

Nanoestructures metal·lobiomoleculars

Metal-biomolecule nanostructures

Marta Rubio-Martínez,¹ Inhar Imaz,¹ Josep Puigmartí-Luis² i Daniel Maspoch^{1,3,4}

¹ Institut Català de Nanotecnologia (ICN-CSIC)

² Institut de Ciència de Materials de Barcelona (ICMAB-CSIC)

³ Universitat Autònoma de Barcelona. Departament de Química

⁴ Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA)

Resum: La miniaturització de materials metal·lorgànics a escala nanomètrica és una estratègia emergent per al desenvolupament de noves nanoestructures d'una gran diversitat composicional, estructural i morfològica. Aquests nous nanomaterials, molts d'ells porosos, poden presentar un ventall variat de propietats i, en conseqüència, poden ser utilitzats en diverses àrees tecnològiques, sigui en l'emmagatzematge o la separació de gasos i catàlisis, sigui per formar nous sensors, nanotransportadors de fàrmacs i agents de contrast. Immersos en el desenvolupament d'aquestes nanoestructures, el nostre grup de recerca està actualment desenvolupant una nova aproximació basada en l'ús de biomolècules com a lligands orgànics que, coordinades amb ions metàl·lics, permetin la creació de nanoarquitectures metal·lobiomoleculars. Aquestes nanoestructures combinaran les propietats dels nanomaterials metal·lorgànics (per exemple, la porositat) amb les propietats intrínseques de les biomolècules, com ara la biocompatibilitat, el reconeixement selectiu o la quiralitat. En aquesta comunicació s'exposaran els últims avanços efectuats en el desenvolupament de noves metodologies sintètiques i el seu ús per sintetitzar les primeres nanoestructures metal·lobiomoleculars formades per aminoàcids com l'àcid aspàrtic (Asp) i la cisteïna (Cys).

Paraules clau: Nanotecnologia, microfluídica, nanofibres, biomolècules, aminoàcids, polímers de coordinació.

Abstract: *The miniaturization of metal-organic materials to the nanoscale is an emerging strategy for the development of new nanostructures with tailored compositions, structures and morphologies. These new nanomaterials, many of which are porous, may have a wide range of properties and consequently show promise for many practical applications, such as gas storage or separation, catalysis, sensors, drug-delivery and contrast agents. With this aim, our research group is currently developing a new approach using biomolecules to coordinate metal ions and create metal-biomolecule nanoarchitectures. These new bio-inspired nanostructures will combine the properties of more conventional metal-organic nanomaterials (e. g. porosity) with the intrinsic characteristics of the biomolecules, such as biocompatibility, chirality and selective recognition capabilities. This paper presents the latest advances in the development of new synthesis methodologies and their use in producing the first metal-biomolecule nanostructures based on amino acids, such as aspartic acid (Asp) and cysteine (Cys).*

Keywords: *Nanotechnology, microfluidics, nanofibers, biomolecules, amino acids, coordination polymers.*

Introducció

Els nanomaterials s'han convertit en pocs anys en el focus d'atenció de la comunitat científica a causa de les propietats «úniques» que afloren en disminuir les seves dimensions fins al rang nanomètric. A aquesta escala, els nanomaterials presenten una elevada àrea superficial respecte al seu volum, la qual

cosa dona lloc a l'aparició de nous fenòmens quàntics i, en conseqüència, a noves i sorprenents propietats físiques i químiques respecte a les dels seus anàlegs macroscòpics i microscòpics. A més a més, els nanomaterials se solen caracteritzar pel fet de tenir una major reactivitat, una major interacció amb el seu entorn i una millor dispersabilitat en medis líquids i sòlids. Gràcies a aquestes propietats, es té l'absoluta convicció que els nanomaterials tindran un paper destacat en la nostra societat, contribuint a millorar-la i oferint solucions en camps tan diversos com la medicina, l'electrònica, la química, la informàtica o l'energia. Per tot això, actualment, un dels majors reptes al qual ens enfrontem els químics és el desenvolupament de nous processos sintètics que permetin ampliar el catàleg de nanomaterials, siguin d'origen orgànic, inorgànic o metal·lorgànic.

Correspondència: Daniel Maspoch

Institut Català de Nanotecnologia

Supramolecular NanoChemistry and Materials

Campus de la UAB, Bellaterra, edifici CM7. 08193 Cerdanyola del Vallès

Tel.: +34 935 868 307. Fax: +34 935 814 747

A/e: daniel.maspoch@icn.cat

Nanomaterials metal·lorgànics

Els materials metal·lorgànics són una família de sòlids obtinguts a partir de la connexió d'ions o clústers metàl·lics a través de lligands orgànics mitjançant enllaços de coordinació. A causa de les combinacions quasi infinites que poden existir entre ions metàl·lics i lligands orgànics (el seu nombre augmenta diàriament gràcies als esforços sintètics dels químics orgànics), els materials metal·lorgànics són una font il·limitada d'arquitectures amb composicions i tipologies variades, moltes d'elles poroses, i que presenten una multitud de propietats, com ara el fet de ser magnètiques, conductores, fluorescents, etc.¹ En concordança amb aquesta varietat, aquests materials poden ser potencialment utilitzats en múltiples aplicacions, entre les quals destaquen l'emmagatzematge i la separació de gasos i la catàlisi.²

Més recentment, el control de l'assemblatge dels ions metàl·lics i els lligands orgànics a escala nanomètrica ha originat l'aparició de les primeres nanoestructures metal·lorgàniques, que complementen les purament inorgàniques i orgàniques. La miniaturització d'aquests materials permet combinar les propietats dels seus anàlegs macroscòpics, com ara la porositat, amb les característiques intrínseques dels nanomaterials, fet que obre la porta al seu ús en noves aplicacions, com la formació de nous sistemes alliberadors de fàrmacs o com a nous agents de contrast. Aquesta disminució de mida permet començar a pensar també en la seva integració en superfícies per tal de crear nous sensors i sistemes electrònics.³

Nanomaterials metal·lobiomoleculars

Un dels requisits indispensables que han de tenir tots els nanomaterials (també els metal·lorgànics) per poder ser utilitzats en aplicacions biomèdiques és que no siguin tòxics. Amb aquest objectiu, el nostre grup d'investigació de l'Institut Català de Nanotecnologia es troba immers en el desenvolupament d'una nova estratègia enfocada al disseny de nanomaterials metal·lorgànics utilitzant biomolècules.⁴ Aquesta estratègia té com a principal objectiu substituir els lligands orgànics sintètics utilitzats fins ara per biomolècules. Les biomolècules, des d'aminoàcids, pèptids i nucleobases fins a entitats més complexes, com proteïnes o enzims, tenen diversos grups funcionals que permeten la coordinació

amb ions metàl·lics, amb la qual cosa es poden formar xarxes extenses metal·lobiomoleculars que, a més de conservar les característiques dels nanomaterials metal·lorgànics (per exemple, la porositat), són més biocompatibles. A més, aquestes nanoestructures poden també incorporar les propietats intrínseques de les biomolècules, com ara la quiralitat o la reactivitat, cosa que ampliaria les seves aplicacions en camps de fora de la biomedicina, com ara la catàlisi heterogènia o la separació enantiomèrica.⁵ Un exemple il·lustratiu de la importància que poden arribar a assolir aquestes xarxes metal·lobiomoleculars són unes nanoestructures en forma de flor sintetitzades mitjançant la connexió d'enzims a albúmina de sèrum boví amb ions de coure(II). Cal destacar que aquestes nanoestructures presenten una millor capacitat enzimàtica si es comparen amb l'enzim aïllat, no estructurat.⁶

En aquesta comunicació s'exposaran els primers resultats obtinguts seguint aquesta aproximació, que han suposat l'obtenció de les primeres nanoestructures metal·lobiomoleculars obtingudes mitjançant l'ús d'aminoàcids.

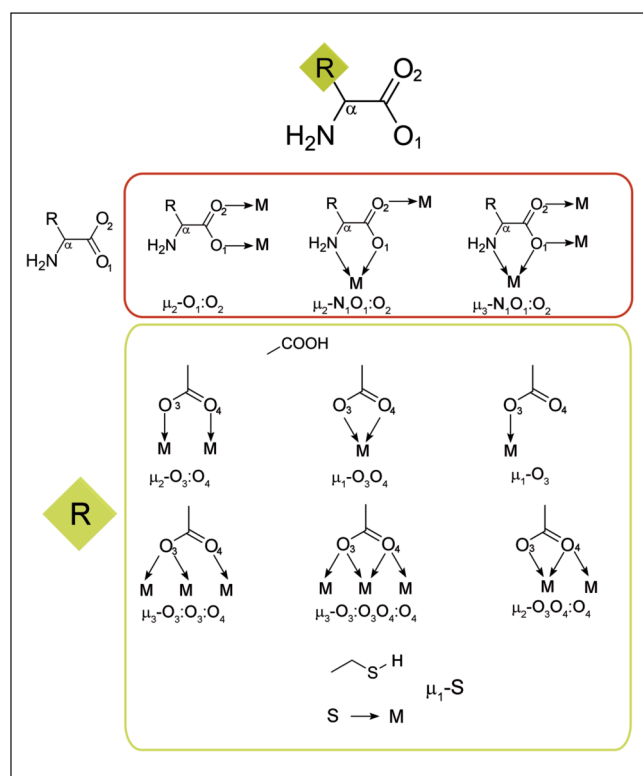


FIGURA 1. Esquema il·lustratiu dels esquelets dels aminoàcids on es mostren els diferents modes de coordinació (primer requadre). En el segon requadre, es detallen els casos del Asp (a dalt) i la Cys (a sota).

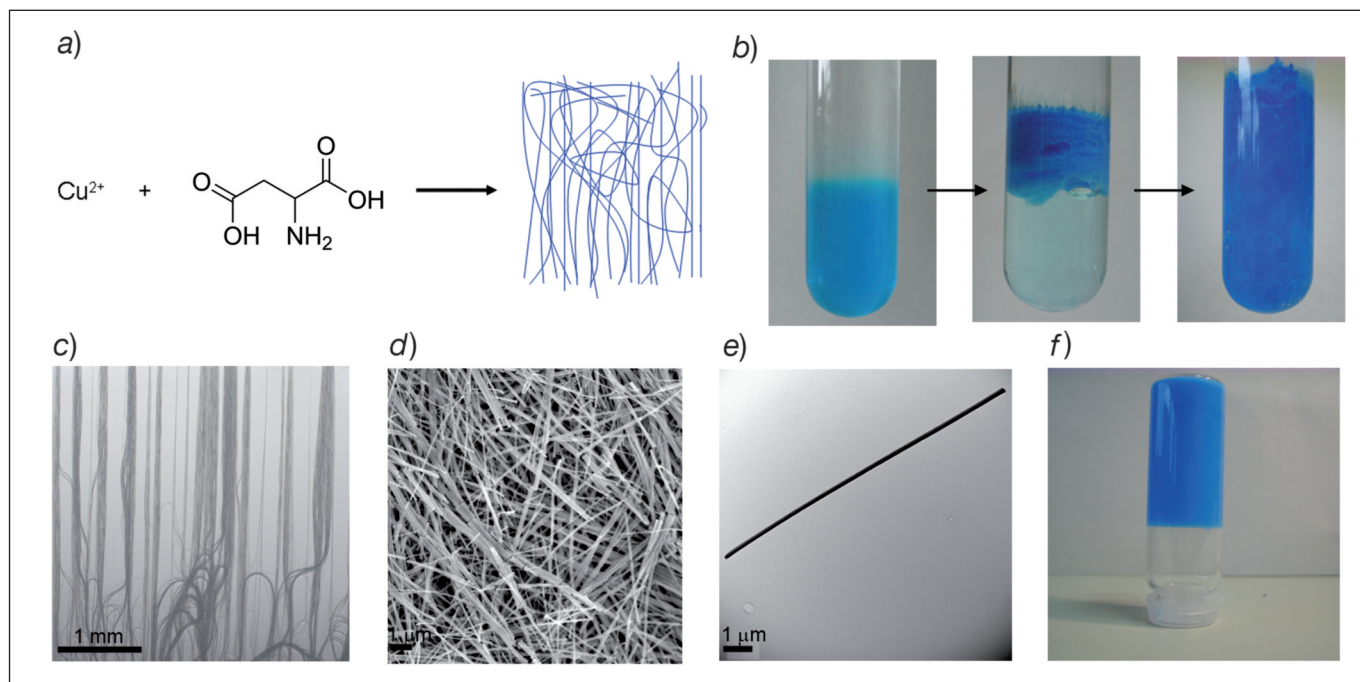


FIGURA 2. a) Esquema il·lustratiu de la formació de les nanofibres de Cu(II)-Asp a partir dels ions de Cu(II) i l'aminoàcid Asp. b) Seqüència d'imatges que mostren el procés de difusió i formació de les nanofibres de Cu(II)-Asp. c) Imatge de microscòpia òptica de les nanofibres Cu(II)-Asp. d) i e) Imatge de MER i de MET de les nanofibres de Cu(II)-Asp. f) Fotografia del gel metal·lobiomolecular.

Nanofibres de Cu(II)-Asp

Els α -aminoàcids són biomolècules quirals senzilles amb la fórmula general $\text{NH}_2\text{CHRCO}_2\text{H}$, els quals tenen l'habilitat de coordinar-se amb ions metàl·lics a través dels seus grups carboxílic i amino- (figura 1).⁴ Certs aminoàcids presenten, a més, un tercer grup funcional capaç d'unir-se a ions metàl·lics, i facilitar així la formació de xarxes creades per la unió d'aquests ions a través d'aminoàcids. Un d'aquests aminoàcids és l'àcid aspàrtic (Asp), que presenta un segon grup carboxílic (figura 1). En aquest treball es descriurà de quina manera la unió d'aquest aminoàcid amb ions de Cu(II) permet obtenir els primers exemples de nanoestructures metal·lobiomoleculars, en concret, nanofibres quirals de Cu(II)-Asp (figura 2a).⁷

La simple addició d'una solució aquosa de nitrat de Cu(II) en una altra solució aquosa de *L*- o *D*-Asp propicia la precipitació immediata d'un sòlid blau. Les imatges de microscòpia electrònica de rastreig (MER) i de transmissió (MET) mostren la formació de nanofibres de Cu(II)-Asp, que tenen un diàmetre d'entre 100 i 200 nm i que poden arribar a tenir una llargada d'alguns micròmetres. És interessant remarcar que la llargada d'aquestes nanofibres de Cu(II)-Asp es pot incrementar mitjançant la difusió lenta d'una mescla d'etanol/aigua (5:1)

que conté *L*- o *D*-Asp sobre una solució aquosa de la sal de nitrat de Cu(II), la qual permet que aquests entrin en contacte lentament i reaccionin a la interfase líquida-líquida en forma de nanofibres de Cu(II)-Asp, que tenen un diàmetre semblant, però que poden arribar a tenir una llargada d'alguns centímetres (figura 2b-2e).

La difracció de raigs X en pols d'aquestes nanofibres mostra que són cristal·lines. A més, tot i que la seva mida no en permet resoldre l'estructura cristal·lina i, per tant, saber com estan connectats els ions de Cu(II) i els lligands Asp, sí que es poden utilitzar diverses tècniques d'anàlisi per elucidar certs aspectes d'aquesta connectivitat. En primer lloc, l'anàlisi elemental indica que la relació estequiomètrica Cu(II)-Asp és d'1:1. En segon lloc, la composició química d'aquestes fibres determinada per energia dispersiva de raigs X (EDX) indica la presència dels elements coure, oxigen, nitrogen i carboni. Finalment, per espectroscòpia d'infraroig, es pot confirmar la coordinació dels grups carboxilats del Asp als ions de Cu(II), ja que les bandes simètriques i asimètriques característiques del COO^- queden centrades, respectivament, a $1.622/1.586\text{ cm}^{-1}$ i $1.403/1.368\text{ cm}^{-1}$. Tots aquests resultats suggereixen que els ions de Cu(II) es connecten a través dels lligands Asp formant cadenes unidimensionals de fórmula general $[\text{Cu}(\text{Asp})(\text{H}_2\text{O})]_x$.

Alhora, les nanofibres de Cu(II)-Asp adopten les propietats de quiralitat que els confereixen els mateixos enantiòmers *L*- o *D*-Asp. Mitjançant l'ús d'espectroscòpia de dicroïsme circular (DC) i utilitzant un procediment ja descrit anteriorment,⁸ es va verificar que les nanofibres enantiomèriques mostren un efecte Cotton oposat. La forma i la magnitud d'aquest efecte Cotton mostren clarament una esfera de coordinació quiral de l'ió metàl·lic en les nanofibres. Cal destacar que el senyal derivat de les transicions d-d és molt més clar que en altres complexos de Cu(II).⁹

Una vegada caracteritzades aquestes nanofibres, es va demostrar que petits canvis en les condicions de reacció influeixen en el producte obtingut. Així, a banda de controlar la longitud d'aquestes nanofibres, es va comprovar que l'ús de concentracions de reactius superiors a 0,07 M propicia la formació d'un gel de color blau molt homogeni. Tal com es mostra a la figura 2f, aquest gel, estable durant mesos a temperatura ambient, està format per nanofibres de Cu(II)-Asp entrelaçades.

Una nova tècnica per formar nanoestructures metal·lobiomoleculares: la microfluídica

La microfluídica és una aproximació extremament efectiva a l'hora de fabricar nanoestructures no accessibles mitjançant l'ús d'altres mètodes més convencionals.¹⁰ A causa del gran control que s'aconsegueix a la zona de reacció o de difusió, la microfluídica sembla la tècnica ideal per controlar l'assemblatge de molècules i ions metàl·lics. Sota condicions de flux laminar, es forma una interfase estable entre els dos fluxos de reactius que per difusió es mesclen. D'aquesta manera, es controla el temps de residència dels reactius dins del microreactor i, en conseqüència, la difusió i la zona de reacció dels diferents reactius. D'aquesta forma, només canvia la intensitat dels fluxos dels reactius.¹¹

Per demostrar per primer cop l'ús d'aquesta tècnica per controlar la formació de nanoestructures metal·lobiomoleculares, es va fixar l'objectiu de sintetitzar les nanofibres de Cu(II)-Asp.¹² En el procés de síntesi, es va utilitzar un sistema format per quatre canals: dos d'interns i dos d'externs. En els canals interns, s'injecten les solucions aquoses de Asp i nitrat de Cu(II). Alhora, s'injecten dos fluxos auxiliars d'aigua als canals exteriors. Un cop injectats tots els fluxos, de seguida es veu la formació d'una interfase entre els dos fluxos centrals

(figura 3a). La formació de nanofibres de Cu(II)-Asp és immediata i es localitza en aquesta interfase. La figura 3b mostra una imatge de MER de les nanofibres, les quals presenten unes dimensions similars a les obtingudes mitjançant les altres dues metodologies sintètiques. De totes maneres, la tècnica de la microfluídica ofereix diversos avantatges respecte als mètodes sintètics anteriors. D'una banda, la velocitat de reacció i, en conseqüència, la formació de nanofibres augmenten considerablement. D'altra banda, la microfluídica permet el control de la posició de la interfase entre els dos reactius. Finalment, gràcies a aquesta metodologia, les nanofibres es poden obtenir també amb una orientació preferencial, amb forma de paquets de fibres perfectament orientades.

Un cop demostrat que les nanofibres de Cu(II)-Asp podien ser sintetitzades per microfluídica, el pas següent va ser utilitzar aquest mètode per augmentar la varietat de nanoestructures metal·lobiomoleculares. Amb aquest objectiu es va estudiar un segon sistema format per ions de Ag(I) i l'aminoàcid cisteïna (Cys).¹² Tal com succeeix amb el Asp, la Cys també presenta un tercer grup funcional (un tiol) capaç de coordinar-se amb ions metàl·lics. En aquest cas, la injecció de solucions aquoses de nitrat de Ag(I) i Cys en el microreactor va permetre novament l'obtenció de nanofibres de Ag(I)-Cys, que tenen un diàmetre comprès entre els 10 nm i els 50 nm (figura 3c). L'obtenció d'a-

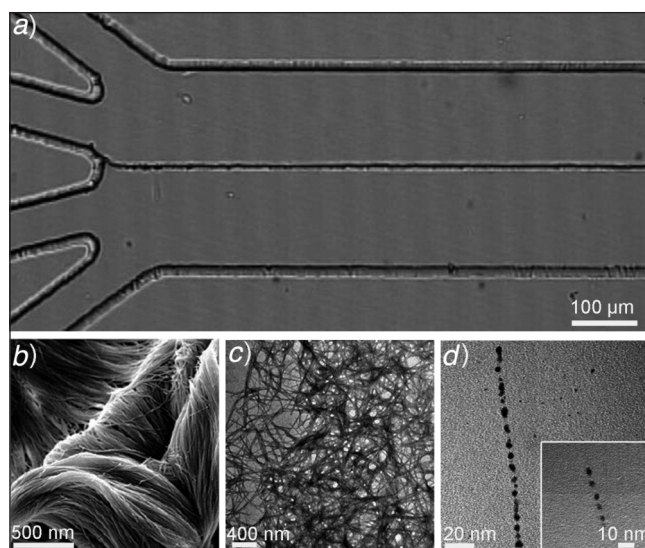


FIGURA 3. a) Imatge de microscòpia òptica on s'aprecia la formació de les nanofibres de Cu(II)-Asp creades en la interfase del microcanal. b) Imatge de MER de les nanofibres de Cu(II)-Asp orientades obtingudes per la tècnica de la microfluídica. c) Imatge de MET de les nanofibres de Ag(I)-Cys obtingudes per microfluídica. d) Imatge de MET de les superestructures de nanopartícules semiconductores de Ag₂S, formades utilitzant les nanofibres de Ag(I)-Cys com a plantilles.

questes nanofibres encara és més destacable si es té en compte no es formen quan es barregen els dos reactius sota agitació.

Conclusions

Arran del que s'ha exposat en aquest article, es pot concloure que les nanoestructures metal·lobiomoleculares són una classe especial de nanomaterials, potser en estat embrionari, però que certament podran ser utilitzades en una multitud d'aplicacions, siguin biomèdiques, químiques, en electrònica o com a nous sensors. Per exemple, aquestes nanoestructures, tal com ja s'ha demostrat per a les nanofibres de Ag(I)-Cys, poden ser utilitzades com a plantilles selectives per crear superestructures de nanopartícules, com, per exemple, de Ag o Ag₂S, amb unes excel·lents propietats conductores o semiconductores (figura 3d).¹² En un futur proper, es preveu que es descobreixi una multitud de noves estructures metal·lobiomoleculares que presentin noves propietats, i les metodologies sintètiques exposades en aquest article, com ara la precipitació ràpida, la polimerització interfacial i la microfluídica, s'espera que hi tinguin un paper fonamental.

Agraïments

Els autors volen expressar el seu agraïment a l'Institut Català de Nanotecnologia i, en especial, al professor Jordi Pascual, pel seu suport constant. Inhar Imaz i Josep Puigmartí-Luis agraeixen al Ministeri de Ciència i Innovació els contractes Ramón y Cajal. Els autors també agraeixen al Servei de Microscòpia de la Universitat Autònoma de Barcelona el suport i la col·laboració.

Referències

1. Kitagawa, S.; Kitaura, R.; Noro, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2334.
2. Janiak, C. *Dalton Trans.* **2003**, *14*, 2781.
3. a) Carné, A.; Carbonell, C.; Imaz, I.; Maspoch, D. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 291. b) Spokoyny, A. M.; Kim, D.; Sumrein, A.; Mirkin, C. A. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *5*, 1218. c) Rieter William, M.; Kathryn, M. L.; Hongyu, A.; Weili, L. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 9024.
4. Imaz, I.; Rubio-Martínez, M.; Jihyun, A.; Solé-Font, I.; Rosi, N. L.; Maspoch, D. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 7287.
5. Saunders, C. D. L.; Burford, N.; Werner-Zwanzinger, U.; McDonald, R. *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 3693.
6. Ge, J.; Lei, J.; Zare, R. N. *Nature Nanotechnol.* **2012**, *7*, 428. DOI: 10.1038/NNANO.2012.80.
7. Imaz, I.; Rubio-Martínez, M.; Wojciech, J. S.; Amabilino, D. B.; Maspoch, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 18222.
8. Minguet, M.; Amabilino, D. B.; Wurst, K.; Veciana, J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **2001**, *5*, 670.
9. a) Downing, D. S.; Urbach, F. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 5977. b) Surdykowski, A.; Barwiolek, M.; Lasen, E. *Polyhedron* **2002**, *21*, 2711.
10. a) Atencia, J.; Beebe, D. J. *Nature* **2005**, *437*, 648. b) Nie, Z. H.; Petukhova, A.; Kumacheva, E. *Nature Nanotechnol.* **2010**, *5*, 15.
11. a) Puigmartí-Luis, J.; Schaffhauser, D.; Burg, B. R. D.; Dittrich, P. S. *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 2255. b) Kenis, P. J. A.; Ismagilov, R. F.; Whitesides, G. M. *Science* **1999**, *285*, 83.
12. Puigmartí-Luis, J.; Rubio-Martínez, M.; Hartfelder, U.; Imaz, I.; Maspoch, D.; Dittrich, P. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 4216.



M. Rubio-Martínez



I. Imaz



J. Puigmartí-Luis



D. Maspoch

Marta Rubio-Martínez (Barcelona, 1982). Va obtenir la llicenciatura en química i el màster en nanotecnologia per la Universitat Autònoma de Barcelona. Actualment està realitzant la tesi doctoral en química al grup Supramolecular NanoChemistry and Materials de l'Institut Català de Nanotecnologia, sota la supervisió dels doctors Daniel Maspoch i Inhar Imaz. La seva recerca es basa en el disseny, la síntesi i l'estudi d'una nova família de materials metalbiomoleculars utilitzant diferents estratègies sintètiques.

Inhar Imaz (Hendaia, País Basc, França, 1978). Va obtenir el títol de doctor en ciència dels materials l'any 2005 per la Universitat Bordeaux I, on estudiava la formació d'arquitectures heterometàl·liques a partir de blocs tetraèdrics. Actualment és investigador Ramón y Cajal a l'Institut Català de Nanotecnologia. La seva investigació se centra en el disseny, la síntesi i l'estudi de nous materials metal·lòrgànics nanoestructurats.

Josep Puigmartí-Luis (Artés, Barcelona, 1978). Va estudiar ciències químiques a la Universitat Autònoma de Barcelona (2002) i, posteriorment, va cursar el màster en química i enginyeria alimentària a l'Institut Químic de Sarrià. L'any 2003, va començar el doctorat en ciència dels materials a l'Institut de Ciències de Materials de Barcelona, al grup del professor Jaume Veciana i sota la supervisió del professor David B. Amabilino. El seu treball de doctorat se centrava en la síntesi i la caracterització de nous materials conductors orgànics i materials híbrids. Després dels estudis de doctorat, va començar un postdoctorat a la Katholieke Universiteit Leuven (Bèlgica), al grup del professor Steven de Feyter, on va realitzar estudis de sistemes orgànics a la interfase sòlid-líquid amb microscòpies d'efecte túnel. A partir de l'any 2008, l'interès científic pels sistemes microfluídics el va portar a canviar de línia de treball. L'any 2009, va ser premiat amb l'ETH Postdoctoral Fellow pel seu projecte d'investigació, titulat *In situ formation of three-dimensional bendable networks by microfluidic guided self-assembly*. Actualment és investigador Ramón y Cajal al grup del professor David B. Amabilino (Molecular Chirality, Surfaces and Nanomaterials Group) i els seus interessos científics se centren en l'estudi i la caracterització de nous sistemes orgànics i híbrids i en la seva organització en la nanoescala mitjançant l'ús de plataformes microfluídiques.

Daniel Maspoch (l'Escala, Girona, 1976). Va obtenir la llicenciatura en química l'any 1999 per la Universitat de Girona i el grau de doctor en ciència de materials per la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), a l'Institut de Ciència de Materials de Barcelona, l'any 2004. Després de treballar amb una beca postdoctoral al grup del professor Chad A. Mirkin, a la Northwestern University (Chicago, EUA), es va traslladar a l'Institut Català de Nanotecnologia (ICN) gràcies a un contracte Ramón y Cajal. Actualment és professor d'investigació i dirigeix el grup Supramolecular NanoChemistry and Materials a l'ICN.