

**Título:** Desenvolvimento de novos biomateriais baseados em hidrogéis supramoleculares quirais

**Pesquisador responsável:** Juliana Sakamoto Yoneda

**Unidade do CNPEM:** Laboratório Nacional de Luz Síncrotron - LNLS

## Introdução e motivação

A quiralidade é uma característica básica da matéria viva. Durante a evolução da vida em nosso planeta, a natureza favoreceu um tipo de quiralidade selecionando os aminoácidos L e os açúcares D. Essa característica homoquiral das moléculas biológicas intriga os cientistas desde a primeira separação dos enantiômeros de cristais de tartarato realizada por Pasteur há mais de 170 anos [1,2].

A propriedade quiral é universal e pode ser observada em vários níveis hierárquicos, desde o nível subatômico, passando pelas escalas molecular, supramolecular, nano, micro, macroscópicas até a escala galáctica [3]. A importância da quiralidade molecular foi constatada no desenvolvimento de drogas quando foi descoberto que enquanto um enantiômero é ativo e seguro, o outro pode ser inativo ou mesmo tóxico, como no caso da talidomida. Assim, essa importância foi reconhecida há bastante tempo e forneceu orientação na concepção de medicamentos e moléculas funcionais. Por outro lado, a quiralidade em nível supramolecular não tem sido amplamente explorada [3,4].

A química supramolecular é a química que vai além das moléculas e está intimamente relacionada à automontagem, definida como uma organização autônoma de componentes em padrões ou estruturas (nano ou micro arquiteturas) sem intervenção humana [2,5]. Sabemos que estruturas supramoleculares, como por exemplo a dupla hélice de DNA ou a alfa-hélice de uma proteína, decorrente do empilhamento espacial assimétrico de unidades moleculares são envolvidas em muitos processos biológicos vitais. Portanto, é razoável pensar que a quiralidade supramolecular desempenha um papel importante nos organismos vivos [3].

Os hidrogéis automontados a partir de precursores de baixo peso molecular (hidrogéis supramoleculares) vem atraindo notoriedade devido as suas similaridades com a matriz extracelular e possibilidade de aplicação em diversas áreas (engenharia de tecidos, cultivo tridimensional de células, sistema de entrega de drogas etc.), sendo uma alternativa aos hidrogéis poliméricos tradicionais, que podem requerer o uso de agentes reticuladores, potencialmente tóxicos. Por outro lado, os hidrogéis supramoleculares são formados a partir de interações não covalentes como ligações de hidrogênio, empilhamento  $\pi$ - $\pi$ , forças de van der Waals e interações hidrofóbicas. Pela ausência de ligações covalentes, esses hidrogéis apresentam uma propriedade de reversibilidade e podem ser considerados materiais inteligentes devido às propriedades de autocura e responsividade a estímulos externos [6].

A importância dessas estruturas supramoleculares e a natureza quiral em biologia, ressalta a importância de levar em consideração a quiralidade no desenvolvimento de novos biomateriais. A natureza quiral do biomaterial pode afetar diferentes eventos biológicos como a

adsorção de proteínas e ácidos nucleicos, interação com membranas biológicas, podendo influenciar a adesão, disseminação e diferenciação celular [3]. Portanto, analisar a quiralidade é imprescindível no desenvolvimento de biomateriais [4] e a espectroscopia de dicroísmo circular (CD – do inglês *circular dichroism*) destaca-se como uma ferramenta valiosa para essa finalidade.

A técnica de CD é baseada na absorção diferencial da luz circularmente polarizada para esquerda e direita de uma molécula quiral e é tipicamente aplicada para analisar soluções isotrópicas, extensivamente utilizada na determinação estrutural de proteínas em solução. No entanto, ao medir um sistema supramolecular em gel ou em filmes é necessária atenção a fatores que possam interferir no espectro de CD, tais como turbidez, birrefringência e dicroísmo linear (causado pela anisotropia macroscópica) [7].

Assim, é necessário realizar controles para medir o sinal de CD “verdadeiro”. O sinal de CD isotrópico é invariante em relação a orientação da amostra, diferentemente das contribuições de dicroísmo linear e birrefringência. Portanto, realizar as medidas em diferentes rotações da amostra ao redor da direção de incidência do feixe de luz e nas duas faces (frente e trás) é imperativo quando estamos trabalhando com amostras não isotrópicas (Figura 1) [8]. Esse tipo de medida não é corriqueira e os problemas associados a ela são normalmente negligenciados resultando em dados e interpretações questionáveis e/ou incorretos na literatura [7]. Dessa forma, esse trabalho tem como objetivo investigar os possíveis artefatos e como preveni-los e/ou corrigi-los quando amostras de gel e filmes são analisados por dicroísmo circular, utilizando um hidrogel supramolecular de guanosina como amostra de prova. A ideia é que a aplicação da técnica de CD seja ampliada para outros tipos de amostras, além dos estudos tradicionais com proteínas.

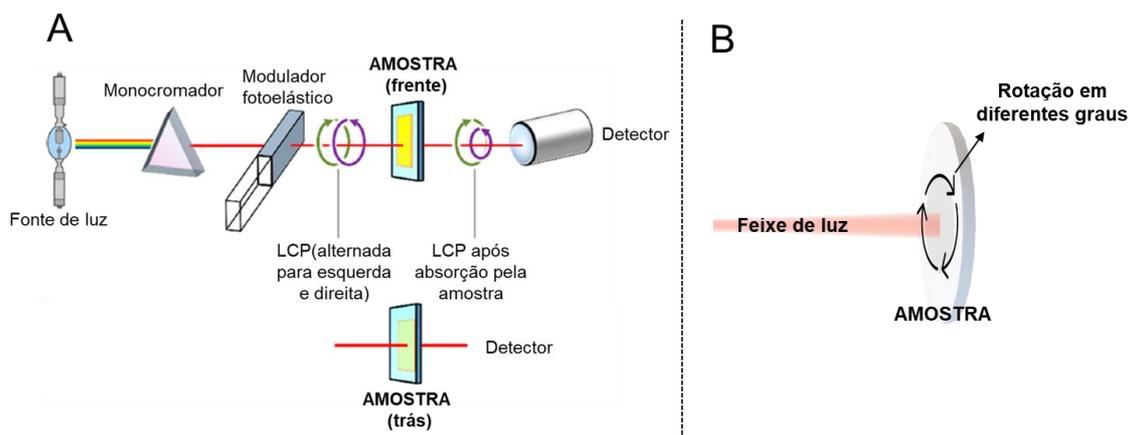


Figura 1. A: Representação esquemática da medida de dicroísmo circular em amostras sólidas (adaptado de [9]). B: esquema de como a amostra deve ser rotacionada em relação a direção do feixe de luz.

## Objetivo

### Geral

O objetivo desse projeto é avaliar a exequibilidade de medidas de hidrogéis supramoleculares por dicroísmo circular com radiação síncrotron.

### Específicos

- Preparar um hidrogel baseado na auto-associação da guanósina em água;
- Analisar a quiralidade supramolecular do hidrogel e comparar com o espectro do precursor em solução;
- Detectar possíveis artefatos provenientes de espalhamento, anisotropia macroscópica e birrefringência realizando as medidas em diferentes rotações da amostra;
- Verificar a transição de gel para solução, induzida pelo aumento da temperatura e a reversibilidade dessa transição.
- Verificar se a quiralidade do hidrogel é dependente do processo de aquecimento-resfriamento.

## Metodologias

### - Preparação do hidrogel supramolecular de guanósina

O hidrogel de guanósina é formado a partir da auto-associação da guanósina em água. A sua preparação foi previamente descrita pela responsável do projeto [6]. Descrevendo brevemente, esse hidrogel é produzido pela mistura binária de guanósina monofosfato (GMP) e guanósina (G) em água. Quatro moléculas de guanósina interagem por ligações de hidrogênio (tipo *Hoogsteen*) formando os G-quartetos (estruturas planas). Na presença de um cátion monovalente (normalmente  $\text{Na}^+$  ou  $\text{K}^+$ ), os G-quartetos se empilham (interação  $\pi$ - $\pi$ ) e formam estruturas alongadas denominadas G-quadruplex. No empilhamento dos G-quartetos, cada um é rotacionado em relação ao outro resultando em uma estrutura helicoidal (apresentando quiralidade supramolecular). Dependendo das condições de temperatura, pH e concentração, as fibras de G-quadruplex se emaranham e formam uma rede tridimensional com grande capacidade de retenção de água (gel transparente) (Figura 2).

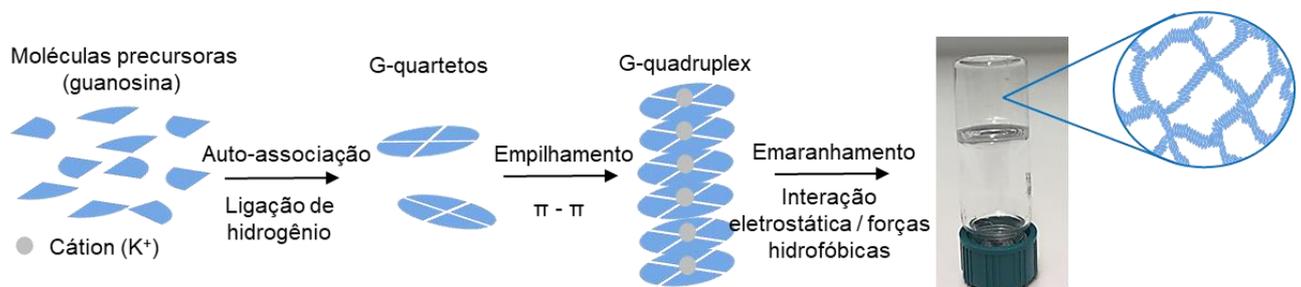


Figura 2. Esquema representando a auto associação da guanósina formando um gel supramolecular.

### - Medidas de dicroísmo circular

As medidas de dicroísmo circular com radiação síncrotron serão realizadas na linha CEDRO – LNLS. O caminho óptico será escolhido de acordo com a amostra para obtermos uma absorção de luz adequada.

A espectroscopia de dicroísmo circular é utilizada principalmente no estudo estrutural de proteínas, porém sabemos que a propriedade quiral está presente em diferentes estruturas, incluindo sistemas nanoestruturados. No entanto, quando não estamos trabalhando com soluções isotrópicas é necessário atenção para prevenir e corrigir possíveis artefatos. Com o desenvolvimento desse projeto, o(a) estudante de iniciação científica irá adquirir conhecimento na técnica de CD e capacidade para detectar problemas inerentes às medidas de gel e filmes. Ainda, o(a) aluno(a) irá desenvolver habilidades em relação ao processamento de dados (espectros de CD) com o uso de diferentes softwares. Além disso, o(a) estudante irá adquirir experiência em produzir e caracterizar biomateriais nanoestruturados (hidrogeis supramoleculares biocompatíveis e biodegradáveis formados por G-quadruplex) com potencial aplicação em biomedicina.

### Referências

- [1] D.G. Blackmond, The origin of biological homochirality., Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2 (2010). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a002147>.
- [2] M. Liu, L. Zhang, T. Wang, Supramolecular chirality in self-Assembled systems, Chem. Rev. 115 (2015) 7304–7397. <https://doi.org/10.1021/cr500671p>.
- [3] X. Dou, N. Mehwish, C. Zhao, J. Liu, C. Xing, C. Feng, Supramolecular Hydrogels with Tunable Chirality for Promising Biomedical Applications, Acc. Chem. Res. 53 (2020) 852–862. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.0c00012>.
- [4] J. Yeom, P.P.G. Guimaraes, H.M. Ahn, B. Jung, Q. Hu, K. McHugh, M.J. Mitchell, C. Yun, R. Langer, A. Jaklenec, Chiral Supraparticles for Controllable Nanomedicine, Adv. Mater. 32 (2020) 1903878. <https://doi.org/10.1002/adma.201903878>.
- [5] P. Xing, Y. Zhao, Controlling Supramolecular Chirality in Multicomponent Self-Assembled Systems, Acc. Chem. Res. 51 (2018) 2324–2334. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.8b00312>.
- [6] J.S. Yoneda, D.R. de Araujo, F. Sella, G.R. Liguori, T.T.A. Liguori, L.F.P. Moreira, F. Spinozzi, P. Mariani, R. Itri, Self-assembled guanosine-hydrogels for drug-delivery application: Structural and mechanical characterization, methylene blue loading and controlled release, Mater. Sci. Eng. C. 121 (2021) 111834. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111834>.
- [7] G. Gottarelli, S. Lena, S. Masiero, S. Pieraccini, G.P. Spada, The use of circular dichroism spectroscopy for studying the chiral molecular self-assembly: An overview, Chirality. 20 (2008) 471–485. <https://doi.org/10.1002/chir.20459>.
- [8] E. Castiglioni, P. Biscarini, S. Abbate, Experimental aspects of solid state circular dichroism, Chirality. 21 (2009) E28–E36. <https://doi.org/10.1002/chir.20770>.
- [9] G. Albano, G. Pescitelli, L. Di Bari, Chiroptical Properties in Thin Films of  $\pi$ -Conjugated Systems, Chem. Rev. 120 (2020) 10145–10243. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00195>.