

SZUPRAMOLEKULÁRIS RENDSZEREK PURINOKBÓL

Paragi Gábor,^{1,5} Bodnár Brigitta,² Szolomájer János,² Batta Gyula,³ Bényei Attila,⁴ Kele Zoltán,² Kupibár Zoltán,² Célia Fonseca Guerra,⁵ F. Matthias Bickelhaupt,⁵ Artur Ciesielski,⁶ Sebastien Haar,⁶ Paolo Samori,⁶ Stefano Masiero,⁷ Gian Piero Spada,⁷ † Kovács Lajos²

Az önszerveződés során molekulák és/vagy ionok egy meghatározott elrendeződést vesznek fel további külső behatás nélkül. Ezekben a rendszerekben a részecskéket másodlagos kölcsönhatások (hidrogénhíd, ion-molekula-kölcsönhatások, π - π tapadás stb.) tartják össze. Az önszerveződés számos következménye a nukleinsavak szerkezetében is megfigyelhető. A DNS klasszikus kettős hélice és más ismert magasabb rendű nukleinsav-szerkezetek mind a szupramolekuláris rendszerek kialakulását mutatják önszerveződés révén.

A nukleinsav-származékok szupramolekuláris önszerveződésének egyik régóta ismert és egyre intenzívebben kutatott területe a kvadruplekxek képződése [1]. Ivar Bang már 1910-ben leírta, hogy a guanilsav millimoláris koncentrációban gél képez, de a jelenség oka mintegy öt évtizedig rejtély maradt, míg 1962-ben Gellert és munkatársai röntgendiffrakciós szerkezetvizsgálatból megállapították, hogy az oligonukleotid láncokban a guanin bázisok hidrogénkötések révén kvartetteket képeznek és az egymás fölött elhelyezkedő rétegek között fémionok (leggyakrabban kálium) található, amely a kialakuló kvadruplekxeket stabilizálja (1. ábra). Ez a jelenség csupán érdekesség maradt volna, ha ki nem derül, hogy a guaninban gazdag DNS és RNS oligonukleotidok (kromoszómák telomerjei, génpromóter régiók, rekombináns RNS szakaszok) hajlamosak G-kvadruplekxet

¹ MTA-SzTE Szupramolekuláris és Nanoszerkezetű Anyagok Kutatócsoport, Szeged

² Szegedi Tudományegyetem Orvosi Vegytani Intézet, Szeged

³ Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszék, Debrecen

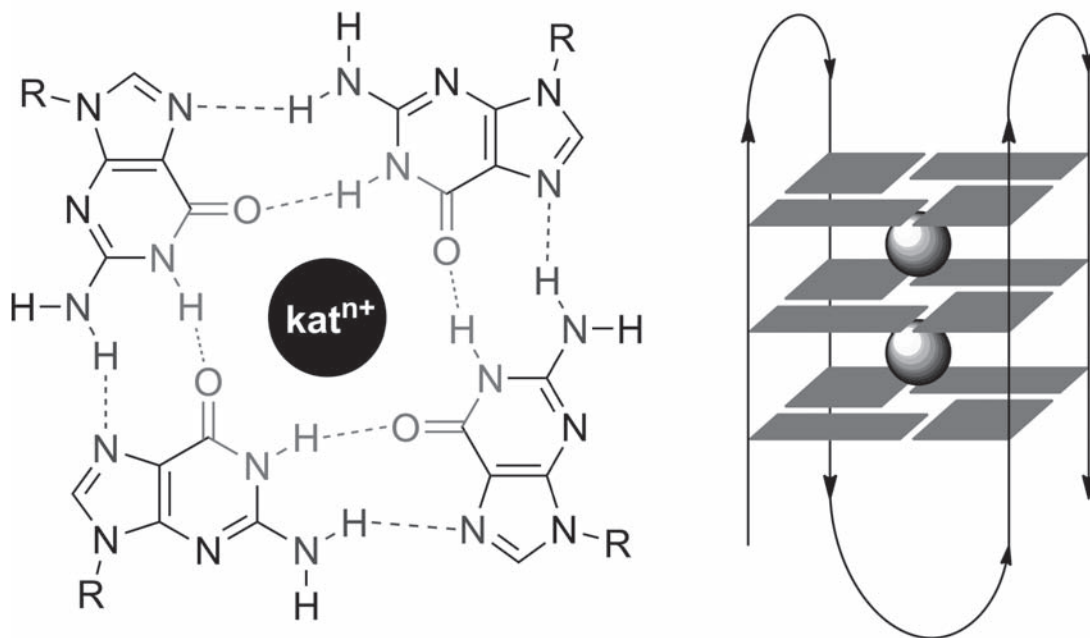
⁴ Debreceni Egyetem Fizikai Kémiai Tanszék, Debrecen

⁵ Department of Theoretical Chemistry, Free University of Amsterdam, The Netherlands

⁶ Nanochemistry Laboratory, Université de Strasbourg, France

⁷ Dipartimento di Chimica Organica „A. Mangini”, Università di Bologna, Italy

képezni. A nukleobázisok közül egyedül a guanin rendelkezik számottevő mértékben kvartett- és kvadrupleképző képességgel, a képződő szerkezetek igen változatos topológiát mutatnak. A kvadruplekxek a biológiai relevancián túl sajátos elektromos, mágneses és optikai tulajdonságokkal rendelkező új anyagok, amelyek az anyagtudomány érdeklődését is felkeltették.



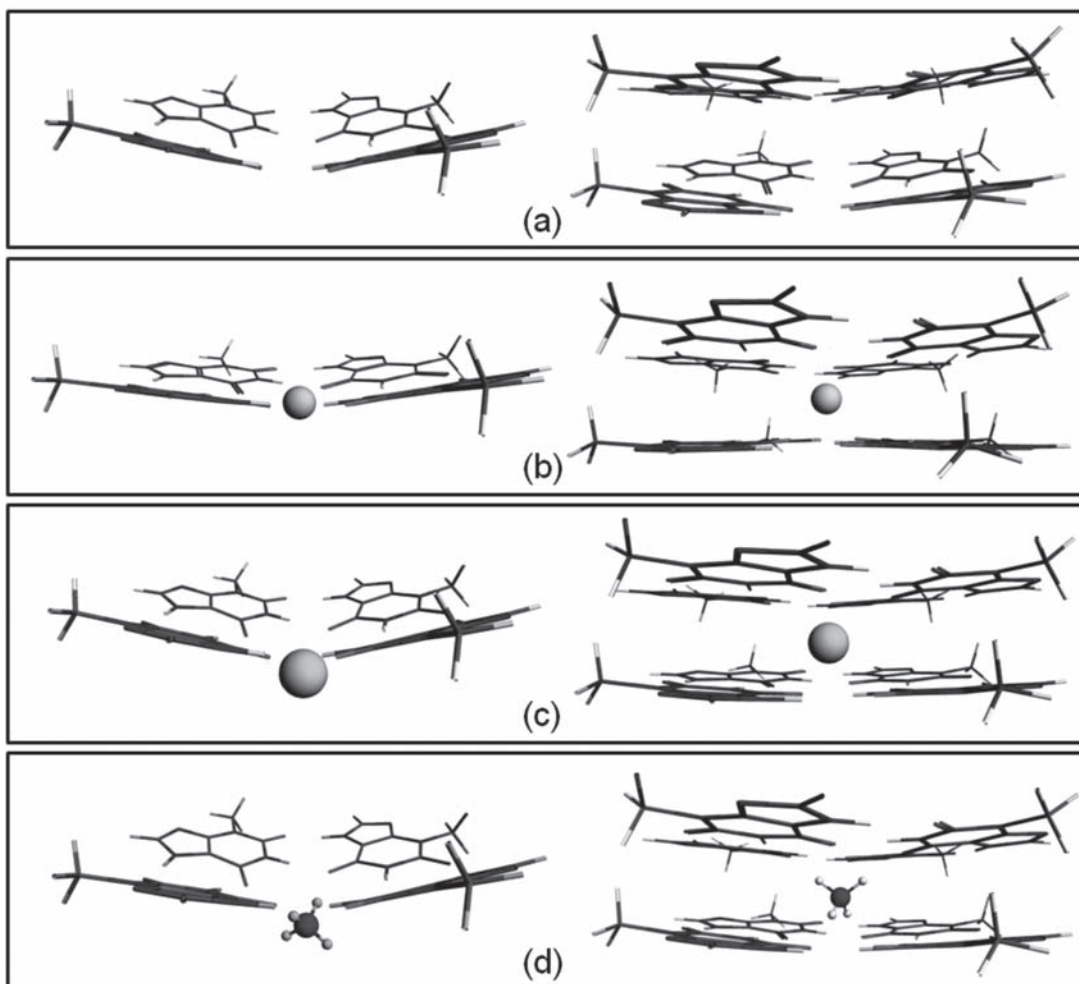
1. ábra. A guanin kvartett/tetrád és egy intramolekuláris G-kvadruplekx szerkezete (kat^{n+} = kation).

Vizsgálataink egyik részében a guanin hidrogénkötési mintázatát változtattuk meg a tetrádok/kvartettek külső szférájában. A sűrűségfunkcionál-elmélet (DFT) felhasználásával 9-metilhúgysav (Ua) ill. protonált 9-metilxantin (Xa) esetében különböző tetrádok képződését számoltuk az ADF programcsomag segítségével. Utóbbi vegyület esetében az alacsony potenciálgátú hidrogénkötés jelenlétével kell számolnunk (low-barrier hydrogen bonding, LBHB). Az LBHB-kötések protonált izoenergetikus tautomereket jelentenek, amelyek szokatlanul erős kölcsönhatási energiával (> 10 kcal/mol) rendelkeznek [2]. A fenti vegyületekből LBHB-kötés segítségével homo- és heterotetrádok $[(XaH^+)_4, (XaH^+-Xa)_2, (XaH^+-Ua)_2]$ képződhetnek. A semleges részecskéket $[(Xa)_4, (Xa-Ua)_2, (Ua)_4]$ szintén vizsgáltunk és összehasonlítottuk a 9-metilguanin tetráddal, $(9MG)_4$. A dimer szerkezetek biztató stabilitással rendelkeztek, de a tetrádok minden esetben kevésbé stabilak voltak, mint a $(9MG)_4$

tetrád. Ez utóbbi tény a kooperatív hidrogénkötés [3] hiányával értelmezhető. A hiányzó kooperatív hatást részben kompenzálja az alacsony potenciálgátú hidrogénkötés a pozitív töltések miatt. Az új tetrádok kationat és anionokat is meg tudnak kötni tapadó kölcsönhatások nélkül [4].

További vizsgálatainkban a 3-szubsztituált xantinok kvadruplexképző képességének vizsgálatát tűztük ki célul. Ezen vegyületekben a domináns 7H-tautomer forma protonálás nélkül is lehetővé teszi a két hidrogénkötés kialakulását, a hidrogénhíd-mintázat váltakozó donor-akceptor jelleget mutat. Feltételeztük erős kölcsönhatások és teljesen sík szerkezet kialakulását és az elméleti számítógépes vizsgálatokhoz a legegyszerűbb purin modellt, a xantinalkaloidok (koffein, teofillin,

2. ábra. A 3-metilsxantin (3MX) tetrádok (bal oldali oszlop) és oktádok (jobb oldali oszlop) számított szerkezete kation nélkül (a), nátrium- (b), kálium- (c) és amóniumionnal (d).



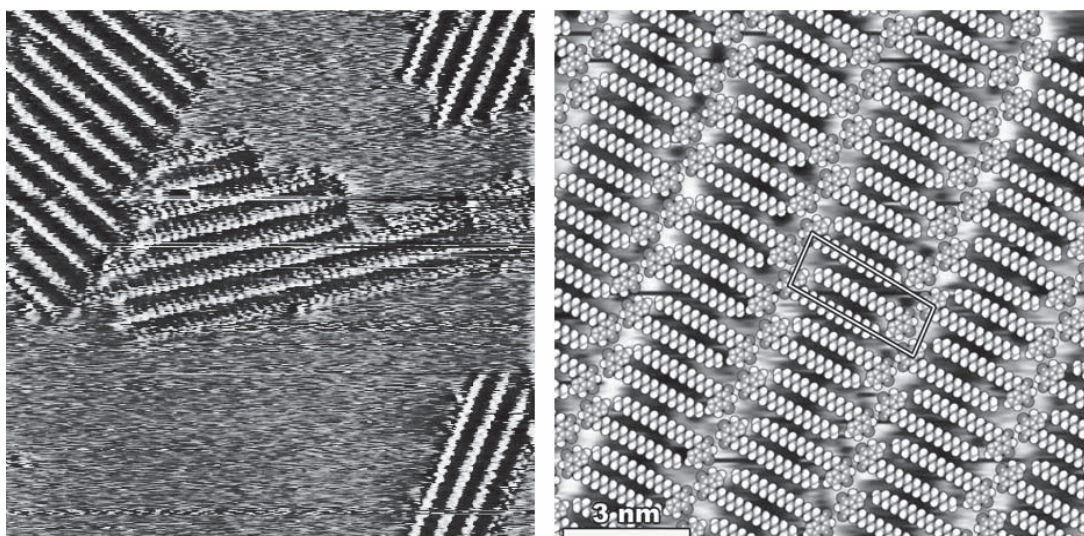
teobromin) metabolizmusából ismert 3-metilxantint (3MX) választottuk. DFT-számításaink során azt találtuk, hogy a különböző kationok hasonló stabilizáló hatást gyakoroltak a kialakult szerkezetekre, mint a guanin tetrádok esetében. A kationkötési kölcsönhatások a kétrétegű oktamer szerkezetek és a tetrád szerkezetek esetében azonosak voltak, a $\text{Na}^+ > \text{NH}_4^+ \approx \text{K}^+$ sorrendben változtak. Számításaink szerint a $(3\text{MX})_4$ tetrád valamivel kevésbé stabil, mint a $(9\text{MG})_4$ tetrád (2. ábra).

A 3-metilxantint guanozinból készített 7-benzilxantinből szintetizáltuk alkilezéssel, majd debenzilezéssel. A 3-metilxantin nano-ESI-Q-TOF tömegspektrumában $(3\text{MX})_4 \cdot \text{kat}^+$ és $(3\text{MX})_8 \cdot \text{kat}^+$ ($\text{kat}^+ = \text{NH}_4^+, \text{Na}^+, \text{K}^+$) összetételű adduktumok képződését figyeltük meg gázfázisban. DMSO-d₆-oldatban DOSY NMR-mérések alapján a 3MX aggregátum látszólagos molekulatömege 300 K-en 920 Da volt, 1,04 ekv. kálium-pikrát hozzáadására ez 1300 Da-ra nőtt, 315 K-en 710 Da-ra csökkent. Az NH protonok kémiai eltolódásainak hőmérsékletfüggése a hidrogénkötések szokásos tartományában volt. Jelentős mágnesezési transzfer volt megfigyelhető az N7H proton és a víz között a gyors csere miatt, míg az NIH proton esetében ez elhanyagolható volt (szelektív tranziens ID NOESY). Ezek alapján feltételezzük, hogy a 3MX laza asszociátumokat képez, a klaszterekben a „belső” hidrogénhidak (NIH...O6) erősebbek, mint a „külső” hidrogénhidak (N7H...O2) [5]. A 3MX szintéziséhez hasonlóan elkezdjük 3-szubsztituált xantint tartalmazó peptidnukleinsav és foszforamidit monomerek szintézisét, amelyekből a megfelelő oligomerek előállítása folyamatban van.

Megvizsgáltuk 7-metilguaninból (7MG) készíthető gyűrűs klaszterek képződését is anionokkal és nélkülük. DFT-számításaink alapján a különböző méretű gyűrűs klaszterek közül a hattagúak a legstabilabbak, a Cl⁻, Br⁻ és NO₃⁻ anionok koordináló szerepe figyelemre méltó a vizsgált rendszerek planaritásában. A planáris és nem planáris rendszerek közötti energiakülönbség a méret növekedésével csökken. Az egy hidrogénkötésre jutó kölcsönhatási energia a méret növekedésével nő, ami a kooperatív hatás jelenlétére utal. A kooperativitás elsősorban töltésselkülönülsésből, a s-elektronrendszer donor-akceptor pályakölcsönhatásából és nem a π -elektronrendszer rezonanciájából származik [3]. Ugyanakkor szalagok képződését sem zárhatjuk ki. A 7-metilguanin tömegspektruma negatív módban szalagok jelenlétét

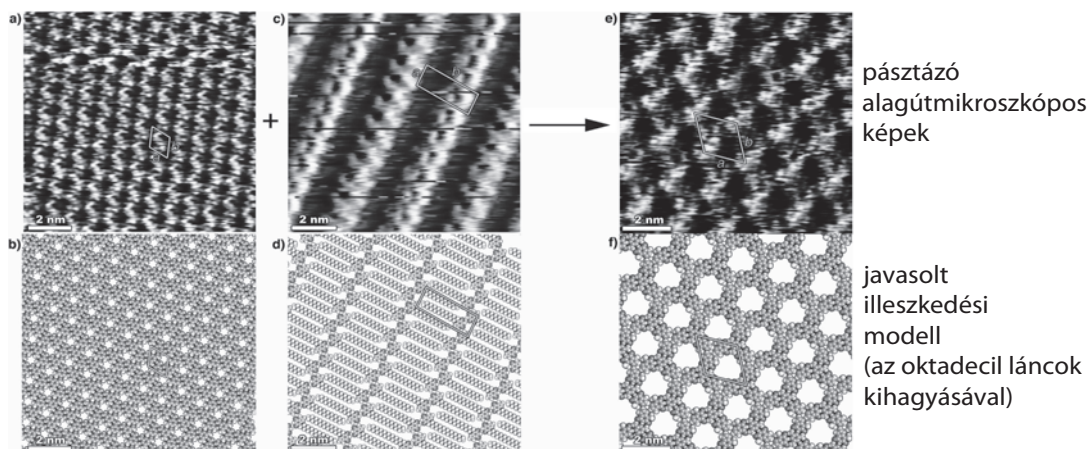
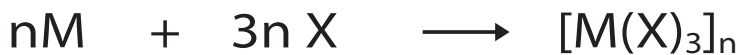
valószínűsíti gázfázisban, amelyek közül egyik szerkezet sem rendelkezik kiemelt stabilitással. A 7-szubsztituált guaninok esetében szilárd-folyadék vagy szilárd-gáz határfelületen várható klaszterképződés, különösen anionok jelenlétében.

Olasz és francia kutatókkal együttműködve megvizsgáltuk, hogy a 3-szubsztituált xantinkok szilárd-folyadék határfelületen kialakítanak-e önszerveződő rendszereket. Pásztázó alagútmikroszkópos eredményeink azt mutatták, hogy a 3-oktadecilxantin nagy mértékben orientált pirolitikus grafit (HOPG) és 1,2,4-triklórbenzol határfelületen szabályos szerkezetet alkot, amelyben hidrofób kölcsönhatások és hidrogénhidak végtelen kétdimenziós szerkezeteket eredményeznek (3. ábra). A kialakuló szerkezetek jellegét számítássokkal is alátámasztottuk [6].

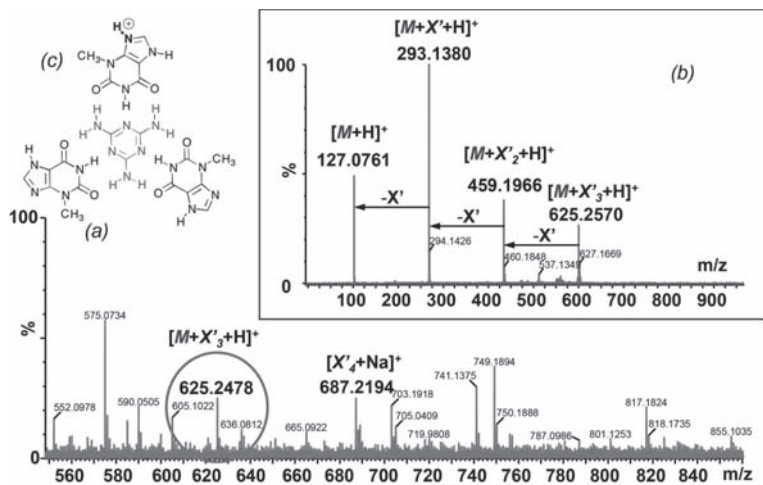


További vizsgálatainkban megállapítottuk, hogy ez utóbbi hajlam más anyagokkal való kölcsönhatásban is megmutatkozik, nevezetesen a 3-oktadecilxantin melaminnal 3:1 arányban képez porózus szerkezetű, végtelen kétdimenziós rácsokat (4. ábra). A kölcsönhatás gáz- és oldatfázisban is megmutatkozik, amit tömegspektrometriás (MS) (5. ábra) ill. magmágneses rezonancia-spektroszkópiával (NMR) igazoltunk. A kölcsönhatásban résztvevő anyagok sztöchiometriáját NMR-spektroszkópiával igazoltuk. A porózus, kétdimenziós szerkezetekben C-H...N másodlagos kötések jelenlétét bizonyítottuk számításokkal [7].

3. ábra. 3-Oktadecilxantin szerkezete nagy mértékben orientált pirolitikus grafit (HOPG) és 1,2,4-triklórbenzol határfelületen.



4. ábra. 3-Oktadecilszantín és melamin 3:1 arányú elegyének szerkezete nagy mértékben orientált pirolitikus grafit (HOPG) és 1,2,4-triklórbenzol batárfelületen.



5. ábra. 3-Metilszantín (X') és a melamin (M) önszerveződése gázfázisban. A diszkrét tetramerek tömegspektrometriai vizsgálata.

IRODALOM

- [1] T. M. Bryan, P. Baumann, *Mol. Biotechnol.*, (2011) 49,198-208.
- [2] A. E. Engelhart, T. H. Morton, N. V. Hud, *Chem. Commun.*, (2009), 647–649.
- [3] C. Fonseca Guerra, H. Zijlstra, G. Paragi, F. M. Bickelhaupt, *Chem. Eur. J.*, (2011), 17, 12612-12622.
- [4] G. Paragi, L. Kovács, Z. Kupihár, J. Szolomájer, B. Penke, C. Fonseca Guerra, F. M. Bickelhaupt, *New J. Chem.*, (2011), 35, 119-126.
- [5] J. Szolomájer, G. Paragi, G. Batta, C. Fonseca Guerra, F. M. Bickelhaupt, Z. Kele, P. Pádár, Z. Kupihár, L. Kovács, *New J. Chem.*, (2011), 35, 476-482.
- [6] A. Ciesielski, S. Haar, A. Bényei, G. Paragi, C. Fonseca Guerra, F. M. Bickelhaupt, S. Masiero, J. Szolomájer, P. Samori, G. P. Spada, L. Kovács *Langmuir*, (2013), 29, 7283–7290. DOI: 10.1021/la304540b.
- [7] A. Ciesielski, S. Haar, G. Paragi, Z. Kupihár, Z. Kele, S. Masiero, C. Fonseca Guerra, F. Matthias Bickelhaupt, G. P. Spada, L. Kovács, P. Samori *Phys. Chem. Chem. Phys.*, (2013), 15, 12442-12446, DOI: 10.1039/C3CP50891A.