

Abstrakt

Předkládaná disertační práce se zabývá studiem nekovalentních interakcí biologicky aktivních molekul pomocí spektroskopie nukleární magnetické rezonance (NMR spektroskopie) a teoretických výpočtů. Teoretický úvod práce slouží jako základní přehled literatury vyzdvihující nejdůležitější spektroskopické studie nekovalentních interakcí. Současně tato část představuje NMR spektroskopii i širšímu publiku. Téměř učebnicový text o fyzikálních aspektech této metody tak čtenáři zajišťuje snazší orientaci v experimentální části. Obdobně jsou v práci představeny i základy výpočetní chemie. Cílem disertační práce bylo popsat roli nekovalentních interakcí v systémech biologicky aktivních molekul. Experimentální část práce se detailně zabývá vodíkovými vazbami modifikovaných nukleových bází, interakcemi ovlivňujícími keto-enol tautomerii farmakologicky aktivních molekul a vlivem primárních struktur v krátkých peptidových sekvencích na jejich schopnost adaptovat konformační motivy obdobné sekundárním strukturám proteinů.

Methylace a oxidace se řadí mezi nejčastější přirozené modifikace nukleových bází. Jejich vlivem dochází ke změnám v základní schopnosti nukleových bází tvořit vodíkové vazby se svými partnery. V rámci disertační práce bylo například objeveno, že methylace dusíku aminoskupiny, která se v molekule adeninu účastní vodíkové vazby s thyminem, tento pár stabilizuje. Navíc páry bází spojené dvěma vodíkovými vazbami upřednostňovaly interakci zahrnující Hoogsteenovu stranu molekuly adeninu. Nicméně, největší stabilita byla pozorována u páru s molekulou 2-(methylamino)adeninu, která thyminu nabízí tři vodíkové vazby své Watson-Crickovy strany. Tato pozorování nás vedla k otázce, jestli je stabilita párů řízena počtem vodíkových vazeb anebo geometrií interakce jako takovou. Rozšířili jsme tedy studii o další analoga purinu (8-aminoadenin a purinové báze oxidované v poloze 8), která nabízejí tři vodíkové vazby i na Hoogsteenových stranách.

Disertační práce následně diskutuje získaná experimentální data v oblasti keto-enol tautomerie skupiny analogů přírodních léčiv – kurkuminoidů. Ačkoliv byla tautomerní rovnováha podobných sloučenin intenzivně studovaná i v minulosti, publikovaná NMR data jsou stále plná kontroverzí o poloze rovnováhy a rychlosti jejího ustalování. Díky získaným experimentálním datům se nám podařilo rozpoznat hlavní faktory, které rychlost ustalování tautomerních rovnováh kurkuminoidů ovlivňují. Dále jsme se zaměřili na studium polohy rovnováh substituovaných kurkuminoidů. Diketo tautomer mírně převažoval v rovnovážných směsích většiny látek, lišících se substitucí v poloze 4 nebo na aromatických kruzích. Ketoenol tautomer byl preferován u jediného derivátu.

Poslední část disertačního projektu se věnuje zapojení NMR spektroskopie v konformační analýze peptidů. Tato studie byla založena na výsledcích získaných výpočetními chemiky, které předpovídaly tendence tripletů aminokyselin tvořit šroubovicové nebo skládané struktury. NMR spektroskopie je nedocenitelný nástroj v oblasti konformační analýzy, protože torzní úhel mezi atomy ovlivňuje hodnotu vicinální spin-spinové interakce $^3J_{\text{NH,H}\alpha}$, kterou lze odečíst z jednodimenzionálního vodíkového spektra. Na základě teplotních závislostí $^3J_{\text{NH,H}\alpha}$ bylo možné rozlišit tripletu aminokyselin, které preferují šroubovicové (α nebo PPII) nebo skládané motivy. Výpočetní a experimentální data tak potvrdily, že schopnost tvořit sekundární struktury proteinů může být implementována již na úrovni pořadí aminokyselin v jejich řetězci.

Tato disertační práce tak přináší řadu nových poznatků do problematiky nekovalentních interakcí malých bioaktivních molekul. Výsledky práce byly publikovány ve čtyřech článcích otištěných v impaktovaných vědeckých časopisech.