

CIRKULARNI DIKROIZAM

Mirsada Ćehić, mag. chem.

Prof. dr. sc. Davor Kovačević

Fizikalna kemija makromolekula

Doktorski studij kemije – Fizikalna kemija

akad. godina: 2016./2017.

SADRŽAJ

1. Uvod
2. Polarizirano zračenje
3. Kiralne / asimetrične molekule
4. Primjene
 - 4.1. Određivanje sekundarne strukture
 - 4.2. Interakcije protein – ligand
 - 4.3. Termodinamika smatanja proteina
 - 4.4. Promjene konformacije
 - 4.5. Kinetika smatanja proteina

1. UVOD

- Cirkularni dikroizam (skraćeno CD) je spektroskopska metoda koja otkriva informacije o kiralnosti molekule.
- Koristi se kod proučavanja i kvantifikacije optički aktivnih spojeva i njihovih interakcija, jer kiralne ili asimetrične molekule različito apsorbiraju lijevo i desno polarizirano zračenje.
- Informacije iz CD spektra daju mogućnost jedinstvene identifikacije kiralnih spojeva, njihovih konfiguracija, daju mogućnost predviđanja sekundarnih struktura proteina i drugih bioloških makromolekula, moguće je pratiti procese vezivanja liganada.¹

¹ <http://www.irb.hr/Gospodarstvo/Usluge-i-ekspertize/Spektrometar-cirkularnog-dikroizma-i-opticke-rotacijske-disperzije>

1. UVOD

- CD pronalazi primjenu u svim granama koje rabe optički aktivne tvari.¹
- Osim u znanosti, CD je nezaobilazna tehnika i u farmaceutskoj industriji, gdje se koristi za praćenje razvoja kiralnih lijekova. (Talidomid^{2,3})
- Koristi i u medicini rada za biološka praćenja izloženosti populacije pojedinim toksičnim tvarima.

² Miller, M. T. , "Thalidomide Embryopathy: A Model for the Study of Congenital Incomitant Horizontal Strabismus, Transaction of the American Ophthalmological Society, **81**, 623–674, 1991.

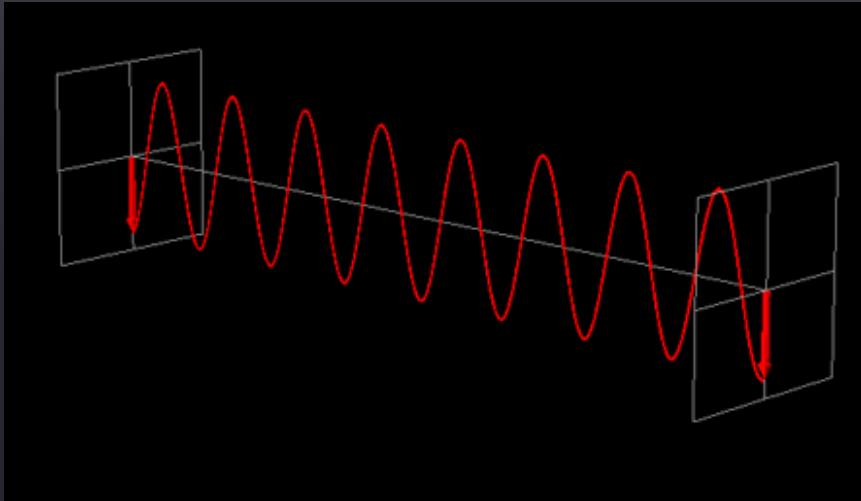
³ Heaton, C. A., *The Chemical Industry*. Springer. p. 40. , 1994. (ISBN: 0-7514-0018-1)

2. POLARIZIRANO ZRAČENJE

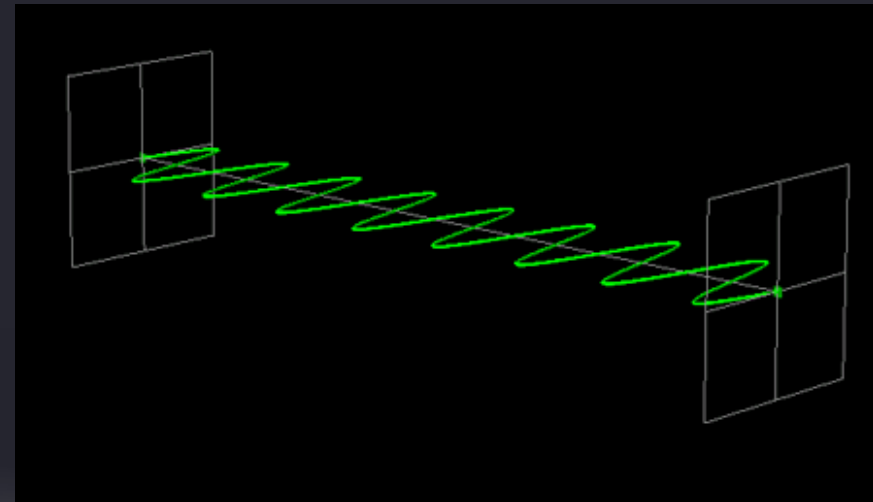
- Sva polarizirana stanja zračenja se mogu opisati kao suma dvaju linearnih polarizacija čije ravnine su jedna prema drugoj pod kutem.
- Linearno polarizirano zračenje je zračenje čije oscilacije su ograničene na jednu ravninu.
- U odnosu na promatrača imamo okomito i vodoravno polarizirano zračenje, slika 1. i 2.⁴
- Kod prolaska kroz medij koji sadrži optički aktivni spoj, svjetlost po izlasku iz medija nije više polarizirana linearno, nego eliptično, a intenzitet te pojave i njezina ovisnost o valnoj duljini svjetlosti služe za objašnjenje strukture, odn. apsolutne konfiguracije spojeva.

⁴ <https://www.photophysics.com/resources/tutorials/circular-dichroism-cd-spectroscopy>

2. POLARIZIRANO ZRAČENJE



Slika 1. Vertikalno polarizirana svjetlost⁵

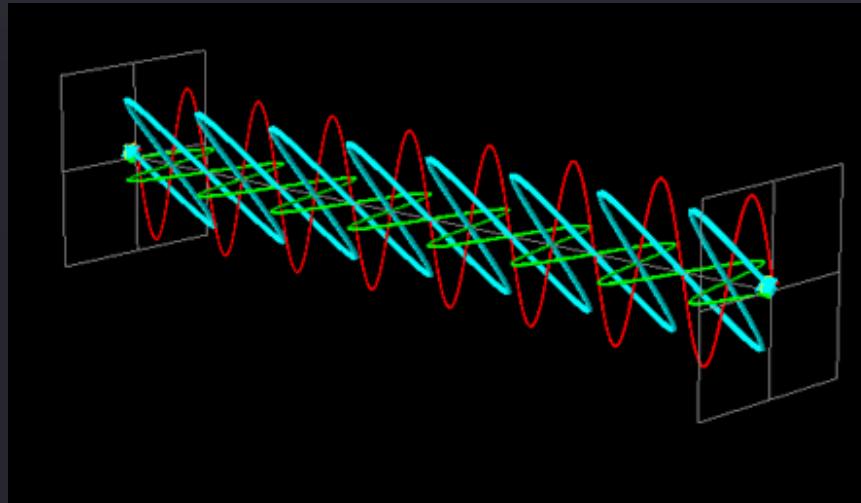


Slika 2. Horizontalno polarizirana svjetlost⁶

⁵ <https://www.photophysics.com/sites/default/files/files/verticalpol2.gif>

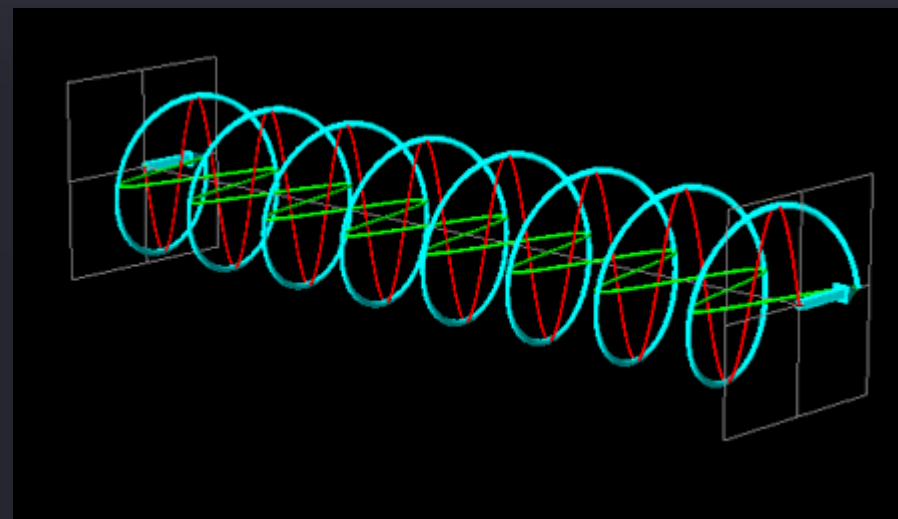
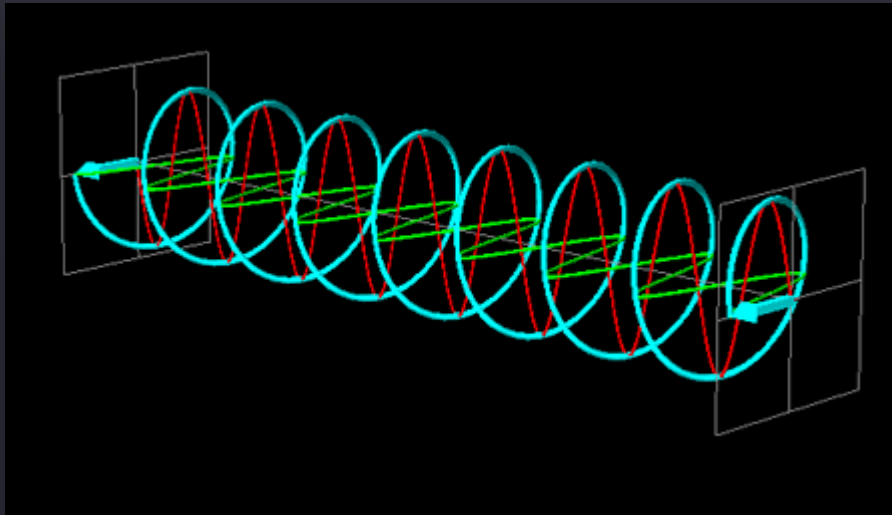
⁶ <https://www.photophysics.com/sites/default/files/files/horizontalpol2.gif>

2. POLARIZIRANO ZRAČENJE



Slika 3. Polarizirano zračenje pod kutem od 45°

2. POLARIZIRANO ZRAČENJE



Slika 4. Rotacija polariziranog zračenja na desno⁸

Slika 5. Rotacija polariziranog zračenja na lijevo⁹

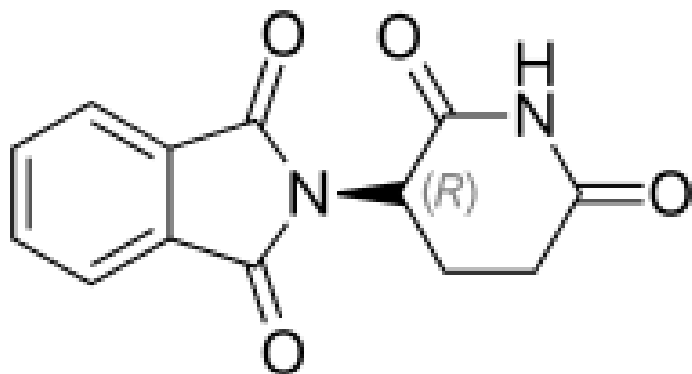
⁸ <https://www.photophysics.com/sites/default/files/files/lefthandcircular2.gif>

⁹ <https://www.photophysics.com/sites/default/files/files/righthandcircular2.gif>

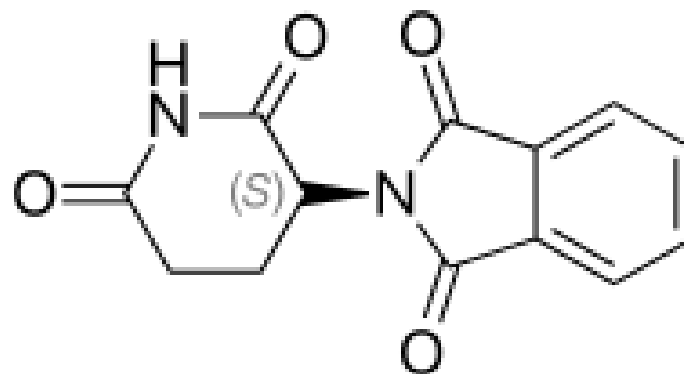
3. KIRALNE / ASIMETRIČNE MOLEKULE

- Sve molekule koje postoje u dvama različitim oblicima, koji se međusobno odnose kao predmet i njegova zrcalna slika.
- Govorimo o konfiguracijskim stereoizomerima, tzv. enantiomerima, koji se razlikuju u prostornom rasporedu različitih supstituenata vezanih na kiralni atom, slika 6. i 7.
- Određivanje konfiguracije ide prema Cahn-Ingold-Prelog pravilima, tzv. CIP sustav, koji primarno se primjenjuje u organskoj kemiji. Temelj je dodjeljivanje prioriteta svim supstituentima koji su vezani na kiralni atom od interesa.

3. KIRALNE / ASIMETRIČNE MOLEKULE



(R) - Talidomid; sedativ

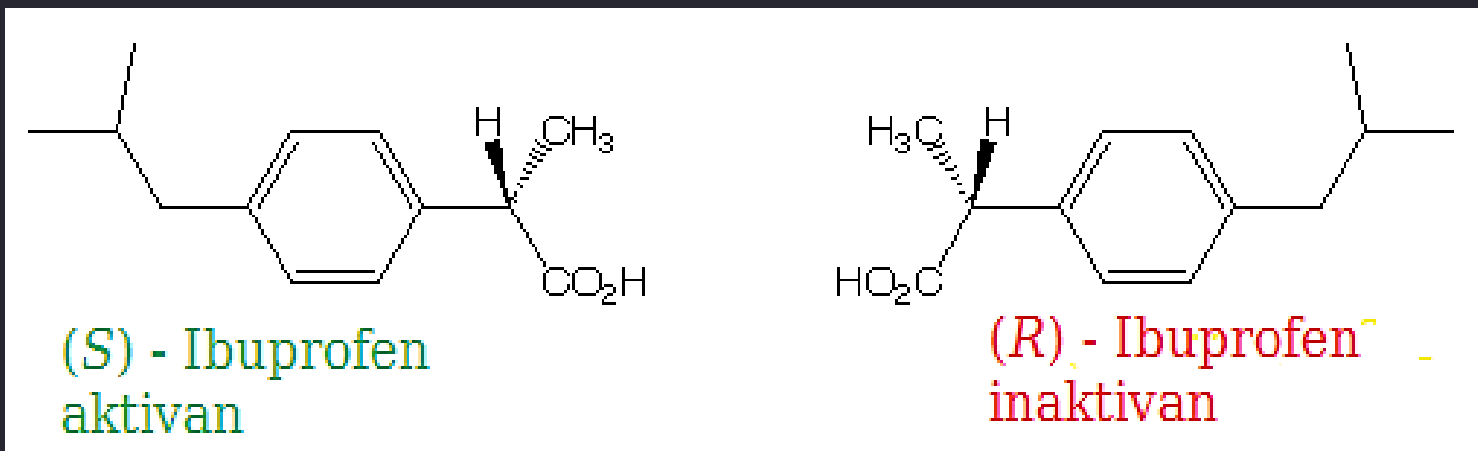


(S) - Talidomid; teratogen

Slika 6. Kiralna molekula, enantiomeri Talidomida¹⁰

¹⁰<http://www.asu.edu/courses/chm233/notes/chirality/chiralityRL2/thalidomide.html>

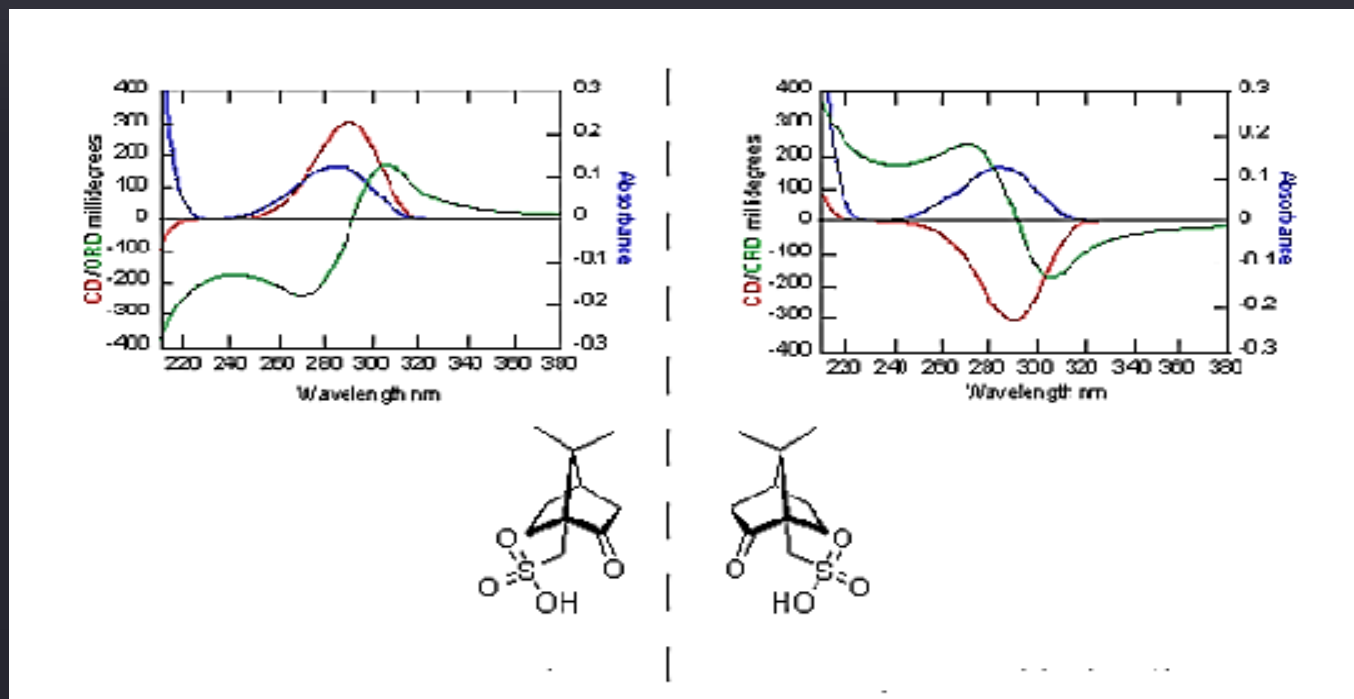
3. KIRALNE / ASIMETRIČNE MOLEKULE



Slika 7. Kiralna molekula, enantiomeri
Ibuprofena¹⁰

¹⁰<http://www.asu.edu/courses/chm233/notes/chirality/chiralityRL2/thalidomide.html>

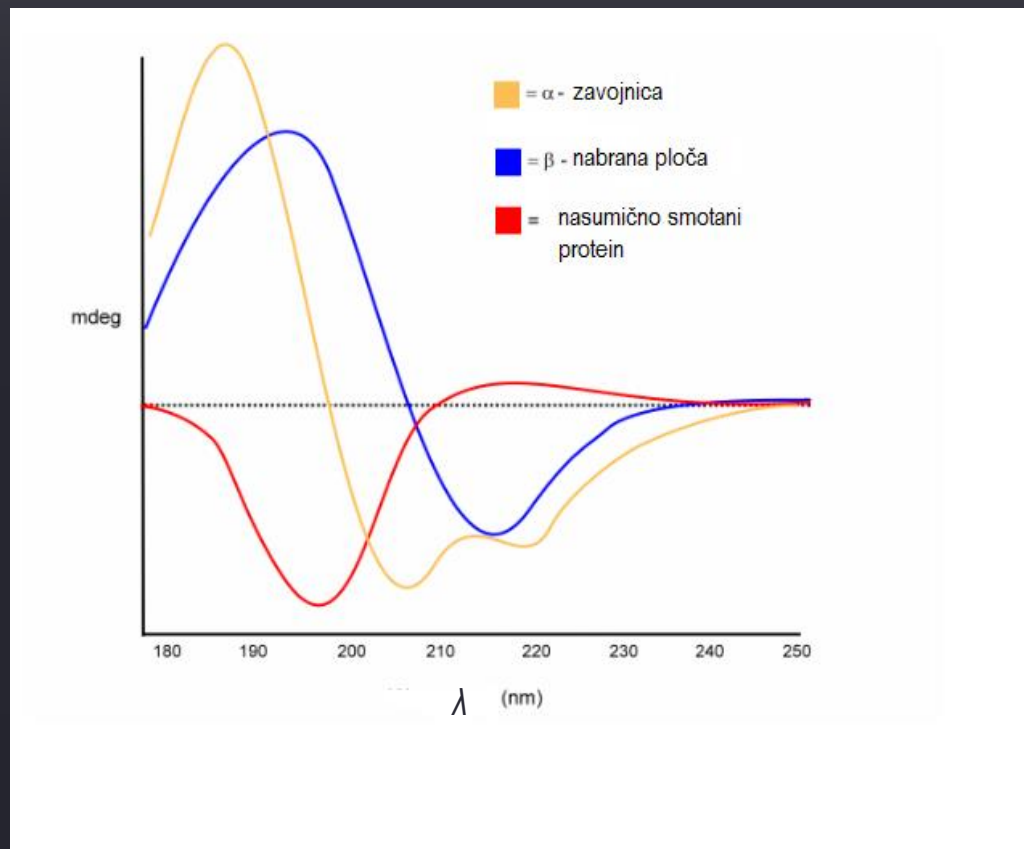
4. PRIMJENA KOD KIRALNIH MOLEKULA



Slika 7. CD spektar (S) i (R) – kamfor – 10 – sulfonske kiseline¹¹

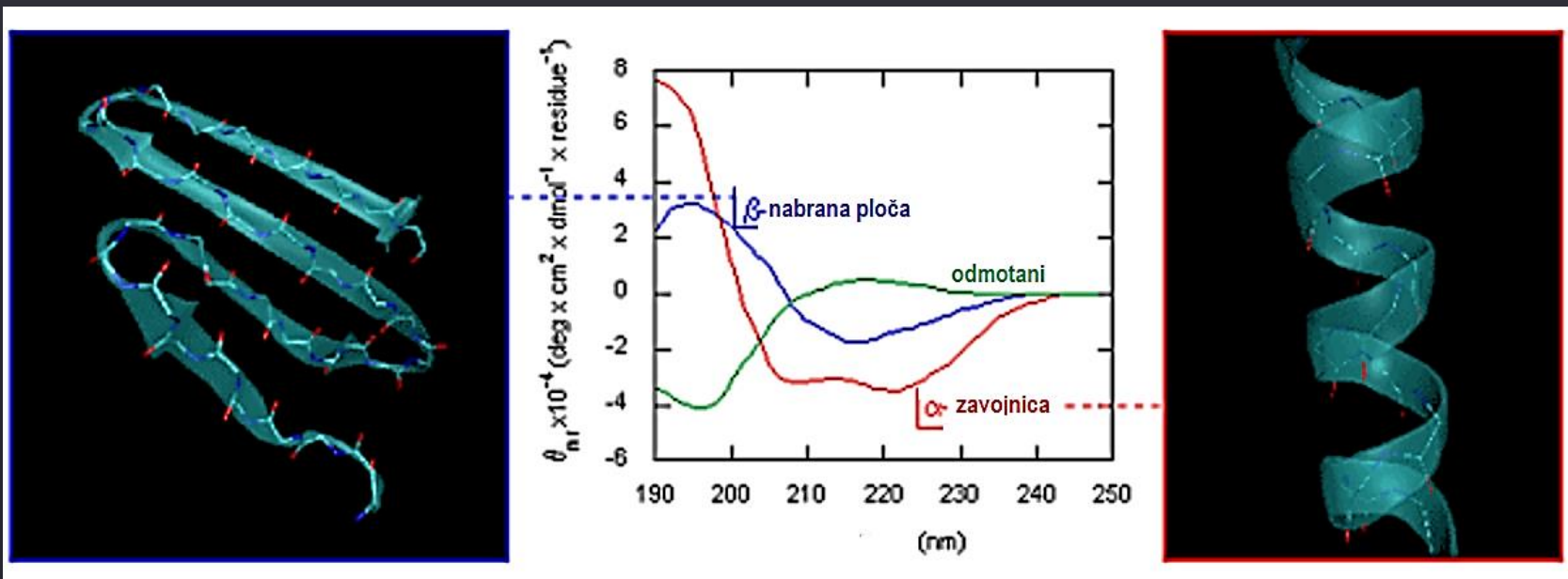
¹¹<https://www.photophysics.com/sites/default/files/files/orcdcdabs.png>

4.1. ODREĐIVANJE SEKUNDARNE STRUKTURE



Slika 9. Usporedba CD spektara različitih sekundarnih struktura¹²

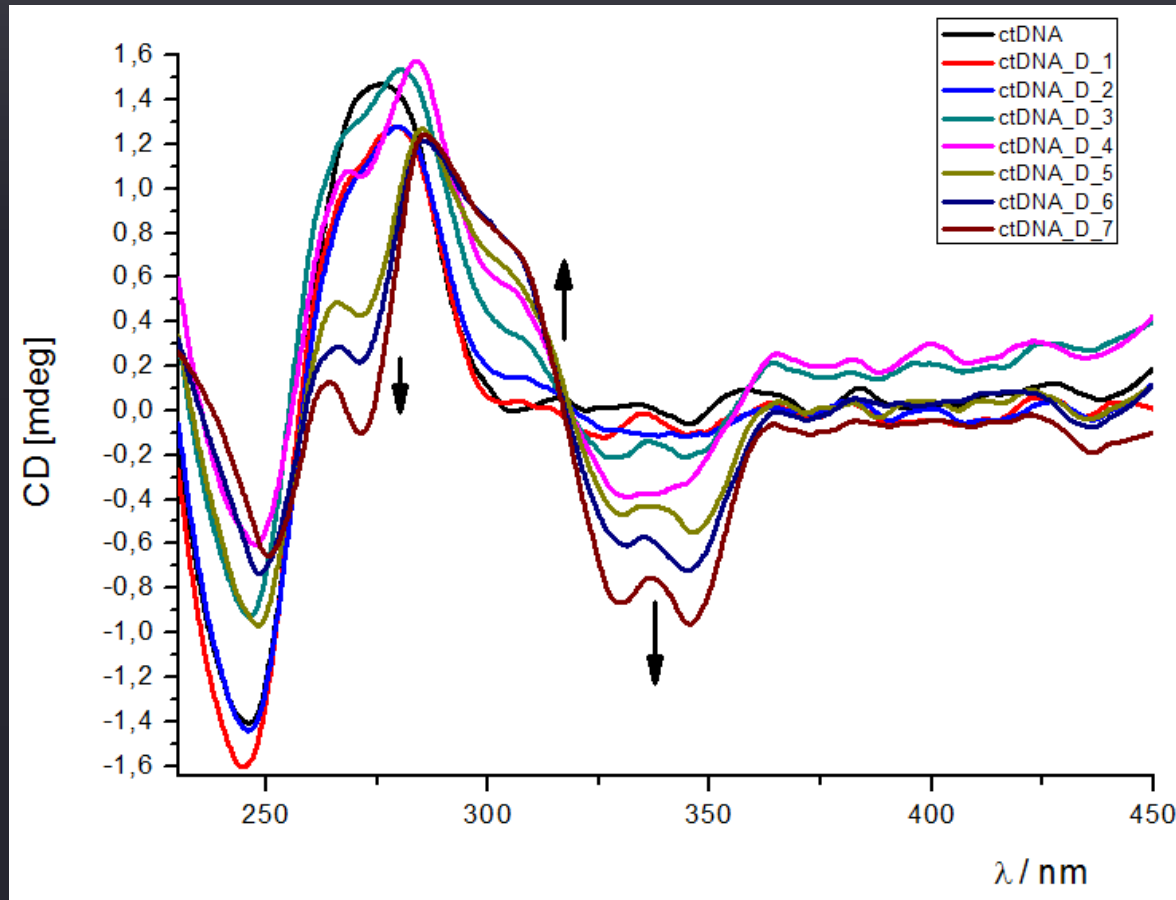
¹²<http://www.proteinchemist.com/cd/cdspec.html>



Slika 10. Usporedba CD spektara različitih sekundarnih struktura¹³

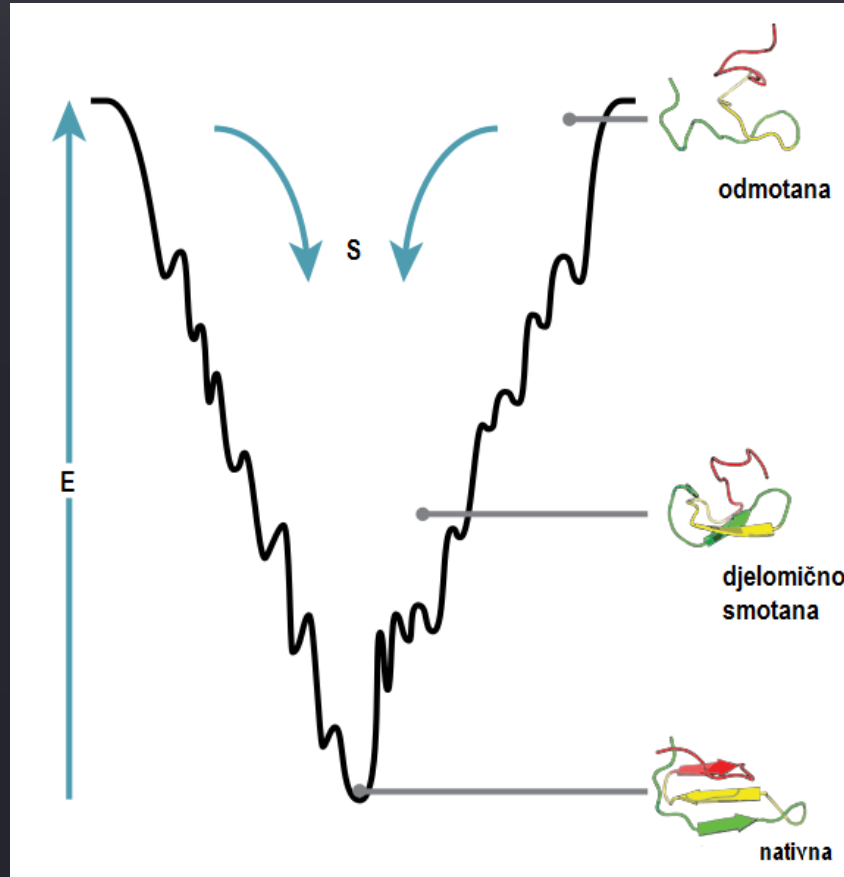
¹³https://www.photophysics.com/sites/default/files/files/cdspectra_helix_sheet.png

4.2. INTERAKCIJE MAKROMOLEKULA – LIGAND



Slika 11. Promjene CD spektra uslijed interakcija liganda s ctDNA¹⁴

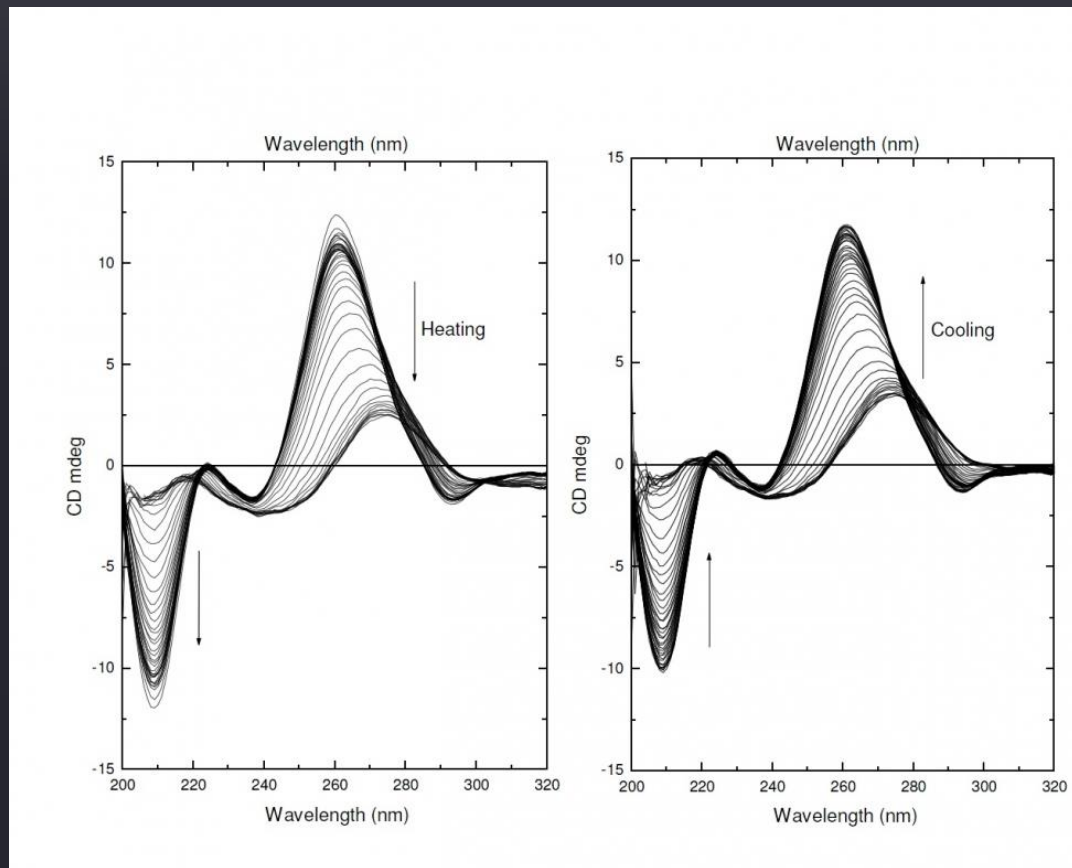
4.3. TERMODINAMIKA SMATANJA PROTEINA



Slika 12. Prikaz promjene energije i entropije ovisno o stupnju smatanja proteina¹⁵

¹⁵https://en.wikipedia.org/wiki/File:Folding_funnel_schematic.svg

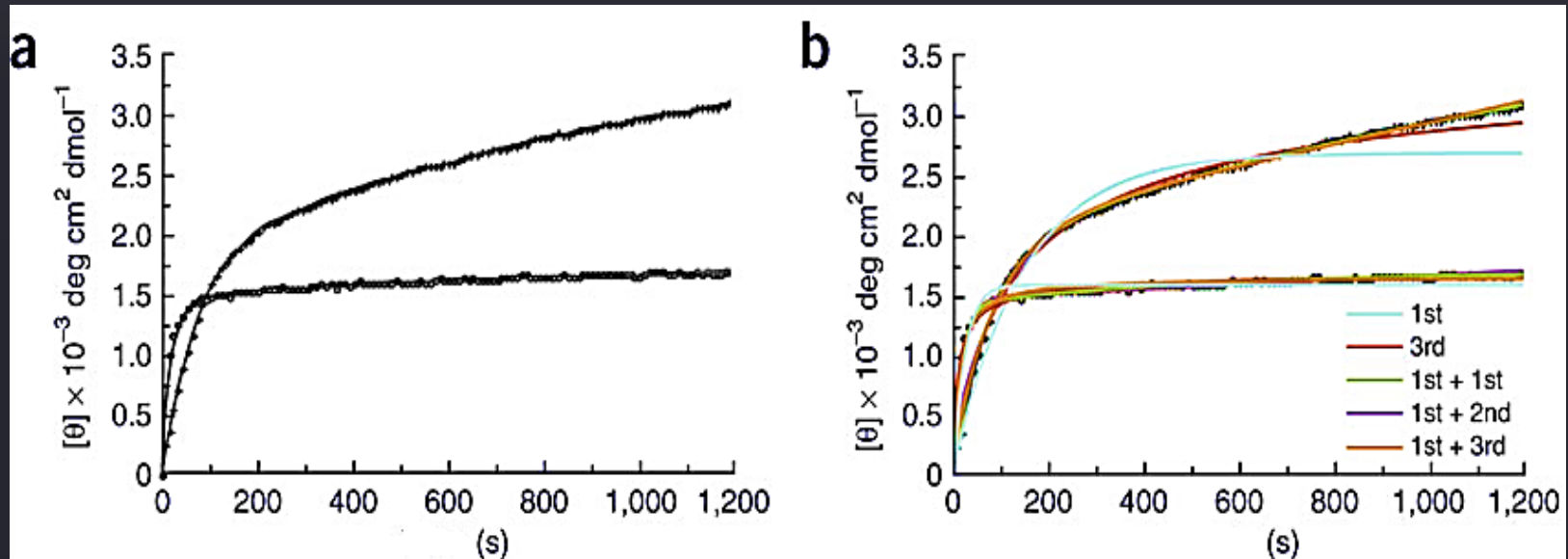
4.4. PROMJENE KONFORMACIJE



Slika 13. CD spektar proteina u ovisnosti o promjeni temperature¹⁶

¹⁶<https://www.photophysics.com/lab/analysis-nucleic-acids-using-circular-dichroism>

4.5. KINETIKA SMATANJA PROTEINA



Slika 14. Smatanje kolagenskog modelnog peptida (wt i G14A mutanta) dano kao funkcija vremena¹⁷

¹⁷Greenfield, N. J., *Analysis of the kinetics of folding of proteins and peptides using circular dichroism*, Nat. Protoc., **1**, (6), 2891-5899, 2006. (doi:10.038/nprot.2006.244.)

Hvala!