

## Szerkezeti változások monomerektől a biopolimerek felé K-46183 Témavezető: Hargittai István

A jelen pályázatban szereplő kutatások célvegyületei többségében frontvonalbeli kémiai-biológiai jelentőségűek. Fő célunk a szerkezeti kémiai jellemzők felderítése volt, mely tulajdonságok összefüggésben vannak a vegyületek biológiai hatásával. Különös figyelmet fordítottunk a szerkezeti jellemzők alakulására a biomolekulák méretének növekedésével. Ezen információ teszi lehetővé a kis molekulákon nagy pontosságú számításokkal kapott szerkezeti tulajdonságok extrapolálását. Ennek megfelelően a fő témakörökben (peptidek, monoszacharidok) kutatásunk a kismolekulákból a nagyobb molekulák felé történő építkezés útját követte.

### Peptidek:

Peptid kutatásainkat homo-oligopeptidek szerkezeti vizsgálatával kezdtük. B3LYP/6-311+(+)G\*\* elméleti szinten végzett kvantumkémiai számításokkal meghatároztuk a glicin  $\beta$ -redő szerkezetének energetikai és szerkezeti változásait a lánc fokozatos bővítésének függvényében. Vizsgálataink kimutatták a távolható effektusok jelentős szerepét a  $\beta$ -redő szerkezet stabilizálásában. A távolható effektusok teljes felépülése kb. 10 aminosav egységen keresztül történik, ami egyúttal a kölcsönhatások hatósugarát jelenti. Egy terminális glicin egységnek a távolható kölcsönhatásokból származó energianyeresége kb. 2.5 kJ/mol, mely elsősorban az N-H $\cdots$ O=C hidrogénkötések kooperativitásából származik. A geometriai paraméterek közül a H $\cdots$ O hidrogénkötések hossza bizonyult legérzékenyebbnek a méretnövekedésre: több század angströmös csökkenést figyeltünk meg, ami a hidrogénkötések jelentős erősödését jelenti. Szintén jelentős erősödést (maximum 0.009 Å kötéshossz csökkenést) kaptunk a C-N kötésekre a méretnövekedés következtében. Mindezek a változások a fent említett N-H $\cdots$ O=C hidrogénkötések és az amidcsoportok közötti kooperativitás geometriai következményei/jelzői. A glicin további kötése 0.002 Å-on belül, a kötésszögek 0.5°-on belül változnak. Kimutattuk továbbá, hogy a glicinlánc kötéshosszainak változásai összefüggenek a főbb hiperkonjugációs kölcsönhatások távolható effektusok hatására történő változásaival.

E kutatás következő fázisában az oldalláncok hatását vizsgáltuk a  $\beta$ -redő szerkezeti jellemzőire, megint csak a méretnövelésre koncentrálva. A tanulmányozott peptidek L-alanin, L-valin és L-szerin voltak, s a méretnövekedés hatását a dekapeptidig követtük nyomon. B3LYP/6-311+(+)G\*\* elméleti szinten végzett kvantumkémiai számításaink során megállapítottuk, hogy az alfa-helyzetű metil-, izopropil- és hidroximetil-csoportok csökkentik a távolható kölcsönhatások erősségét. A deka-glicinben talált 2.4 kJ/mol stabilizációs energia 2.1 kJ/mol-ra csökkent a dekaalaninban, 1.8 kJ/mol-ra a deka-alaninban és 0.4 kJ/mol-ra a dekaszerinben. A stabilizációs energiákkal összhangban volt az indikátor szerepű geometriai paraméterek (hidrogénkötés és C-N kötéshossz) változása. Kimutattunk emellett a sztérikus effektusok által okozott rendellenességeket az egyes tulajdonságok lefutásában, legszembetűnőbben az oligovalinok esetében.

További peptid-konformációs kutatásainkban homo hexapeptidek (glicin, alanin, valin, szerin) különböző másodlagos szerkezeteit ( $\beta$ -redő,  $2_7$ -szalag,  $3_{10}$ -hélix,  $\alpha$ -hélix,  $\pi$ -hélix,  $\gamma$ -kanyar,  $\beta$ -kanyar) modelleztük a B3LYP/6-31G\*\* szinten vákuumban és vizes oldatban. A szerkezeteket stabilizáló intramolekuláris hidrogénkötések analízise kimutatta az N $\cdots$ H-N

kölcsönhatások fontosságát az  $O\cdots H-N$  kölcsönhatások mellett. Az alifás szubsztituenseknek a  $\beta$ -redő esetében fentebb említett hidrogénkötést gyengítő hatása érvényesnek bizonyult a többi másodrendű szerkezet esetében is. A víz oldószer legnagyobb mértékben a hélix-típusú szerkezetek illetve a szerin homopeptidek energiaviszonyait befolyásolja.

Peptid-kutatásainkban elvégeztük a prionfehérje 115-122 szegmensének konformációs analízisét vákuumban és vizes oldatban. Molekulamechanikán alapuló konformáció keresést követően a kiválasztott reprezentatív konformerek pontosabb szerkezetét és energetikai viszonyait kvantumkémiail sűrűségfunkcionál számítások alapján elemeztük. Kimutattuk a lánc távolabbi egységei közötti  $N-H\cdots O$  hidrogénkötéses kölcsönhatások meghatározó szerepét az adott típusú konformer stabilizálásában. Igazoltuk, hogy a 115-122 szegmens hajlamos  $\beta$ -redő típusú másodlagos szerkezet képzésére, mely tulajdonsága feltehetően kapcsolatban van a fenti szegmensnek a prionfehérje káros szerkezeti módosulását blokkoló hatásával.

### **Szénhidrátok:**

Ezen témánk a hialuronan kisebb szacharid egységeinek szerkezeti és rezgési jellemzőivel foglalkozik. Az első vizsgálatban ab initio (HF/3-21G\*) elő- és pontosabb B3LYP/6-311(++)G\*\* sűrűségfunkcionál számítások segítségével felderítettük a  ${}^4C_1$   $\alpha$ - és  $\beta$ -D-glükuronsav teljes konformációs terét és jellemeztük a 15 legstabilabb konformert mindkét anomerben. A konformerek relatív stabilitását elsősorban két intramolekuláris kölcsönhatás, az  $O-H\cdots O$  hidrogénkötés és a hiperkonjugációs (exo-anomer, endo-anomer) effektusok irányítják. Megfelelő konformerek összevetésével és másodrendű perturbációs analízissel sikerült több ilyen intramolekuláris kölcsönhatás energiáját meghatározni. Az oldószer (víz) hatása elsősorban abban nyilvánul meg, hogy csökkenti az egyes konformerek közötti energiakülönbségeket és megváltoztat(hat)ja az energetikailag közeli konformerek stabilitási sorrendjét.

FT-IR spektroszkópai mérések és sűrűségfunkcionál számítások segítségével elemeztük a kristályos D-glükuronsav és N-acetil-D-glükózamin rezgési spektrumait. Elvégeztük a két molekula normálkoordináta analízisét a kísérleti adatok és a számított B3LYP/6-311++G\*\* rezgési erőter alapján (ehhez konformációs vizsgálatokat is végeztünk az N-acetil-D-glükózaminra). A normálkoordináta analízishez a skálázott kvantummechanikai módszert használtuk, először irodalomból vett skálafaktorokkal próbálkozva. Azonban az alifás és aromás szénhidrogéneknek illetve heterociklusos vegyületeken kifejlesztett skálafaktorok nem bizonyultak átvihetőnek a szénhidrátokra, ezért specifikusan szénhidrátokra fejlesztettünk skálafaktorokat etilén-glikolon végzett kvantumkémiail sűrűségfunkcionál számításaink és a vegyület irodalmi IR spektrumai alapján. Ezeket alkalmazva a célvegyületekre, azok kísérleti IR spektrumaival a korábbinál jobb egyezést értünk el. A D-glükuronsavra többféle szerkezeti modellt számoltunk, melyek végül a kísérleti IR spektrummal összevetve igazolták, hogy ez a monoszacharid dimer formában van jelen a szilárd fázisban. FT-IR méréseket végeztünk továbbá a célvegyületek vizes oldataira. A spektrumokban kimutatott kis változások arra utalnak, hogy az oldatban a vízmolekulákkal való hidrogénkötéses kölcsönhatások erőssége összevethető a szilárd fázisban a monoszacharid molekulák közöttivel.

A monomerek rezgési és konformációs vizsgálatának befejezése után következett a D-glükuronsav és N-acetil-D-glükózaminból álló diszacharidok konformációs analízise. A nagyobb méret miatt a korábbiaknál alacsonyabb szinten, B3LYP/6-31G\*\* sűrűségfunkcionál számításokkal meghatároztuk az D-glükuronsav...N-acetil-D-glükózamin és N-acetil-D-glükózamin...D-glükuronsav kapcsolódások legstabilabb konformereit. Az anion – semleges

diszacharid – nátrium só formák tulajdonságainak összevetésével kimutattuk a protonálódás és sóképződés hatását a szerkezeti jellemzőkre. Míg a protonálódás csak kisebb változásokat okoz a konformerek relatív energiáiban és a geometriai paraméterekben, a nátrium ellenion hatása a sóban sokkal drasztikusabb: komoly mértékben módosítja a szerkezetet, befolyásolja a relatív energiákat, energiasűrűség eloszlást, töltéstranszfer effektusokat, solvatációs energiákat.

Hialuronan kutatásaink mérföldköve volt review közleményünk, melyben áttekintettük és értékeltük a hialuronan szerkezetére vonatkozó jelenlegi ismereteket.

Szacharid-kutatásaink része volt még a glükóz monoszacharid gázfázisú rezgési tulajdonságainak meghatározása kombinált kísérleti és elméleti analízissel, melyet a harkovi Institute for Low Temperature Physics and Engineering intézettel (Ukrajna) együttműködve végeztünk. Knudsen-cellával sikerült megoldanunk a glükóz bomlásmentes elpárologtatását (ami legfőbb oka volt eddig a szacharidokra vonatkozó gázfázisú adatok hiányának), s a gázfázisú állapot kifagyasztása elvén működő mátrix-izolációs technikával elkészíteni a molekula FT-IR spektrumát. Az IR spektrumot B3LYP/6-311++G\*\* sűrűségfüggő számítások segítségével értelmeztük, a normálkoordináta analízishez a skálázott kvantummechanikai módszert használva. Az irodalmi skálafaktorok az OH torzió kivételével átvihetőnek bizonyultak, így csak ez utóbbit fejlesztettük ki a munkában saját kísérleti adataink alapján. A kapott rezgési erőter minőségét a kísérleti és számított frekvenciák közötti átlagos  $5.0 \text{ cm}^{-1}$  eltérés tükrözi. Jelenleg ez a legpontosabb erőter izolált szacharid molekulára. Az FT-IR spektrumok elemzésével megállapításokat tudtunk tenni a gázfázisban levő konformációs egyensúly jelentősebb konformereire. Kísérleti úton igazoltuk a korábban modellezéssel megjósolt *gg* és *gt* konformerek domináns voltát. Azonosítottuk emellett a kisebb mennyiségben jelen levő *tg* konformert, és a nyomnyi mennyiségben található *c-gg*, *c-gt* és *c-tg* konformereket.

### **Egyéb, kisebb biológiai jelentőséggel bíró molekulák:**

Biológiai hatással rendelkező vegyületek szerkezetének modellezésében további szerves vegyületek szerkezetének vizsgálatával is foglalkoztunk. Ennek keretében a Moszkvai Állami Egyetem Kémiai Tanszékével együttműködésben elvégeztük N,N-dimetil-formamid izotopomerek és az N,N-dimetil-karbamoil-klorid rezgési analízisét. A normálkoordináta analízisben használt harmonikus rezgési erőteret MP2 módszerrel számoltuk, a bázist fokozatosan kiterjesztve 6-311G(d,p)-től 6-311G(3df,2p)-ig. Kimutattuk, hogy a nehézatomokon nagyon fontos az *f* polarizációs függvények használata a jó minőségű erőállandók érdekében. Kombinált gáz-elektron-diffrakciós, rezgési és kvantumkémiai analízissel igazoltuk az N,N-dimetil-karbamoil-klorid planáris egyensúlyi szerkezetét. Elvégeztük emellett gáz-elektron-diffrakció és kvantumkémiai számítások kombinált alkalmazásával a metil-2-nitrotolil-szulfid szerkezetének meghatározását, konformációs analízisét.

A Római Egyetemen és a L'Aquila Egyetemen együttműködve meghatároztuk az etinil-benzol, az s-trietinil-benzol, valamint az 1-(metil-tio)metil-2-nitro-benzol (MTMNB) molekulák gázfázisú szerkezetét elektron-diffrakció és kvantumkémiai számítások kombinált alkalmazásával, illetve ezekkel a módszerekkel és mikrohullámú adatokkal kombinált analízisben újvizsgáltuk a nitro-benzol szerkezetét és forgási jellemzőit. Kimutattuk és értelmeztük a szubsztituensek hatását a benzolgyűrű geometriai paramétereire. Felderítettük MTMNB konformációs terét, mely molekula a gázfázisban 6 konformer elegyeként jelenik meg. Szintén kombinált elméleti és kísérleti analízissel meghatároztuk a nitro-benzol gázfázisú szerkezetét elektron-diffrakció, mikrohullámú spektroszkópia és kvantumkémiai

számítások együttes alkalmazásával. Meghatároztuk az  $r_e$  egyensúlyi geometriai paramétereiket, a nitrocsoport egyensúlyi konformációját és rotációs gátját. Szintén a fenti együttműködésben újrazvizsgáltuk a ciano-benzol, p-diciano-benzol és az 1,2,4,5-tetraciano-benzol gázfázisú szerkezetét, s meghatároztuk a molekulák pontos szerkezetét elektrondiffrakció és kvantumkémiai számítások kombinált alkalmazásával. Ezen vizsgálataink kimutatták, hogy a benzolgyűrű deformációja lényegesen kisebb, mint az irodalomban korábban publikált értékek. A ciano szubsztituens elektronikus effektusa alapján értelmeztük a 3 molekulában a kötésszögekre kapott trendet. Összevetve gázfázisú eredményeinket irodalmi kristályszerkezeti adatokkal, kimutattuk a kristályban fellépő gyenge intermolekuláris  $C\equiv N \cdots H-C$  kölcsönhatások szerepét a geometriai paraméterekre.

Fluorszubsztituált fenolszármazékokra vonatkozó kutatásainkban a rezgési és konformációs tulajdonságokra koncentráltunk. Az Oslo Egyetem Kémia Tanszékével együttműködve, kombinált FT-IR és kvantumkémiai analízissel meghatároztuk a 2-fluorofenol és 2,3,5,6-tetrafluoro-hidrokinon konformációs egyensúlyát a gázfázisban. A gázfázisú egyensúlyt mátrix-izolációs technikával fagyasztottuk ki. Az FT-IR spektrumok sávjait skálázott kvantummechanikai erőter segítségével azonosítottuk, ami magában foglalta egyrészt a konformerek, másrészt a sávok normálrezgésekhez való hozzárendelését. Korábbi kvantumkémiai számításaink alapján mindkét vegyületre két-két konformer megjelenése várható, s ez igazolódott is a kísérleti adatokban.

Kvantumkémiai számítások segítségével meghatároztuk a  $F^-(H_2)_n$  and  $Cl^-(H_2)_n$  ( $n = 1-8$ ) anion komplexek jellemző szerkezeti és kötési tulajdonságait. E vegyületeknek a jövő üzemanyagaként számításba vett hidrogén tárolása terén lehet gyakorlati jelentősége. Jellegzetes különbségeket találtunk a fluor illetve a klór komplexek szerkezeti és energetikai jellemzőiben. Megállapítottuk, hogy a  $F^-(H_2)_n$  komplexekben a nagy erősségű  $F-H_2$  kötések drasztikusan csökkennek a hidrogén molekulák számával, míg az eleve gyengébb  $Cl^-(H_2)_n$  kötések esetében a csökkenés mértéke nagyon kicsi.

A *Coordination Chemistry Reviews* felkérésére összefoglaló közleményt készítettünk halogén akceptort tartalmazó hidrogénkötéses rendszerek energetikai és szerkezeti tulajdonságairól. Egy további review közleményben értékeltük a *Structural Chemistry* folyóirat elmúlt 20 évének tevékenységét. A fentiek felül még két könyvfejezet elkészítéséhez használtuk fel a pályázat anyagi forrásait.

Összességében az OTKA pályázat anyagi támogatásával 19 tudományos közlemény (összesített impact faktor 43.65) és 2 könyvfejezet készült.