

KEMIAN LAITOS
JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO

Hydrogeelien aktivointi valon avulla

Kandidaatintutkielma

22.12.2022

Jenni Pulkkinen



JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO

Tiivistelmä

Tässä kandidaattitutkielmassa käydään läpi valon vaikutuksesta tapahtuvia reaktioita hydrogeeleissä sekä käsitellään valoreaktiivisten hydrogeelien biologisia sovelluksia. Tutkielmassa esitellään valon aiheuttaman pilkkoutumisen (cleavage), additioreaktion, vaihtoreaktion (additio-rekombinaatio) ja isomerisaation reaktiomekanismit ja käsitellään reaktioiden hyödyntämistä lääketieteellisissä sovelluksissa, kuten lääkeaineiden kuljetuksessa. Tutkimusten perusteella valoaktivoituvat hydrogeelit ovat kehittyvä menetelmä lääkeaineiden kuljetukseen.

Esipuhe

Kandidaattitutkielma tehtiin keväällä 2022 Jyväskylän yliopiston kemian laitoksella. Tämän tutkielman kirjallisuuskatsaus aloitettiin maaliskuussa 2022. Kandidaattitutkielma valmistui joulukuussa 2022. Kirjallisuuslähteiden hakuun käytettiin Google Scholar-hakukonetta ja ScienceDirect-tietokantaa. Tämän kandidaattitutkielman ohjaajana toimi professori Maija Nissinen.

Haluan kiittää professori Maija Nissistä erinomaisesta ohjauksesta tutkielman aikana ja mielenkiintoisesta aiheesta. Haluan kiittää myös Jyväskylän Yliopistoa laadukkaasta opetuksesta ja muita kurssikavereitani vertaispalautteesta.

Sisällysluettelo

Tiivistelmä.....	iii
Esipuhe	iv
Sisällysluettelo	v
Käytetyt lyhenteet	vi
1 Johdanto	1
2 Valon vaikutukset hydrogeeleihin.....	2
2.1 Pilkkoutuminen (cleavage).....	4
2.1.1 <i>Orto</i> -nitrobentsyyli (oNB).....	4
2.1.2 Kumariini	5
2.2 Additioreaktio.....	6
2.2.1 Tioli-eeni reaktio	6
2.3 Vaihtoreaktio	8
2.4 Isomerisaatio	9
3 Valoaktiivisten hydrogeelien sovellukset	11
3.1 Lääkkeiden vapautuminen.....	11
Yhteenveto	15
Lähdeluettelo	16

Käytetyt lyhenteet

AuNR	Kultananosauva
Dox	Dokсорubisiini
FI	Fotoinitiaattori (Photoinitiator)
HA	Hyaluronihappo
ISC	Järjestelmien välinen ylitys (intersystem crossing)
MA-HA	Metakryloitu hyaluronihappo
NIR	Lähi-infrapuna
oNB	<i>Orto</i> -nitrobentsyyli
PEG	Polyetyleeniglykoli
PVA	Polyvinyylialkoholi
RFP	Riboflaviinifosfaatti (Riboflavin Phosphate)
SH-HA	Tioloitu hyaluronihappo
UV	Ultraviolettivalo
Vis	Näkyvä valo

1 Johdanto

Hydrogeelit ovat fysikaalisesti tai kemiallisesti silloitetuista polymeereistä muodostuneita verkkorakenteisia pehmeitä materiaaleja.¹ Verkkorakenteiden välit ovat täyttyneet vedellä ja veteen liuenneilla aineilla. Hydrogeelit voidaan luokitella luonnollisiin ja synteettisiin hydrogeeleihin.² Luonnollisia hydrogeelejä, kuten kollageeni, hyaluronihappo (HA) ja gelatiini, käytetään esimerkiksi biologisissa sovelluksissa solujen signaali- ja soluinteraktiivisten ominaisuuksien sekä bioyhteensopivuuden vuoksi. Heikot mekaaniset ominaisuudet, rakenteen ja hajoamisen hallitsemattomuus sekä mahdollinen immunogeenisyys rajoittavat luonnollisten hydrogeelien käyttöä. Synteettisillä hydrogeeleillä, kuten polyetyleeniglykolilla (PEG) ja polyvinyylialkoholilla (PVA), on paremmat mekaaniset ominaisuudet ja niiden hajoamista ja mikrorakennetta voidaan hallita.² Ne ovat bioinerttejä, minkä takia eivät ole suosittuja biologisissa sovelluksissa.³

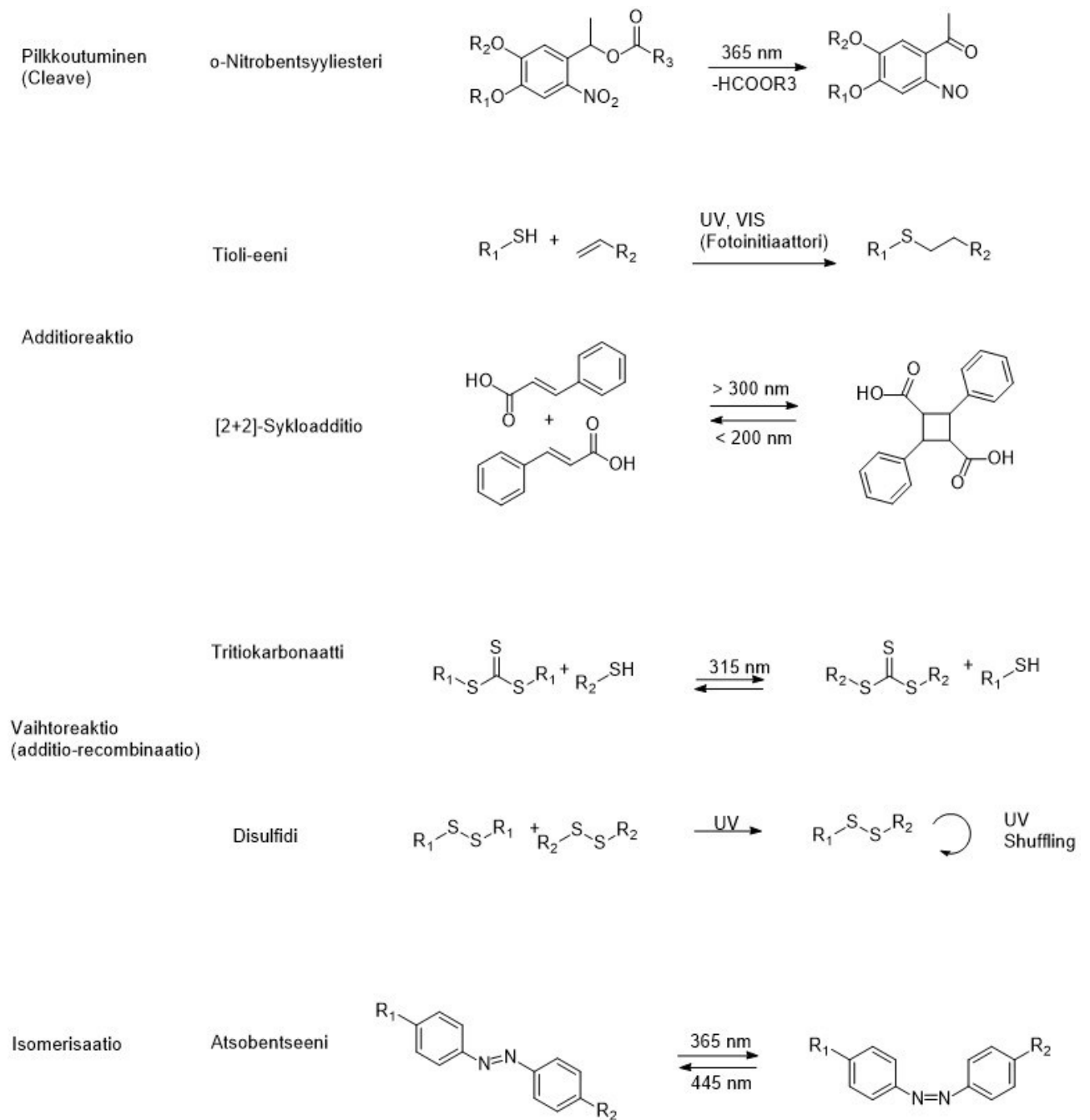
Hydrogeelien tutkimukset ovat osoittaneet, että niiden ominaisuudet ja rakenteet voivat muuttua ulkoisten ärsykkeiden ansiosta.¹ Tällaisia ärsykejä ovat lämpötila, pH, valo, sähkö- tai magneettikentät, ionipitoisuus tai entsyymien läsnäolo. Tässä kirjallisuuskatsauksessa käydään läpi hydrogeelien valon vaikutuksesta tapahtuvia reaktioita sekä käsitellään valoreaktiivisten hydrogeelien biologisia sovelluksia. Valokemialliset reaktiot aiheuttavat uusien sidosten muodostumista tai sidosten katkeamista.⁴ Valoherkkien hydrogeelien etu on se, että niitä voidaan käsitellä ilman reagensseja, mikä vähentää reaktioiden sivutuotteiden ja mahdollisesti haitallisten yhdisteiden määrää. Hydrogeelien säteilyannosta voidaan säädellä tarkasti säteilytysparametrien muutoksilla, kuten säteilytysajalla, valon intensiteetillä¹ ja aallonpituudella.³

2 Valon vaikutukset hydrogeeleihin

Gelaattorien kovalenttinen silloittuminen (covalent crosslinking) tai itsejärjestäytyminen (self-assembly) heikkojen vuorovaikutusten avulla aiheuttaa pieniä tai makromolekyyllisiä gelaattorimolekyylejä sisältävän liuoksen geeliytymistä.³ Geeliytymisen aiheuttavia reaktiota voidaan tietyissä tapauksissa aktivoida erilaisilla ulkoisilla ärsykeillä, kuten valolla. Hydrogeelien valoaktiivisuus ei ole polymeerien luontainen ominaisuus, vaan se johtuu gelaattorien rakenteessa olevista tietyistä funktionaalisista ryhmistä. Ne määrittävät hydrogeelien fysikaalisia, kemiallisia ja biologisia ominaisuuksia. Pilkkoutuminen (cleavage), additioreaktio, vaihtoreaktio (additio-rekombinaatio) ja isomerisaatio ovat tyypillisiä valon aiheuttamia reaktioita (Kuva 1).¹

Pilkkoutumisessa gelaattorimolekyyli hajoaa valon vaikutuksesta, mikä joko aiheuttaa geeliytymisen tai valmiin geelin tapauksessa johtaa geeliverkoston hajoamiseen. Additioreaktiossa kaksi tai useampi molekyyli yhdistyy suuremmaksi molekyyliksi tai polymeeriksi, joka muodostaa geelin verkkorakenteen. Joissakin tapauksissa rakenne voidaan hajottaa käyttämällä toista valon aallonpituutta. Valoaktivoituvissa vaihtoreaktioissa fotoinitiaattori mahdollistaa sidoksien vaihtoreaktion, jota hyödynnetään geeliytymisessä. Isomerisaatiossa hydrogeeliin saadaan palautuva konformaatiomuutos muuttamalla valon aallonpituutta. Seuraavissa kappaleissa käsitellään edellä mainittuja reaktioita tarkemmin.

Hydrogeelien aktivointi valon avulla voi aiheuttaa myös muita reaktioita ja osa niistä voidaan havaita paljaalla silmällä.¹ Tällaisia reaktioita ovat hydrogeelien muodostumisen lisäksi geelirakenteen hajoaminen, geelin verkkorakenteen supistuminen ja laajeneminen, tai rakenteen muutos, joka vaikuttaa heti materiaalin fysikaalisiin ja kemiallisiin ominaisuuksiin.



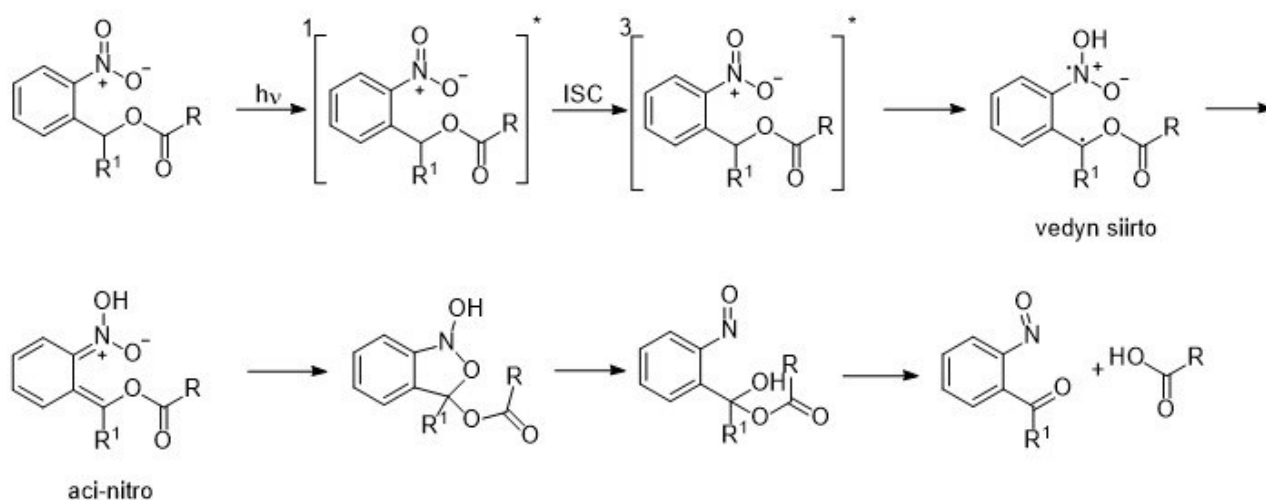
Kuva 1. Valon aiheuttamia reaktioita hydrogeeleissä. ¹

2.1 Pilkkoutuminen (cleavage)

2.1.1 *Orto*-nitrobentsyyli (oNB)

Pilkkoutumisreaktioissa valosäteilytyksen jälkeen fotolabiilit (photolabile) ryhmät eli valolla poistettavat ryhmät poistuvat fotolyytisesti yhdisteestä.³ O-nitrobentsyylijohdannaiset ovat yleisimmin käytetty fotolabiili ryhmä, ja niitä käytetään laajasti myös biologisissa sovelluksissa.^{1,4} Niiden tunnetun fotolysimekasismin ja kemiallisen rakenteen säädettävyyden johdosta ne toimivat valohäkkeinä (photocages) tai fotolabiileina siltamolekyyleinä (photolabile linkers).¹ Tässä reaktiossa suojatun häkkisubstraatin vapauttaminen ei vaadi reagensseja, vain pelkkää valoa.⁵ Häkkisubstraatilla tarkoitetaan yhdistettä, joka on suojattu fotolabiililla ryhmällä. Substraatti vapautetaan ”häkistä” eli suojaryhmästä valon avulla reaktiokohdassa.

oNB-johdannaisten fotolysireaktiossa yhdiste altistetaan valolle (Kuva 2). Absorption jälkeen oNB:n virittynyt singlettitila muuttuu ISC:n (intersystem crossing) seurauksena triplettitilaan.⁴ Reaktion pääasiallinen valokemiallinen prosessi on molekyyllinsäinen vedyn siirto o-alkyyli substituentista nitror ryhmään, minkä seurauksena muodostuu *aci*-nitroautomeeri. *Aci*-nitroväliaine uudelleenjärjestäytyy nitrosoyhdisteeksi, esimerkiksi o-nitrosobentsaldehydiksi tai nitrosoketoniksi, jolloin tapahtuu alkuperäisen häkittömän yhdisteen vapautuminen (Kuva 2).



Kuva 2. Reaktiomekanismi karboksyylihappoa sisältävän yhdisteen oNB häkin pilkkoutumisesta.⁴

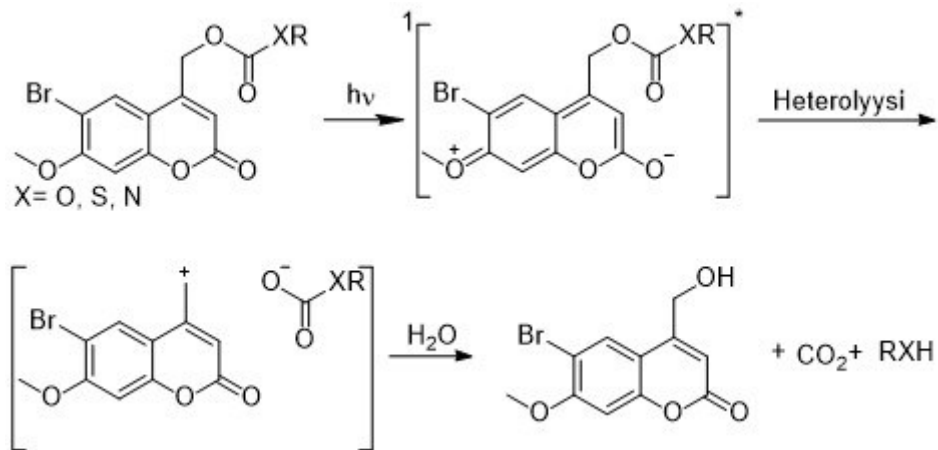
O-nitrobentryylijohtannaisten reaktio on erityisen hyvä, jos reaktiokohtaan pääseminen on vaikeaa tai kemiallisia reagensseja käytetään rajoitetusti. Tätä reaktiota käytetään katkaisemaan polymeeriverkosto ja hallitsemaan supramolekyyllisiä vuorovaikutuksia muuttamalla molekyylien kemiallisia ominaisuuksia sekä säätämään valokemiallisia ominaisuuksia, kuten absorbanssimaksimia.⁶

ONB-yhdisteitä voidaan pilkkoa ultraviolettivalon (UV) avulla, joka vahingoittaa soluja.⁵ Mahdollisten soluvaurioiden ja UV-valon heikon tunkeutumisen takia o-nitrobentsyyliesterin korvaaminen elektroneja luovuttavilla ryhmillä voi nostaa aktivaatioaallonpituutta korkeammalle.³

2.1.2 Kumariini

Suosittuja vaihtoehtoja oNB-yhdisteille ovat kumariinijohdannaiset niiden biologisen yhteensopivuuden, nopeamman pilkkoutumisen ja kahden fotonin aktivaatiokyvyn takia.^{1,3} Kumariinilla on hyvä kyky yhden ja kahden fotonin absorptioon, minkä vuoksi ne ovat sopivia UV/NIR-responsiivisiin lääkkeenvapautussovelluksiin.⁷ Kun kumariini altistetaan NIR-valolle, se pilkkoutuu kahden fotonin absorptioon kautta vapauttaen kuljetettavan lääkeaineen. Lisäksi kumariinilla on suuri pinta-ala π -delokalisoituja elektroneja, joten sen aktivaatioaallonpituus on pidempi kuin o-nitrobentsyyliesterillä.³

Valoaktiivisessa reaktiossa kumariinijohdannainen altistetaan valolle. Absorptioon jälkeen tapahtuu relaksaatio eli viritystila purkautuu alhaisimmalle virittyneelle singlettitalalle (Kuva 3).⁴ Kumarinyylimetyylikationin tiiviin ioniparin ja lähtevän ryhmän konjugaattiemäksen kautta tapahtuu heterolyttinen C-X-sidoksen katkeaminen. Tämän jälkeen kumarinyylimetyylikationi reagoi liuotimen kanssa ja muodostaa stabiilin kumarinyylimetyyliuotteen. Reaktiossa vapautunut ryhmä on epästabiili ja se hajoaa hitaasti dekarboksylaatioreaktiolla, mikä vapauttaa reaktiossa hiilidioksidia.

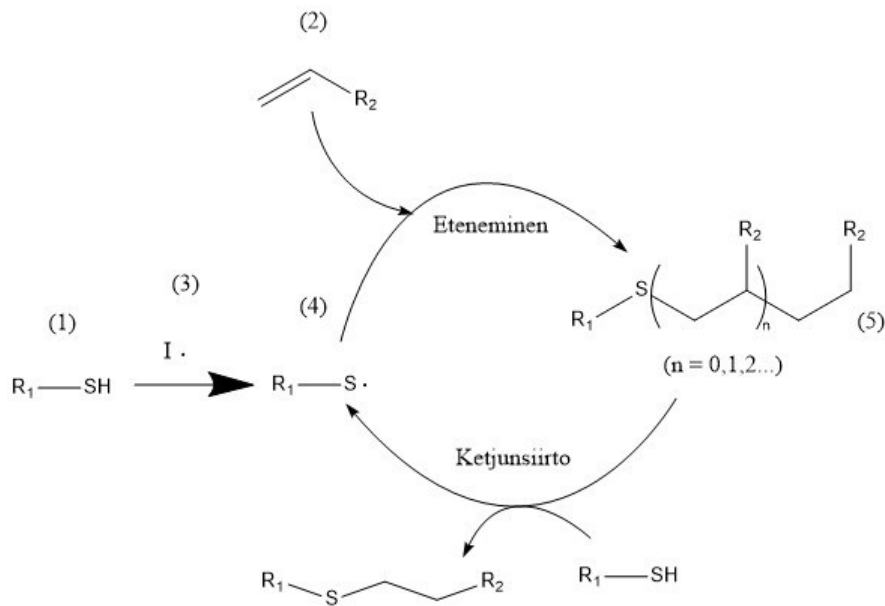


Kuva 3. Kumariini häkkiyhdisteen valoreaktion mekanismi.⁴

2.2 Additioreaktio

2.2.1 Tioli-eeni reaktio

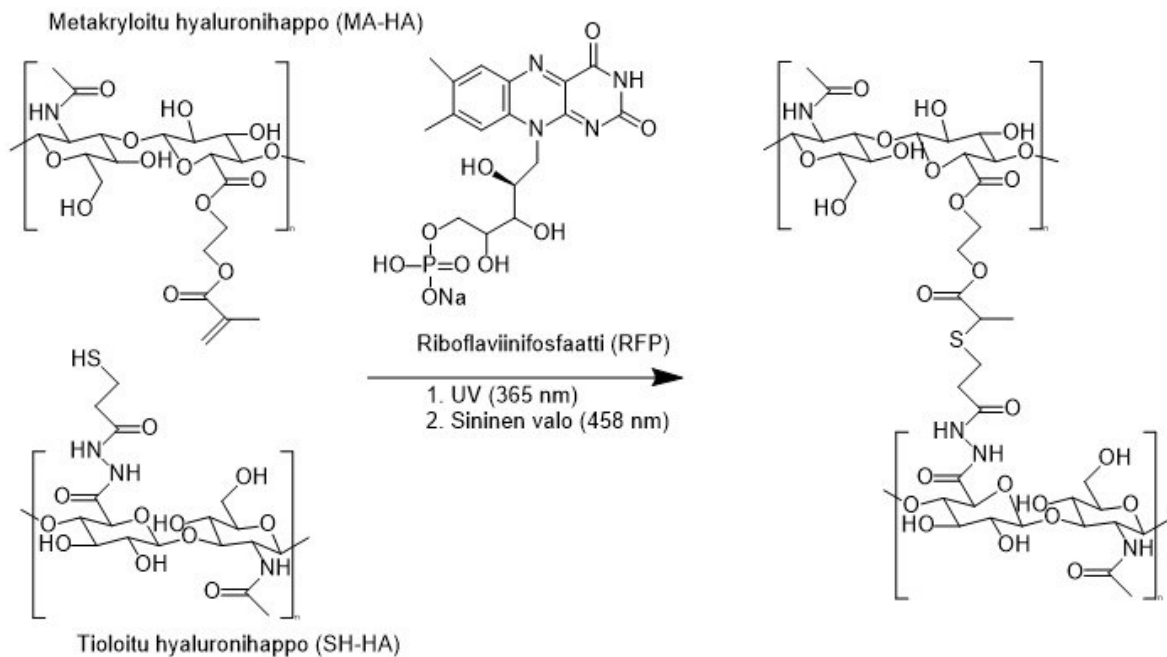
Tioliien on havaittu reagoivan alkeeniin reaktiivisten hiili-hiili-kaksoissidosten kanssa.⁴ Tämän takia tiolit soveltuvat hyvin valoaktivoitavien hydrogeelimateriaalien komponenteiksi. Tiolit reagoivat alkeeniin kanssa radikaalivälitteisesti (radical-mediated) tai emäskatalysoiduilla (base-catalyzed) reaktioilla. Radikaalivälitteinen reaktio vaatii fotoinitiaattorin (FI, engl. PI), joka muodostaa reaktion aloittavan radikaalin. Fotoinitiaattori poistaa tiolista vetyradikaalin ja muodostaa tiylliradikaalin, joka liittyy alkeeniin kaksoissidokseen. Tällöin muodostuu hiiliradikaali, joka vuorostaan poistaa toisesta tiolista vetyradikaalin muodostaen samalla uuden tiylliradikaalin ja aloittaen uuden reaktiosyklin (Kuva 3). Tioli-eenireaktio soveltuu hyvin valoaktivoitaviin geelimateriaaleihin, koska happi ei estä sen ketjupolymerisaatiota (step-growth polymerization) toisin kuin useita muita polymerisaatioreaktioita.⁴ Tämän reaktion haittapuolena on sen huono säilyvyys ja tioli-eeniseosten enneaikainen kovettuminen, johtuen stabiilisuuden puutteesta.^{8,9} Tämä rajoittaa reaktion käyttöä tietyissä sovelluksissa, joissa yhdisteiden on säilyttävä aktiivisina ja reagoimattomana pitkiä aikoja.



Kuva 3. Tioli-eenireaktion ketjupolymerisaatio

Tioli-eenireaktion aiheuttamat hydrogeeliverkostot muodostuvat yleensä kvantitatiivisesti ja nopeasti. Reaktio tuottaa tasalaatuisia polymeeriverkkoja, jotka kutistuvat (shrinkage) vähemmän ja joilla on parempi mekaanisen rasituksen (mechanical stress) sietokyky. Nämä ominaisuudet mahdollistavat hydrogeelin muodostumisen tioli-eenireaktion avulla myös solujen ja biologisten materiaalien läsnä ollessa. Rajoitteena silloittamiselle voi olla se, että tioli-eenireaktiota ei pidetä täysin bioortogonaalisena (bioorthogonal)⁴ eli se voi vuorovaikuttaa jonkin verran biologisen systeemin kanssa ja myös häiritä sitä.¹⁰

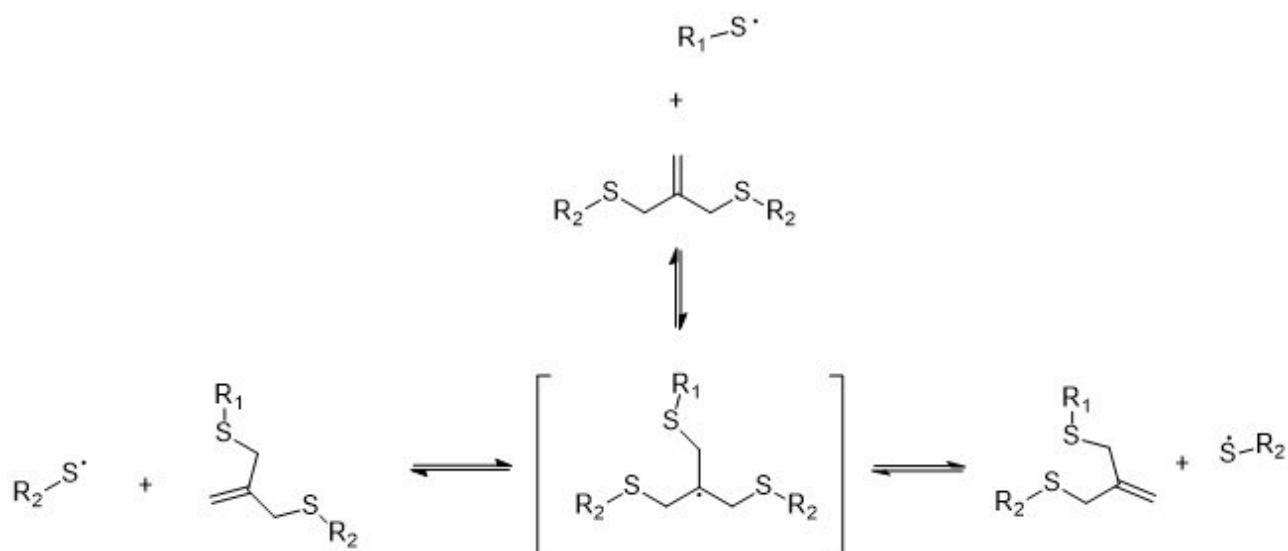
Silloitettuun hyaluronihappo (HA)-geelin muodostumiseen voidaan käyttää valon aiheuttamaa tioli-eenireaktiota.¹¹ Reaktiossa käytetään metakryloitua HA:a (MA-HA) ja tioloitua HA:a (SH-HA). Fotoinitiaattorina käytetään riboflaviinifosfaattia (RFP), joka on vesiliukoinen ja paljon tutkittu valoinitiaattori. Riboflaviini tunnetaan myös nimellä B2-vitamiini. RFP:llä on kaksi absorbanssihuippua 370 nm:n ja 445 nm:n aallonpituuksilla. Tällöin se absorboi valoa UV-alueella ja näkyvän valon (Vis) sinisellä spektrialueella. Reaktiossa käytetään sekä UV-valoa että sinistä valoa akryylisulfididisidosten muodostumiseen (Kuva 4).¹¹



Kuva 4. MA-HA:n ja SH-HA:n tioli-eenireaktio RFP:n kanssa.¹¹

2.3 Vaihtoreaktio

Valoaktivoituvissa vaihtoreaktiossa käytetään yleisimmin disulfidin, tritiokarbonaatin/tiolin ja allyylisulfidin/tiolin vaihtoreaktiota. Kaikki reaktiot toimivat samanlaisella reaktiomekanismilla.³ Reaktiossa käytetään fotoinitiaattoria vapaiden tiylliradikaalien muodostukseen, jotta ne voivat katkaista allyylisulfidisilloituksia reversiibelin additiofragmentointiketjunsiihtoreaktion kautta.¹² Reaktiossa fotoinitiaattorin tuottama tiylliradikaali liittyy allyylisulfidin kaksoissidokseen (Kuva 5).^{12,13} Tämän jälkeen muodostuu symmetrinen ja epästabiili välituote, joka käy läpi β -pilkkoutumisen. Vapautunut radikaali reagoi uuden tiylliryhmän kanssa muodostaen uuden kaksoissidoksen.

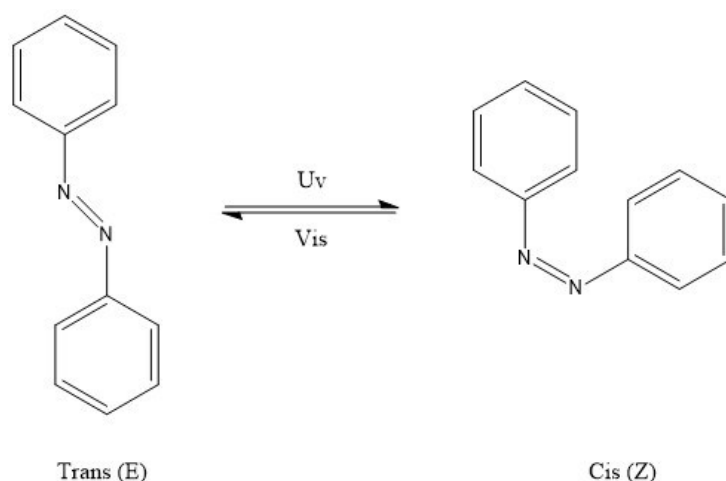


Kuva 5. Allyylisulfidin vaihtoreaktion reaktiomekanismi.¹²

Koska kaksoissidos palautuu reaktiossa, vaihtoreaktio on mahdollista suorittaa useita kertoja.¹³ Teoreettisesti vaihtoreaktio voi tapahtua äärettömän monta kertaa, mutta todellisuudessa sitä rajoittaa välituotteen palautumaton päätyminen.

2.5 Isomerisaatio

Fotoisomeroituminen on palautuva reaktio ilman sivutuotteita.³ Tunnetuin fotoisomeroituva yhdiste on atsobentseeni, joka voidaan isomerisoida E-muodosta Z-muotoon eli *trans*-muodosta *cis*-muotoon UV-valon avulla ja takaisin alkuperäiseen muotoon näkyvän valon avulla (Kuva 6).⁶ *Cis*-konfiguraatiossa olevalla atsobentseeniosalla on korkeampi polariteetti kuin *trans*-konfiguraatiolla, jolloin tätä käytetään hyväksi hydrofobisten vuorovaikutusten ohjaamisessa. Atsobentseenin konformaation ja polarisuuden muutos voi aiheuttaa steerisen esteen (steric hindrance) kompleksin muodostumiselle tai molekyylien järjestäytymiselle pinomaisiin muodostelmiin (stacking). Tästä syystä atsobentseeni-yhdisteitä käytetään muuttamaan hydrogeelien ominaisuuksia. Fenyylirenkaiden *orto*-asemiin lisätyt fluoriatomit mahdollistavat Vis-valon käytön UV-valon sijasta fotoisomerisaation käynnistämiseen, mikä puolestaan mahdollistaa tämän prosessin käytön biologisissa sovelluksissa.³



Kuva 6. Atsobentseenin *trans-cis* muutos valon vaikutuksesta.

Myös stilbeeni- ja spiropyraani-yhdisteitä käytetään fotoisomeroituissa reaktioissa.⁶ Stilbeenillä on samankaltainen kemiallinen rakenne ja se käy läpi samanlaisen *cis-trans*-isomeroitumisen kuin atsobentseeni.^{3,6} Spiropyraani taas käy läpi syklisaatio-sykloversioisomeroitumisen.³ Spiropyraani on UV-valossa avoimessa rengasrakenteessa stabiilissa tilassa, kun taas Vis-valossa se on suljetussa rengasrakenteessa. Fotoisomeereillä on erilainen absorptiospektri ja varaustila, joten spiropyraania käytetään fotokromisten hydrogeelien ja suuren hydrofiilisyysmuutoksen omaavien hydrogeelien valmistuksessa.

Tan *et al.*¹⁴ kehittivät fotoresponsiivisen DNA-polymeerihybridihydrogeelin, joka koostui atsobentseeniin liitetystä DNA-juosteesta ja komplementaarista linkkereistä.¹⁴ Näkyvän alueen valossa *trans*-isomeeri johti DNA-dupleksin muodostumiseen ja UV-valossa *cis*-isomeeri johti DNA-sidoksen katkeamiseen. Tällöin UV-Vis valon vaihtelu hajottaa tai muodostaa DNA-geelin.

3 Valoaktiivisten hydrogeelien sovellukset

Hydrogeelien luontaisten fysikaalis-kemiallisten ja biologisten ominaisuuksien sekä monipuolisten valmistusmenetelmien ansiosta luonnonainepohjaiset hydrogeelit ovat nousseet suosioon lääketieteellisissä sovelluksissa, kuten lääkeaineiden kuljetuksessa, haavojen parantamisessa ja kudostekniikassa.⁸ Lääketieteessä käytetään haavainfektion estämiseen laajasti antibiootteja, mutta niiden liiallinen tai väärinkäyttö on aiheuttanut useita antibioottiresistenssejä bakteerikantoja, mikä on taas aiheuttanut kroonisten haavojen ja infektioiden syntymistä.¹⁵ Tämän takia valoaktivoituvia hydrogeelejä on tutkittu myös haavojen parantamisessa. Haavoihin injektoidaan nestemäinen materiaali, jonka geeliytyminen tapahtuu valon avulla injektoinnin jälkeen. Injektoitavat hydrogeelit tarttuvilla ominaisuuksilla pystyvät sitomaan ja kiinnittämään vialliset kudokset yhteen, mikä auttaa haavan parantumisessa.¹⁵ Nämä sidokset pystyvät toimimaan myös hemostaattisina aineina estämällä nesteiden ja kaasujen vuotamisen haavakohdasta ja toimivat tiivisteaineena suojaamalla haavaa bakteeri-infektiolta.

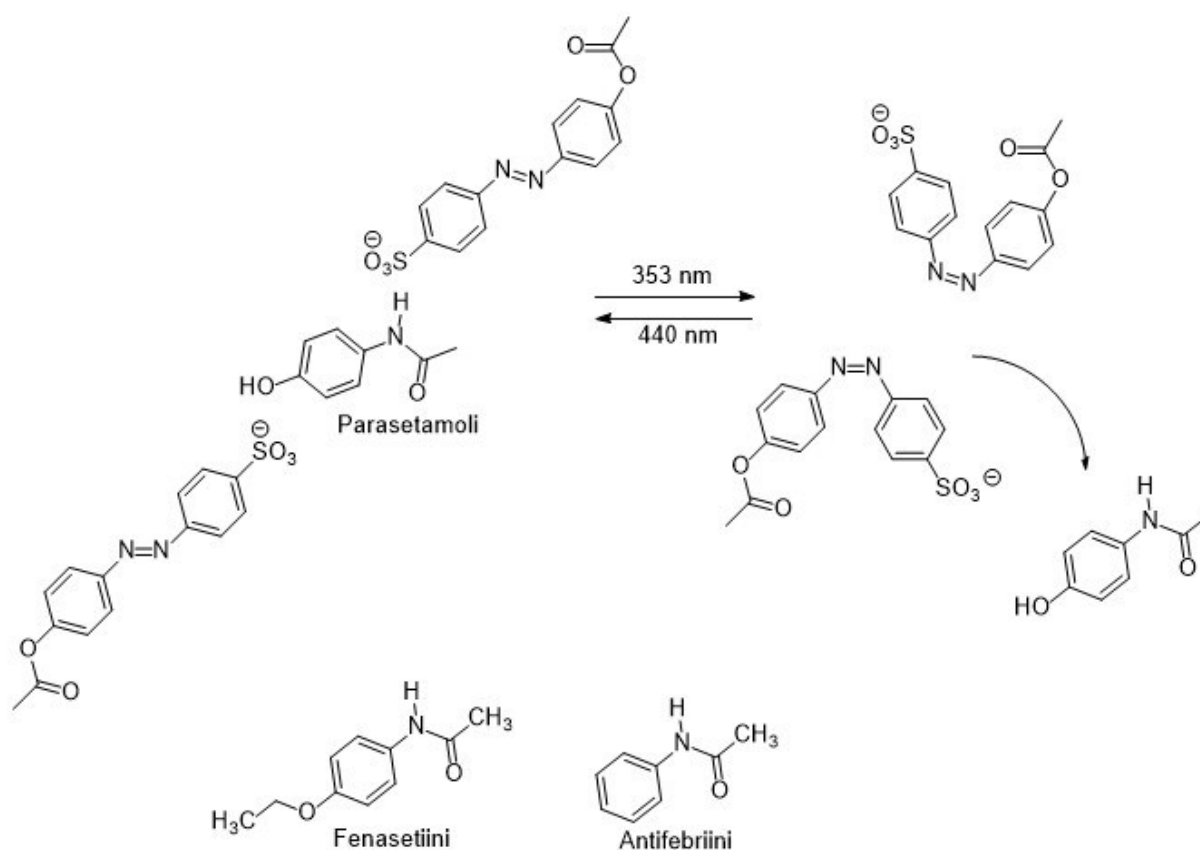
Haavojen parantamisessa käytetään eniten valosilloitettuja selluloosapohjaisia hydrogeelejä, joihin voidaan yhdistää hopeananopartikkeleita niiden antibakteeristen ominaisuuksien vuoksi. Niitä voidaan käyttää mikrobi-infektion estämisessä ja epiteelisoluissa, jotka kiihdyttävät haavojen parantumista. HA-pohjaisia hydrogeelejä puolestaan käytetään valmistamaan rakenteita kudostekniikan sovelluksiin.

3.1 Lääkkeiden vapautuminen

Valoaktiivisia hydrogeelejä tutkitaan paljon, koska niiden avulla voidaan kehittää lääkkeiden annostelujärjestelmää ja kudostekniikkaa.⁶ Valoaktiiviset hydrogeelit soveltuvat lääkkeiden vapautukseen, koska niistä on mahdollista vapauttaa yhdisteitä kontrolloidusti. Hydrogeelien komiulotteiseen verkkorakenteeseen voidaan kapseloida kuljetettavia lääkeaineita ja valon aiheuttaman geeli-sooli-reaktion avulla kapseloitu lääke voidaan vapauttaa.¹

Lam *et al.*⁶ ovat kehittäneet valoaktiivisen hydrogeelimatriisin, jossa hydrogeeliä valmistettaessa parasetamolin läsnä ollessa matriisiin muodostui atsobentseenipohjaisia

tunnistuskohtia parasetamolin kohdemolekyyleille. Parasetamolin vapautumista ja sisäänottoa säädeltiin valon avulla, koska astobentseenipohjaisten molekyylien valoisomeroituminen indusoi molekyylien tunnistuskohtien rakenteellisia muutoksia. UV-valon aallonpituudella säteilytettäessä *trans*-astobentseeni muuttuu *cis*-tilaan ja parasetamoli vapautui (Kuva 7). Molekyylien tunnistuskohdat suunniteltiin parasetamolille, joten vertailukokeissa fenasetiinin ja antifebriinin kanssa käyttöönotto ja vapautus tapahtui vähemmän tehokkaasti.



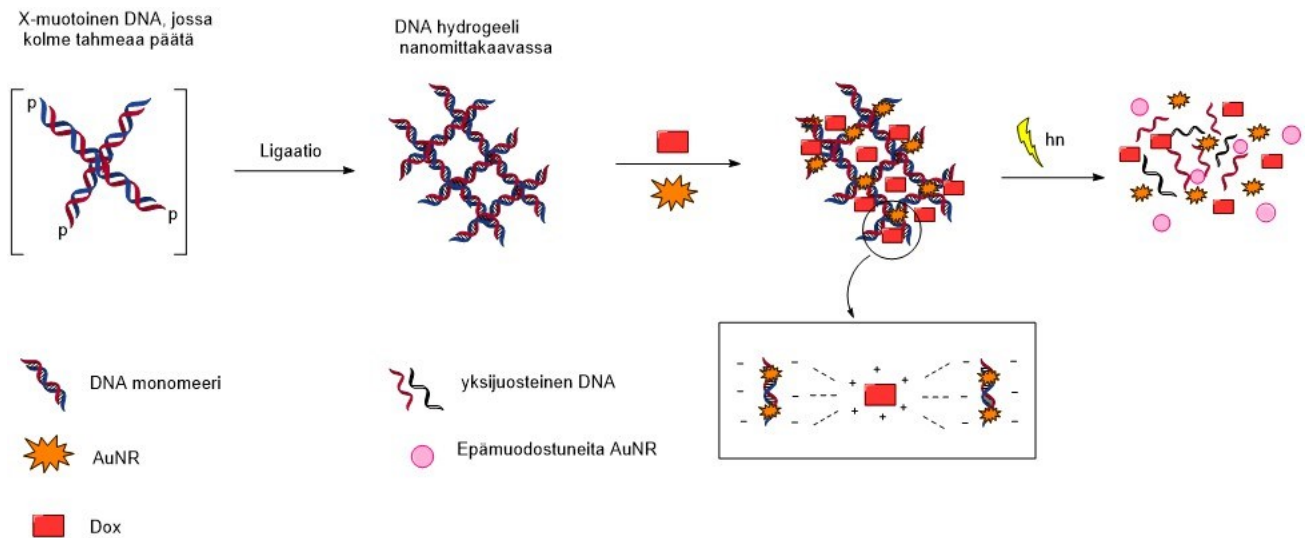
Kuva 7. Valoaktivoituvan atsobentseenipohjaisen hydrogeelin kaavio palautuvasta, valosäädellystä substraatin (parasetamoli) vapautumisesta ja palautumisesta.

7-aminokumariinijohdannaiseen perustuvan hydrogeelin toimivuutta kontrolloidussa lääkkeen vapautumisessa on myös tutkittu¹⁶. Mallilääkkeenä käytettiin sytarabiinihydrokloridia, jota käytetään muun muassa lymfosyyttisen leukemian kemoterapiahoidoissa. Sytarabiinihydrokloridi ei ole herkkä valolle, jolloin voidaan välttää valon vaikutus

lääkkeeseen, kun tutkitaan valon aiheuttamaa lääkkeenvapautumista hydrogeelistä. Mallilääkkeellä täytettyä hydrogeeliä säteilytettiin 365 nm laserilla 40 minuuttia, jolloin sytarabiinin pitoisuus kasvoi 39,41 µg/ml:sta 104,27 µg/ml:aan. Tutkimuksessa havaittiin, ettei sytarabiinin pitoisuus lisääntynyt juurikaan ilman lasersäteilytystä eli laser nopeutti hydrogeelin valopilkkoutumista, koska valon aiheuttaman C-N sidoksen katkeaminen tuhoaa hydrogeeliä ja vapauttaa sytarabiiniä nopeammin.

DNA-hydrogeelit ovat hyviä kantajia erilaisille lääkkeenantojärjestelmille, koska niillä on hyvä bioyhteesopivuus, ne reagoivat helposti ärsykkeisiin ja niillä on tehokas aktiivinen kohdistuskyky.¹⁴ Niiden verkkorakenteeseen voi kohtuullisella kuormituksella sisällyttää erilaisia epäorgaanisia nanopartikkeleita, pienimolekyylisiä lääkeaineita sekä toiminnallisia biomakromolekyylejä. Ne mahdollistavat myös erilaisia fysikaalis-kemiallisia ominaisuuksia sisältävien aineiden ohjelmointia, jotta esimerkiksi kemoterapiaa varten voidaan saada korkean suorituskyvyn omaavia annostelujärjestelmiä. DNA-hydrogeelit voivat laukaista DNA-silloittajien ohjelmoivan rakenteen ja toiminnallisen tiedon perusteella useita biomolekyylejä, kuten nukleiinihappoja tai entsyymejä. Monelta muulta luonnolliselta hydrogeeliltä, kuten gelatiinilta puuttuu tämä rakenteellinen ohjelmitavuus molekyylien laukaisemisessa.

DNA-geelejä voidaan käyttää kuljetusvälineenä DNA:ta sitoville syöpälääkkeille, joilla on vahva sitoutumisaffiniteetti (binding affinity).¹⁷ Lähi-infrapuna (NIR) responsiivisiä kultananosauvoja (AuNR) ja DNA:ta sitovaa syöpälääkettä sisältävästä DNA-geelistä tehty alusta mahdollistaa valoaktivoinnilla tapahtuvan lääkkeen vapautumisen. Kultananosauvoja käytetään fototermisiin reaktioihin, koska ne kuumentuvat voimakkaasti NIR-valon säteilytyksessä ja ne voivat myös kantaa pieniä molekyylejä, mikä tekee niistä solveltuvia lääkeaineiden kuljetukseen. AuNR-DNA-geeli muodostetaan sekoittamalla DNA-geelejä AuNR:n kanssa deionisoidussa vedessä, jossa pakastekuivattu DNA-geeli turvotetaan AuNR:n vesiliuoksessa. DNA-geelissä on suuritiheyksisiä DNA-juosteita, joita käytetään lataamaan DNA:ta sitova lääke. Tutkimuksessa doksorubisiinia (Dox) inkuboitiin deionisoidussa vedessä yhdessä AuNR-DNA-geelin kanssa, jolloin muodostui Dox-AuNR-DNA-geeli.¹⁷ Geeliä säteilytettiin 660 nm laserilla, joka vastaa AuNR:n plasmonihuippua (plasmon peak). Tällöin AuNR:ien säteilytys tuottaa riittävästi energiaa sulattamaan DNA-geelin ja doksorubisiini pääsee vapautumaan (Kuva 8).



Kuva 8. Kaaviokuva, jossa DNA-geeliin sisällytetään AuNR:t ja ladataan Dox-lääke. Ulkoinen valo aiheuttaa DNA:n sulamisen kautta lääkkeen vapautumisen.¹⁷ Kuvaa muokattu uudelleen käyttöön <https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>.

NIR-valo on parempi lääkkeiden kuljetukseen liittyvissä sovelluksissa kuin muut aallonpituudet, koska se tunkeutuu syvemmälle kudokseen ja on turvallisempi soluille.¹⁸ Hydrogeelien herkkyyttä NIR-valolle voidaan lisätä käyttämällä lisäaineina esimerkiksi metallipohjaisia nanopartikkeleita. UV-valon aiheuttamia soluvaurioita voidaan vähentää tai estää valitsemalla valolle oikea aallonpituus, intensiteetti ja säteilytysaika.⁸

Valoaktiivisia hydrogeelejä voidaan käyttää hallitun lääkkeiden vapauttamisen lisäksi erilaisten elävien solujen, kuten kantasolujen kapseloimiseen ja tarvittaessa niiden vapauttamiseen vaarantamatta solujen elinkykyä.¹⁹ Tällaisissa reaktioissa käytetään hyödyksi o-nitrobentsyylijohdannaisten linkkereiden reaktiivisuuseroja. Tämän mekanismin rajoitteena ovat kasvutekijöiden mahdollinen hajoaminen kuljetuksen yhteydessä tai niiden vaikutukset muihin kuin tarkoitettuihin soluihin. Vaihtoehto tämän ongelman ratkaisemiseksi olisi solujen toimittaminen suoraan vauriokohtaan, mutta suonensisäisesti toimitetuilla soluilla on alhainen siirtonopeus (low engraftment rates), joka on tämän mekanismin rajoite.

Yhteenveto

Hydrogeelit ovat nousseet suosioon lääketieteellisissä sovelluksissa niiden fysikaalis-kemiallisten ja biologisten ominaisuuksien vuoksi. Tutkimukset ovat osoittaneet, että hydrogeelien ominaisuuksia ja rakenteita voidaan muokata ulkoisten ärsykkeiden, kuten valon avulla. Valoaktiivisten hydrogeelien etu on se, että niitä voidaan käsitellä ilman reagensseja, mikä vähentää sivutuotteiden ja mahdollisesti haitallisten yhdisteiden määrää.

Valoaktiivisia hydrogeelejä tutkitaan paljon, koska niiden avulla voidaan kehittää tulevaisuudessa lääkkeiden annostelujärjestelmää ja kudostekniikkaa. Valoaktiivisista hydrogeeleistä on mahdollista vapauttaa yhdisteitä kontrolloidusti, jonka vuoksi ne soveltuvat lääkkeiden vapautukseen. Hydrogeelien verkkorakenteeseen voidaan kapseloida kuljetettavia yhdisteitä ja ne voidaan vapauttaa hydrogeelistä valon aiheuttaman reaktion avulla.

Monet valoaktiiviset reaktiot tapahtuvat UV-valon aallonpituudella, joka aiheuttaa soluvaurioita. Yksi suuri haaste onkin kehittää valoaktioituvia reaktioita, jotka aktivoituisivat pidemmällä aallonpituudella. Parempi vaihtoehto lääkkeidenkuljetukseen on NIR-valo, koska se tunkeutuu syvemmälle kudokseen ja on turvallisempi soluille. Hydrogeelien herkkyyttä NIR-valolle on lisätty käyttämällä lisäaineina esimerkiksi metallipohjaisia nanopartikkeleita, kuten kultananosauvoja. Metallipohjaiset nanopartikkelit soveltuvat lääkeaineiden kuljetukseen fototermisissä reaktioissa, koska ne voivat kuljettaa pieniä molekyylejä ja kuumentuvat NIR-valon säteilytyksessä aiheuttaen hydrogeelien tuhoutumisen.

Valoaktivoituvia hydrogeelejä tutkitaan koko ajan todellista käyttöä varten. On odotettavissa, että valoaktiivisia hydrogeelejä hyödynnetään ominaisuuksien vuoksi enemmän tulevaisuudessa kudostekniikan ja lääketieteen sovelluksissa.

Lähdeluettelo

1. Li, L.; Scheiger, J. M. ja Levkin, P. A., Design and Applications of Photoresponsive Hydrogels, *Adv. Mater.*, **2019**, *31*, 1807333.
2. Annabi, N.; Tamayol, A.; Uquillas, J. A.; Akbari, M.; Bertassoni, L. E.; Cha, C.; Camci-Unal, G.; Dokmeci, M. R.; Peppas, N. A. ja Khademhosseini, A., 25th Anniversary Article: Rational Design and Applications of Hydrogels in Regenerative Medicine, *Adv. Mater.*, **2014**, *26*, 85–124.
3. Peng, K.; Zheng, L.; Zhou, T.; Zhang, C. ja Li, H., Light manipulation for fabrication of hydrogels and their biological applications, *Acta Biomater.*, **2022**, *137*, 20–43.
4. Lee, M.; Rizzo, R.; Surman, F. ja Zenobi-Wong, M., Guiding Lights: Tissue Bioprinting Using Photoactivated Materials, *Chem. Rev.*, **2020**, *120*, 10950–11027.
5. Aujard, I.; Benbrahim, C.; Gouget, M.; Ruel, O.; Baudin, J.-B.; Neveu, P. ja Jullien, L., o-Nitrobenzyl Photolabile Protecting Groups with Red-Shifted Absorption: Syntheses and Uncaging Cross-Sections for One- and Two-Photon Excitation, *Chem. – Eur. J.*, **2006**, *12*, 6865–6879.
6. Tomatsu, I.; Peng, K. ja Kros, A., Photoresponsive hydrogels for biomedical applications, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2011**, *63*, 1257–1266.
7. Gulfam, M.; Jo, S.-H.; Vu, T. T.; Ali, I.; Rizwan, A.; Joo, S.-B.; Park, S.-H. ja Lim, K. T., NIR-degradable and biocompatible hydrogels derived from hyaluronic acid and coumarin for drug delivery and bio-imaging, *Carbohydr. Polym.*, **2022**, 120457.
8. Samadian, H.; Maleki, H.; Allahyari, Z. ja Jaymand, M., Natural polymers-based light-induced hydrogels: Promising biomaterials for biomedical applications, *Coord. Chem. Rev.*, **2020**, *420*, 213432.
9. Araújo, M.; De Belie, N. ja Van Vlierberghe, S., Towards encapsulation of thiol-ene mixtures: Synthesis of thioacetate cross-linker for in-situ deprotection, *Mater. Lett.*, **2019**, *249*, 165–168.
10. Sletten, E. M. ja Bertozzi, C. R., From Mechanism to Mouse: A Tale of Two Bioorthogonal Reactions, *Acc. Chem. Res.*, **2011**, *44*, 666–676.
11. Lee, H. J.; Fernandes-Cunha, G. M. ja Myung, D., In situ-forming hyaluronic acid hydrogel through visible light-induced thiol-ene reaction, *React. Funct. Polym.*, **2018**, *131*, 29–35.
12. Yavitt, F. M.; Brown, T. E.; Hushka, E. A.; Brown, M. E.; Gjorevski, N.; Dempsey, P. J.; Lutolf, M. P. ja Anseth, K. S., The Effect of Thiol Structure on Allyl Sulfide

Photodegradable Hydrogels and their Application as a Degradable Scaffold for Organoid Passaging, *Adv. Mater.*, **2020**, *32*, 1905366.

13. Gandavarapu, N. R.; Azagarsamy, M. A. ja Anseth, K. S., Photo-Click Living Strategy for Controlled, Reversible Exchange of Biochemical Ligands, *Adv. Mater.*, **2014**, *26*, 2521–2526.
14. Mo, F.; Jiang, K.; Zhao, D.; Wang, Y.; Song, J. ja Tan, W., DNA hydrogel-based gene editing and drug delivery systems, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2021**, *168*, 79–98.
15. Maleki, A.; He, J.; Bochari, S.; Nosrati, V.; Shahbazi, M.-A. ja Guo, B., Multifunctional Photoactive Hydrogels for Wound Healing Acceleration, *ACS Nano*, **2021**, *15*, 18895–18930.
16. Liu, Q.; Wang, H.; Li, G.; Liu, M.; Ding, J.; Huang, X.; Gao, W. ja Huayue, W., A photocleavable low molecular weight hydrogel for light-triggered drug delivery, *Chin. Chem. Lett.*, **2019**, *30*, 485–488.
17. Song, J.; Im, K.; Hwang, S.; Hur, J.; Nam, J.; Ahn, G.-O.; Hwang, S.; Kim, S. ja Park, N., DNA hydrogel delivery vehicle for light-triggered and synergistic cancer therapy, *Nanoscale*, **2015**, *7*, 9433–9437.
18. Dreiss, C. A., Hydrogel design strategies for drug delivery, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, **2020**, *48*, 1–17.
19. Griffin, D. R. ja Kasko, A. M., Photodegradable Macromers and Hydrogels for Live Cell Encapsulation and Release, *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, *134*, 13103–13107.