

**KIS MODELLPEPTIDEK TÉRSZERKEZET-VIZSGÁLATA
ELMÉLETI KÉMIAI ÉS MÁTRIXIZOLÁCIÓS
MÓDSZEREKKEL**

Doktori (Ph. D.) értekezés tézisei

Pohl Gábor

Kémia Doktori Iskola

Vezetője: Dr. Inzelt György D. Sc.

Szintetikus kémia, anyagtudomány, biomolekuláris kémia doktori program

Vezetője: Dr. Perczel András D. Sc.

Témavezető: Dr. Perczel András D. Sc., egyetemi tanár

ELTE Kémiai Intézet

Budapest

2011

Kivonat

A fehérjék térszerkezetének ismerete a globuláris fehérjék működésének vizsgálatához és bizonyos fehérjék mesterséges előállításának (pl. selyem) szempontjából is fontos. A fehérjealkotó aminosavak közül a glicin a legegyszerűbb akirális, az alanin a legegyszerűbb királis aminosav, a prolin pedig, gyűrűs oldallánca miatt redő- és hélixirtő elem.

Az Ac-Gly-NHMe és Ac-L-Ala-NHMe mátrixizolációs infravörös (MI-IR) spektruma alapján két fő konformer (γ_L és β_L) jelenlétét mutattam ki. Az Ac-Gly-NHMe spektrumaiban a kis részarányú δ_{DL} konformert is azonosítottam melyet azonban az alaninszármazék esetén nem sikerült kimutatnom. A mért és számolt konformerarányok jó egyezést mutattak.

Az Ac-L-Ala-NHMe mért és számolt mátrixizolációs VCD (MI-VCD) spektruma a β_L konformerhez tartozó egyik csúcs előjelében eltért. Számításaim igazolták, hogy a szimmetrikus és antiszimmetrikus amid I rezgések rotátorerőssége már a térszerkezet kis torzulása esetén is nagyban változhat. E jelenség komolyan befolyásolja α -aminosavak VCD spektrumait.

Az Ac-L-Pro-NH₂ MI-IR és MI-VCD spektrumaiban egy fő- (γ_{L+}) és egy kis részarányú (α_{L+}) konformert azonosítottam. A γ_{L-} a kifagyás során γ_{L+} konformerré alakul. A γ_{L+} konformer domináns jelenléte, igazolja a prolin merevségét és hélixirtő tulajdonságát.

A β -aminosavak az utóbbi időben egyre több tanulmány tárgyát képezik, ugyanis, kedvező tulajdonságaik miatt ígéretes peptidalapú gyógyszerek lehetnek.

For-(β -Ala)₄-NH₂ modellpeptiden végzett számításaimmal 4 redőképző térszerkezetet találtam: a H_{8M} (A), H_{8P} (B), S_P (C), S_M (D) konformereket. A C és D szálak azonos állású karbonilcsoportokat tartalmazó poláris redőket (CC, CD) alakítanak ki, melyek kivétel nélkül nanocső szerkezetet veszek fel. Az A és B szálak egy korábban még le nem írt, alternáló karbonilcsoportokat tartalmazó apoláros redőt (AA, AB) alkotnak. Az apoláros redők a β -aminosavak új konformációs osztályát alkotják, β -redőzött réteghez való hasonlóságuk és sík szerkezetük, redős vagy hajtú szerkezetek ideális építőelemévé teszi őket.

A For- β -Ala- $\beta^{2,3}$ -hAla- β -Ala-NH₂ peptiden végzett számolásaim a korábbi jósolatokkal egyezően, a heterokirális származékokból felépülő redőket találták ideálisnak. Ugyanakkor a korábbi hipotézisekkel ellentétben a homokirális szálak is képesek lehetnek redők kialakítására, nemcsak vákuumban, de poláros és apoláros oldószerekben (víz ill. heptán) is.

Eredményeimet összefoglalva egy átfogó modellt alkottam, amely reményeim szerint a preparatív kémiával foglalkozó vegyészeknek is iránymutatóul szolgálhat β -redőzött rétegeket illetve hajtú szerkezeteket tartalmazó β -peptidek racionális tervezéséhez.

Tézispontok

1. Az Ac-Gly-NHMe és Ac-L-Ala-NHMe mátrixizolációs IR spektrumai alapján egyértelműen kimutattam a γ_{DL} ill. γ_L és β_{DL} ill. $\beta_{L(D)}$ konformerek jelenlétét. Bár ezen eredmény egybevág Grenie és munkatársai eredményeivel, néhány spektrális jellemző asszignációját felülvizsgáltam, főleg az amid A régióban. Továbbá, az általam felvett spektrumok nagyobb felbontása, a kevesebb aggregátum, az argon és kriptonmátrixban elvégzett mérések összehasonlítása és a megbízható kvantumkémiaili számítások lehetővé tették, hogy az esetlegesen kis mennyiségben jelenlevő konformereket is megpróbálhassam kimutatni. Az Ac-Gly-NHMe spektrumaiban felbukkanó kis intenzitású sávok egy részét a δ_{DL} konformer jelenlétéhez rendelhettem. Az Ac-L-Ala-NHMe esetében azonban a δ_L konformer jelenlétét nem sikerült kimutatnom.

2. Az Ac-Gly-NHMe és Ac-L-Ala-NHMe DCM oldószerben felvett spektrumaiban is csak a két fő konformer (γ_{DL} ill. β_{DL}) volt azonosítható. Ezzel ellentétben, a jobban koordináló DMSO oldószer esetén csak egy konformer jelenlétét tapasztaltam. A VCD spektrumok amid I régiója megerősítette a fenti megállapításokat DCM és DMSO esetén is. Azonban az amid II régióban ellentmondást tapasztaltam a számolt és mért csúcsok előjele között, mely eltérést valószínűleg az oldószermolekulák koordinációjának tulajdoníthatjuk, ami megváltoztathatta a rotátorerősség értékeket.

3. A fenti mért és számolt VCD spektrumok közti eltérések megértése érdekében MI-VCD spektroszkópiával is vizsgáltam az Ac-L-Ala-NHMe peptidet. A VCD spektrum segítségével sikerült az IR spektrumban egymást fedő, hidrogénkötésben részt nem vevő karbonilcsoportokhoz tartozó csúcsok azonosítása. A számolt és a mért VCD spektrumok között egy eltérést tapasztaltam: a β_L konformerhez tartozó szabad karbonilcsoport nyújtási rezgéséhez tartozó csúcs előjele eltért. A szimmetrikus és antiszimmetrikus karbonil nyújtási rezgésekhez tartozó rotátorerősség felszín kiszámításával megállapítottam az eltérés okát: a szimmetrikus és antiszimmetrikus amid I rezgések rotátorerőssége már a térszerkezet kis torzulása esetén is nagymértékben változhat. A számolások szempontjából tehát a $\beta_{L(D)}$ konformációjú dipeptidek VCD spektroszkópiás vizsgálata esetén minden lehetséges perturbációt figyelembe kell venni, valamint a rotátorerősség-értékeket is érdemes a rezgési átlagolt térszerkezetre számolni az egyensúlyi térszerkezet helyett.

4. Az Ac-L-Pro-NH₂ MI-IR és MI-VCD spektrumaiban egy nagy mennyiségben jelenlevő- (τ_{L+}) és egy kis mennyiségben jelenlevő (α_{L+}) konformert azonosítottam (>1% részarány). A mérések alapján a τ_{L-} konformer a kifagyás során a τ_{L+} konformerré alakult, az átalakulás alacsony energiagátja miatt. A számolt és mért spektrumok nagyon jó egyezést mutattak. A transz formára kapott nagy részarány összhangban van a korábbi, különböző polaritású oldószerekben végzett mérésekkel, melyek apoláros közegben a transz forma domináns jelenlétét mutatták ki. Az a megfigyelés, hogy a τ_{L} formán kívül a prolin-diamid más jelentős stabilitású konformerrel nem rendelkezik, nemcsak ezen aminosav nagy merevségét, hanem hélix-törő és redőtörő tulajdonságát is igazolja, mely utóbbi fontos szerepet játszhat fehérjék aggregációjának megakadályozásában.

5. For-(β -Ala)₃-NH₂ és For-(β -Ala)₄-NH₂ szálakból felépülő modellpeptideken vizsgáltam a β -aminosavak lehetséges nyújtott szerkezeti elemeit, az M052X/6-311++G(d,p)//M052X/6-31G(d) és a B3LYP/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-31G(d) elméleti szinteken. Számolásaim alapján egy új típusú lehetséges másodlagos szerkezeti elemet azonosítottam: az apoláros β -redőt. Ez a redőtípus a korábban azonosított poláros redővel ellentétben nem rendelkezik számottevő csavarodással, és stabilitása is nagyobb. E tulajdonságok lehetségessé teszik, hogy biokompatibilis polimerek építőeleme lehessen.

6. A korábbi munkákban leírt poláros β -redőket is vizsgáltam, az M052X/6-311++G(d,p)//M052X/6-31G(d) elméleti szinten. Számolásaim alapján a poláros redők kivétel nélkül csavarodott szerkezetet veszek fel. A korábbi munkákkal szembeni ellentmondást azzal magyarázhatjuk, hogy az ott vizsgált redős szakaszok rövidek voltak (1-2 építőelemből álltak), valamint kivétel nélkül jelen volt egy kanyarszerkezet, ami stabilizálja a redős elrendezést.

7. Vicinálisan dimetilszubsztituált For- β -Ala-($\beta^{2,3}$ -Ala)- β -Ala-NH₂ szálakon vizsgáltam a poláros és apoláros redők stabilitásának kiralitástól való függését. M052X/6-311++G(d,p)//M052X/6-31G(d) és B3LYP/6-311++G(d,p)//B3LYP/6-31G(d) elméleti szinteken végzett számításaim eredményei szerint a heterokiralisan diszubsztituált származékok a legideálisabb redőképző szerkezetek, ugyanakkor a korábbi hipotézisekkel ellentétben homokiralis szálak is képesek apoláros redők kialakítására.

8. Az alkalmazott elméleti szinteken a fent említett modellrendszerekből felépülő apoláros redők víz és heptán közegben is stabilak maradtak, ám stabilitásuk lecsökkent. Ennek ellenére a heterokiralis szálakból felépülő apoláros redők képződése minden közegben termodinamikailag kedvezőnek bizonyult.

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények.

Pohl Gábor, Perczel András, Vass Elemér, Magyarfalvi Gábor és Tarczay György: *A matrix isolation study on Ac-Gly-NHMe and Ac-L-Ala-NHMe, the simplest chiral and achiral building blocks of peptides and proteins*, Phys.Chem.Chem.Phys., **2007**, 9: 4698

2. Pohl Gábor, Perczel András, Vass Elemér, Magyarfalvi Gábor és Tarczay György: *A matrix isolation study on Ac-L-Pro-NH₂, a frequent structural element of β - and γ -turns of peptides and proteins*, Tetrahedron, **2008**, 64: 2126

3. Pohl Gábor, Beke Tamás, Csizmadia G. Imre és Perczel András: *„Extended apolar β -peptide foldamers; the role of axis chirality on β -peptide sheet stability*, J.Phys.Chem. B **2010**, 114: 9338

4. Pohl, Gábor, Beke-Somfai Tamás, Csizmadia G. Imre és Perczel András: *Exploiting Diverse Stereochemistry of β -Amino Acids: Toward a Rational Design of Sheet-Forming β -Peptide Systems*, Amino Acids, **2011**, beküldve

Egyéb saját közlemények

Pohl Gábor, Beke Tamás; Borbély János, Perczel András: *Prediction of folding preference of 10kDa silk-like proteins using a lego-approach and ab initio calculations*", J.Am.Chem.Soc., **2006**, 128:14548

Pohl Gábor, Jáklí Imre, Csizmadia G. Imre, Garibotto F. Matfás, Perczel András: *A first principle study on oligopeptide dimerization: An Examination of the Role of Entropy In Initiating Plaque Formation in Alzheimer Diseases*", J. Comp. Chem., beküldés alatt