

# Samorganizacija aminokiselinskih hidrogelova

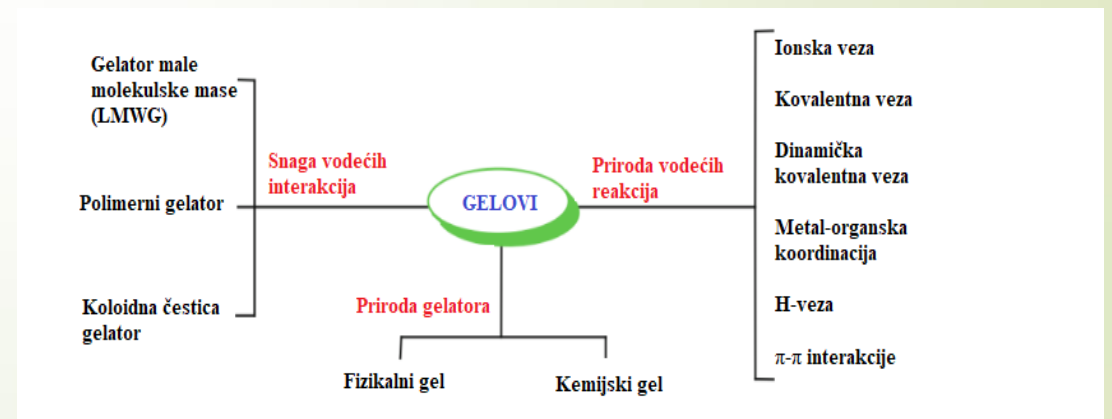
*Self-assembly of an amino acid derivative into an antimicrobial hydrogel biomaterial*

Kemijski seminar 1

Gazdek Nika

# Nanotehnologija i supramolekularni gelovi

- Nanotehnologija, grana temeljena na intermolekularnim organizacijama molekula ili atoma = mogućnost formiranja različitih struktura i geometrija koje usmjeravaju funkcionalne skupine i sile međuatomskih i međumolekulskih interakcija
- Tu spadaju supramolekulski gelovi
- Supramolekulski gelovi sastoje se od trodimenzionalne mreže koja nastaje samoudruživanjem molekula
- Gelator – glavna komponenta
- Primjena: inženjerstvo tkiva i zaraštavanja rana, ciljanoj dostavi lijekova, stvaranja matrica, molekularnoj elektronici, senzorima

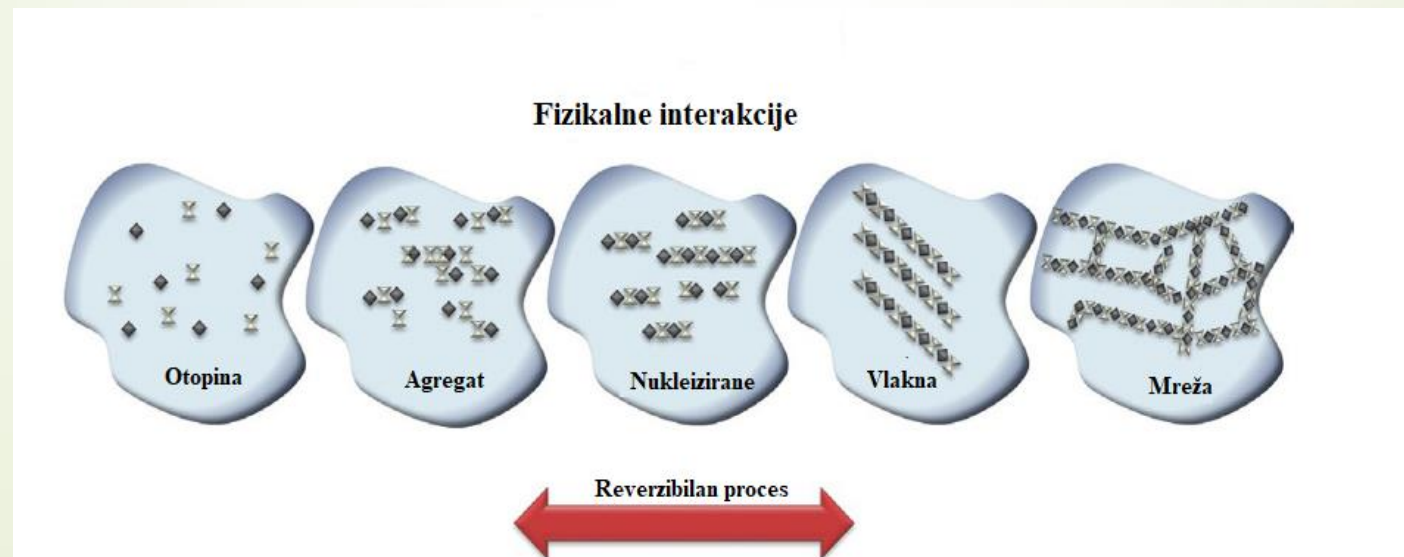


• Ilustracije su preuzete i prilagođene literaturnom izvoru

Zhang, J.; Hu, Y.; Li, Y. Gel Chemistry: Interactions, Structures and Properties; Springer Singapore, 2018.

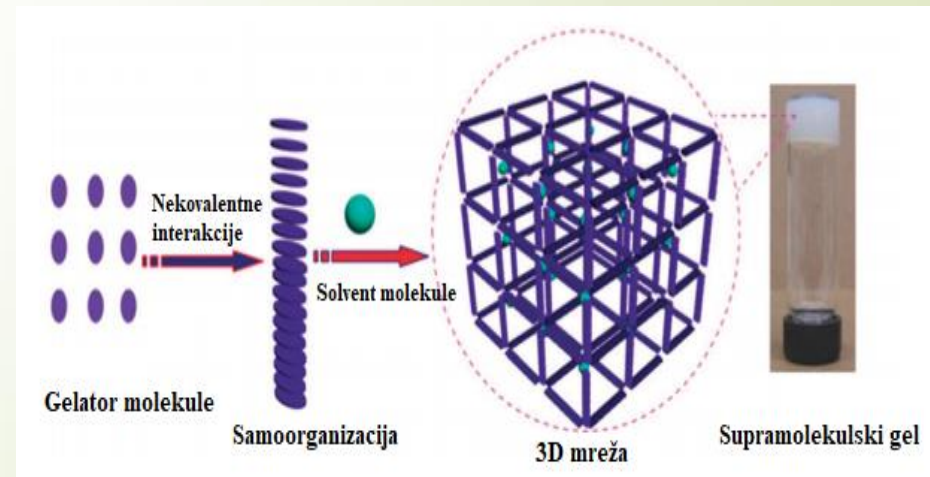
# Supramolekulski gelovi

- Stvaranje veze započinje zasićenom otopinom → vlaknaste strukture → 3D mreža
- Nekovalentnim interakcijama molekule se povezuju u 3D mrežu
- Molekule otapala se zarobljavaju unutar 3D mreže



# Supramolekulski gelovi

- Reverzibilnost – prednost gelova
  - kontrolira se vanjskim stimulansima: pH, temperatura, ioni, mehanički stres
  - Uporaba u regenerativnoj medicini, ciljanoj dostavi lijekova, senzori, kozmetika, hrana
- Supramolekularni gelovi se najčešće dobivaju zagrijavanjem gelatora u pripadajućem otapalu te hlađenjem smjese na sobnu temperaturu
- Proučavanje gelova
  - SEM, TEM te AFM = morfologija gelova
  - termalne i mehaničke studije = interakcije između struktura
  - XRD (X-ray diffraction), X-ray scattering (SANS, SAXS) tehnikama



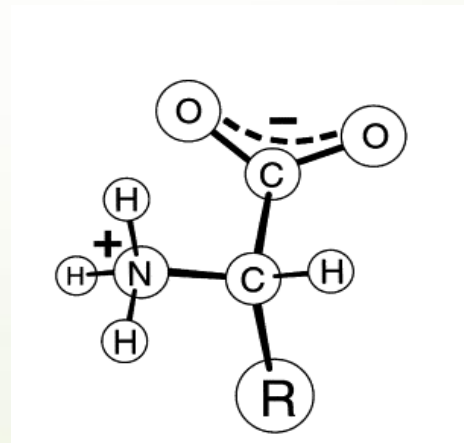


# Podjela prema otapalu

- ▶ Organogelovi – immobilizirano organsko otapalo ili ulja
  - ▶ Proučavaju se za dostavu lijekova i cjepiva
  - ▶ Novija istraživanja predlažu manje toksične spojeve – biokompatibilnije i biorazgradive
- ▶ Hidrogelovi – immobilizirana voda
  - ▶ Posjeduju hidrofilne skupine na polimernim lancima koje immobiliziraju vodu
  - ▶ Sintetički polimeri – definirana struktura i lakše modifikacije
  - ▶ Reverzibilno svojstvo – bubrenje i skupljanje u prisutnosti vode
    - ▶ Bubrenje potaknuto vanjskim uvjetima: temperatura, električno polje, svjetlost, tlak, zvuk

# Aminokiseline

- Biomolekule građene od amino skupine i karboksilne skupine
- 20 aminokiselina je izdvojeno kao najčešće aminokiseline
- Otapanjem aminokiseline – zwitter ion
- Veličina, oblik i kemijska svojstva aminokiselina određuju bočne R skupine
- Proteini = više povezanih aminokiselina pomoću peptidnih veza između N i C kraja
- Savijanje proteina omogućuju hidrofobne bočne skupine = fenilalanin (Phe), metionin (Met), izoleucin (Ile), leucin (Leu) i valin (Val).



PROTEOGENE AMINOKISELINE

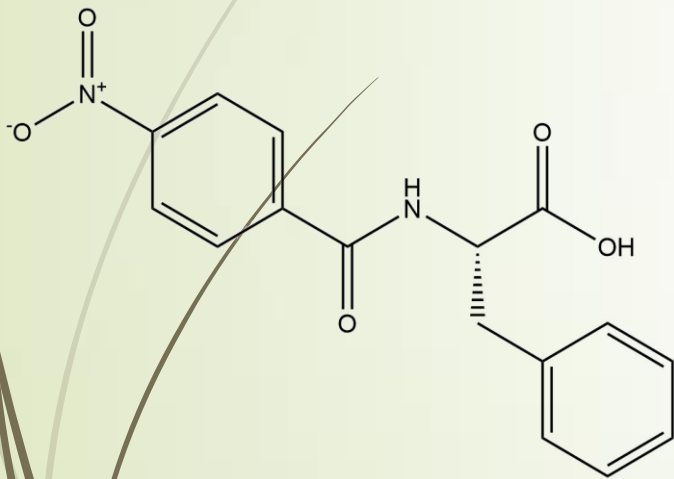
Ime	Kratica	Formula
alanin	Ala	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$
arginin*	Arg	$\text{HN}=\underset{\text{NH}_2}{\text{C}}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$
asparagin	Asn	$\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$
asparaginska kiselina	Asp	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$
cistein	Cys	$\text{HS}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$
fenilalanin*	Phe	$\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$
glicin	Gly	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH}$
glutamin	Gln	$\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$
glutaminska kiselina	Glu	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$
histidin*	His	$\text{N} \begin{array}{c} \diagup \\ \text{CH}_2 \\ \diagdown \end{array} \text{NH} - \text{CH}_2 - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$
izoleucin*	Ile	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$
leucin*	Leu	$\text{H}_3\text{C}-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$
lizin*	Lys	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$
metionin*	Met	$\text{H}_3\text{C}-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$
prolin	Pro	$\text{COOH}$ 
serin	Ser	$\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$
tirozin	Tyr	$\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$
treonin*	Thr	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$
triptofan*	Trp	$\text{C}_6\text{H}_4-\underset{\text{H}}{\text{N}}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$
valin*	Val	$\text{H}_3\text{C}-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$

\*zvjezdica označuje bitnu aminokiselinu

# Aminokiselinski gelovi

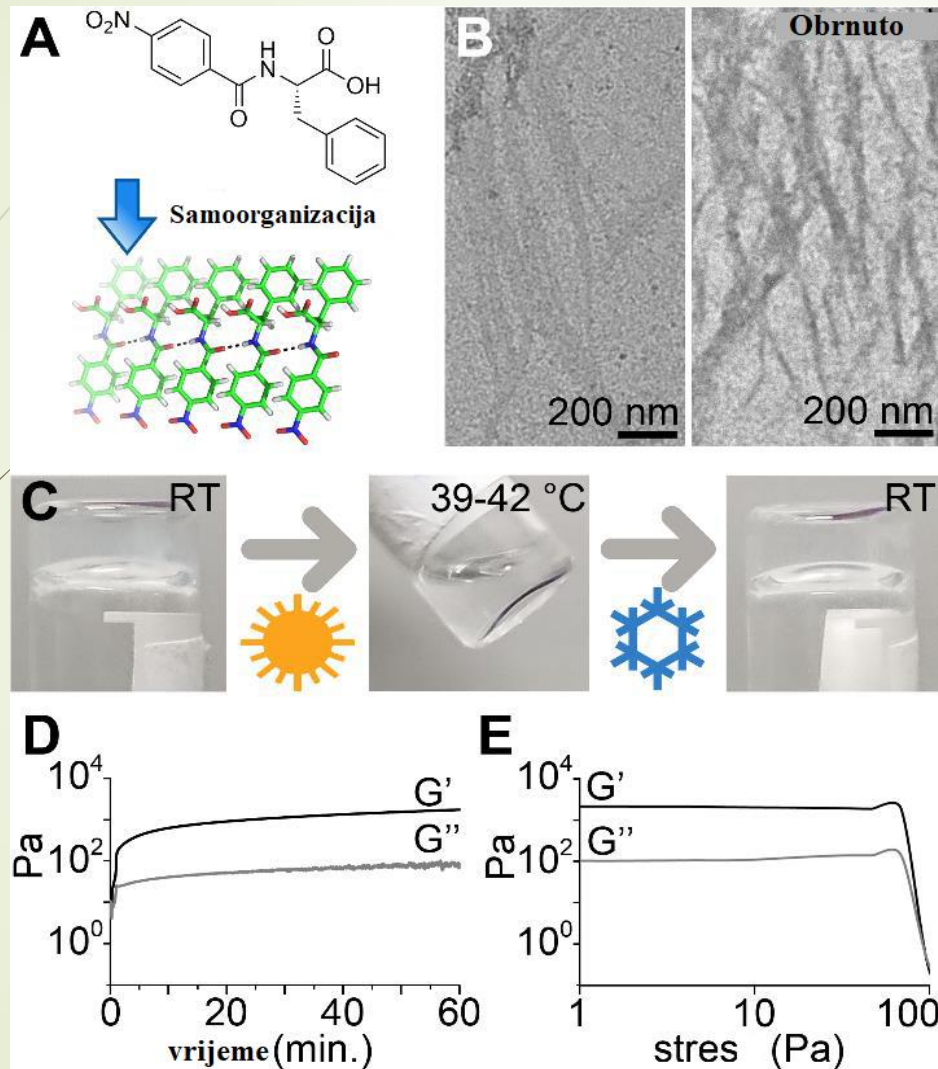
- Jedini zabilježen je fenilalanin (Phe) zbog aromatične strukture i hidrofobne prirode
- U vodenim otopinama aromatske interakcije i vodikove veze imaju glavnu ulogu u samoorganizaciji low molecular weight gels (LMWG) kao i njihovih derivata i polimera
- Hidrogeliranje molekula - poboljšano rigidnim i aromatskim N-zaštitnim skupinama koje smanjuju topljivost u vodenim otopinama i potiču hidrofobne interakcije koje izazivaju samoudruživanje
- Mali peptidni hidrogelovi - primjenu u dostavi lijekova, bioaktivnim materijalima poput materijala za liječenje opekotina ili kod dijabetičara
- Kraći peptidi lakši su za sintetizirati što smanjuje troškove sinteze i povećava mogućnost scale-upa.

# N-(4-nitrobenzoil)-fenilalanin hidrogel



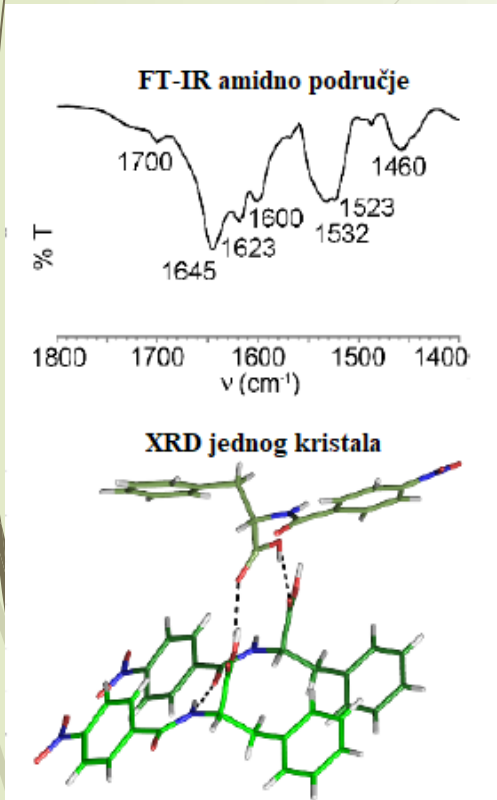
- N-(4-nitrobenzoil)-fenilalanin hidrogel – sposobnost samoorganizacije u hidrogel u fosfatnom puferu
- Morfološka struktura – TEM metoda
- Termoreverzibilna svojstva 39-42°C (koncentracija 20mM)
- Hlađenjem gel se formira unutar 10 min
- Povećanjem koncentracije – povećanje temperature
- Gel postiže plato kroz 1 h
- N-(4-nitrobenzoil)-fenilalanin pokazuje otpor na mehanički stres, sa linearnim viskoelastičnim režimom do 40 Pa dok se prijelaz gel-sol odvija na 100 Pa





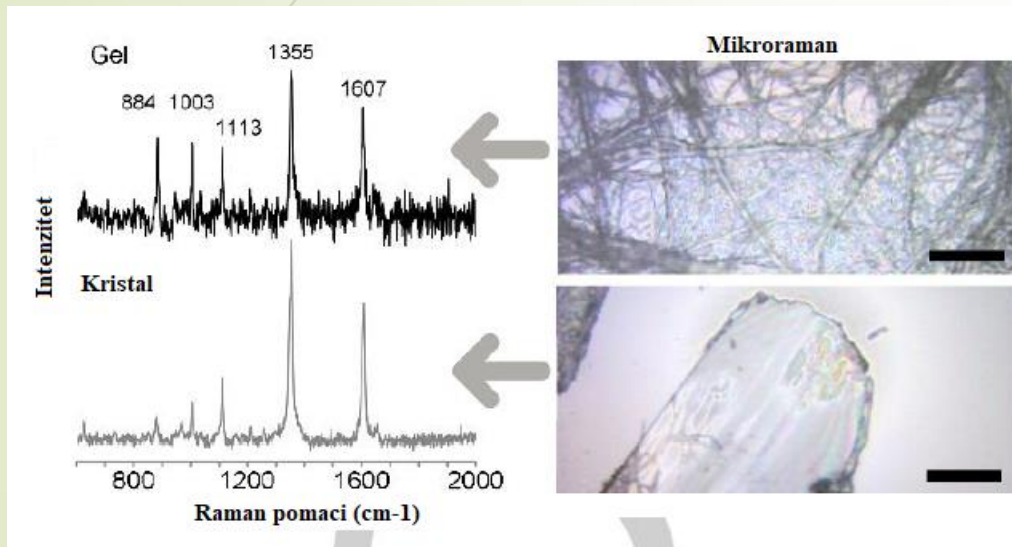
- A) N-(4-nitrobenzoil)-fenilalanin samoorganizacija u paralelne strukture povezane vodikovim vezama
- B) TEM prikaz vlakana debljine 5 nm, prikazanih i u termoreverzibilnom gelu (desno).
- C) Transparentan gel i termoreverzibilan u fiziološkim uvjetima
- D) - E) Oscilacijsko reometrijsko vrijeme (D) i stres (E) pokazuje brzo geliranje s platoom unutar 1 sat te velikom otpornošću do oko 100 Pa

# FTIR analiza



- Sekundarna struktura - cirkularnoi dikroizam (CD), Fourierova-transformirana infracrvena spektroskopija (FT-IR) i Tioflavin T fluorescencija
- Amidno područje u FT-IR spektru - sekundarna struktura uzrokovana mrežom vodikovih veza
- Najizraženiji pik -1645 cm<sup>-1</sup> - neuređene strukture
- Mali pik na 1700 cm<sup>-1</sup> - protonirana -COOH skupini.
- Signal na 1600 cm<sup>-1</sup> - fenilna skupina u gelovima ili aromatskim C=C rastezanjima
- Pik na 1460 cm<sup>-1</sup> - samoorganizacija molekula - raste što je veća prisutnost samoorganizacije

# Analiza kristalne strukture



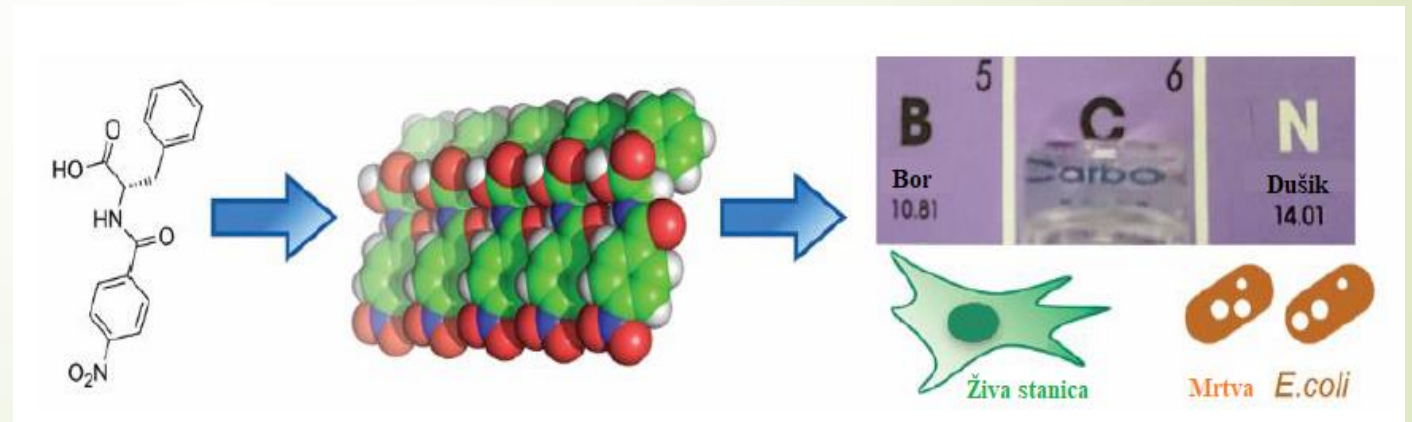
- XRD analiza kristalne strukture - prisutnost vodikove veze između amidnih skupina susjednih molekula
  - Dvije glavne hidrofobne interakcije vidljive su u kristalnoj strukturi:  $\pi$ - $\pi$  interakcija između fenilnog prstena i nitrofenilnog prstena 4.7 Å i CH- $\pi$  interakcija između dva fenilna prstena na udaljenosti 3.1 Å.
- mikroRamanovom analizom – određena je uređenosti kristalne strukture i hidrogela
  - U oba spektra dominiraju isti pikovi, gdje su najdominantniji pikovi na 1355 cm<sup>-1</sup> (nitro skupina), 1607 cm<sup>-1</sup> (C-C veze aromatskog prstena). Signal na 1003 cm<sup>-1</sup> pripada aromatskom prstenu, najčešće prisutan kod fenilnih derivata. Signal na 1113 cm<sup>-1</sup> nije prisutan u fenilalanin spektru, dok je prisutan za 4-nitrobenzoil skupinu
- Najveće razlike u Ramanu gela i kristala su u intenzitetu signala gdje je puno jači u kristalu

# Utjecaj pH na gel

- ▶ Neutralni pH kod gelova - moguće nepredvidivo protoniranje karboksilne kiseline
  - ▶ samo ako je vidljiv pKa pomak karboksilne skupine - prilikom samoorganizacije. Ovaj fenomen je opisan za proteine i peptide prilikom samoorganizacije u hidrofobnim uvjetima, te za peptidne derivate gelatore u samoorganiziranom stanju
- ▶ pH titracijama - povećanjem koncentracije gelatora raste pKa za slučaj N-(4-nitrobenzoil)-fenilalanin od 3.5 za 5 mM do 4.3 za 12.5 mM
  - ▶ Prilikom prelaska granice topljivosti heterogeni sustav vodi do nestabilnih pH očitavanja i šumova

# Antimikrobna aktivnost gela

- N-(4-nitrobenzoil)-fenilalanin pokazuje dobru antimikrobnu aktivnost - sličnu sulfonamidima koji se koriste za liječenje *S.aureus*, *E.coli* and *S.enteritidis*
- Ispitana je održivost za određene tipove stanica - poput fibroblasta i keratinocita
- Antibakterijski efekt - povezan sa količinom N-(4-nitrobenzoila)-fenilalanin koji se ispušta iz gela
- Djeluje tako da izmjenjuje membransku permeabilnost i čvrstoću što vodi k smrti bakterije



Zahvaljujem na pažnji!

