

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Kemijski odsjek
Poslijediplomski sveučilišni studij Kemije
Biokemija

Ena Dražić

KEMIJSKI SEMINAR I
BIOMOLEKULSKA STAKLA

Mentorica: izv. prof. dr. sc. Daniela Kalafatović

Voditeljica smjera: prof. dr. sc. Ita Gruić Sovulj

Zagreb, 2026.

SADRŽAJ

1.	UVOD.....	1
2.	DEFINICIJA STAKLA	2
3.	POLIMERNA I ORGANSKA STAKLA	3
4.	SAMOORGANIZACIJA PEPTIDA U STAKLA	3
5.	BIORAZGRADIVOST I BIOKOMPATIBILNOST PEPTIDNIH STAKALA ..	8
6.	ZAKLJUČAK	10
7.	LITERATURA	11

1. UVOD

Stakla se smatraju jednim od najvažnijih materijala zbog široke primjene u građevini, optici i elektronicima. Tradicionalna stakla većinom su anorganskog podrijetla, izrađena od silicijevog dioksida te pokazuju iznimna mehanička svojstva poput čvrstoće i stabilnosti uz odlična optička svojstva¹. Ipak, za proizvodnju takvog stakla potrebne su vrlo visoke temperature i velika potrošnja energije, a sama stakla su često fragilna, teško se recikliraju te nisu biološki kompatibilna. S obzirom na navedena ograničenja, sve je izraženija potreba za istraživanjem alternativnih staklenih materijala baziranih na organskim i biomolekulskim gradivnim jedinicama. Biomolekulska stakla sastavljena od aminokiselina i peptida predstavljaju obećavajuć put prema proizvodnji biokompatibilnih, funkcionalnih i stabilnih materijala sa sposobnošću recikliranja te potencijalnom primjenom u medicini.

Zbog kombinacije strukturne složenosti, biološke kompatibilnosti i mogućnosti preciznog molekularnog dizajna, peptidi i aminokiseline predstavljaju posebno zanimljivu klasu gradivnih jedinica za razvoj biomolekulskih stakala. Upravo na takvim sustavima temelje se i dva rada analizirana u ovom seminaru:

Xing, R.; Yuan, C.; Fan, W.; Ren, X.; Yan, X. *Biomolecular Glass with Amino Acid and Peptide Nanoarchitectonics*. **Sci Adv** 2023, 9 (11)

Finkelstein-Zuta, G.; Arnon, Z. A.; Vijayakanth, T.; et al. *Self-Healing Multispectral Transparent Adhesive Peptide Glass*. **Nature** 2024, 630 (8016), 368–374.

<https://www.science.org/doi/epdf/10.1126/sciadv.add8105>

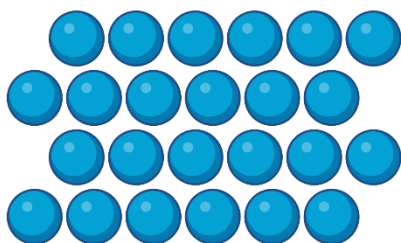
2. DEFINICIJA STAKLA

Stakla se mogu definirati na više načina, no najčešće se opisuju kao amorfne čvrste tvari nastale brzim hlađenjem rastaljene mase čime se sprječava njena kristalizacija. U procesu nastanka stakla tvar se najprije zagrijava iznad svoje temperature tališta kako bi se dobila homogena tekućina. Tijekom naknadnog hlađenja, u temperaturnom području ispod temperature tališta, sustav bi termodinamički trebao kristalizirati, no taj se proces može spriječiti tehnikom naglog hlađenja (engl. *quenching*). Nastavkom naglog hlađenja do temperature staklenog prijelaza (T_g) dolazi do kinetičkog „zamrzavanja“ strukture, pri čemu se formira amorfna staklena faza. Stoga je tehnika naglog hlađenja nužan preduvjet za nastanak stakla².

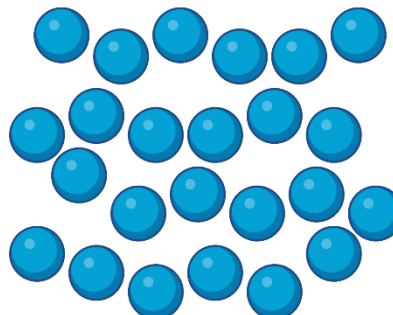
Stakla nisu u termodinamičkoj ravnoteži, već su kinetički stabilna, što znači da se pri brzom hlađenju molekule ne mogu dovoljno brzo reorganizirati. Posljedično, ostaju „zarobljene“ u neuređenom stanju što rezultira amorfnom strukturom. Kada bi sustav bio u termodinamičkoj ravnoteži, molekule bi se reorganizirale u stabilnije stanje, kristalno stanje³.

Osim termodinamičkih razlika, stakla se razlikuju od kristala i strukturno. Ona ne posjeduju jediničnu ćeliju pa tako ni uređenost dugog doseg (engl. *long-range order*) što je karakteristično za kristale. S druge strane, stakla se ne mogu karakterizirati kao totalno neuređene strukture jer, uz uređenost kratkog doseg (engl. *short-range order*) posjeduju i određeni stupanj uređenosti srednjeg doseg (engl. *medium-range order*)³.

KRISTALNA STRUKTURA



AMORFNA STRUKTURA



Slika 1. Usporedba kristalne (uređenost dugog doseg) i amorfne stukturte (uređenost srednjeg i kratkog doseg).

3.POLIMERNA I ORGANSKA STAKLA

Iako su anorganska stakla otporna na dugotrajnu (kemijsku) deformaciju i visoke temperature, nisu otporna na lokalne udarce i savijanja što dovodi do lakog širenja pukotina⁴. Također, njihova izrada zahtijeva vrlo visoke temperature što nije energetski povoljno i dodatno naglašava nedostatak sposobnosti samoobnavljanja (engl. *self-healing*)⁵. S druge strane, polimerna stakla imaju povoljne fizikalno-kemijske predispozicije poput znatno niže temperature staklenog prijelaza, manje su krhka te pokazuju termoplastična svojstva što omogućuje jednostavniju obradu zagrijavanjem⁶. Pored polimera, koji pomoću svojih dugih lanaca formiraju stakla, razni organski spojevi niske molekulske mase također imaju sposobnost organizacije u amorfne stukture no zbog njihove sklonosti kristalizaciji i rekristalizaciji nisu toliko kinetički stabilna⁷.

Za razliku od polimernih i organskih stakala, biomolekulske gradivne jedinice nude bolju stabilnost amorfne strukture zahvaljujući intermolekularnim interakcijama koje se mogu kontrolirati minimalnim modifikacijama sekvence što ih čini atraktivnim za biomedicinske primjene. Njihova biorazgradivost i biokompatibilnost dodatno naglašavaju prednosti u odnosu na polimerime i male organske molekule⁸. Zahvaljujući sklonosti samoorganizacije u nanostrukture putem nekovalentnih interakcija, lakoj funkcionalizaciji te specifičnim fizikalno-kemijskim svojstvima, aminokiseline i peptidi imaju značajan potencijal za budući razvoj u znanosti o materijalima⁹.

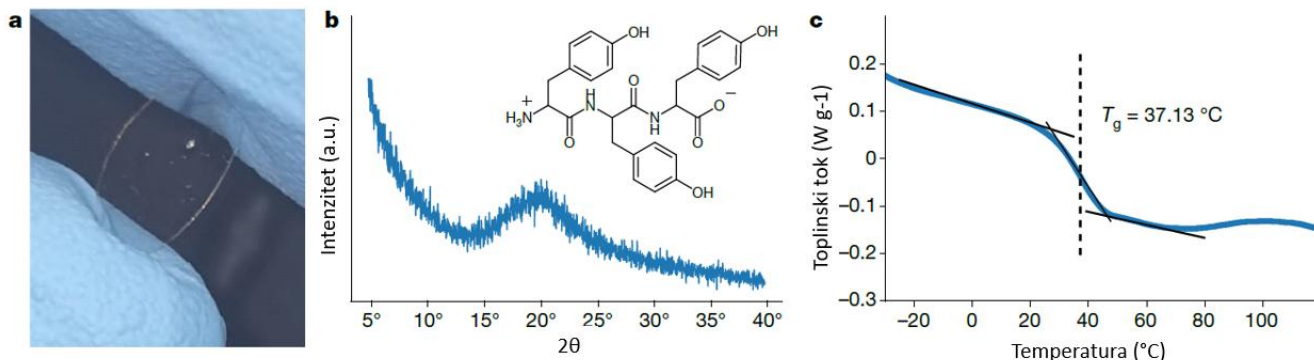
4.SAMOORGANIZACIJA PEPTIDA U STAKLA

Samoorganizacija je proces spontanog stvaranja organiziranih supramolekularnih struktura iz jednostavnih gradivnih blokova putem intermolekularnih nekovalentnih interakcija¹⁰. Nekovalentne interkacije,

koje su posljedica strukturnih svojstava samih aminokiselina i peptida, pokretačka su snaga njihove samoorganizacije uključujući elektrostatske interakcije, n-n interakcije, vodikove veze te hidrofobni efekt⁹. Kako bi se formiralo molekulsko staklo, navedene nekovalentne interakcije moraju biti jake, ali neperiodične kako bi se spriječila formacija supramolekularne strukture s uređenosti dugog dosega, tj. kristala¹¹. Aminokiseline i peptidi također imaju visoku tendenciju prema kristalizaciji što predstavlja još jedan od izazova pri pripremi takvih amorfni struktura. Jedan od načina izbjegavanja kristalizacije je inkorporacija molekula vode koje omogućuju intermolekulske interakcije putem vodikovih veza no njihova dinamična priroda dodatno stabilizira amorfno stanje bez poticanja kristalizacije¹².

Kratki peptidi s aromatskim aminokiselinama poput fenilalanina, tirozina i triptofana strukturno su odličan izbor za samoorganizaciju zbog mogućnosti n-n slaganja koje omogućuje uređenu strukturu, ali upravo zbog toga u većini slučajeva jako dobro kristaliziraju¹³. Amorfne peptidne strukture koje tvore stabilna stakla rijetko su opisane, ali nedavno je pokazano da kratki tripeptid sastavljen od tirozina (Tyr-Tyr-Tyr), s inače već definiranom kristalnom strukturom, pokazuje staklasta svojstva slična silikatnim staklima (Slika 2a)¹¹.

Vrlo važan korak u procesu samoorganizacije peptida je dobra topljivost u odabranom otapalu, većinom vodenoj otopini, što je vrlo izazovno kada su aromatski, hidrofobni peptidi u pitanju¹⁴. Peptid Tyr-Tyr-Tyr (YYY) je pokazao iznenađujuće dobru topljivost u vodi te spontanu samoorganizaciju u amorfno, rigidno staklo tijekom isparavanja vodene otopine. Nastanak stakla potvrđen je rendgenskom difrakcijom praha gdje je izostanak specifičnog signala za kristale, koji se inače nalazi pri 20°, jasno vidljiv (Slika 2b). Također, diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (DSC) potvrdila je amorfno stanje YYY peptida, koje pokazuje klasična staklasta svojstva slična silikatnom staklu, ali pri sobnoj temperaturi, što je znatno niže od temperature silikatnog stakla (Slika 2c).

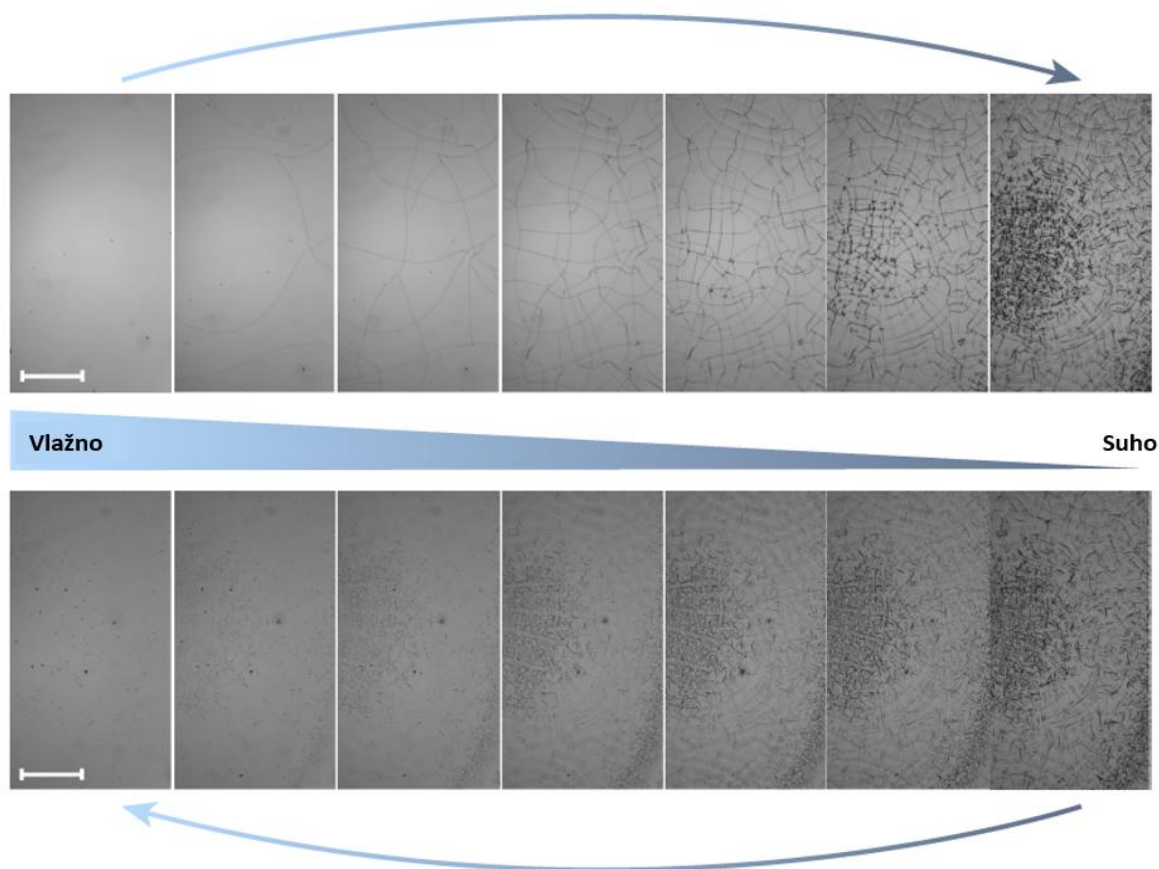


Slika 2. Potvrda staklastih svojstava YYY peptida različitim metodama: **(a)** makroskopski prikaz YYY stakla, **(b)** rendgenska difrakcija praha osušenog YYY stakla, **(c)** diferencijalna skenirajuća kalorimetrija s temperaturom staklenog prijelaza T_g koja iznosi 37.13 °C. *Reproducirano iz: Finkelstein-Zuta et al., Nature 630 (8016), 368–374 (2024).*

Kako bi se dodatno istražio utjecaj intermolekulskih vodikovih veza, amidirani YYY peptid (YYY-NH₂) pripremljen je na isti način kao i YYY te je rezultirao amorfnom strukturom i vrlo sličnim svojstvima kao YYY. pH igra vrlo veliku ulogu u samoorganizaciji peptida zbog njihovih raznolikih ionizacijskih stanja, koja uvelike određuju ishod same organizacije. YYY-NH₂ se samoorganizirao isparavanjem vodene otopine u kiselim, neutralnim i alkalnim uvjetima, što ukazuje na iznimnu stabilnost kroz širok raspon uvjeta te dodatno proširuje područje potencijalne primjene u biomedicinskim aplikacijama. Također, dobiveno staklo pokazuje izražena adhezivna svojstva, što upućuje na njegov potencijal za primjenu kao ljepilo za hidrofilne površine ¹¹.

Vrlo interesantno svojstvo i još jedan dokaz važnosti vode (vodikovih veza) je samoobnavljajuća sposobnost YYY stakla. Dehidracija stakla uzrokovala je pucanje stakla, no ponovnim izlaganjem stakla vlažnoj okolini dolazi do njegovog povratka u prvobitno stanje, bez vidljivih tragova pucanja (Slika 3). Mehanizam samoobnavljanja baziran je na reorganizaciji dinamičnih

vodikovih veza što predstavlja ključnu razliku i prednost u odnosu na tradicionalna stakla.

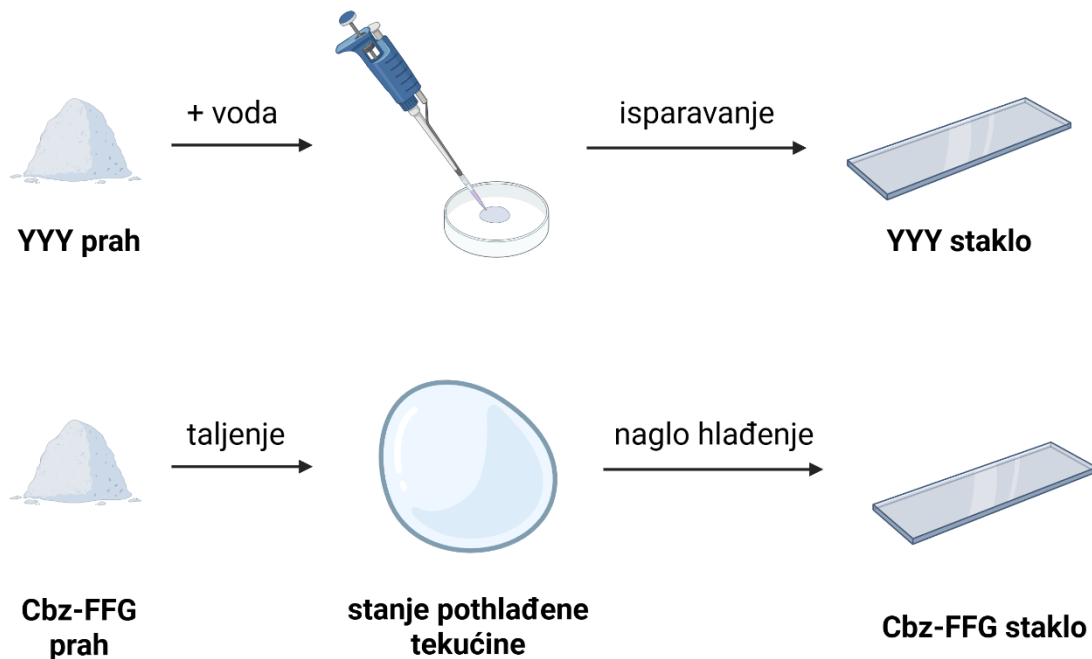


Slika 3. Pucanje i samoobnavljanje YYY stakla u suhim i vlažnim uvjetima. *Reproducirano iz: Finkelstein-Zuta et al., Nature 630 (8016), 368–374 (2024).*

Drugi primjer biomolekulskih stakala temelji se na samoorganizaciji aminokiselina i peptida modificiranih dodatkom hidrofobnih skupina poput 9-fluorenilmetiloksikarbonila (Fmoc-) i benziloksikarbonila (Cbz-) ili acetilacijom (Ac-). Istraživane su brojne modificirane aminokiseline uključujući Fmoc-Glicin, Fmoc-Fenilalanin, Ac-Glicin i Ac-Fenilalanin (Ac-F) te peptidi Cbz-Phe-Phe, Cbz-Tyr-Tyr i Cbz-Phe-Phe-Gly (Cbz-FFG) među kojima su kao reprezentativni primjerci odabrani Ac-F i Cbz-FFG ¹⁵.

Za razliku od prethodnog primjera, YYY peptida, ova stakla pripremljena su klasičnom metodom, pri čemu je preciznom kontrolom brzine taljenja i hlađenja formirana pothlađena peptidna tekućina (engl. *supercooled liquid*)

koja je zatim naglim hlađenjem prevedena u staklo, učinkovito sprječavajući kristalizaciju (Slika 4).



Slika 4. Usporedba metoda pripreme peptidnih stakala.

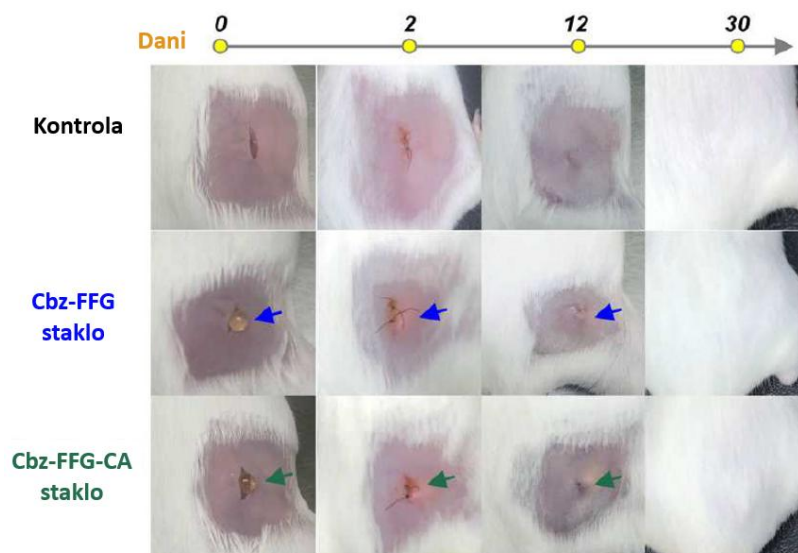
Kao i na primjeru YYY peptida, nastanak stakla potvrđen je rendgenskom difrakcijom i DSC-om koji je dao informaciju o temperaturi staklenog prijelaza¹⁵. Ona za Cbz-FFG iznosi 58 °C što je 20 °C više u odnosu na YYY peptid, potencijalno kao posljedica prisutnosti vode u YYY sustavu.

Razvijena biomolekulska stakla (Ac-F i Cbz-FFG) pokazuju visoku razinu prozirnosti i homogenu amorfnu strukturu te se u tom aspektu mogu poistovijetiti s tradicionalnim staklenim materijalima. S obzirom na njihovu stabilnu amorfnu strukturu i nisku viskoznost u pothlađenom stanju, ova stakla su pogodna za obradu u kompleksne strukture pomoću 3D ispisa te lijevanja u kalupe. Posebno je značajno da je ovakva kombinacija optičke prozirnosti i mogućnosti obrade rijetka među biomolekulskim staklenim materijalima, koji su inače mehanički kruti i lomljivi, što otežava primjenu u tehnologiji oblikovanja materijala¹⁵.

5. BIORAZGRADIVOST I BIOKOMPATIBILNOST PEPTIDNIH STAKALA

Pored mehaničkih svojstava, vrlo je važno naglasiti biorazgradivost i biokompatibilnost ovih materijala. S obzirom na to da se peptidi mogu razgraditi djelovanjem enzima u biološkim uvjetima, ova stakla predstavljaju značajan napredak u razvoju funkcionalnih materijala koji su ekološki prihvatljivi i kompatibilni s biološkim sustavima. Pri inkubaciji u otopini proteinaze K, Ac-F potpuno se razgradio unutar 1 tjedna, dok je Cbz-FFG pokazao potpunu razgradnju nakon 5 mjeseci.

Nadalje, degradacija Cbz-FFG stakla ispitana je *in vivo* implantacijom u miševe subkutano, s ciljem procjene njegove biokompatibilnosti i biorazgradivosti (Slika 5). Iako pojam implantata često podrazumijeva trajnu ugradnju, u ovom slučaju svrha je bila evaluirati privremeni biomaterijal koji se nakon određenog vremena potpuno razgradi i apsorbira. Uz Cbz-FFG staklo, testirana je i verzija stakla s enkapsuliranim ciklosporinom A (CA). Degradacija je praćena kroz 30 dana, a već nakon drugog dana Cbz-FFG staklo značajno je omekšalo te nakon 12 dana potpuno se razgradilo i apsorbiralo. Uvođenjem CA, vrijeme degradacije se smanjilo što je i očekivano zbog njegova imunosupresivna učinka. Nakon 30 dana, oba stakla potpuno su razgrađena, a koža i dlaka oko rane potpuno su se oporavili. Također je važno naglasiti da tijekom eksperimenta miševi nisu pokazivali nikakvo ponašanje povezano s boli, gubitak mase te nije bilo simptoma koji ukazuju na odbacivanje staklenih implantata. Histološka analiza tkiva koje je bilo u kontaktu s implantatima pokazala je da je upalna reakcija bila prisutna drugi dan, no to je rezultat same operacije. Do 12. dana upalne reakcije su značajno smanjenje za oba stakla, a posebno za Cbz-FFG-CA što se pripisuje anti-upalnom učinku CA. Na kraju eksperimenta, struktura mišićnog tkiva je bila uredna, a upale nije bilo. Ovi rezultati pokazuju da ova peptidna stakla imaju izvrsnu biokompatibilnost *in vivo* te dodavanje imunosupresiva poput CA dodatno poboljšava njihovu imunološku toleranciju ¹⁵.



Slika 5. Degradacija dva tipa stakala (Cbz-FFG i Cbz-FFG-CA) *in vivo* tijekom 30 dana. *Reproducirano iz: Xing et al., Sci Adv 9 (11), 2023*

6.ZAKLJUČAK

Peptidna stakla predstavljaju novu, perspektivnu klasu biomaterijala gdje se kombinira kontrolirana samoorganizacija putem finog podešavanja intermolekulskih interakcija, stabilna amorfna struktura te odlična mehanička i optička svojstva s mogućnosti oblikovanja u kompleksne strukture. Njihova adhezivnost i samoobnavljanje otvaraju vrata za proširenje potencijalnih grana primjene, dok peptidna priroda osigurava biokompatibilnost i biorazgradivost što je ključno za primjenu u biomedicinske svrhe. Biomolekulska stakla sa svim navedenim značajnim svojstvima predstavljaju inovaciju i prednost za potencijalno povezivanje biološkog svijeta te inženjeringa materijala.

7. LITERATURA

- (1) Xing, R.; Yuan, C.; Fan, W.; Ren, X.; Yan, X. Biomolecular Glass with Amino Acid and Peptide Nanoarchitectonics. *Sci Adv* 2023, 9 (11). <https://doi.org/10.1126/SCIADV.ADD8105;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER>.
- (2) Debenedetti, P. G.; Stillinger, F. H. Supercooled Liquids and the Glass Transition. *Nature* 2001 410:6825 2001, 410 (6825), 259–267. <https://doi.org/10.1038/35065704>.
- (3) Zanutto, E. D.; Mauro, J. C. The Glassy State of Matter: Its Definition and Ultimate Fate. *J Non Cryst Solids* 2017, 471, 490–495. <https://doi.org/10.1016/J.JNONCRY SOL.2017.05.019>.
- (4) Dal Bó, M.; Cantavella, V.; Sánchez, E.; Hotza, D.; Gilabert, F. A. Fracture Toughness and Temperature Dependence of Young's Modulus of a Sintered Albite Glass. *J Non Cryst Solids* 2013, 363 (1), 70–76. <https://doi.org/10.1016/J.JNONCRY SOL.2012.12.001>.
- (5) Bouras, N.; Madjoubi, M. A.; Kolli, M.; Benterki, S.; Hamidouche, M. Thermal and Mechanical Characterization of Borosilicate Glass. *Phys Procedia* 2009, 2 (3), 1135–1140. <https://doi.org/10.1016/J.PHPRO.2009.11.074>.
- (6) Ali, U.; Karim, K. J. B. A.; Buang, N. A. A Review of the Properties and Applications of Poly (Methyl Methacrylate) (PMMA). *Polymer Reviews* 2015, 55 (4), 678–705. <https://doi.org/10.1080/15583724.2015.1031377;WGROU P:STRING :PUBLICATION>.
- (7) Wuest, J. D.; Lebel, O. Anarchy in the Solid State: Structural Dependence on Glass-Forming Ability in Triazine-Based Molecular Glasses. *Tetrahedron* 2009, 65 (36), 7393–7402. <https://doi.org/10.1016/J.TET.2009.07.026>.

- (8) Zimmerman, J. B.; Anastas, P. T.; Erythropel, H. C.; Leitner, W. Designing for a Green Chemistry Future. *Science (1979)* 2020, 367 (6476), 397–400. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAY3060;CSUBTYPE:STRING:SPECIAL;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER>.
- (9) Wang, Y.; Rencus-Lazar, S.; Zhou, H.; Yin, Y.; Jiang, X.; Cai, K.; Gazit, E.; Ji, W. Bioinspired Amino Acid Based Materials in Bionanotechnology: From Minimalistic Building Blocks and Assembly Mechanism to Applications. *ACS Nano* 2023, 18 (2), 1257–1288. <https://doi.org/10.1021/ACSNANO.3C08183>.
- (10) Dražić, E.; Jelušić, D.; Janković Bevandić, P.; Mauša, G.; Kalafatovic, D. Using Machine Learning to Fast-Track Peptide Nanomaterial Discovery. *ACS Nano* 2025, 19 (22), 20295–20320. <https://doi.org/10.1021/ACSNANO.5C00670>.
- (11) Finkelstein-Zuta, G.; Arnon, Z. A.; Vijayakanth, T.; Messer, O.; Lusky, O. S.; Wagner, A.; Zilberman, G.; Aizen, R.; Michaeli, L.; Rencus-Lazar, S.; Gilead, S.; Shankar, S.; Pavan, M. J.; Goldstein, D. A.; Kutchinsky, S.; Ellenbogen, T.; Palmer, B. A.; Goldbourt, A.; Sokol, M.; Gazit, E. A Self-Healing Multispectral Transparent Adhesive Peptide Glass. *Nature* 2024 630:8016 2024, 630 (8016), 368–374. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-07408-x>.
- (12) Chaplin, M. Do We Underestimate the Importance of Water in Cell Biology? *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2006 7:11 2006, 7 (11), 861–866. <https://doi.org/10.1038/nrm2021>.
- (13) Adler-Abramovich, L.; Arnon, Z. A.; Sui, X. M.; Azuri, I.; Cohen, H.; Hod, O.; Kronik, L.; Shimon, L. J. W.; Wagner, H. D.; Gazit, E. Bioinspired Flexible and Tough Layered Peptide Crystals. *Adv Mater* 2018, 30 (5). <https://doi.org/10.1002/ADMA.201704551>.
- (14) Bera, S.; Dong, X.; Krishnarjuna, B.; Raab, S. A.; Hales, D. A.; Ji, W.; Tang, Y.; Shimon, L. J. W.; Ramamoorthy, A.; Clemmer, D. E.; Wei, G.;

Gazit, E. Solid-State Packing Dictates the Unexpected Solubility of Aromatic Peptides. *Cell Rep Phys Sci* 2021, 2 (4), 100391. <https://doi.org/10.1016/j.xcrp.2021.100391>.

- (15) Xing, R.; Yuan, C.; Fan, W.; Ren, X.; Yan, X. Biomolecular Glass with Amino Acid and Peptide Nanoarchitectonics. *Sci Adv* 2023, 9 (11). <https://doi.org/10.1126/SCIADV.ADD8105;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER>.

**Figure 1 i 4 izrađene su u BioRenderu.*