, l'immunoanalyse, et les biocapteurs. Les biomolécules sont généralement très coûteuses et ne peuvent être utilisées que dans des conditions expérimentales se rapprochant des conditions naturelles, ce qui limite leurs domaines d'application. Il est donc apparu intéressant de chercher à les remplacer par des matériaux plus stables, moins coûteux mais tout aussi sélectifs.

Une des approches utilisées consiste à créer dans un matériau synthétique des sites récepteurs artificiels spécifiques d'une molécule cible. La technique qui permet de créer ces sites récepteurs est appelée « impression moléculaire » (molecular imprinting). Le matériau final imite le fonctionnement des systèmes de reconnaissance biologique, tout en

présentant les avantages de stabilité et de coût des matériaux synthétiques.

Principe général de l'impression moléculaire

L'impression moléculaire consiste à créer des images complémentaires – des « empreintes moléculaires » – d'une molécule cible dans un polymère synthétique. Deux approches différentes peuvent être utilisées.

Dans l'approche dite « non covalente », la molécule cible (le « template ») est mise en contact avec un mélange de monomères portant des groupements fonctionnels capables de la complexer, par exemple par liaisons hydrogène, liaisons ioniques ou interactions hydrophobes. La polymérisation, conduite en présence d'un monomère réticulant, permet d'obtenir un réseau polymère rigide qui, après élimination de la molécule cible, porte des sites complémentaires de cette dernière, capables de la reconnaître de manière spécifique (figure 1) [1-3]. La présence

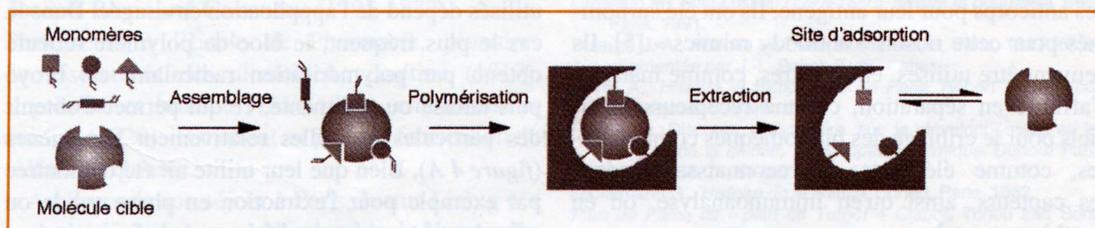


Figure 1 - Représentation schématique du processus d'impression moléculaire par l'approche non covalente.

* Laboratoire CRRET, Université Paris XII Val-de-Marne, 61, avenue du G^{al} de Gaulle, 94010 Créteil.
E-mail : haupt@univ-paris12.fr

** Chimie des polymères, Université Pierre et Marie Curie, 4, place Jussieu, 75252 Paris Cedex 05.
E-mail : afr@ccr.jussieu.fr

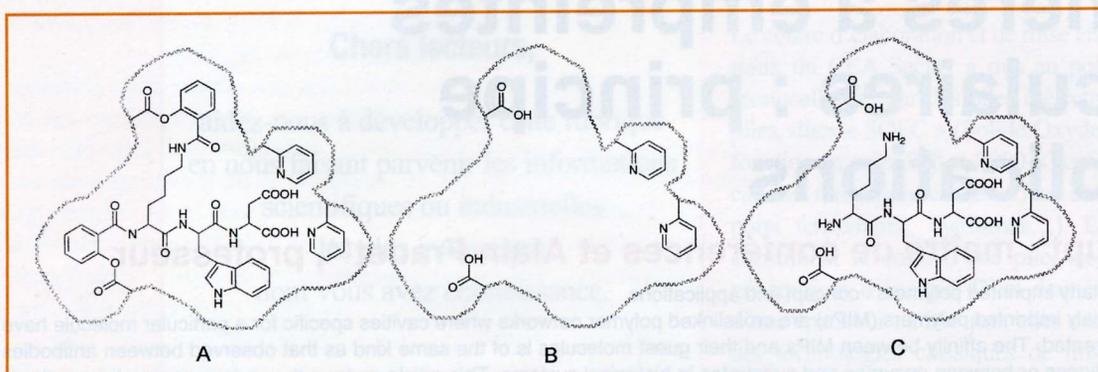


Figure 2 - Empreinte moléculaire du tripeptide Lys-Trp-Asp créée dans un réseau polymère en utilisant à la fois des interactions covalentes et non covalentes. A : site d'adsorption après polymérisation ; B : site d'adsorption après hydrolyse et extraction de la molécule cible ; C : reconnaissance de la molécule cible lors de l'utilisation du polymère imprimé.

d'un solvant porogène dans le mélange de polymérisation permet de créer une structure méso- ou macroporeuse qui facilite l'élimination de la molécule cible après la synthèse et son accès aux sites lors de l'utilisation ultérieure du polymère. Cette approche est d'utilisation très souple et dépend peu de la nature de la molécule cible [3]. De plus, elle est proche des systèmes biologiques dont elle s'inspire.

Dans le cas de l'approche dite « covalente », des dérivés polymérisables de la molécule cible sont tout d'abord synthétisés, puis copolymérisés avec le monomère réticulant. Pour libérer les sites, les liaisons entre les monomères et la molécule cible doivent être clivées par voie chimique. Lors de l'utilisation du polymère imprimé, des liaisons covalentes ou non covalentes peuvent être établies entre celui-ci et la molécule cible. Cette approche a été introduite par le groupe de Wulff [2].

Des protocoles qui combinent les deux approches (figure 2) peuvent également être utilisés [4].

Les polymères imprimés (molecularly imprinted polymers, MIP) ont en général une très haute sélectivité pour leur molécule cible, comparable à celle des anticorps pour leur antigène. Ils ont été surnommés pour cette raison « antibody mimics » [5]. Ils peuvent être utilisés, entre autres, comme matrices d'affinité en séparation, comme récepteurs artificiels pour le criblage des bibliothèques combinatoires, comme éléments de reconnaissance dans les capteurs, ainsi qu'en immunoanalyse, ou en synthèse et catalyse.

Composition chimique et mise en forme

Bien que les premiers travaux sur des empreintes moléculaires créées dans la silice datent d'il y a plus

de 60 ans, la technique n'a connu un réel développement qu'à partir des années 80 grâce à l'utilisation de polymères organiques, en particulier les polymères acryliques et vinyliques synthétisés par polymérisation radicalaire. L'impression moléculaire est maintenant généralisable à pratiquement tout type de molécule cible et le nombre de publications paraissant annuellement sur le sujet augmente d'année en année. Il se situe actuellement entre 90 et 100.

La figure 3 présente quelques monomères fonctionnels et réticulants permettant de synthétiser des polymères à empreintes moléculaires. Tous les types d'interactions non covalentes peuvent être utilisés pour la reconnaissance de la molécule cible.

Des protocoles de chimie combinatoire et de criblage ont été mis au point pour permettre de trouver plus facilement et plus rapidement la composition du polymère la mieux adaptée à une cible donnée [6-7]. Récemment, d'autres types de polymères comme des polyuréthanes [8] et des polypyrroles [9] ont été utilisés pour des applications spécifiques. L'intérêt pour les silices et verres sol-gel a également été relancé [10].

L'état dans lequel les polymères imprimés sont utilisés dépend de l'application envisagée. Dans le cas le plus fréquent, le bloc de polymère réticulé obtenu par polymérisation radicalaire est broyé puis tamisé ou sédimenté, ce qui permet d'obtenir des particules de tailles relativement homogènes (figure 4 A). Bien que leur utilité ait été démontrée par exemple pour l'extraction en phase solide ou pour des tests « immunologiques », la forme irrégulière de ces particules constitue un désavantage considérable pour leur utilisation en chromatographie. Une façon plus élégante et aussi plus rapide d'obtenir des particules sphériques homogènes de polymère imprimé est de les synthétiser par polymérisation en suspension [11] ou par précipitation

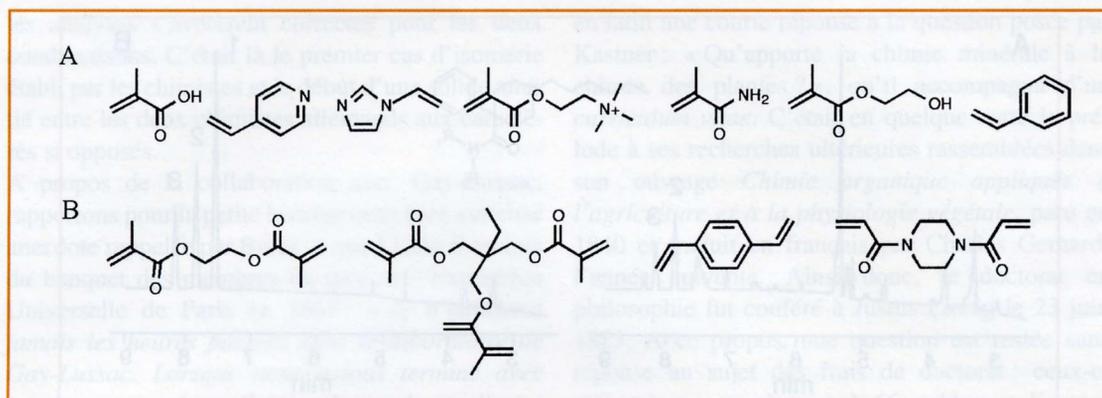


Figure 3 - Monomères fonctionnels (A) et réticulants (B) couramment utilisés pour la synthèse de polymères imprimés par l'approche non covalente.

[12] (figure 4 B). Les MIP peuvent également être synthétisés *in situ*, par exemple dans une colonne HPLC [13], dans un capillaire [14] ou en couche mince sur un substrat [15] (figure 4 C). Les MIP peuvent enfin être utilisés sous forme de membranes destinées à des applications en séparation et extraction [16]. Des membranes imprimées ont été préparées à partir de MIP classiques avec [17-18] ou sans [19] matrice de support, par précipitation de polymères non réticulés en présence du template [20], ou par greffage d'une très fine couche de polymère imprimé sur la surface interne d'une membrane microporeuse [21].

Molécules cibles et applications

L'impression moléculaire peut être appliquée à une très large gamme de molécules cibles, notamment à des produits pharmaceutiques (alcaloïdes, amino-acides et peptides, bases nucléotides, stéroïdes et

sucres), à des pesticides, à d'autres produits utilisés dans l'industrie agroalimentaire, ainsi qu'à des ions métalliques [3]. L'impression de ces composés peut maintenant être considérée comme de la routine. L'impression de structures plus grandes comme des protéines, des cellules et même des minéraux cristallins s'avère plus compliquée à mettre au point, bien que plusieurs publications récentes décrivent des systèmes spécialement adaptés pour ce type d'applications [22-24].

Applications en séparation

La première application des polymères imprimés, et également la plus étudiée, est leur utilisation comme phase stationnaire en chromatographie d'affinité, en particulier pour la séparation des énantiomères des substances chirales. Les empreintes moléculaires peuvent introduire une énantiosélectivité dans le polymère, pourtant synthétisé à partir de

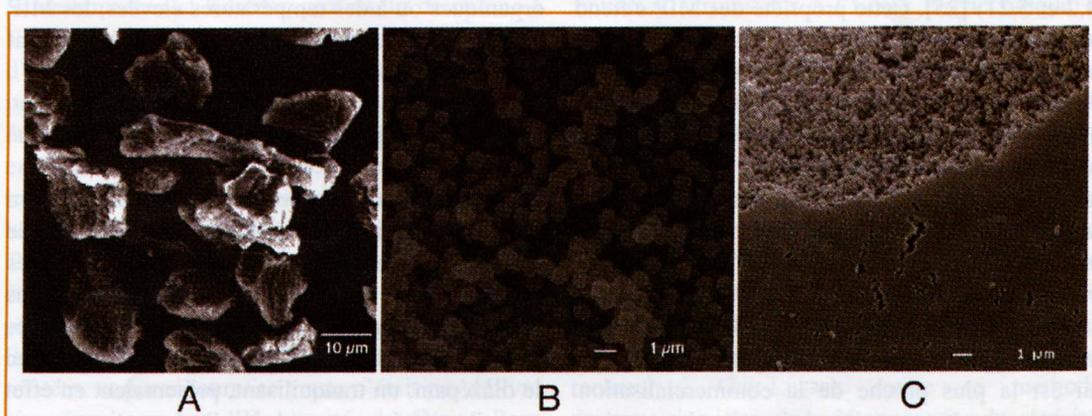


Figure 4 - A : particules de polymère imprimé obtenues par broyage, tamisage et sédimentation ; (B) : billes de polymère obtenues par précipitation ; (C) : couche fine de polymère synthétisée sur un support, une partie de la surface du polymère a été enlevée pour visualiser l'intérieur de la couche (même échelle pour les trois photos).

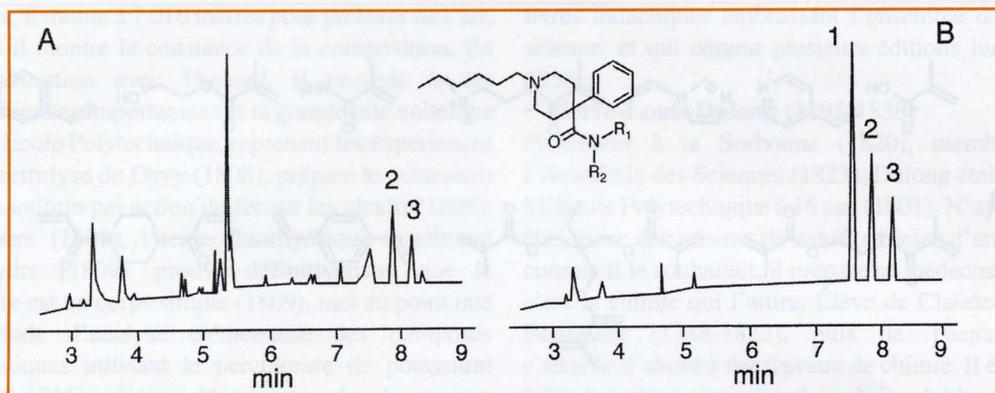


Figure 5 - Chromatogrammes en phase gazeuse d'extraits de plasma humain. (A) après extraction standard liquide-liquide ; (B) après extraction en phase solide avec un polymère imprimé. Pic 1 : template, $R_1 = R_2 = \text{Me}$, Pic 2 : saméridine, $R_1 = \text{Me}$, $R_2 = \text{Et}$, Pic 3 : étalon interne, $R_1 = R_2 = \text{Et}$. (reproduit de la réf. [29] avec l'autorisation de la Friedrich Vieweg & Sohn Verlagsgesellschaft GmbH).

monomères non chiraux. L'avantage des polymères imprimés par rapport aux autres phases stationnaires chirales est qu'ils sont synthétisés « sur mesure » pour la molécule cible. Leur énantiosélectivité est donc connue à l'avance. Par exemple, si un polymère est imprimé avec l'énantiomère L d'un aminoacide, une colonne HPLC contenant ce polymère va retenir l'énantiomère L beaucoup plus que l'énantiomère D. En revanche, une colonne contenant un polymère identique mais non imprimé ne pourra pas séparer les énantiomères. Il est même possible d'obtenir des supports chromatographiques sélectifs pour des molécules contenant plusieurs centres chiraux : pour des molécules contenant deux centres chiraux, les 4 stéréoisomères peuvent être reconnus sélectivement par les MIP correspondants. Par exemple, un polymère imprimé avec le dipeptide Ac-L-Phe-L-Trp-OMe a permis de séparer sélectivement l'isomère LL des isomères DD, DL et LD (facteurs de séparation respectifs : $\alpha = 17,8$, 14,2 et 5,21) [25]. Cette propriété des MIP s'étend aux molécules contenant plus de deux centres chiraux. Par exemple, dans une étude sur les MIP sélectifs pour des monosaccharides, de bonnes sélectivités ont été observées pour les différents stéréoisomères et anomères [26].

Les polymères imprimés ont été utilisés pour d'autres techniques de séparation comme la chromatographie sur couche mince [27], la chromatographie capillaire électrocinétique [14], ainsi que pour l'extraction en phase solide (SPE) [28]. Cette dernière application semble actuellement être celle qui est la plus proche de la commercialisation. Il y a en effet un grand besoin de matrices d'affinité capables d'extraire et d'enrichir sélectivement des analytes pour l'analyse médicale, agroalimentaire ou environnementale. Il a été montré à de

nombreuses reprises qu'une extraction sur polymère imprimé peut conduire à de meilleurs résultats que des méthodes classiques comme l'extraction liquide-liquide ou l'extraction sur phase C_{18} . La figure 5 donne l'exemple de l'extraction de la saméridine, un analgésique, à partir du sérum humain, suivi de sa quantification par chromatographie en phase gazeuse [29]. Un problème potentiel dans ce type d'applications étant le relargage dans la solution à analyser de traces de la molécule cible utilisée lors de la synthèse du MIP, un analogue structural de la saméridine a été utilisé dans cet exemple pour l'impression du polymère. Comme cet analogue structural peut facilement être détecté en chromatographie, son relargage parasite par le MIP n'interfère pas avec la détection de la saméridine.

La comparaison avec l'immunoextraction en phase solide n'a pas encore été faite, mais grâce à leur plus grande stabilité et la possibilité d'opérer sous conditions « extrêmes » comme dans des solvants organiques ou à des températures élevées, les MIP sont de toute évidence des matériaux hautement compétitifs pour ce type d'applications.

Tests immunologiques

La technologie de l'impression moléculaire a fait un grand bond en avant en 1993 lorsque le groupe de Mosbach a montré que les polymères imprimés pouvaient être substitués aux anticorps dans des tests immunologiques [5]. Des polymères imprimés avec la théophylline, un broncho-dilatateur, et avec le diazépam, un tranquillisant, présentaient en effet une sélectivité comparable à celle des anticorps monoclonaux et des réactivités croisées quasi nulles pour des substances à structures similaires. De plus, une très bonne corrélation entre ce « molecularly



Tableau I - Réactions croisées de polymères imprimés (MIP) et de différents tests immunologiques commerciaux (ELISA et RIA) contre le cortisol et la corticostérone pour des substances de structure similaire [30].

Ligand	Tests pour le cortisol				Tests pour la corticostérone		
	Réactivité croisée (%) ^a				Réactivité croisée (%) ^b		
	MIP ^c	ELISA ^d	RIA ^e	RIA ^f	MIP ^g	RIA ^h	RIA ⁱ
Cortisol	100	100	100	100	10	2,7	0,03
Corticostérone	8,6	10	0,6	3,0	100	100	100
21-Déoxycortisol	4,0	< 0,1	0,3	-	0,54	-	-
11-Déoxycortisol	6,8	19	-	-	1,6	-	11
Prédnisolone	36	13	46	-	5,7	-	-
Cortisone	0,89	-	-	16	0,38	-	< 0,01

a) par rapport à la fixation du cortisol ; b) par rapport à la fixation de la corticostérone ; c) MIP anti-cortisol, d) anticorps monoclonal anti-cortisol de souris [34] ; e) Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, États-Unis ; f) antisérum polyclonal anti-cortisol de lapin [35] ; g) MIP anti-corticostérone ; h) antisérum polyclonal anti-corticostérone du rat [36] ; i) ICN Biomedicals, Inc., Costa Mesa, CA, États-Unis.

imprinted sorbent assay » (MIA) et un test ELISA classique pour la théophylline était également observée. Le *tableau I* montre les sélectivités obtenues avec deux polymères imprimés par le cortisol et la corticostérone. Les réactions croisées obtenues avec différents anticorps mono- et polyclonaux commerciaux sont également données à titre de comparaison [30]. Ces premiers systèmes et ceux qui les ont suivis sont analogues aux tests radioimmunologiques compétitifs en phase solide : une petite quantité d'analyte radiomarqué est ajoutée à l'échantillon et entre en compétition avec l'analyte présent dans celui-ci pour les sites spécifiques du polymère. Lorsque l'équilibre d'adsorption est atteint, la concentration en analyte peut être déterminée en quantifiant la molécule radiomarquée adsorbée, via une courbe étalon.

Plus récemment, d'autres types de tests compétitifs ont été développés à partir d'analytes marqués par un fluorophore ou une enzyme, permettant ainsi une détection par fluorescence, colorimétrie ou chimioluminescence [31-32]. La *figure 6* montre un test compétitif pour l'acide 2,4-phénoxyacétique (2,4-D), un herbicide, qui utilise la chimioluminescence comme principe de détection et une peroxydase comme marqueur. Pour quantifier la lumière chimioluminescente, un système d'imagerie avec une caméra CCD a été utilisé, ce qui permet de mesurer un grand nombre d'échantillons simultanément [33]. Ces tests à haut débit sont, bien entendu,

particulièrement adaptés à des applications de criblage de bibliothèques combinatoires.

Capteurs

En dehors des tests « immunologiques », les mimétiques d'anticorps ou de récepteurs peuvent être utilisés comme éléments de reconnaissance dans des capteurs [37]. Ici aussi, leur meilleure stabilité leur confère un avantage important sur les biomolécules. Un biocapteur est constitué d'un élément de reconnaissance (anticorps, enzyme, récepteur, ADN), qui adsorbe sélectivement l'analyte. L'élément de reconnaissance est en contact avec un transducteur qui traduit le signal chimique ou physique obtenu lors de l'adsorption de l'analyte en un signal facilement quantifiable. Cet élément de reconnaissance peut être remplacé par un polymère imprimé (*figure 7*).

Il existe trois possibilités pour la génération du signal :

1. Le changement d'une propriété physico-chimique du système est détecté et quantifié, comme l'accumulation de matière (microgravimétrie piézoélectrique, résonance plasmonique de surface), la chaleur d'adsorption (microcalorimétrie) ou la capacité électrique.
2. L'analyte possède une propriété facilement détectable et quantifiable (fluorescence, activité électrochimique) ou peut être dosé par compétition avec un

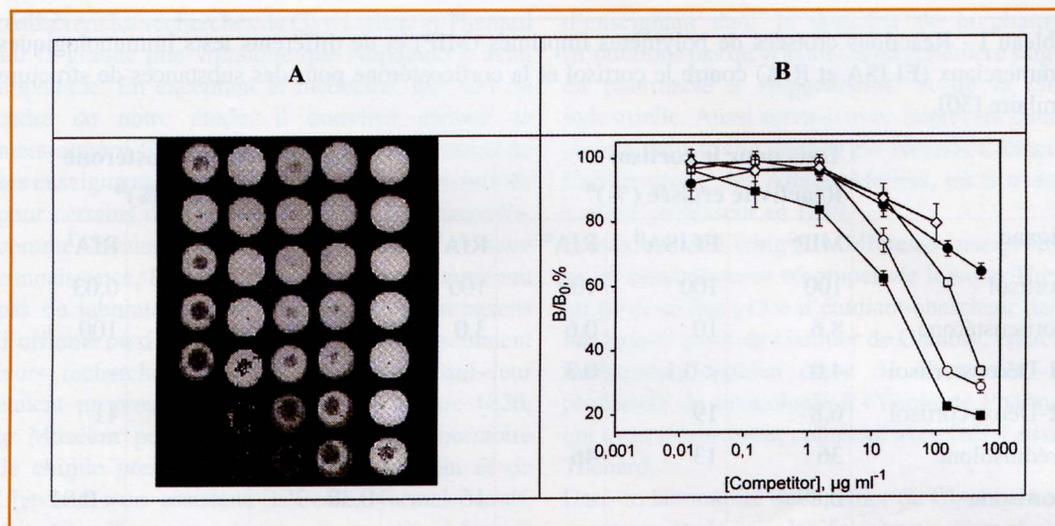


Figure 6 - (A) Image CCD d'un MIA chimioluminescent pour le 2,4-D et d'autres molécules de structures similaires dans une plaque ELISA à 96 puits. De gauche à droite 2,4-D, acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique, acide 4-chlorophénoxyacétique, acide phénoxyacétique (0,015-500 µg ml⁻¹) et 2,4-D-méthylester (0,015-100 µg ml⁻¹) ; (B) Courbes étalons obtenues à partir d'une image CCD après quantification de la luminosité des spots (reproduit de la réf. [33] avec l'autorisation de l'American Chemical Society).

analyte marqué – par un groupement fluorescent par exemple.

3. Le signal est généré par le polymère. Un groupement changeant de propriété lors de l'adsorption de l'analyte est incorporé dans les sites imprimés – par exemple, un monomère fonctionnel fluorescent.

La figure 8 montre un exemple de capteur qui utilise le principe de la microbalance à quartz. Le capteur est un cristal de quartz mis en oscillation à haute fréquence et sur lequel est déposé un film sensible de polymère imprimé. Un changement de la masse de l'ensemble cristal + film lors de l'adsorption de

l'analyte se traduit par un changement de la fréquence d'oscillation. L'adsorption de l'analyte sur la surface du capteur peut donc être quantifiée par cette technique appelée microgravimétrie piézoélectrique. Le film de polymère est ici un polymère imprimé avec l'énantiomère S du propranolol, un β-bloquant. Le propranolol peut être détecté et quantifié dans un échantillon de façon énantiosélective [38].

Le tableau II donne des exemples de sensibilités obtenues avec des capteurs basés sur des MIP et utilisant différents principes de transduction.

Synthèse et catalyse

Les chercheurs se sont également inspirés du mode d'action des enzymes et des anticorps catalytiques pour obtenir des catalyseurs très spécifiques [47]. Des polymères catalytiques mimétiques d'enzymes ont été préparés par impression de polymères avec des substrats, des produits de réaction ou des analogues d'états de transition. Par exemple, un MIP capable de catalyser l'élimination de HF d'une β-fluorocétone a été obtenu par impression avec un analogue du substrat possédant une fonction amine secondaire : lors de l'impression du polymère, un groupement carboxyle se fixe dans le site d'adsorption du substrat par interaction avec l'amine secondaire. Lors de la réaction, ce groupe carboxyle, placé en position favorable, catalyse la réaction de manière très efficace : la vitesse de réaction est multipliée par 600 par rapport à la réaction en solution

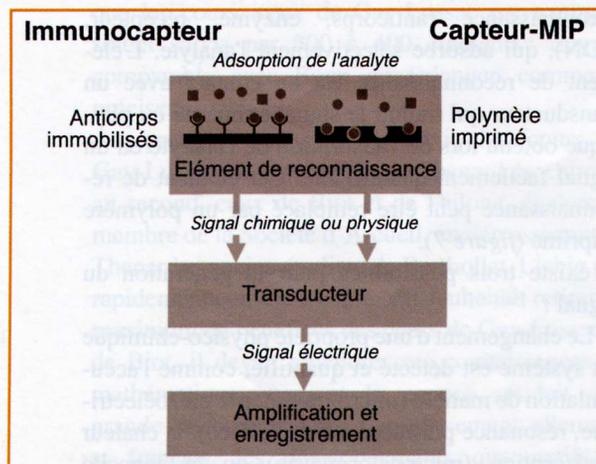


Figure 7 - Représentation schématique d'un capteur basé sur un polymère imprimé, comparé à un immunocapteur. Reproduit de la réf. [37], avec l'autorisation de l'American Chemical Society.

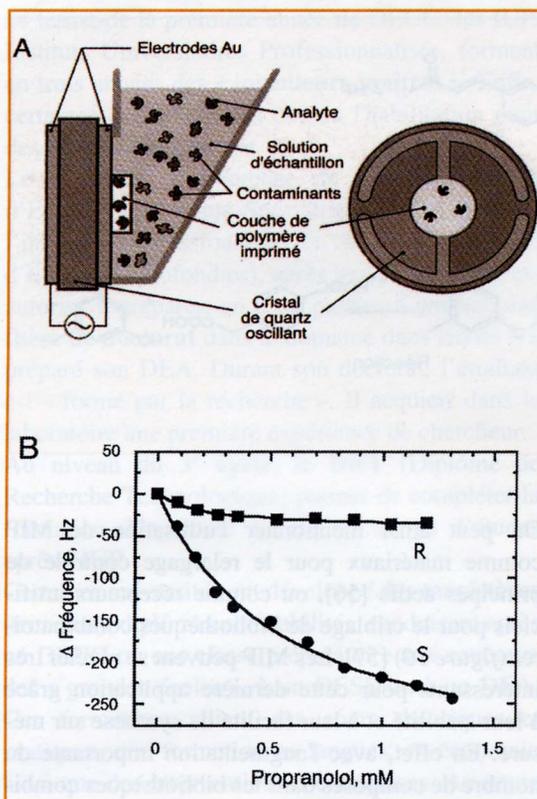


Figure 8 - (A) représentation schématique d'un capteur par microgravimétrie piézoélectrique contenant, comme élément de reconnaissance, un polymère imprimé avec le S-propranolol ; (B) signal obtenu dans une solution contenant différentes concentrations de S- et de R-propranolol.

en présence des monomères fonctionnels précurseurs du MIP [48] (réaction 1).

Dans l'exemple suivant, l'impression d'un polymère avec l'analogue structural d'un état de transition permet d'obtenir un polymère ayant une activité catalytique de type estérase (réaction 2). La vitesse de réaction est augmentée d'un facteur 100 par rapport à la réaction sans catalyseur, et une cinétique du type Michaelis-Menten, ainsi qu'une inhibition par l'analogue de l'état de transition peuvent être observées [49]. Le MIP mime donc parfaitement le comportement catalytique d'une enzyme.

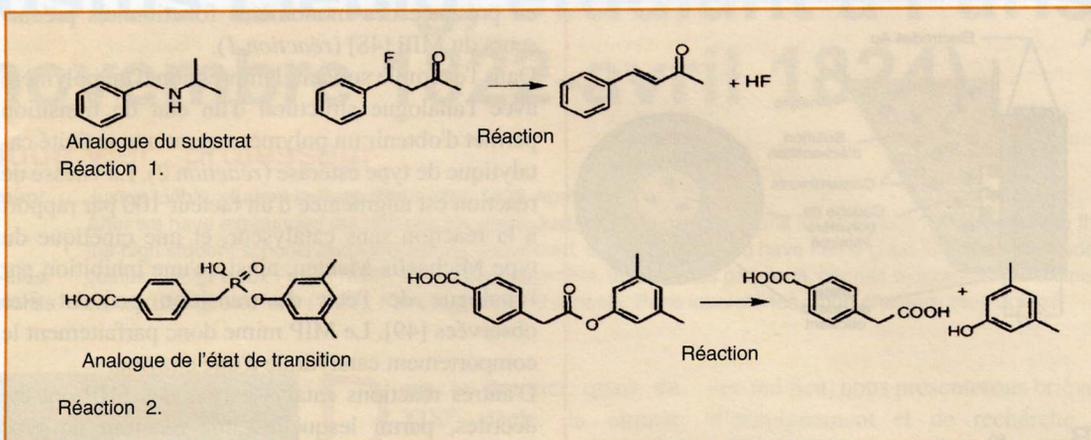
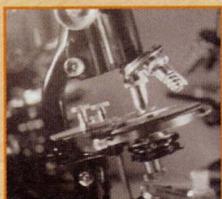
D'autres réactions catalysées par des MIP ont été décrites, parmi lesquelles une réaction de type Diels-Alder [50], une condensation aldol [51], ainsi que l'isomérisation de benzisoxazoles [52]. Des métaux de transition peuvent être utilisés comme groupements prosthétiques dans ces mimétiques d'enzymes [53].

Malgré des résultats encourageants, il faut admettre que les effets catalytiques obtenus sont modestes comparés à ceux des enzymes. Un gros effort de recherche est encore nécessaire pour optimiser les MIP catalytiques et améliorer leurs performances.

En dehors de la catalyse proprement dite, les polymères imprimés peuvent améliorer le rendement de réactions chimiques ou enzymatiques grâce à leurs propriétés d'adsorption spécifique. C'est le cas de la synthèse enzymatique d'un précurseur de l'édulcorant aspartame. La condensation de Cbz-L-Asp-OH avec le L-Phe-OMe qui forme le Cbz- α -aspartame est catalysée par la chymotrypsine. L'équilibre thermodynamique de cette réaction est défavorable au

Tableau II - Sensibilité de capteurs basés sur des MIP et utilisant différents principes de transduction.

Transducteur	Analyte	Fenêtre de détection (μM)	Réf.
Ellipsométrie	Vitamine K ₁	qualitative	39
Capacité électrique	Phénylalanine anilide	qualitative	40
Conductimétrie	Atrazine	0,005-0,05	41
Onde acoustique de surface	Vapeurs de solvants	(0,1 $\mu\text{L/L}$)	8
Microgravimétrie piézoélectrique	Vapeurs de solvants	(4 $\mu\text{L/L}$)	8
	Glucose	1000-20000	9
	S-Propranolol	50-1300	38
IR à onde évanescente	2,4-D	4,5-1000	15
Fluorescence	PAH (pyrène)	0,00015-0,2	42
	cAMP	0,1-100	43
Ampérométrie	Morphine	3,5-35	44
Voltamétrie	2,4-D	0,1-100	45
pH	Glucose	1000-25000	46



produit de réaction, et son rendement est faible. La présence dans le milieu réactionnel d'un polymère imprimé par le Cbz- α -aspartame permet une extraction continue du produit, ce qui déplace l'équilibre vers la formation de celui-ci et augmente ainsi le rendement de la synthèse [54].

Une application non moins intéressante des MIP en synthèse organique concerne la protection de groupes fonctionnels de molécules lors de leur dérivation régiosélective. Il a été montré qu'un stéroïde portant trois groupements hydroxyles libres pouvait être acétylé sélectivement sur l'un de ces hydroxyles si les autres étaient protégés par réaction avec un MIP (figure 9) [55].

Autres applications

Suite aux développements actuels en recherche chimique, biochimique et médicale, de nouvelles applications des MIP sont apparues récemment.

On peut ainsi mentionner l'utilisation de MIP comme matériaux pour le relargage contrôlé de principes actifs [56], ou comme récepteurs artificiels pour le criblage de bibliothèques combinatoires (figure 10) [57]. Les MIP peuvent se révéler très intéressants pour cette dernière application grâce à leur stabilité et à leur facilité de synthèse sur mesure. En effet, avec l'augmentation importante du nombre de composés dans les bibliothèques combinatoires, il devient indispensable de disposer de moyens performants de criblage et de précriblage.

Perspectives

Les MIP sont des matériaux extrêmement prometteurs pour les nombreuses applications décrites ci-dessus. Pour qu'ils puissent atteindre le stade du développement industriel et de la commercialisation, il reste à résoudre un certain nombre de problèmes parmi lesquels on peut citer :

• L'hétérogénéité des sites dans les polymères imprimés par l'approche non covalente

Dans le complexe de prépolymérisation, la molécule cible est en équilibre avec les monomères fonctionnels. Il faut donc utiliser un excès de ces derniers pour déplacer l'équilibre vers la formation du complexe. Par conséquent, une grande partie des groupements fonctionnels se trouve distribuée de façon aléatoire dans le polymère final, parmi les sites réellement actifs, qui peuvent eux-mêmes présenter des différences structurales importantes. Cette hétérogénéité, comparable à celle des anticorps polyclonaux, peut poser des problèmes dans certaines applications comme les tests immunologiques.

• L'affinité pour la molécule cible

Actuellement, les constantes de dissociation MIP-molécule cible se situent autour de 10^{-9} M dans les meilleurs cas et de 10^{-6} M dans les cas courants. Dans les applications de type capteurs ou les tests

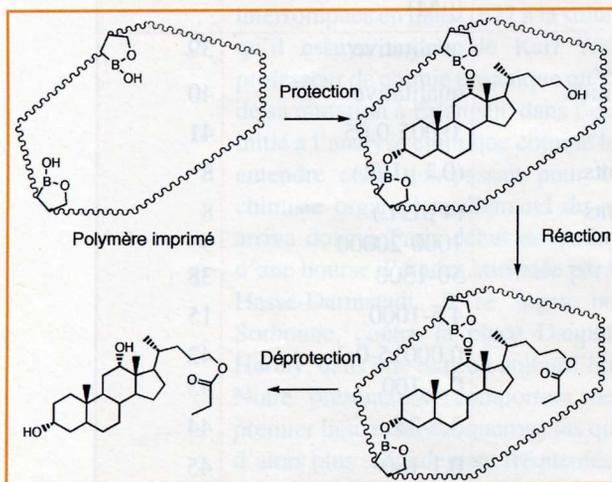


Figure 9 - Un polymère imprimé dirige l'acétylation d'un stéroïde vers un groupement hydroxyle spécifique, en masquant les autres hydroxyles libres.

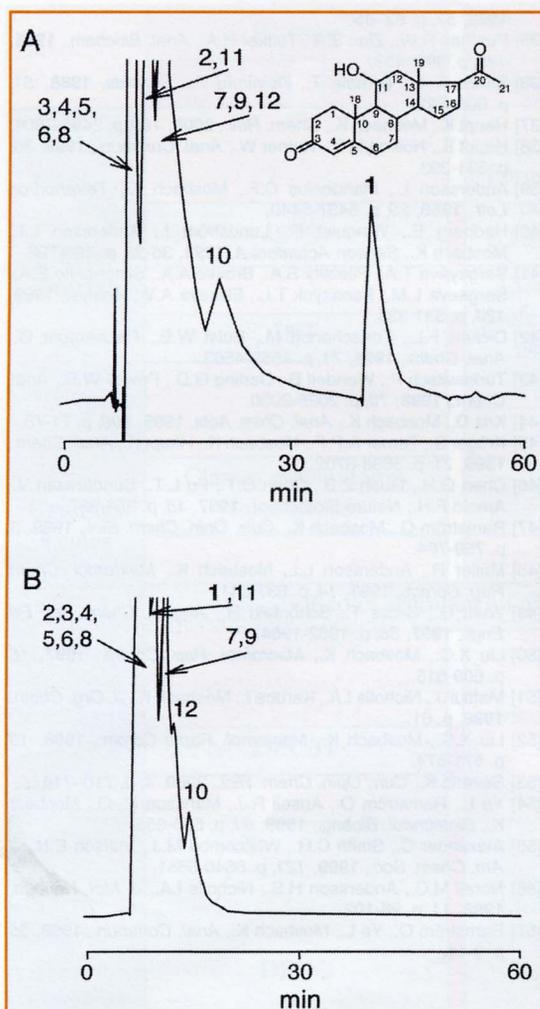


Figure 10 - Criblage d'une petite bibliothèque combinatoire de stéroïdes en mode HPLC sur garnissage MIP imprimé par la 11- α -hydroxyprogesterone : (A) polymère imprimé, (B) polymère contrôle [57]. Bibliothèque : 11- α -hydroxyprogesterone (molécule cible, 1), 11- β -hydroxyprogesterone (2), 17- α -hydroxyprogesterone (3), progesterone (4), 4-androstèn-3,17-dione (5), 1,4-androstadiène-3,17-dione (6), corticostérone (7), cortexone (8), 11-déoxycortisol (9), cortisone (10), cortisone-21-acétate (11), cortisol-21-acétate (12) (reproduit de la réf. [57] avec l'autorisation de la Royal Society of Chemistry).

immunologiques, il serait souhaitable de pouvoir disposer de polymères imprimés ayant une plus grande affinité pour la molécule cible afin d'en améliorer la sensibilité.

• Les performances en milieu aqueux

Comme les interactions intermoléculaires dépendent fortement du milieu, on observe souvent une perte de sélectivité ou d'affinité lorsqu'un MIP synthétisé dans un solvant apolaire comme le toluène est utilisé dans un solvant polaire comme l'eau. De plus, comme certaines molécules cibles ne sont

pas solubles ou pas stables dans les solvants organiques, il serait souhaitable de pouvoir réaliser l'impression elle-même en milieu aqueux. C'est pourquoi il y a actuellement une tendance au développement de monomères fonctionnels plus sophistiqués, capables d'établir des interactions plus spécifiques et plus fortes avec la molécule cible en milieu aqueux et de former des empreintes mieux définies.

• La compréhension du phénomène « empreinte moléculaire »

D'une façon générale, il n'est plus suffisant de se contenter de décrire les phénomènes observés. Le développement des MIP passe par une meilleure compréhension de leurs processus de formation, de leur structure et des processus de reconnaissance moléculaire mis en œuvre. Cette nécessité est comprise par la plupart des groupes de recherche travaillant sur le sujet et se reflète dans de nombreuses publications parues au cours des cinq dernières années.

L'impression moléculaire est maintenant développée, étudiée et utilisée au niveau du laboratoire par de nombreux groupes (environ 20 aux États-Unis, 10 en Grande-Bretagne, 8 au Japon, 6 en Allemagne, 6 en Suède et 15 dans les autres pays). C'est une technique très prometteuse et son potentiel est pleinement reconnu par la Commission européenne si l'on en juge par le nombre croissant de projets de recherche européens se rapportant, au moins en partie, à ce sujet.

L'intérêt industriel porté aux MIP a également beaucoup augmenté durant les 5 dernières années. D'un côté, de grands groupes industriels des secteurs pharmaceutique et électronique, entre autres, commencent à être actifs dans le domaine. De l'autre, on peut noter l'éclosion de jeunes entreprises, notamment aux États-Unis, en Suède et en Allemagne, qui se consacrent à la valorisation de cette technologie.

Références

- [1] Takeuchi T., Haginaka J., *J. Chromatogr. B*, **1999**, 728, p. 1-20.
- [2] Wulff G., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1995**, 34, p. 1812-1832.
- [3] Mosbach K., Ramström O., *Bio/Technology*, **1996**, 14, p. 163-170.
- [4] Klein J.U., Whitcombe M.J., Mulholland F., Vulfson E.N., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1999**, 38, p. 2057-2060.
- [5] Vlatakis G., Andersson L.I., Müller R., Mosbach K., *Nature*, **1993**, 361, p. 645-647.
- [6] Lanza F., Sellergren B., *Anal. Chem.*, **1999**, 71, p. 2092-2096.
- [7] Takeuchi T., Fukuma D., Matsui J., *Anal. Chem.*, **1999**, 71, p. 285-290.
- [8] Dickert F.L., Forth P., Lieberzeit P., Tortschanoff M., *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **1998**, 360, p. 759-762.
- [9] Malitesta C., Losito I., Zambonin P.G., *Anal. Chem.*, **1999**, 71, p. 1366-1370.
- [10] Katz A., Davis M.E., *Nature*, **2000**, 403, p. 286-289.



- [11] Mayes A.G., Mosbach K., *Anal. Chem.*, **1996**, *68*, p. 3769-3774.
- [12] Ye L., Cormack P.A.G., Mosbach K., *Anal. Commun.*, **1999**, *36*, p. 35-38.
- [13] Matsui J., Kato T., Takeuchi T., Suzuki M., Yokoyama K., Tamiya E., Karube I., *Anal. Chem.*, **1993**, *65*, p. 2223-2224.
- [14] Schweitz L., Andersson L.I., Nilsson S., *Anal. Chem.*, **1997**, *69*, p. 1179-1183.
- [15] Jakusch M., Janotta M., Mizaikoff B., Mosbach K., Haupt K., *Anal. Chem.*, **1999**, *71*, p. 4786-4791.
- [16] Piletsky S.A., Panasyuk T.L., Piletskaya E.V., Nicholls I.A., Ulbricht M., *J. Membrane Sci.*, **1999**, *157*, p. 263-278.
- [17] Hong J.-M., Anderson P.E., Qian J., Martin C.E., *Chem. Mater.*, **1998**, *10*, p. 1029-1033.
- [18] Dzgoev A., Haupt K., *Chirality*, **1999**, *11*, p. 465-469.
- [19] Mathew-Krotz J., Shea K.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, p. 8154-8155.
- [20] Wang H.Y., Kobayashi T., Fujii N., *Langmuir*, **1996**, *12*, p. 4850-4856.
- [21] Piletsky S.A., Matuschewski H., Schedler U., Wilpert A., Piletska E.V., Thiele T.A., Ulbricht M., *Macromolecules*, **2000**, *33*, p. 3092-3098.
- [22] Shi H.Q., Tsai W.B., Garrison M.D., Ferrari S., Ratner B.D., *Nature*, **1999**, *398*, p. 593-597.
- [23] Alexander C., Vulfson E., *Adv. Mater.*, **1997**, *9*, p. 751-755.
- [24] D'Souza S.M., Alexander C., Carr S.W., Waller A.M., Whitcombe M.J., Vulfson E.N., *Nature*, **1999**, *398*, p. 312-316.
- [25] Ramström O., Nicholls I.A., Mosbach K., *Tetrahedron Asymmetry*, **1994**, *5*, p. 649-656.
- [26] Mayes A., Andersson L.I., Mosbach K., *Anal. Biochem.*, **1994**, *222*, p. 483-488.
- [27] Kriz D., Berggren-Kriz C., Andersson L.I., Mosbach K., *Anal. Chem.*, **1994**, *66*, p. 2636-2639.
- [28] Sellergren B., *Anal. Chem.*, **1994**, *66*, p. 1578-1582.
- [29] Andersson L.I., Paprica A., Arvidsson T., *Chromatographia*, **1997**, *46*, p. 57-62.
- [30] Ramström O., Ye L., Mosbach K., *Chem. Biol.*, **1996**, *3* (6), p. 471-477.
- [31] Haupt K., Mayes A.G., Mosbach K., *Anal. Chem.*, **1998**, *70*, p. 3936-3939.
- [32] Surugiu I., Ye L., Yilmaz E., Dzgoev A., Danielsson B., Mosbach K., Haupt K., *Analyst*, **2000**, *125*, p. 13-16.
- [33] Surugiu I., Danielsson B., Ye L., Mosbach K., Haupt K., *Anal. Chem.*, **2001**, *73*, p. 487-491.
- [34] Lewis J.G., Manley L., Whitlow J.C., Elder P.A., *Steroids*, **1992**, *57*, p. 82-85.
- [35] Purchas R.W., Zinn S.A., Tucker H.A., *Anal. Biochem.*, **1985**, *149*, p. 399-403.
- [36] Sainio E.-L., Lehtola T., Roininen P., *Steroids*, **1988**, *51*, p. 609-622.
- [37] Haupt K., Mosbach K., *Chem. Rev.*, **2000**, *100*, p. 2495-2504.
- [38] Haupt K., Noworyta K., Kutner W., *Anal. Commun.*, **1999**, *36*, p. 391-393.
- [39] Andersson L., Mandenius C.F., Mosbach K., *Tetrahedron Lett.*, **1988**, *29*, p. 5437-5440.
- [40] Hedborg E., Winquist F., Lundström I., Andersson L.I., Mosbach K., *Sensor. Actuators A*, **1993**, *36-38*, p. 796-799.
- [41] Sergeeva T.A., Piletsky S.A., Brovko A.A., Slinchenko E.A., Sergeeva L.M., Panasyuk T.L., Elskaya A.V., *Analyst*, **1999**, *124*, p. 331-334.
- [42] Dickert F.L., Tortschanoff M., Bulst W.E., Fischerauer G., *Anal. Chem.*, **1999**, *71*, p. 4559-4563.
- [43] Turkewitsch P., Wandelt B., Darling G.D., Powell W.S., *Anal. Chem.*, **1998**, *70*, p. 2025-2030.
- [44] Kriz D., Mosbach K., *Anal. Chim. Acta*, **1995**, *300*, p. 71-75.
- [45] Kröger S., Turner A.P.F., Mosbach K., Haupt K., *Anal. Chem.*, **1999**, *71*, p. 3698-3702.
- [46] Chen G.H., Guan Z.B., Chen C.T., Fu L.T., Sundaresan V., Arnold F.H., *Nature Biotechnol.*, **1997**, *15*, p. 354-357.
- [47] Ramström O., Mosbach K., *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **1999**, *3*, p. 759-764.
- [48] Müller R., Andersson L.I., Mosbach K., *Makromol. Chem. Rap. Comm.*, **1993**, *14*, p. 637-641.
- [49] Wulff G., Gross T., Schönfeld R., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1997**, *36*, p. 1962-1964.
- [50] Liu X.C., Mosbach K., *Macromol. Rap. Comm.*, **1997**, *18*, p. 609-615.
- [51] Matsui J., Nicholls I.A., Karube I., Mosbach K., *J. Org. Chem.*, **1996**, p. 61.
- [52] Liu X.C., Mosbach K., *Macromol. Rapid Comm.*, **1998**, *19*, p. 671-674.
- [53] Severin K., *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2000**, *4*, p. 710-714.
- [54] Ye L., Ramström O., Ansell R.J., Mansson M.-O., Mosbach K., *Biotechnol. Bioeng.*, **1999**, *64*, p. 650-655.
- [55] Alexander C., Smith C.R., Whitcombe M.J., Vulfson E.N., *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, p. 6640-6651.
- [56] Norell M.C., Andersson H.S., Nicholls I.A., *J. Mol. Recogn.*, **1998**, *11*, p. 98-102.
- [57] Ramström O., Ye L., Mosbach K., *Anal. Commun.*, **1998**, *35*, p. 9-11.