



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Squaramide-based supramolecular polymers : from self-assembly to in vivo application

Saez Talens, V.

Citation

Saez Talens, V. (2018, December 10). *Squaramide-based supramolecular polymers : from self-assembly to in vivo application*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/67527>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/67527>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/67527> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Saez, Talens V.

Title: Squaramide-based supramolecular polymers : from self-assembly to in vivo application

Issue Date: 2018-12-10

Samenvatting

De zelfassemblage van moleculaire bouwstenen in goed vormgegeven supramoleculaire structuren door non-covalente krachten is een krachtige aanpak voor de constructie van materialen. In een natuurlijke omgeving profiteren processen van deze omkeerbare bindende krachten, om verscheidene processen bij verschillende lengtematen uit te lokken. Met deze natuurlijke omgeving als inspiratiebron streeft het wetenschappelijke veld van supramoleculaire materialen ernaar om materialen te ontwikkelen die aanpasbaar, omkeerbaar en functioneel zijn voor een breed spectrum aan applicaties, van medische biologie tot elektronica. Om deze synthetische polymeer assemblage ten volle uit te kunnen buiten in onderzoeksgebieden zoals regeneratieve geneeskunde of medicijn aflevering, moet de zelfassemblage onder biologische condities tot in detail begrepen worden. In waterige media is het hydrofobe effect vaak de dominante drijvingskracht bij het verwekken van monomeer aggregatie. Andere non-covalente interacties, zoals waterstofbrug formatie en π -interacties, bevorderen hun aggregatie in georganiseerde fibrillaire architecturen. π -Geconjugeerde moleculen zijn vaak ingezet in dergelijke monomeren. Het effect van het aromatische karakter op zelf-assemblage wordt vaak over het hoofd gezien, ondanks het regelmatige gebruik van aromaticiteit bij het verklaren van de stabiliteit van vele moleculen en de onverwachte effectiviteit van bepaalde reacties. In deze dissertatie hebben we het aromatische effect op de sterkte van de waterstofbrug in waterstofbrug-formatie van een gedeeltelijk aromatische monomeer in een zelf-geassembleerd aggregaat in water. We hebben afgeleiden van squaramiden ingezet als ditopische waterstofbrug synthonen die baat hebben bij hun gedeeltelijk aromatische karakter om de sterkte van hun waterstofbrug te moduleren bij zelf-assemblage. We hebben deze synthonen ingebed in een bolaamfifiel om de monomeer unit te synthetiseren, die zichzelf verder assembleert in water. Systematische variaties van de verscheidene moleculaire domeinen van de monomeer maken de creatie van een veelvoud aan moleculen mogelijk, zodat de contributie van de verschillende monomeer domeinen aan de uiteindelijke structuur getest kan worden. Voorafgaande *in vivo* onderzoeken in zebravissen hebben hun potentieel als biocompatibele nanovoertuigen voor medicijnaflevering die macrofage kunnen ontwijken laten zien.

In hoofdstuk twee worden de synergistische bijdragen van waterstofbrugformatie en aromaticiteit als drijvende krachten bij eendimensionale zelfassemblage van supramoleculaire polymeren in water onderzocht. Twee squaramide synthonen zijn ingebed in de hydrofobe kern van een bolaamfifiel om een supramoleculaire zelf-geassembleerde polymeer te bevorderen. Microscopische onderzoeken (cryo-TEM en AFM) laten de formatie zien van vezels met een hoge aspectverhouding met een maximale lengte van een micron. Dit wordt ondersteund door verstrooiingstechnieken (DLS en SAXS), die de aanwezigheid van 10-30 bolaamfifielen gebaseerd in squaramiden per kruissectie laten zien. Onderzoeken die gebruik maken van UV-Vis spectroscopie laten de invloed van zelf-assemblage op de elektronische eigenschappen van de squaramide synthon zien. IR Technieken leveren inzicht in de geometrische veranderingen in dit proces, namelijk een afname in afwisseling van de lengte van de binding van de squaramide eenheden bij zelf-assemblage. Deze observaties worden verder uitgelegd door de applicatie van dichtheidsfunctionaaltheorie-berekeningen om magnetische, geometrische en energetische eigenschappen van de zelf-geassembleerde monomeren te meten. Dit ondersteunt de hypothese van de versterking van de waterstofbruggen, door een toename in aromaticiteit. In dit onderzoek laten we zien dat squaramiden uitmuntende directionele zelf-geassembleerende eenheden zijn om de zelf-assemblage van supramoleculaire polymeren te bevorderen en dat een toename in aromaticiteit door waterstofbrug-formatie significant kan bijdragen aan de algemene interactie energie van de monomeer eenheden.

Hoofdstuk drie laat het potentieel van aromatische toename om de zelf-assemblage modus van een squaramide eenheid te veranderen in een eendimensioneel vormvast aggregaat door O → S vervanging. Allereerst hebben we de synthese van een op thiosquaramide bolaamfifiele afgeleid product laten zien, door gebruik te maken van een zwitterionische P₄S₁₀-pyridine thionische reactant. Deze reactant stelt ons in staat om zeer selectief de zuurstofatomen te vervangen door zwavelatomen op de squaramide carbonyl groepen. Daarna werd de zelf-assemblage van de bolamfifiel in korte flexibele staafvormige structuren geobserveerd met behulp van cryoTEM en SAXS. Door een combinatie van experimenten waarbij we gebruik maakten van UV-Vis, IR spectroscopie en schattingen van NICS, HOMA en ASE waarden op basis van computatie laten we zien dat oxosquaramides een arrangement van kop-staart waterstofbrug-formatie versterkt door aromatische toename prefereren. Daarentegen prefereren

thiosquaramiden π -interacties zodat zij hun aromatische karakter optimaal kunnen verbeteren. Deze onderzoeken belichten het potentieel van het koppelen van een aromatisch karakter met non-covalente krachten in deze systemen, waarmee zij een nieuw licht schijnen op het rationele ontwerp van nieuwe supramoleculaire motieven.

Verder begrip van hoe het groeimechanisme van deze supramoleculaire polymeren werkt is noodzakelijk. De zelf-assemblage van deze systemen kan bekeken worden met verschillende spectroscopische technieken. Bijvoorbeeld met UV-Vis, waarbij de juiste inpassing in isodesmische of coöperatieve modellen in een verhitting-afkoeling curve verder inzicht kunnen bieden over de zelf-assemblage van deze systemen in water. Een beperking van het testen van dergelijke assemblages ligt in het grote hydrofobe domein, dat veroorzaakt wordt door de bolaamfifiel, die kan resulteren in de formatie van kinetisch gevangen toestand tijdens de cycli van verhitting en afkoeling. Een co-solvent die de kinetische barriere, die versterkt wordt door de hydrofobe effecten van de amfifielen, verzwakt en tegelijkertijd complete versterking van het supramoleculaire aggregaat ontwijkt, zou een plausibele oplossing kunnen vormen voor dit probleem.

In hoofdstuk vier hebben we systematische variaties van de ethyleenglycol zijketens ($n = 7$ to 36) en de buitenste alifatische spacers ($m = 2$ to 12) van de eerdergenoemde squaramide bolaamfifiele monomeren, gesynthetiseerd en gekarakteriseerd. Eerst hebben we een verzameling monomeren voorbereid volgens de synthetische aanpak die we ontworpen hebben in hoofdstuk twee. Daarna hebben we de vormen van de verzamelde monomeer aggregaten getest. Systematische modificatie van de ethyleenglycol hydrofiele zijketens resulteerden in een geleidelijke overgang van fibrilar-achtige domeinen ($n = 11$) naar bolvormige objecten ($n = 36$), zoals we geobserveerd hebben in cryoTEM en SAXS experimenten. Aan de andere kant was een alifatische spacer van acht methyleen eenheden nodig om de squaramide eenheden af te schermen bij de bestudeerde concentraties met dezelfde analyse methoden. Deze bevindingen worden verder ondersteund op moleculair niveau met behulp van UV-Vis en IR spectroscopische metingen. Het potentieel van deze systemen als medicijn dragende voertuigen hebben we onderzocht met Nile-Red als hydrofobe lading.

In hoofdstuk vijf onderzoeken we de verdeling en circulatiegedrag van fluorescent gelabelde supramoleculaire structuren gebaseerd op squaramides, op basis van de verschillende vormen die we in hoofdstuk vier beschreven hebben, in het *in vivo* zebravis model. Het ontwerp en de synthese van de asymmetrisch gelabelde cyanine-3 squaramide bolaamfifiel wordt beschreven. De assemblage van deze reporter-molecuul met de oorspronkelijke squaramide monomeren wordt opgevolgd door zeta-potentiaal en fluorescentie metingen en de vormen zijn onderzocht door middel van cryoTEM microscopie, zowel onafhankelijk en in aanwezigheid van een toenemend percentage carp serum, waarbij een vormvastheid van het aggregaat zichtbaar is. Tot slot zijn de zebravis embryo's geïnjecteerd met de geprepareerde fluorescente aggregaten met verschillende vormen, zodat het gedrag en de circulatie van de drie architecturen geobserveerd kon worden *in vivo*. De fibrillaire aggregaten circuleerden vaker een kortere periode ten opzichte van de bolvormige structuren. Alle structuren bleken de macrofagen en de scavenger receptor stabilin 2 te ontwijken, waardoor ze ideale nanodragers zijn voor medicijn aflevering.

Het gebruik van supramoleculaire polymeren als biocompatibele medicijndragers is een opwindend onderwerp dat verder onderzocht moet worden vanwege de immense belofte om relatief snel kwalitatieve functionele dragers voor specifieke doeleinden te ontwikkelen. Wij hebben laten zien hoe deze nanodeeltjes zich gedragen wanneer ze geïnjecteerd zijn in een *in vivo* model. Op dit moment zijn er vele opvolgmogelijkheden voor deze onderzoeken. Een logische stap zou het samenvoegen van medicijnen met supramoleculaire monomeren voor zelf-assemblage zijn, zodat de circulatietijd verlengd of verkort kan worden. De functionalisering van deze systemen door het gebruik van peptiden die zich op specifieke cellen richten of het gebruik van aptameren zou de aflevering naar een specifieke cel kunnen bevorderen. Dit is geen makkelijk doel, omdat er met vele parameters tegelijkertijd rekening gehouden moet worden, maar het gebruik van deze materialen zou de kennis over het ontwerpen van effectieve medicijnaflevering grote stappen laten nemen.