



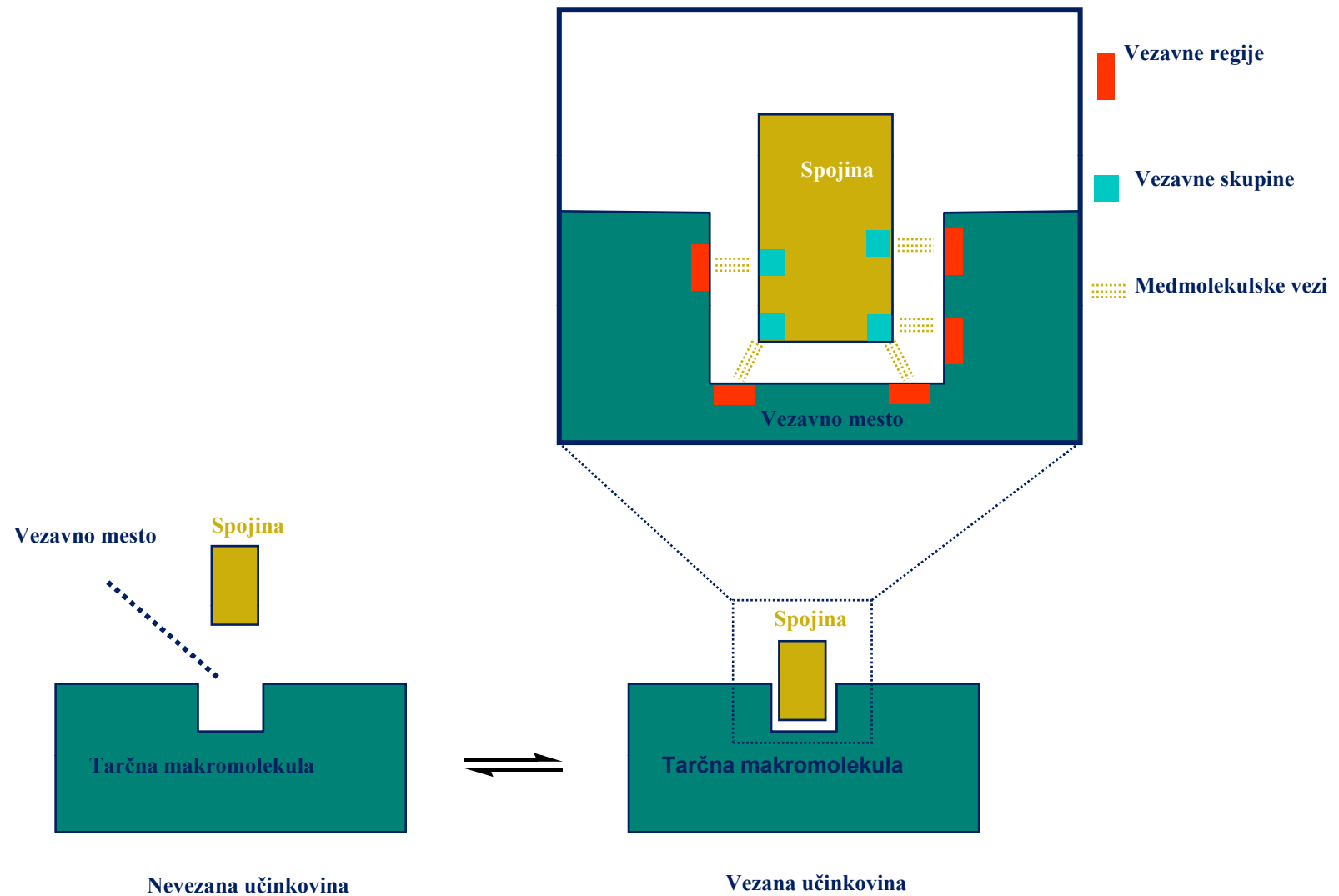
Interakcije spojina – makromolekula

Izr. prof. dr. Marko Anderluh

9. oktober 2012



Interakcije spojina-makromolekula





Interakcije spojina-makromolekula

Osnova farmakološkega učinka!

- Sproščanje energije – vezavna entalpija + entropija

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

- Posledice?
- Sprememba konformacije liganda (učinkovine) za prileganje vezavnemu mestu
- “Induced fit” – sprememba konformacije vezavnega mesta makromolekule, celotna konformacijska sprememba
- Zasedanje aktivnega mesta encima

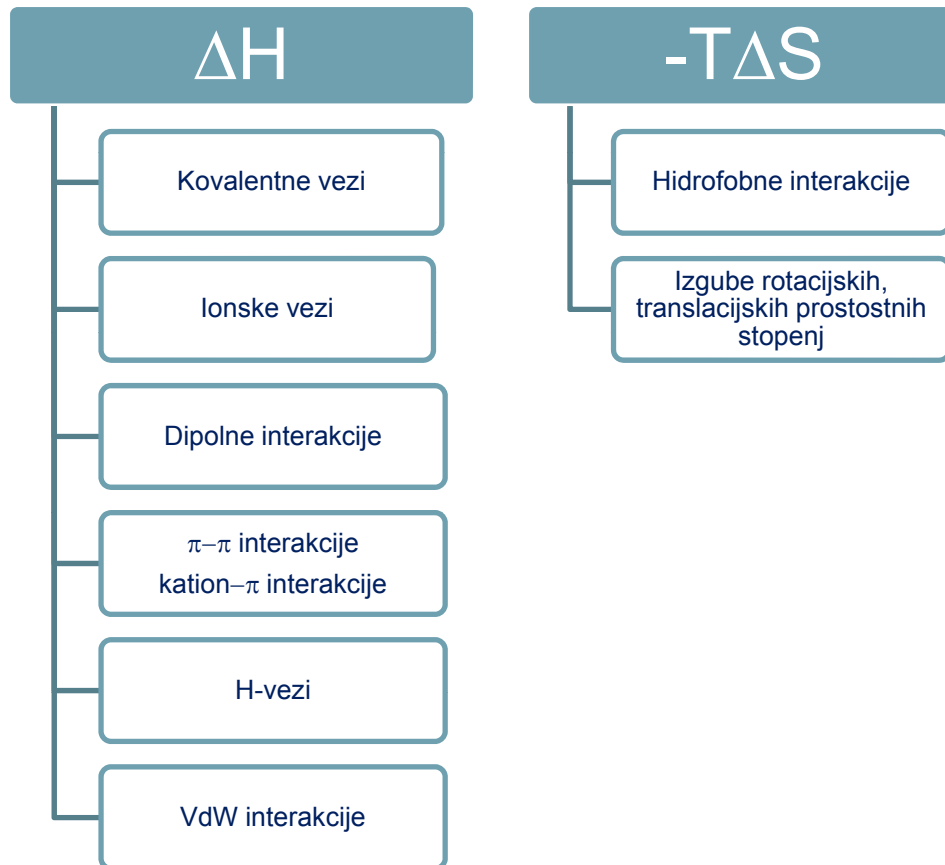


Interakcije spojina-makromolekula

- Termodinamika vezave U(činkovina) – R(eceptor)
- Posledica: $K_d=10$ nM, $\Delta G = ?$



Interakcije spojina-makromolekula



Ločimo po:

- po vrsti interakcije: kovalentene, ionske, H-vezi, hidrofobne itd.
- energiji interakcije: močne, šibke interakcije
- po trajanju interakcije: trajne in reverzibilne
- po specifičnosti



Interakcije spojina-makromolekula

- Moč interakcij

| Vrsta interakcije | Energija | Primer |
|-----------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|
| Kovalentna vez | cca 420 kJ/mol (cca 100 Kcal/mol) | A - B |
| Ionska vez dipolne vezi | cca 20-40 kJ/mol | A ⁺ B ⁻ |
| Vodikova vez | cca 4,2 kJ/mol | |
| Hidrofobni efekt /interakcija/ | 0,1 – 0,2 kJ/mol A ² | |
| Van der Waals | 2-4 kJ/mol | |



Kovalentne vezi

- Močna vez ($\Delta G = 400 \text{ kJ/mol}$)
- **Ireverzibilna**
- Neselektivna

Posledice:

- Učinek raste s časom
- Učinek je (večinoma) trajen
- Potrebna nova sinteza tarče



Energije nekaterih kovalentnih vezi v kJ/mol

| | | | | | |
|-----|------------|-----|-----|-----|-----|
| C-H | C-F | C-N | C-O | C-C | N-N |
| 416 | 486 | 160 | 336 | 356 | 160 |
| N-H | C-Cl | C=N | C=O | C=C | N=N |
| 391 | 327 | 616 | 695 | 598 | 418 |
| O-H | C-Br | C≡N | | C≡C | |
| 467 | 385 | 866 | | 813 | |
| S-H | C-I | | | | |
| 347 | 213 | | | | |



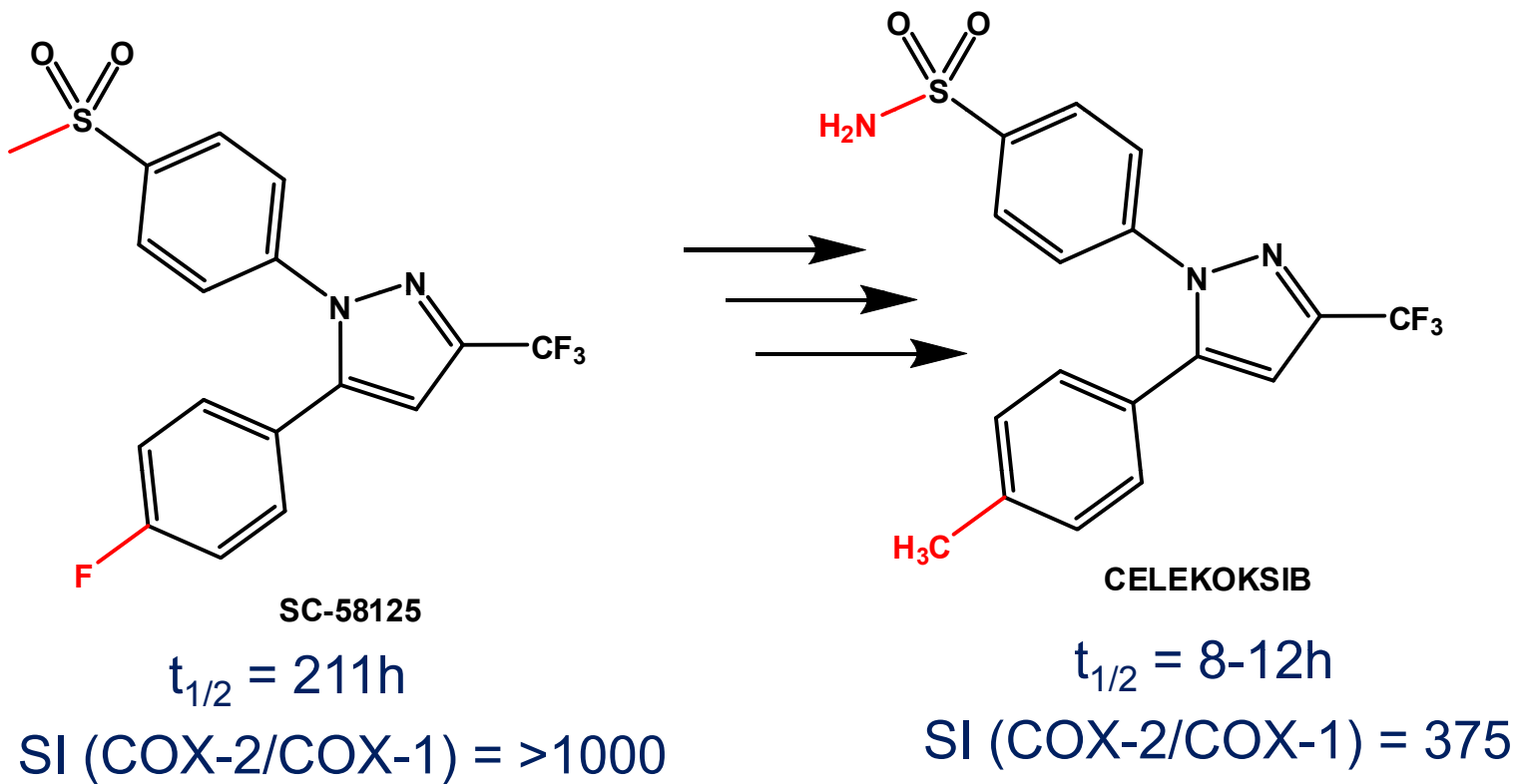
Kovalentne vezi

Primeri:

- alkilirajoči citostatitki (iperiti)
- Organofosfati
- Acetilsalicilna kislina
- Obstrukcija metabolizma



Obstruksi metabolisme





Ionske interakcije

- Najmočnejše medmolekulske vezi (20-40 kJ/mol)
- Sferično simetrična – usmerjenost ni pomembna!
- Energija vezi pada premosorazmerno z razdaljo:

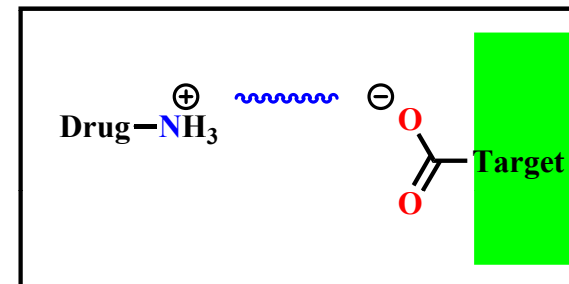
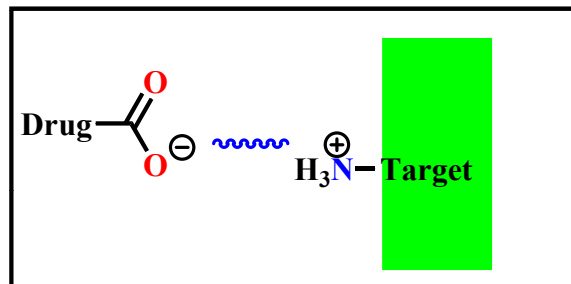
$$E \sim q_i q_j / \epsilon r_{ij}$$

$q_{i,j}$...naboja

$r_{i,j}$...razdalja med nabojema

ϵ ...diel. konstanta (voda=80, vakuum=1)

- Močnejše interakcije v vakuumu/hidrofobnem okolju
- **Bistvene na začetku interakcij učinkovina-makromolekula**

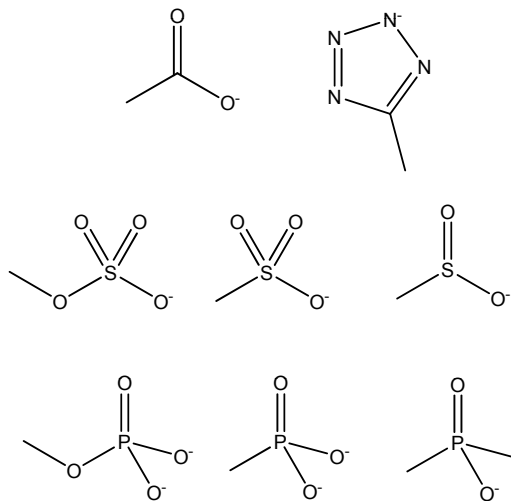




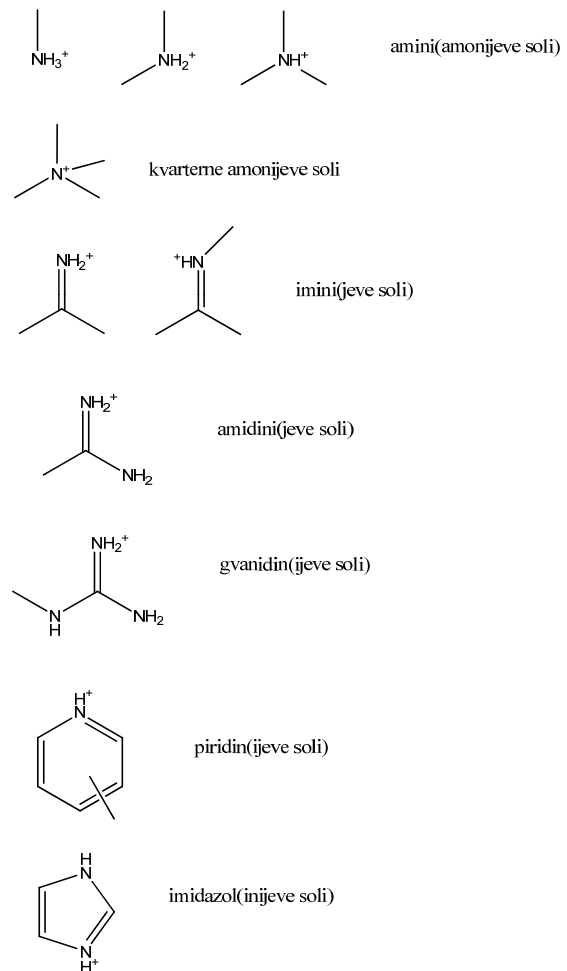
Ionske interakcije

- Skupine, ki omogočajo ionske interakcije (kisline, baze)

Anionske skupine R⁻



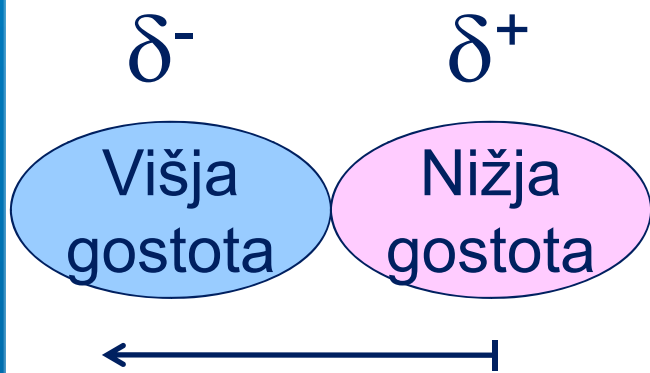
Kationske skupine R⁺





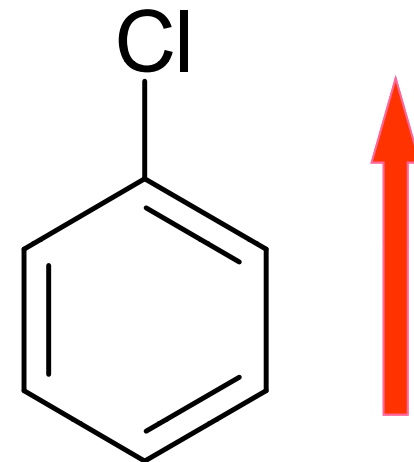
Dipol

- **Dipol je posledica različne elektronske gostote v molekuli**



Simbolni zapis dipola

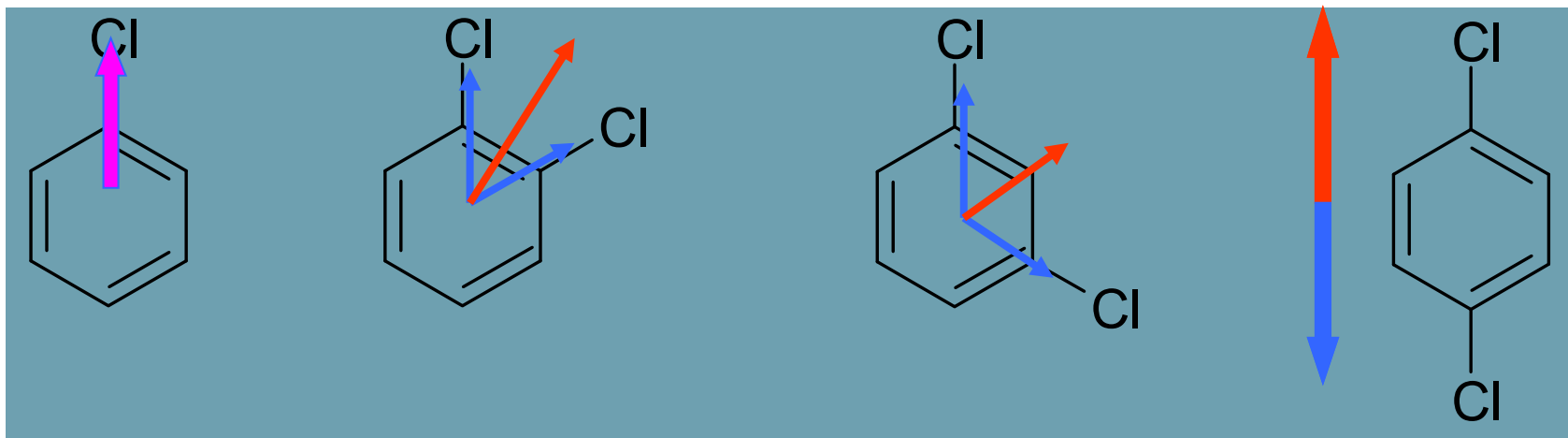
Parcialni dipoli v molekuli se seštevajo kot vektorji





Dipol

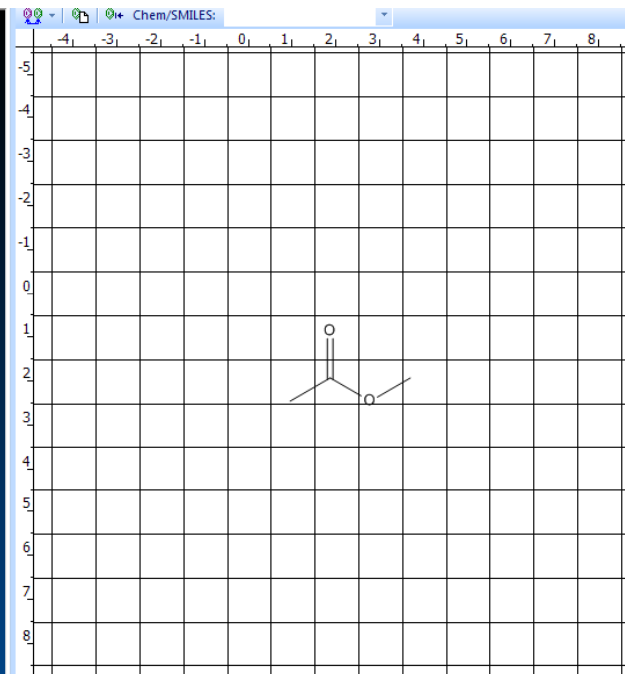
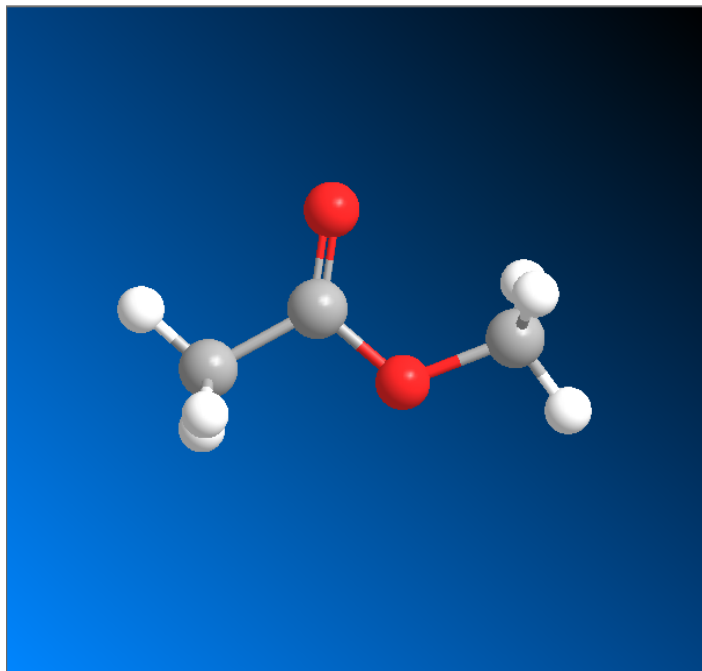
- Primer polarnosti: 1,2, 1,3 in 1,4 diklorobenzen





Dipol

- **Primer - etilacetat**



| | Atom | Charge (Huckel) |
|----|-------|-----------------|
| 1 | C(1) | -0.199505 |
| 2 | C(2) | 0.593342 |
| 3 | O(3) | -0.132355 |
| 4 | O(4) | -0.628127 |
| 5 | C(5) | 0.066943 |
| 6 | H(6) | 0.068414 |
| 7 | H(7) | 0.0698496 |
| 8 | H(8) | 0.0516876 |
| 9 | H(9) | 0.038073 |
| 10 | H(10) | 0.0354545 |
| 11 | H(11) | 0.0362237 |



Ion-dipol interakcije

- Med nabojem ene molekule in dipolom druge molekule
- Pomembna usmerjenost dipola!
- Energija vezi pada s kvadratom razdalje:

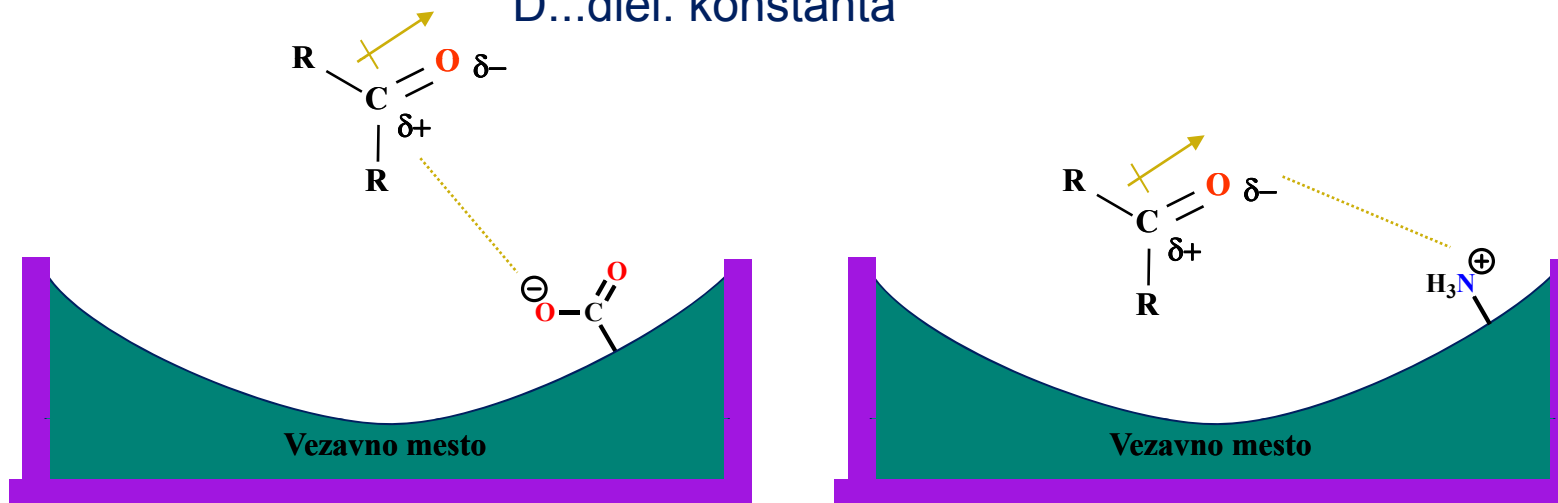
$$E \sim z\mu \cos\phi / Dr^2$$

z...naboj

μ ...dipolni moment

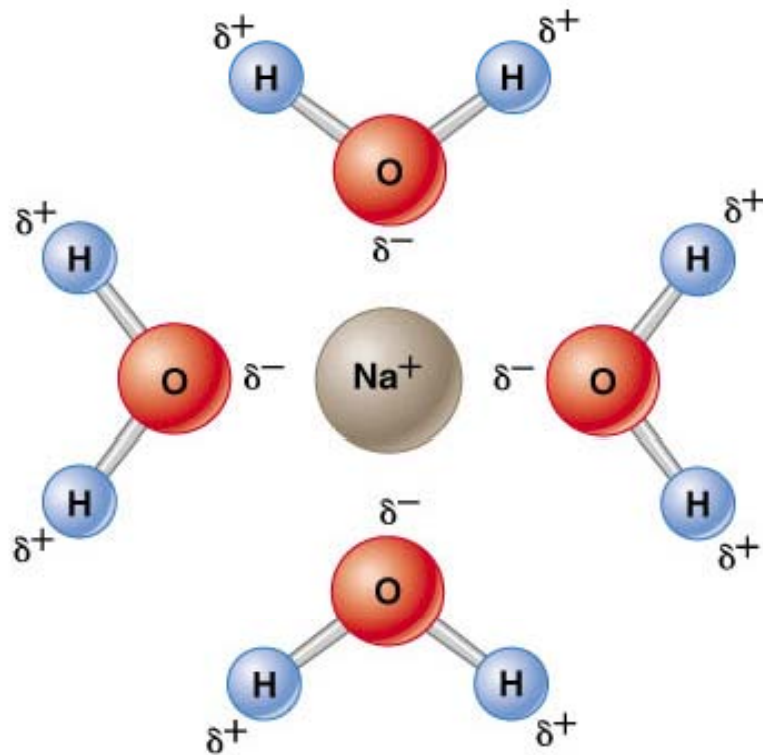
r...razdalja med nabojem in dipolom

D...diel. konstanta

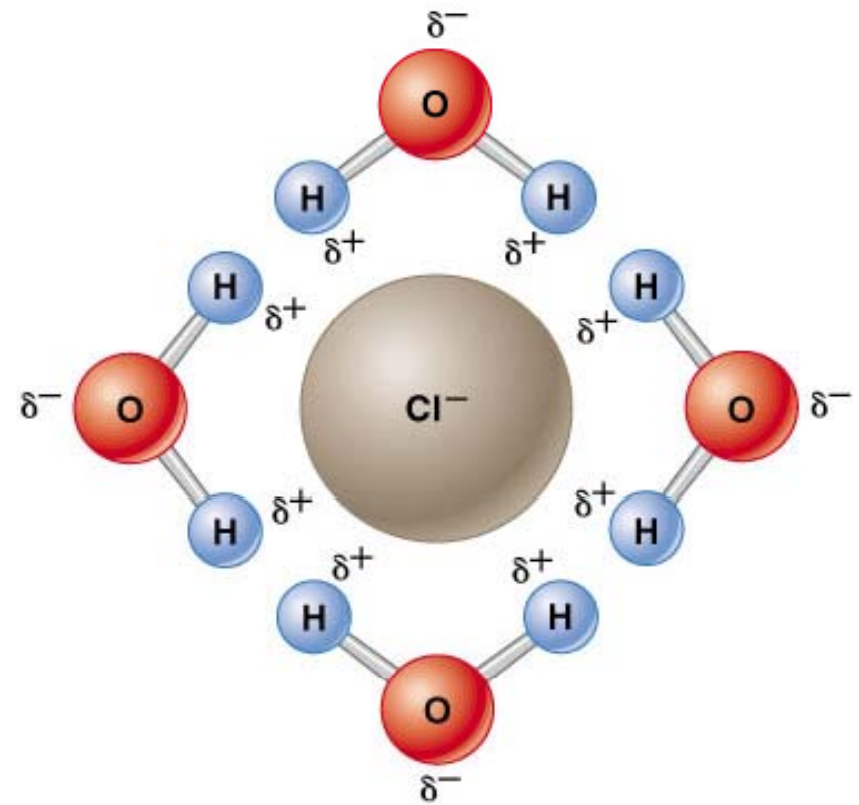




Primer interakcije ion-dipol



$\text{Na}^+(\text{H}_2\text{O})$ približno 6



$\text{Cl}^-(\text{H}_2\text{O})$ približno 6



Dipol-dipol interakcije

- Med dvema dipoloma
- Dipola se pri vezavi orientirata v nasprotni smeri
- Orientacija molekule je ključnega pomena!
- Energija vezi pada s 3 potenco razdalje:

$$E \sim A \mu_A \mu_B / D r^3$$

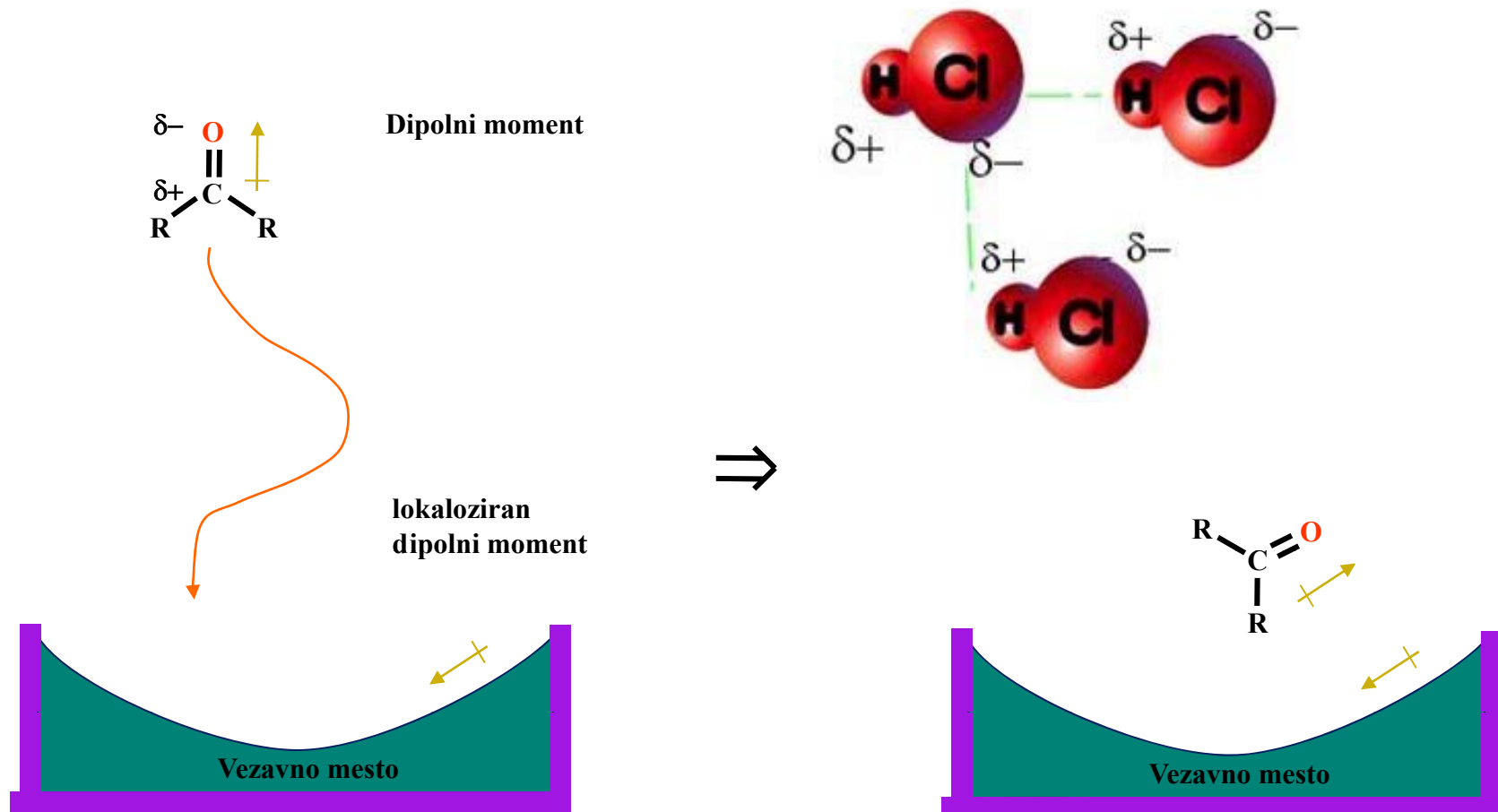
μ ...dipolni moment

r ...razdalja med nabojem in dipolom

D ...diel. konstanta



Dipol-dipol interakcije





Interakcije dipol/ion – induciran dipol

- T.i. Induktivne interakcije - naboj ene molekule inducira dipol na drugi

$$E \sim \alpha z^2 / D^2 r^4$$

z...naboj

α ...polarizabilnost

r...razdalja med nabojem in dipolom

D...diel. Konstanta



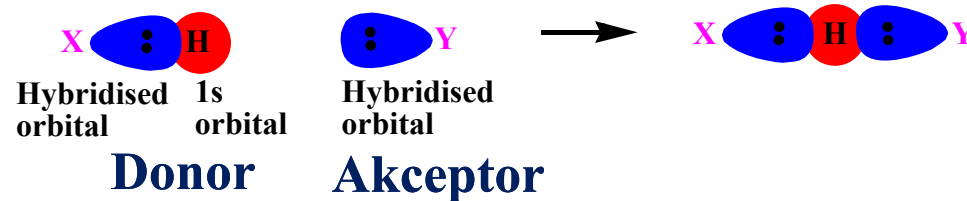
Dipolne interakcije

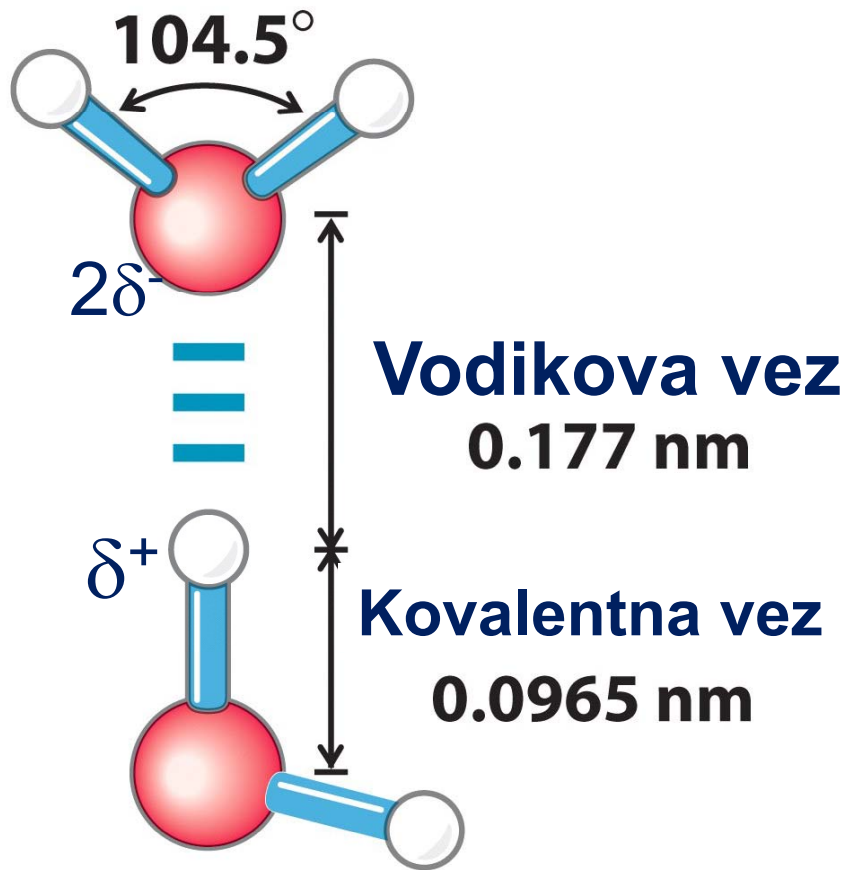
- Šibke interakcije
- Vektorski seštevek dipolov
- Energija vezi odvisna od razdalje in usmeritve
Obratnosorazmerne z razdaljo:
- Ion – dipol ($E \propto r^{-2}$)
- Dipol – dipol ($E \propto r^{-3}$)
- Ion – induciran dipol ($E \propto r^{-4}$)
- Dipol – induciran dipol ($E \propto r^{-5}$)
- Induciran dipol – induciran dipol ($E \propto r^{-6}$)



Vodikove vezi (H-vezi)

- Med z elektroni revnim vodikom (donor vodikove vezi) in z elektroni bogatim heteroatomom (akceptor vodikove vezi)
- Močno variirajo po moči: nevtralne 2-6 kJ/mol, ionske do 20 kJ/mol (povprečje 4,2 kJ/mol)
- Interakcije temeljijo na prekrivanju orbital – **delni značaj kovalentne vezi!**
- Optimalna interakcija: X-H vez kaže direktno na prost elektronski par Y, tako da je kot med X-H...Y 180°





Vodikova vez:
Privlak med "razgaljenim
protonom
in
elektronskim parom KISIKA



Vodikova vez:
-kratkosežna
-šibka
-aditivna
-prostorsko usmerjena

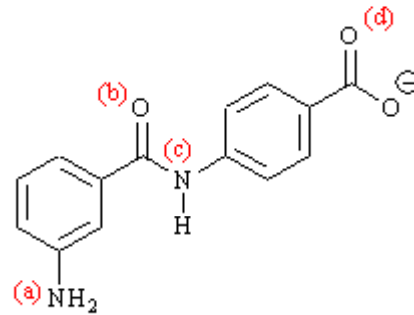
Življenska doba H-vezi je 1-20 ps





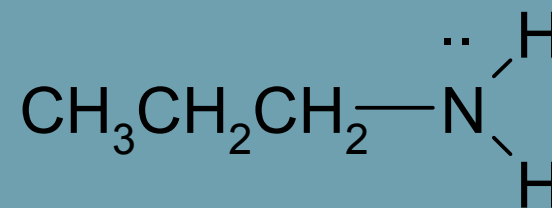
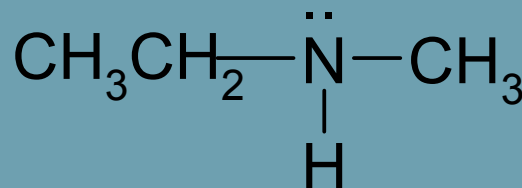
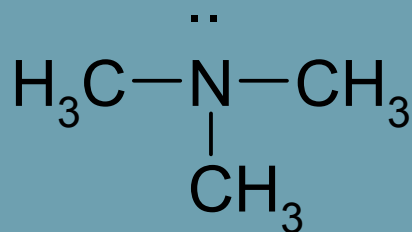
Vodikove vezi (H-vezi)

- Najmočnejši akceptor H-vezi?



Vpliv števila H vezi na vrelišče spojin

Amini z bruto formulo: C_3H_9N



Vrelišče 3.5°C

37°C

49°C

Št. medsebojnih H vezi

0

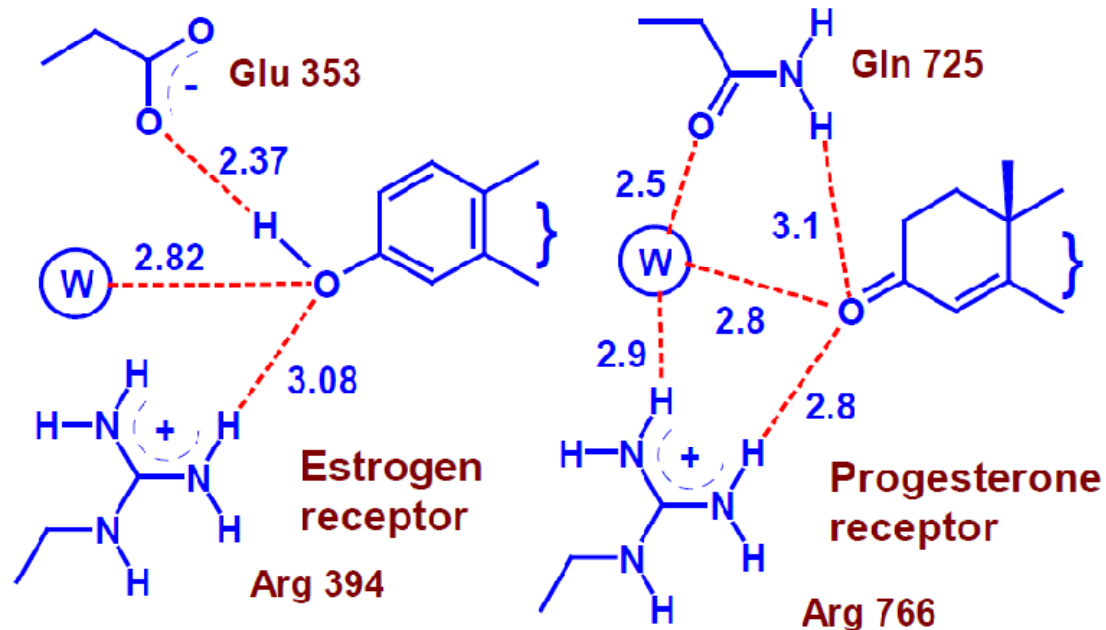
2

3



Vodikove vezi (H-vezi)

Ligand Recognition - Specificity of Estrogen and Progesterone Receptors



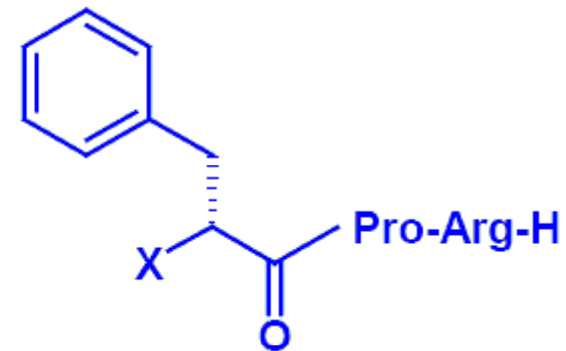
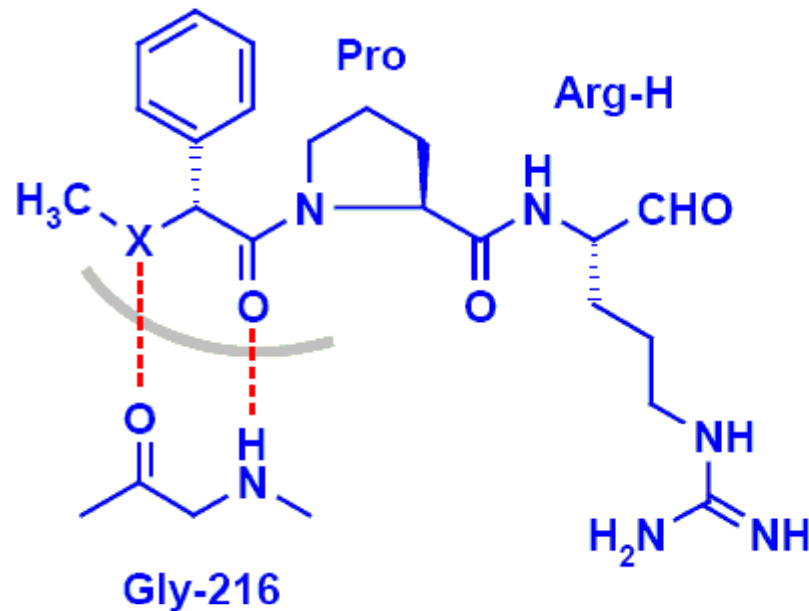
A. M. Brzozowski et al., *Nature* **389**, 753-758 (1997)

S. P. Williams and P. B. Sigler, *Nature* **393**, 392-396 (1998)



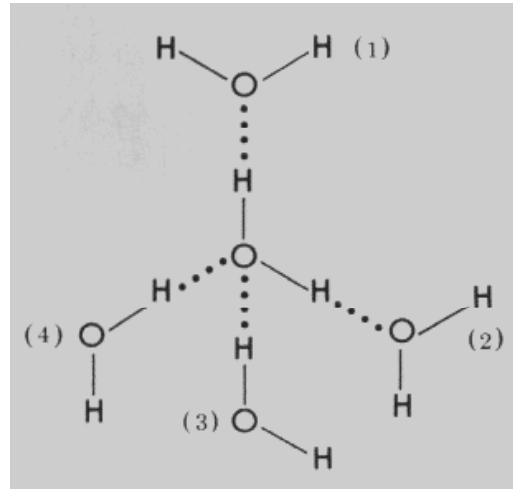
Vodikove vezi (H-vezi)

Hydrogen Bonds in Ligand-Protein Interactions Thrombin Inhibitors



X = -NH- IC₅₀ = 9 ng/ml
X = -O- IC₅₀ = 130 ng/ml
X = -CH₂- IC₅₀ = 70 ng/ml

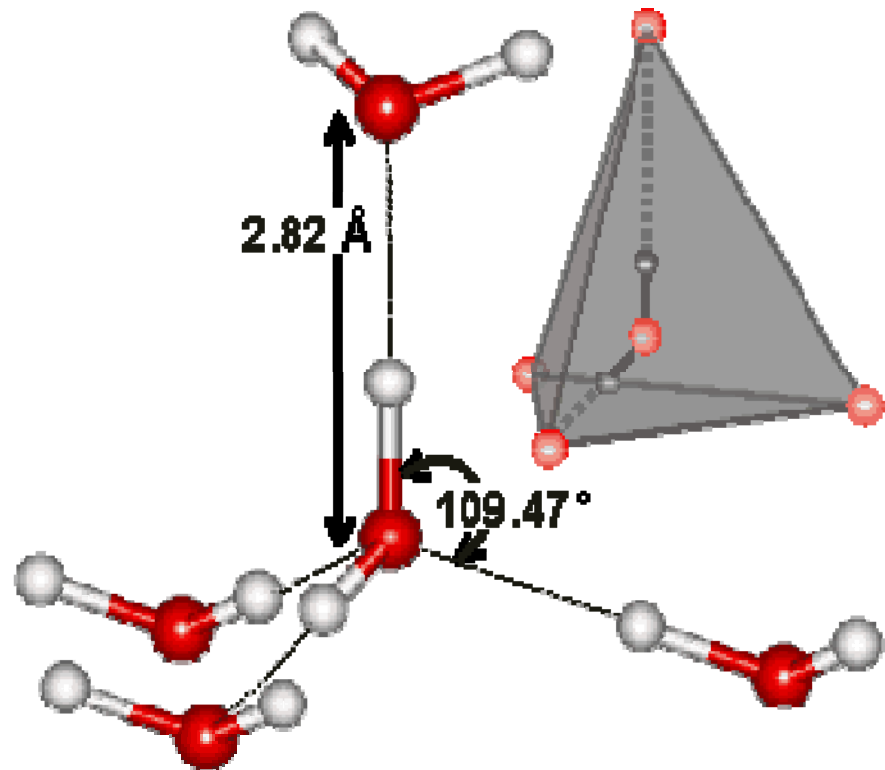
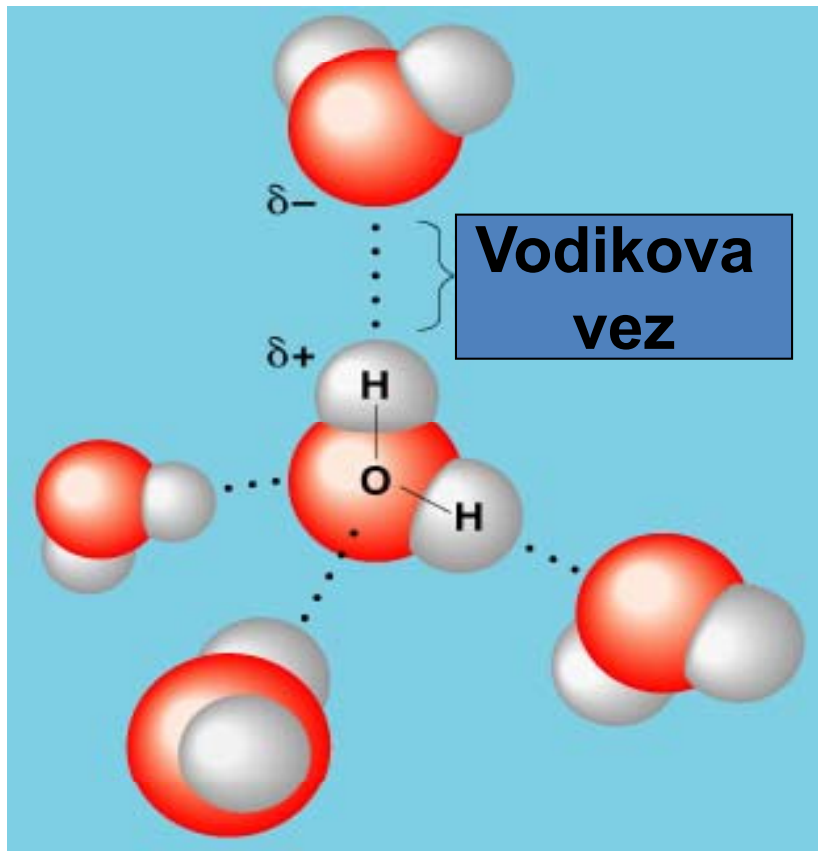
X = NH₂
IC₅₀ = 49 nM
X = H
IC₅₀ = 390 nM



KAJ JE VODA?



Primer povezanosti ene molekule vode s štirimi sosednjimi molekulami preko vodikovih vezi.

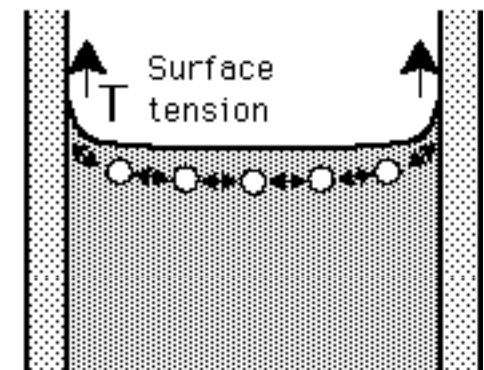
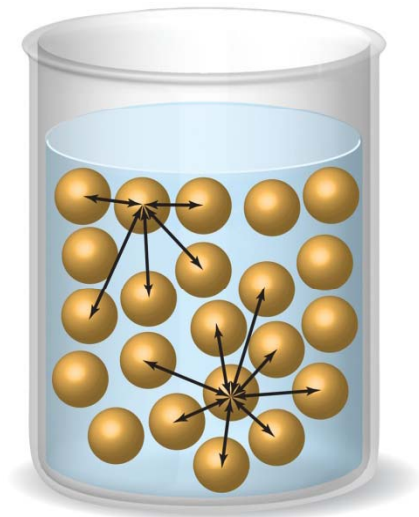


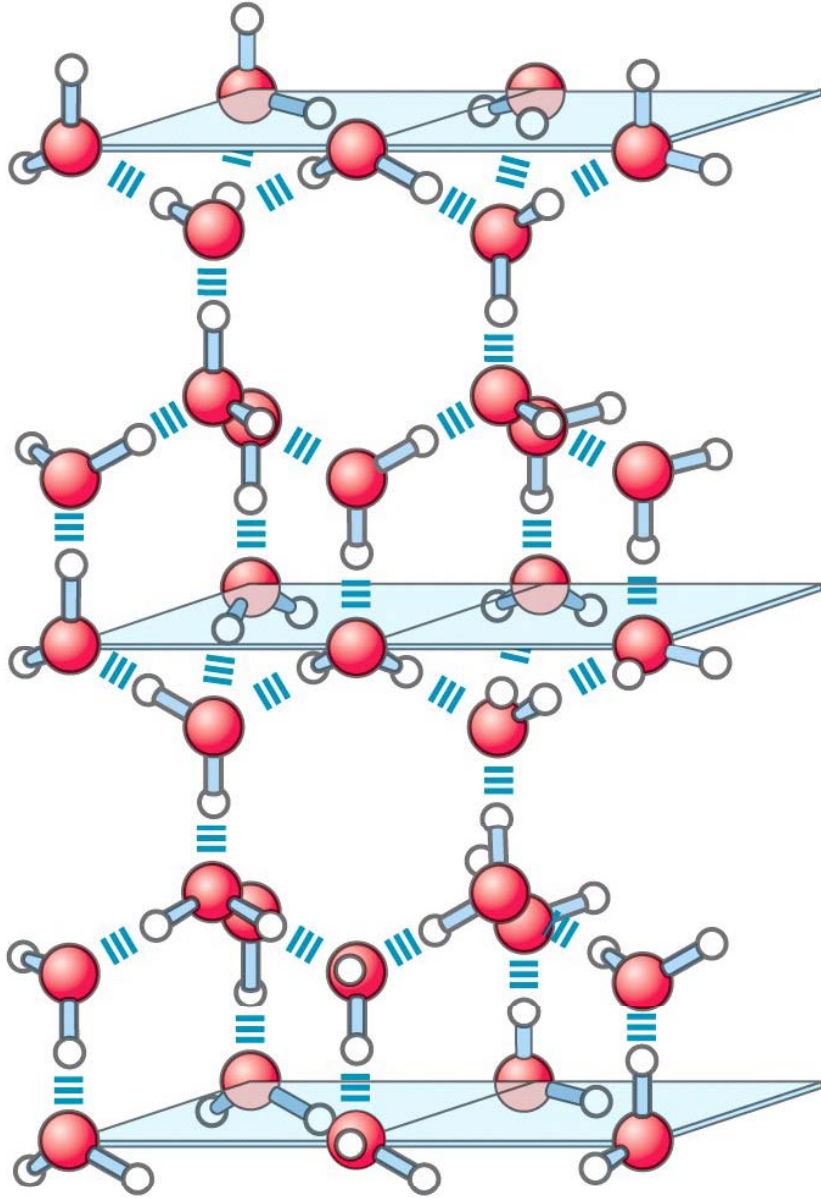
H vez

- Energija: cca 23 kJ/mol (1/10 kov. vezi)
- Usmerjena vez, ima 10% karakterja kovalentne vezi.
- Aditivna vez povezana z dipolnim momentom vodne molekule.
- Večinski vzrok za nenavadne lastnosti vode.

Velika površinska napetost vode

- Tvorba vodikovih vezi na medfazni površini je vzrok za tvorbo "kože" na površini.





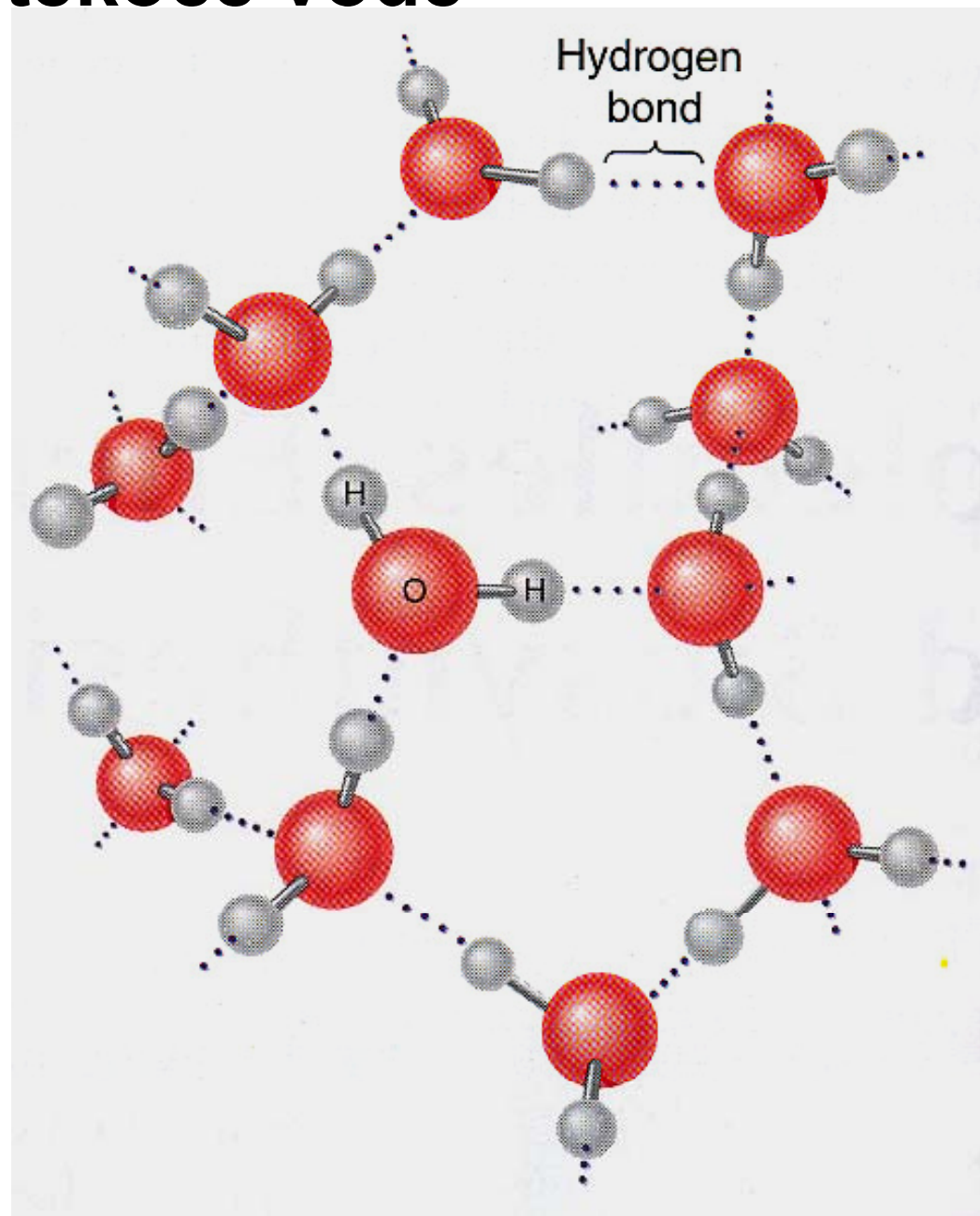
Struktura ledu je posledica vodikovih vezi med vodnimi molekulami

Led: 4 H-vezi med 1 molekulo vode in okolico

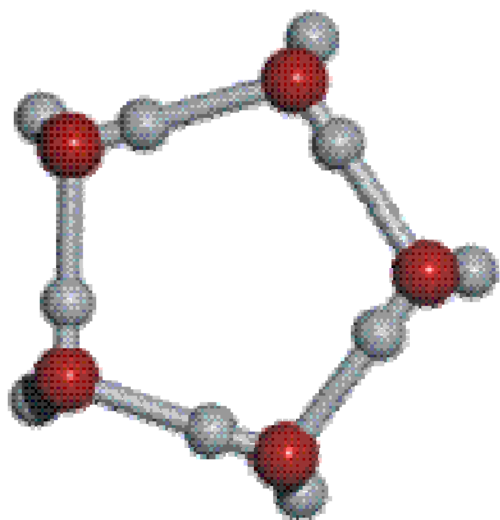
Tekoča voda: povprečno 3,4 H vezi med molekule vode in okolico

Primer “strukture” tekoče vode

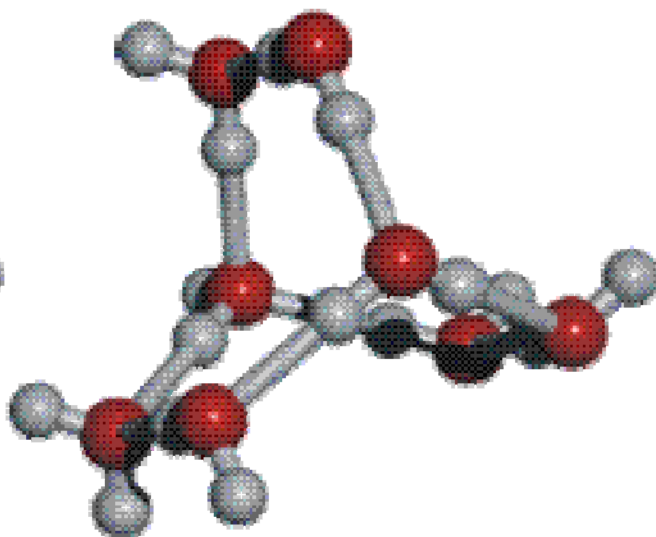
- Vodne molekule interagirajo med seboj:
- z vodikovimi vezmi
 - z ionskimi vezmi,
 - z dipolarnimi interakcijami



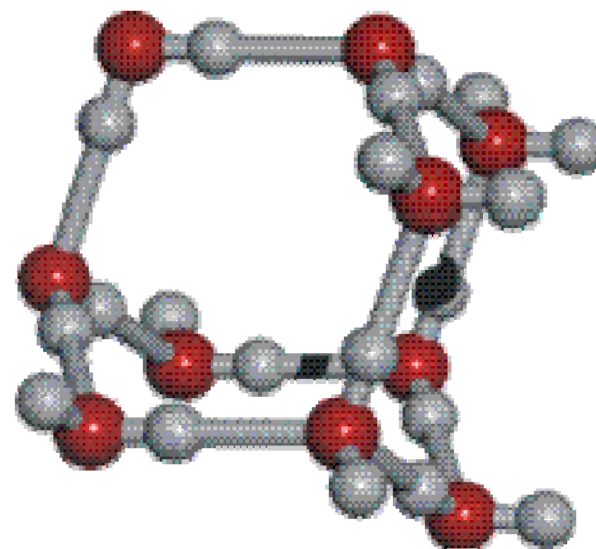
Delne strukture tekoče vode



Pentamer



Biciklooktamer



Triciklodekamer

Fazni prehodi, energija in struktura vode

Voda
 $E(\text{H-vezi}) = 18,9 \text{ kJ/mol}$
 $E(\text{O-H}) = 462 \text{ kJ/mol}$

Izparilne toplote:
 $q(\text{voda}) = 40,82 \text{ kJ/mol}$
 $q(\text{etanol}) = 39,39 \text{ kJ/mol}$
 $q(\text{benzen}) = 30,78 \text{ kJ/mol}$

Energije pri faznih prehodih:

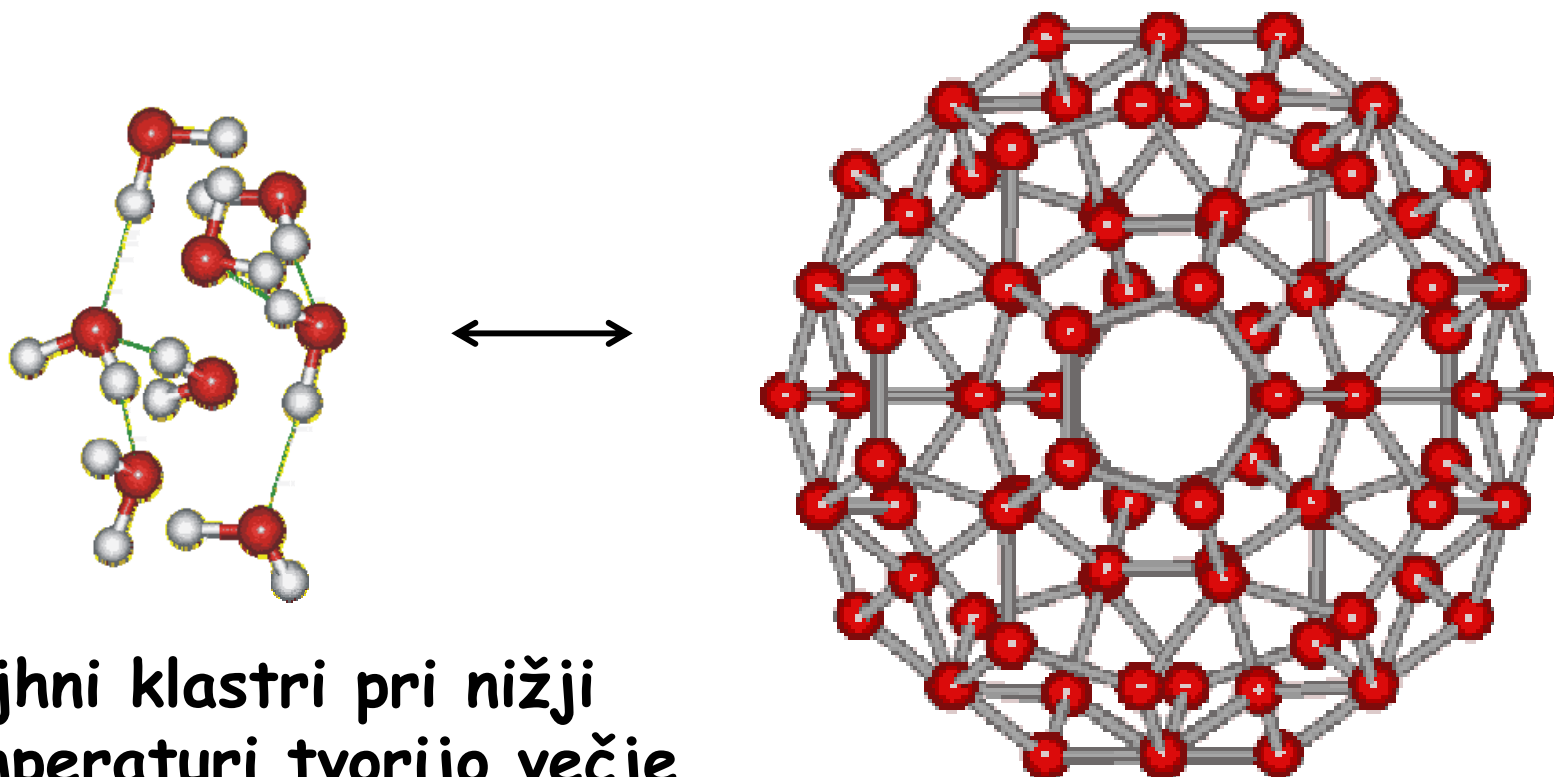
$q(\text{izparilna: voda} \rightarrow \text{para}) = 40,82 \text{ kJ/mol}$
 $q(\text{talilna: led} \rightarrow \text{voda}) = 6,04 \text{ kJ/mol}$
 $C (\text{toplotna kapaciteta}) = 0,07 \text{ kJ/mol st}$

Izračun za prehod: led v paro

$$6,04 + 100 \times 0,07 + 40,82 = 53,86 \text{ kJ/mol}$$

$$53,86 : 18,9 = 2,88 \text{ ali cca } 3 \text{ H vezi}$$

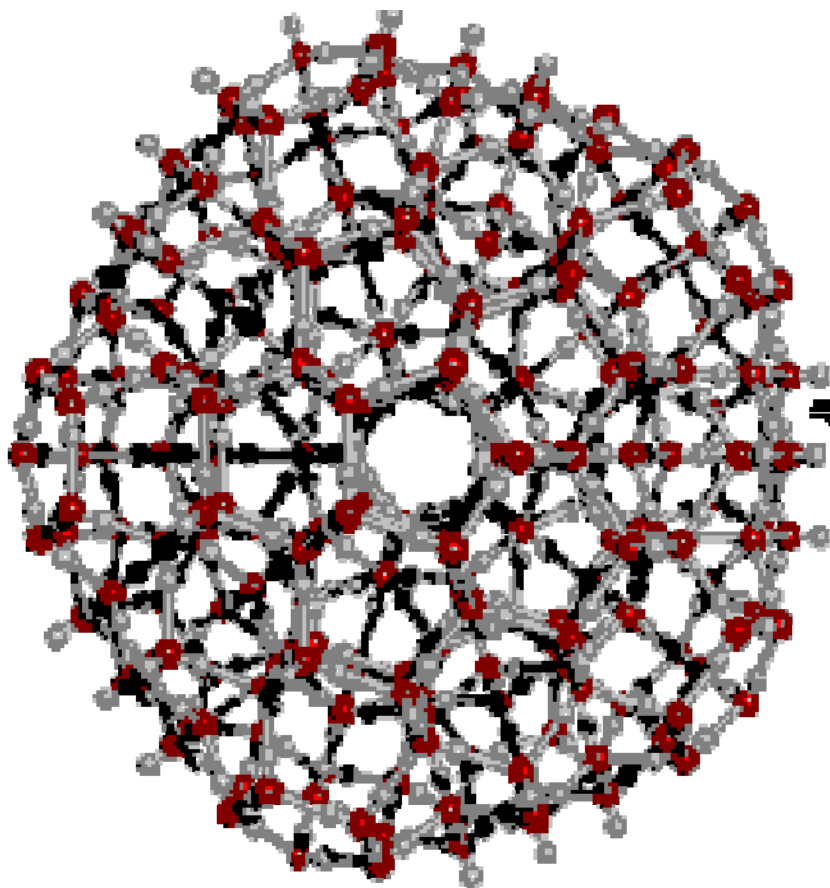
Klaster tipa ikozaeder



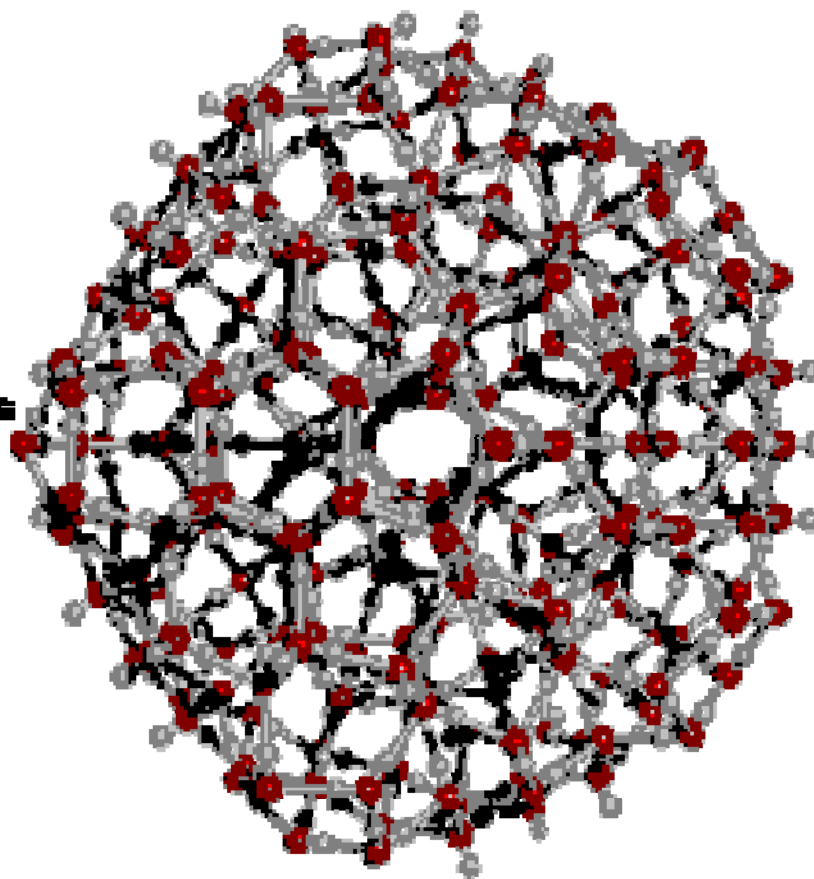
Majhni klastri pri nižji temperaturi tvorijo večje klastre.

Idealiziran ikozaedrični klaster $(\text{H}_2\text{O})_{280}$

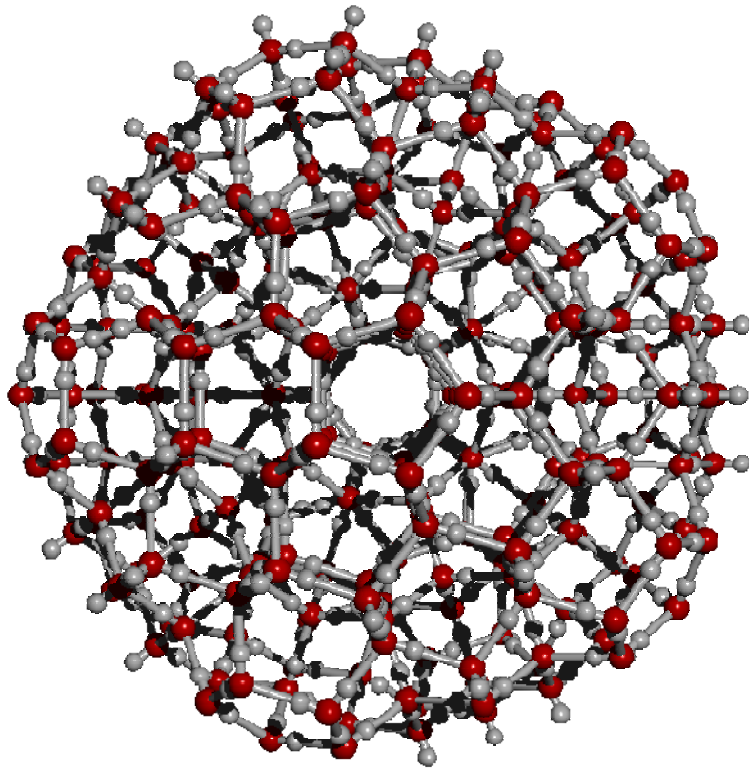
Struktura nizke gostote



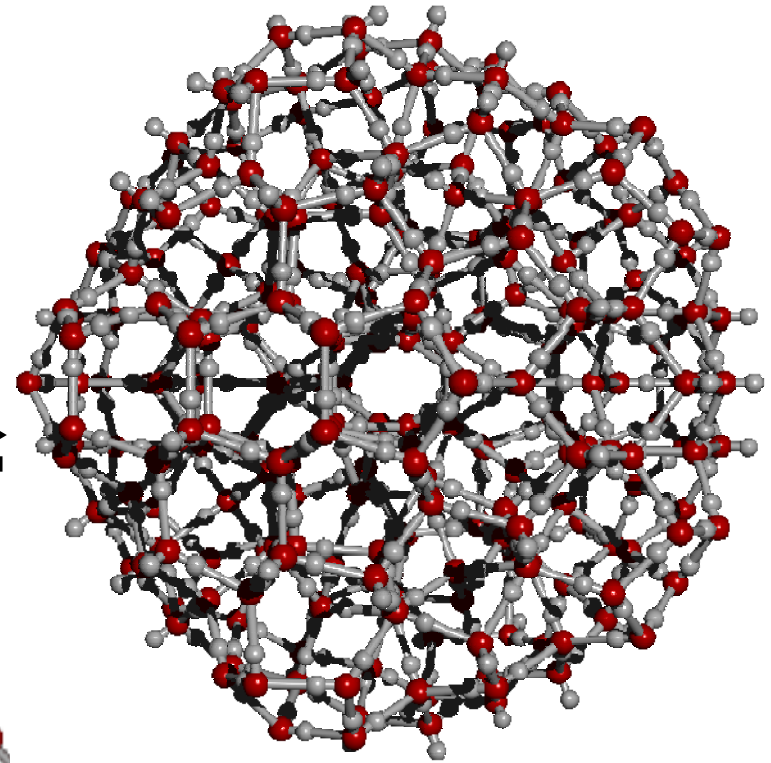
Kondenzirana struktura



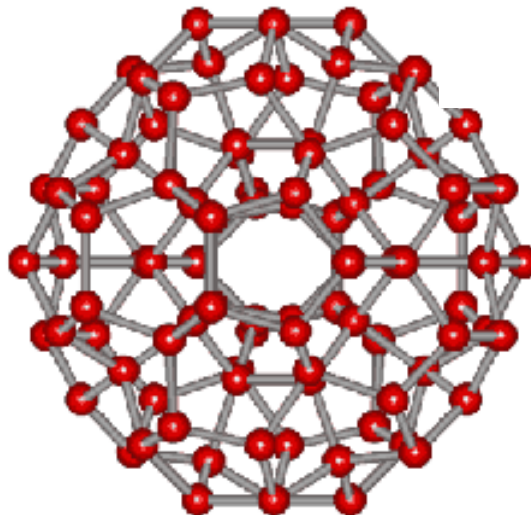
Voda: Ravnotežna dinamična struktura



Ekspandirana struktura
Nižja gostota
Počasnejša difuzija
Višja viskoznost

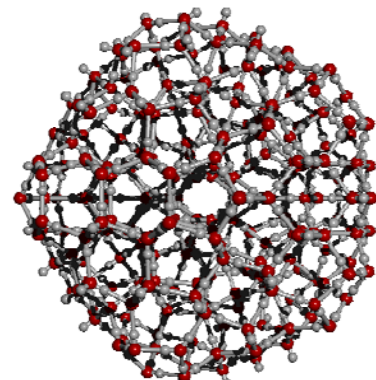
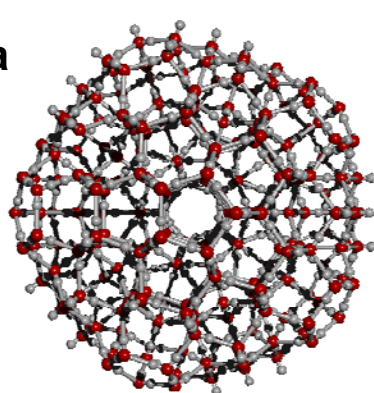


Zgoščena struktura
Višja gostota
Večji medsebojni vplivi
Bolj reaktivna oblika



Vplivi ionov na klastre

Ekspandirana struktura
Nižja gostota
Počasnejša difuzija
Višja viskoznost



Zgoščena struktura
Višja gostota
Večji medsebojni vpliv
Bolj reaktivna oblika

Kaotropni ioni

$\text{Cs}^+ > \text{Rb}^+ > \text{K}^+$

$\text{ClO}_4^- > \text{H}_2\text{PO}_4^- > \text{Cl}^-$

Leu, Ileu, Lys, Arg

Šibko hidratirani ioni z difuzno gostoto naboja. Stabilizirani centralni dodekahedron

kationi

anioni

Am. kisline

Kozmotropni ioni

$\text{Ca}^{2+} > \text{Li}^+ > \text{Na}^+$

$\text{SO}_4^{2-}, \text{HPO}_4^{2-}$

Asp, Glu

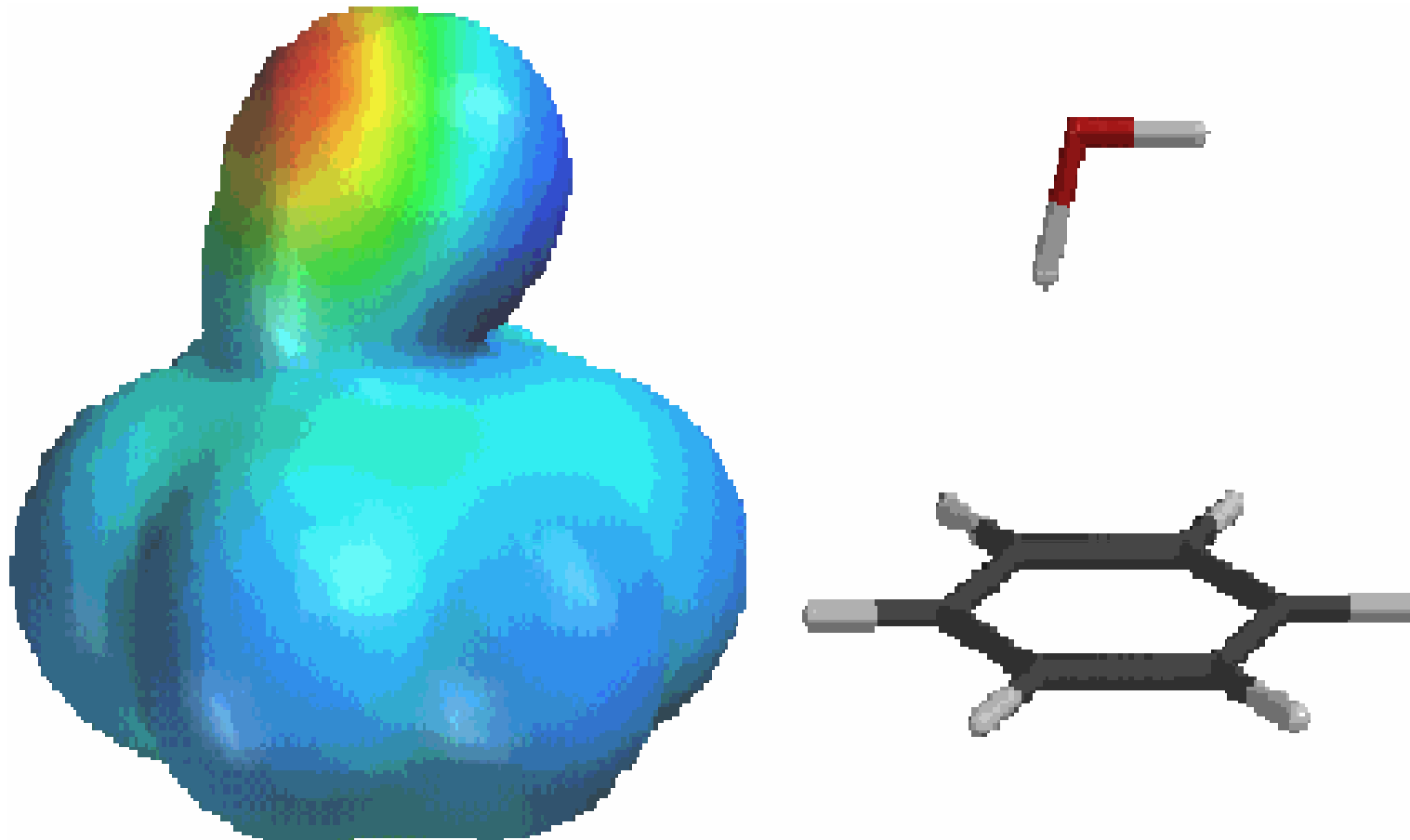
Močno hidratirani ioni z visoko gostoto naboja.



Voda kot univerzalno topilo

- Elektrostatske vezi med vodnim dipolom in drugimi dipoli
- Tvorba ionske vezi z ioni
- Tvorba vodikovih vezi s topljencem
- Tvorba vodikovih vezi med vodnimi molekulami

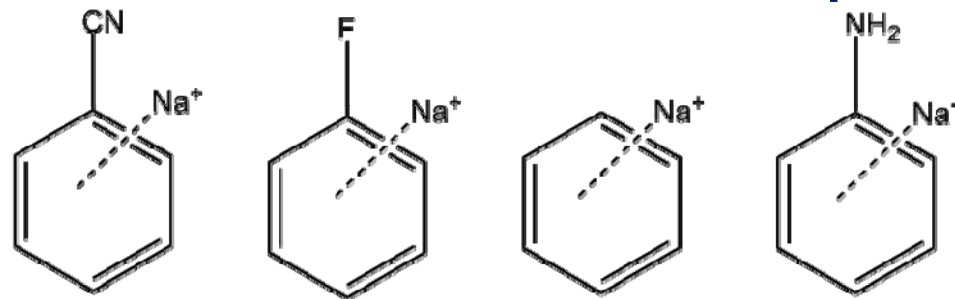
Benzen in voda





Kation- π interakcije

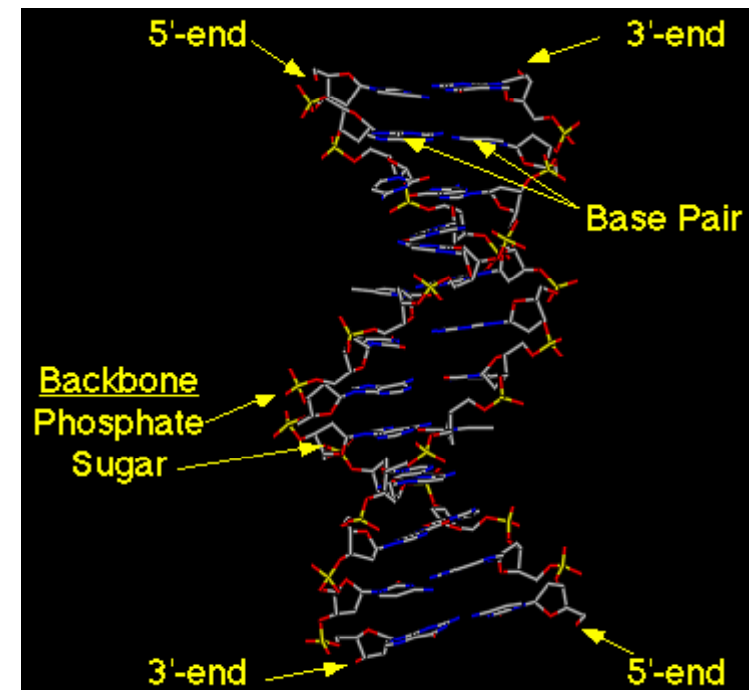
- Med kationom in kvadrupolnim momentom π -elektronskega oblaka aromатов
- po jakosti primerljive s H-vezmi
- Aromatski obroč – kvadrupol?





π - π interakcije

- Interakcije med aromatskimi obroči
- Neke vrste vodikove vezi med protoni enega aromata in π -elektronskim oblakom drugega
- Oblika?
- DNA?! Interkalatorji

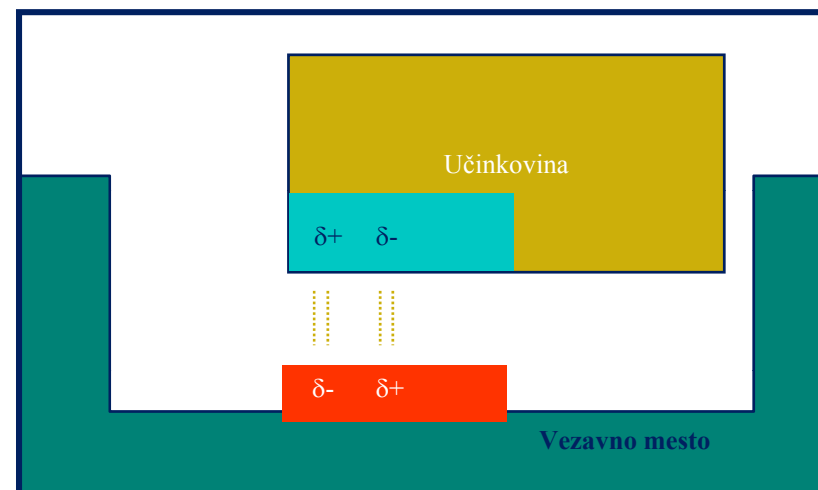
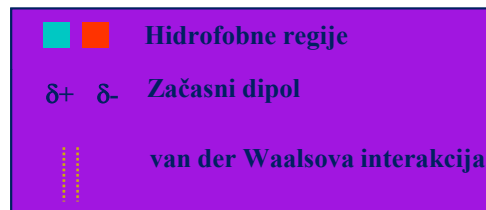




Van der Waalsove interakcije

= Londonove disperzijske sile

- Med hidrofobnimi regijami učinkovine in makromolekule – med nepolarnimi deli molekul!
- Šibke interakcije (2-4 kJmol⁻¹)

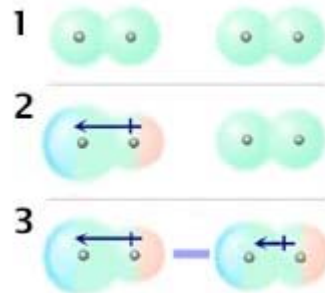




Van der Waalsove interakcije

= Londonove disperzijske sile

- En trenuten dipol inducira nastanek drugega dipola, privlak je posledica interakcije trenutnih dipolov.

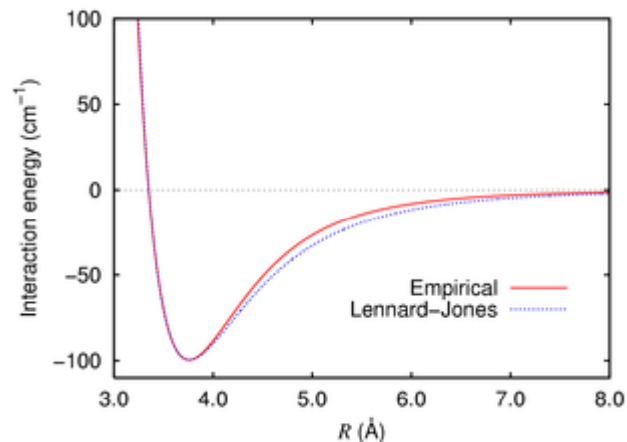


- Polarizabilnost: zmožnost deformacije elektronskega oblaka molekule
- Naraščajo z molsko maso
- univerzalne, odvisne so od oblike molekule, so sorazmerne kontaktni površini



Van der Waalsove interakcije

- Moč vezi pada izjemno hitro z razdaljo -
Lennard-Jonesov potencial

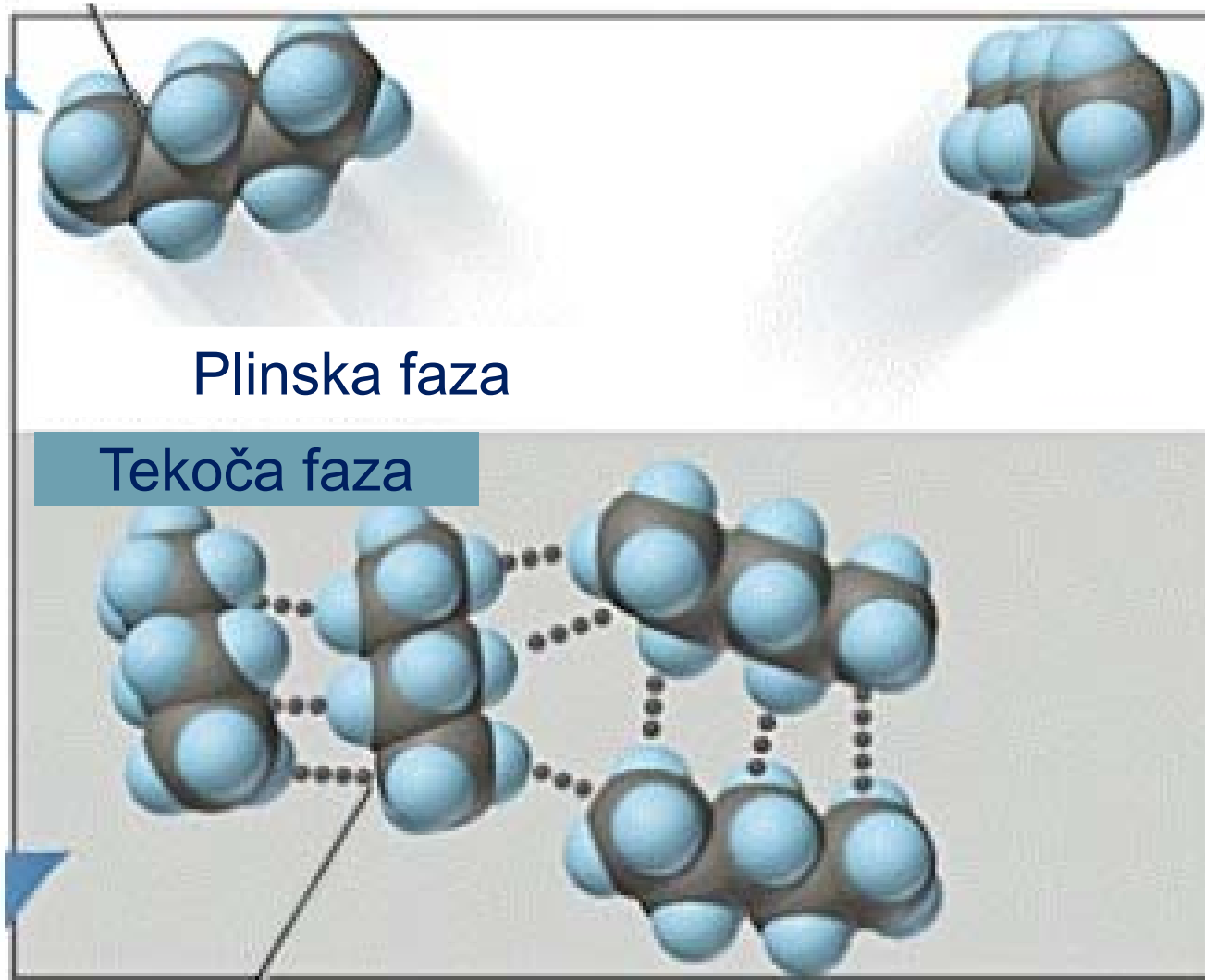


$$E \sim E_{\text{odboj}} - E_{\text{privlak}}$$

\swarrow \searrow

Pada z r^{12} Pada z r^6

- Učinkovina v bližini vezavnega mesta!
- Celoten doprinos k vezavi učinkovine ponavadi razmeroma velik



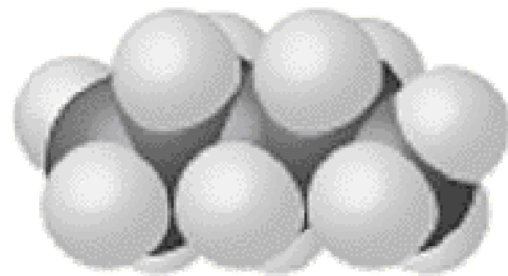
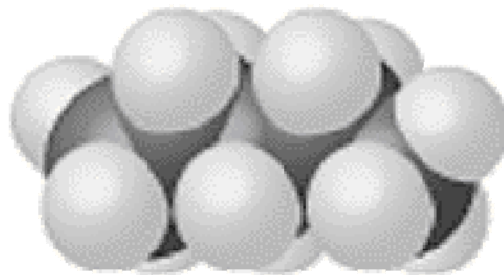
Plinska faza

Tekoča faza

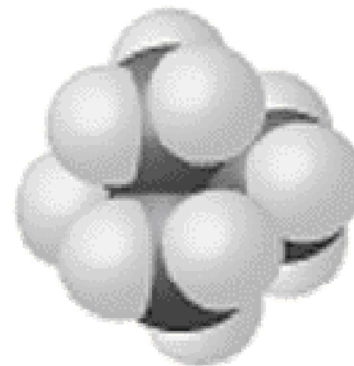
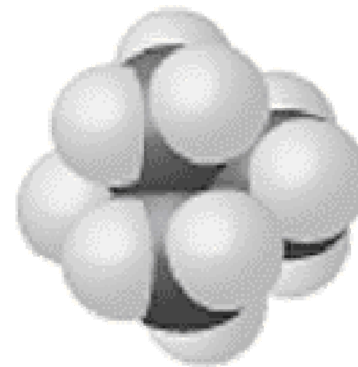
Šibke privlačne sile med molekulami



Vpliv na vrelišče



n-Pentane
(bp = 309.4 K)



Neopentane
(bp = 282.7 K)



Hidrofobne interakcije

- **Hidrofobni efekt:** nizka topnost ogljikovodikov in drugih nepolarnih molekul v vodi in njihova povečana tendenca po združevanju.
- **Hidrofobne interakcije:** so posredne in vodijo do združevanja nepolarnih molekul v vodi.



Hidrofobne interakcije

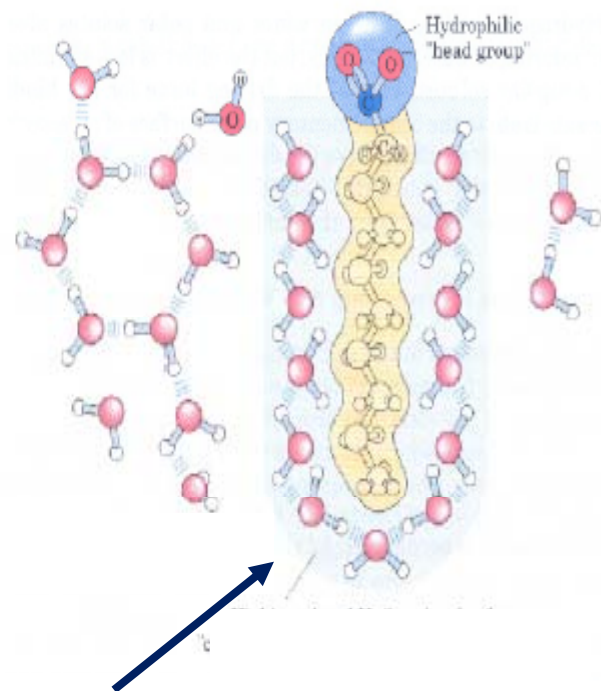
- Posredne interakcije, prisotne samo v vodi.
- Posledica vodikovih vezi med vodnimi molekulami in entropijskih efektov
- Sorazmerne velikosti nepolarne površine
- Kratkosežne in usmerjevalne



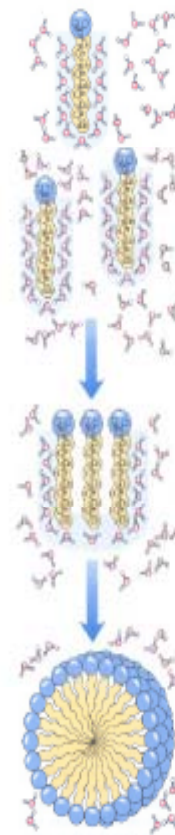
Hidrofobne interakcije

- Hidrofobne regije makromolekule in tarče niso solvatirane
- Molekule vode interagirajo med seboj in tvorijo “organizirane” plasti okoli teh regij-negativna entropija!
- Interakcije med hidrofobnimi regijami učinkovine in makromolekule “sprostijo” organizirano vodo
- Rezultat je povečanje entropije in porast celokupne vezavne E
- **$E \sim 0,1-0,2 \text{ kJ/molÅ}^2$**

Hidrofobne interakcije



Urejanje vodnih molekul
ob nepolarni površini
pomeni zmanjševanje entropije



Entropija povzroči
nastanek
kompleksnejših
struktur v vodi

micel



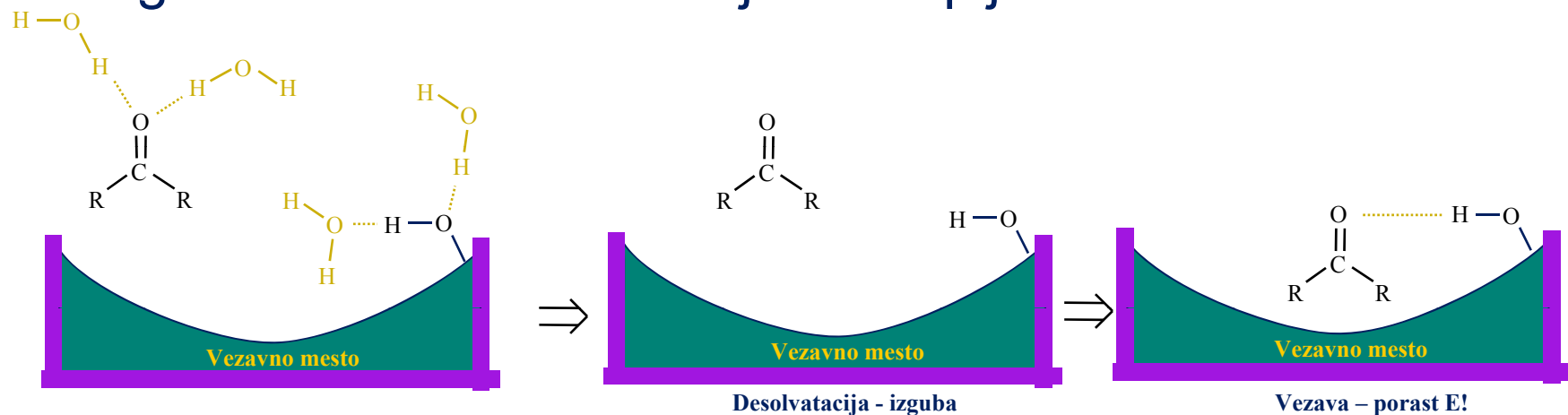
Opis vezave učinkovina-receptor

- ΔH vezave, ΔH H-vezi med mol. vode (+)
- Sterična komplementarnost (+/-)
- Desolvatacija (-)
- Izguba translacijskih in rotacijskih p.s.(-)
- Inducirano prileganje (-)
- **Bioaktivna konformacija?!**



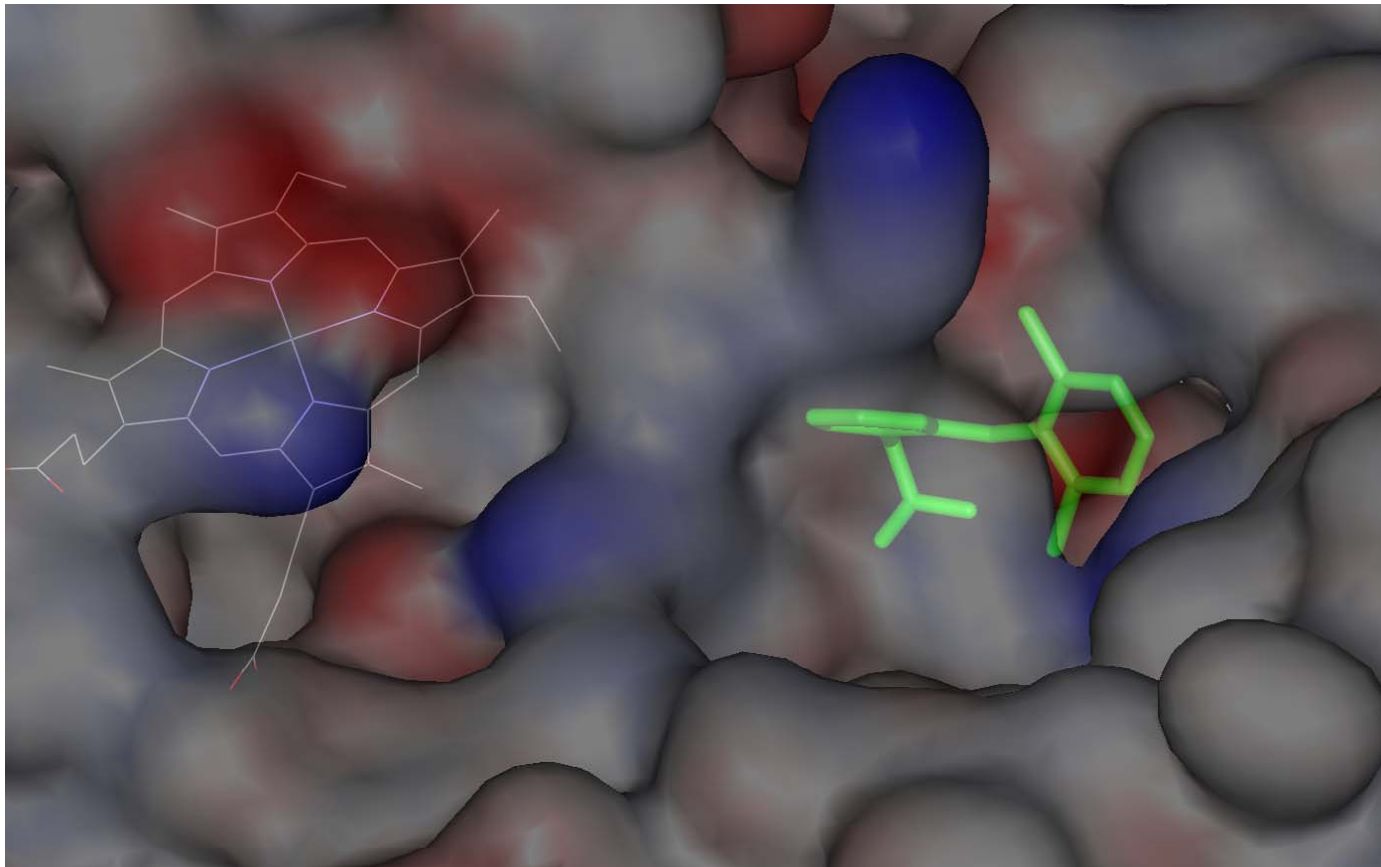
Desolvatacijske izgube

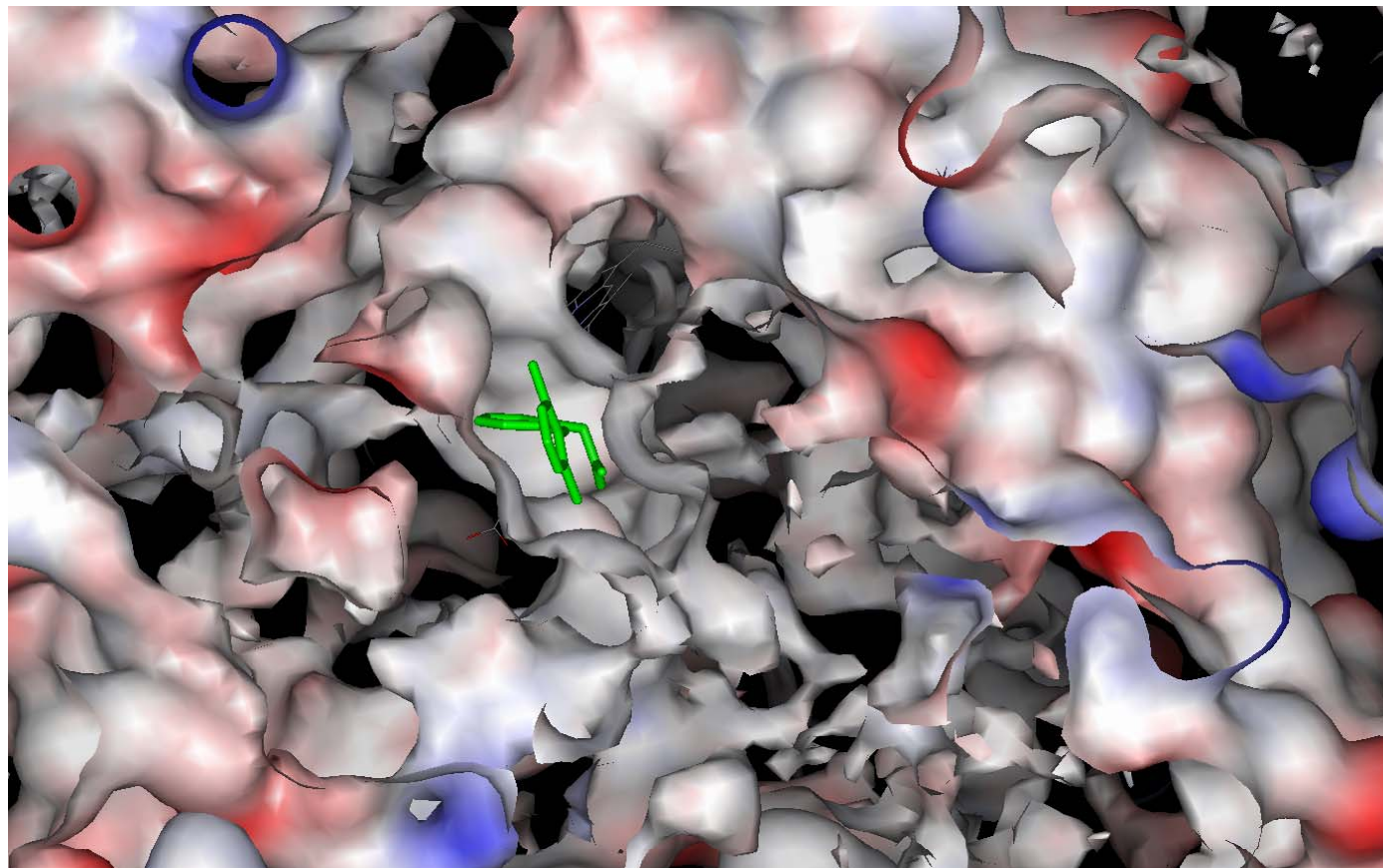
- Interakcije v vodnem mediju!
- Polarne regije proteina in učinkovine so solvatirane!
- Desolvatacija je nujna in prinaša E izgube
- Izguba zaradi desolvatacije < entalpija vezave

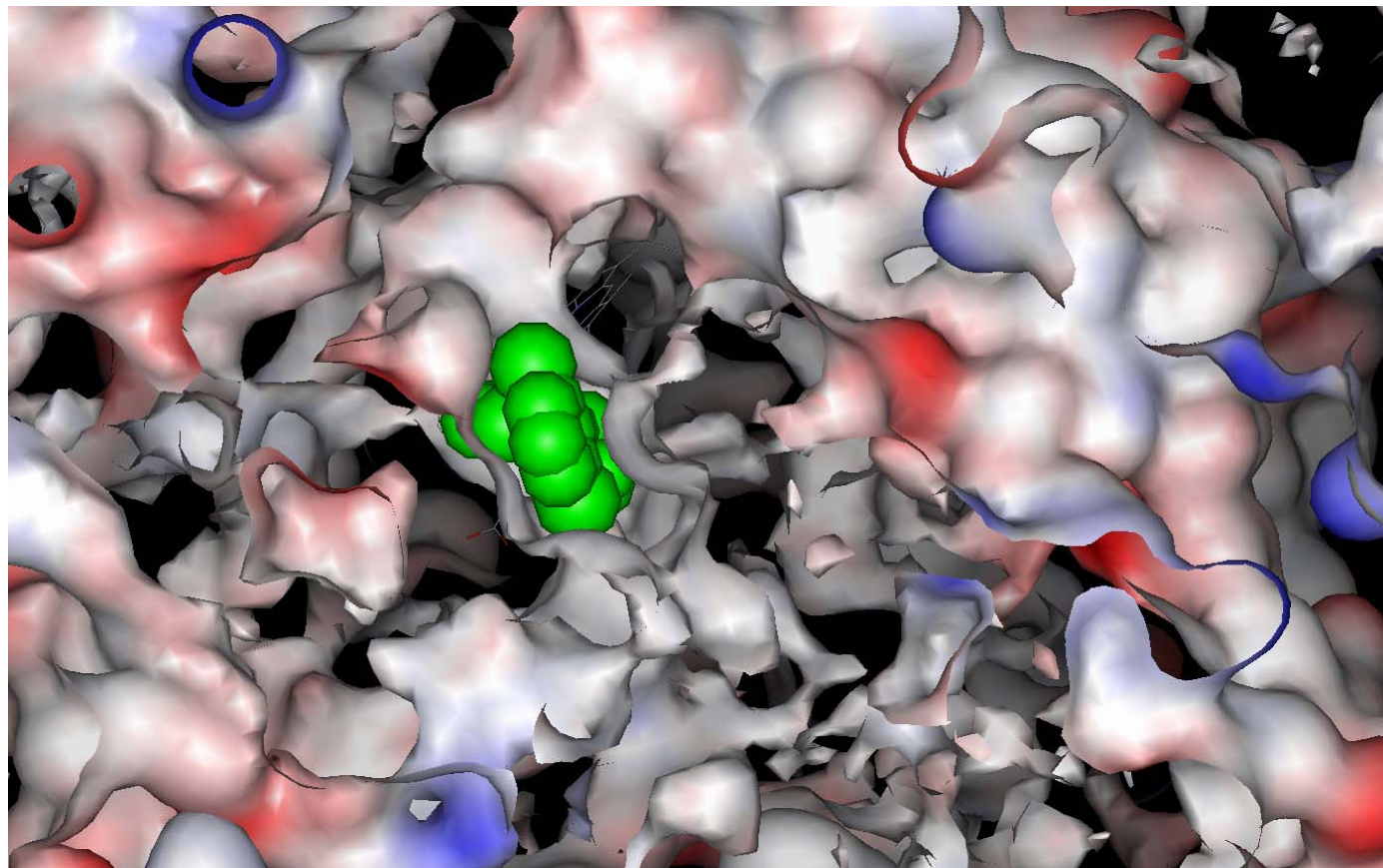




Dikofenak / COX-2









Literatura predavanj

G. L. Patrick: An introduction to medicinal chemistry, Oxford University press, 3rd ed., 2005:

- 2 poglavje