

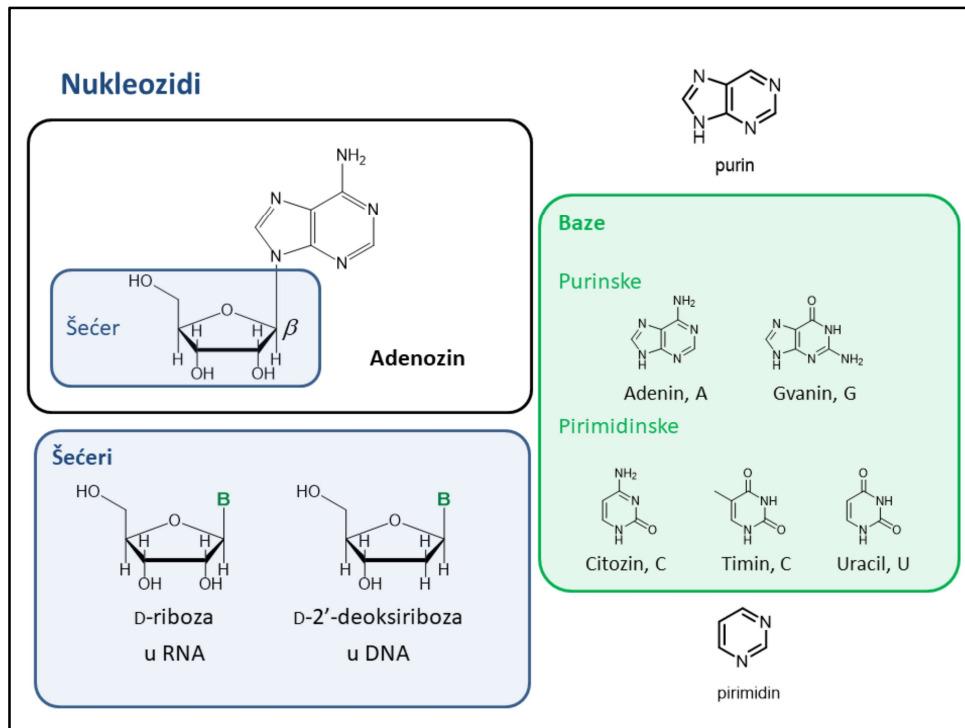
Osnove kemije prirodnih organskih spojeva

2. Nukleozidi, nukleotidi i polinukleotidi

Konformacija, sinteza i biosinteza nukleozida. Nukleotidi.
Sinteza i biosinteza nukleotida. Oligo- i polinukleotidi.
Sinteza i biosinteza oligo- i polinukleotida.

doc. dr. sc. Đani Škalamera

Sljedeća tema kojom ćemo se baviti su nukleinske kiseline i njihovi sastavni dijelovi. I dalje se radi o primarnim metabolitima. Primarni metaboliti bitni su za normalan rast, funkciju, razvoj i reprodukciju.

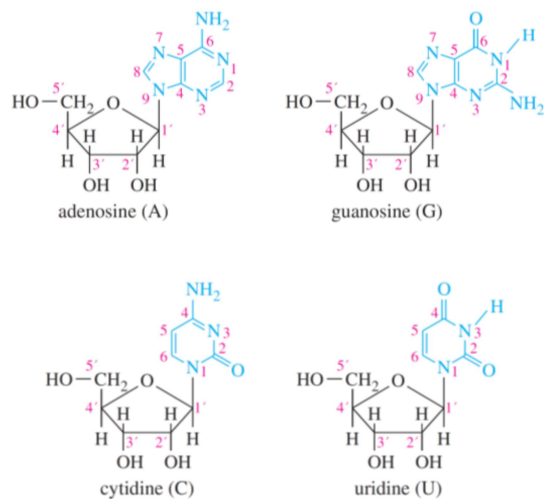


Nukleinske kiseline su polimeri nukleotida, čiji su dijelovi nukleozidi. Nukleozidi se sastoje od šećerne jedinice - riboze (u RNA) ili deoksiriboze (u DNA) na koju je vezana nukleobaza. Nukleobaza je na šećernu jedinicu vezana beta-glikozidnom vezom. Nukleobaze su heterocikli koji su derivati purina, odnosno pirimidina. U RNA je prisutan uracil umjesto timina. U DNA je obrnuto, timin umjesto uracila.

U RNA je šećer riboza, a u DNA deoksiriboza. 2-Deoksiriboza je šećer koji se od riboze razlikuje u tome što je OH skupina na C-atomu broj 2 zamijenjena vodikom.

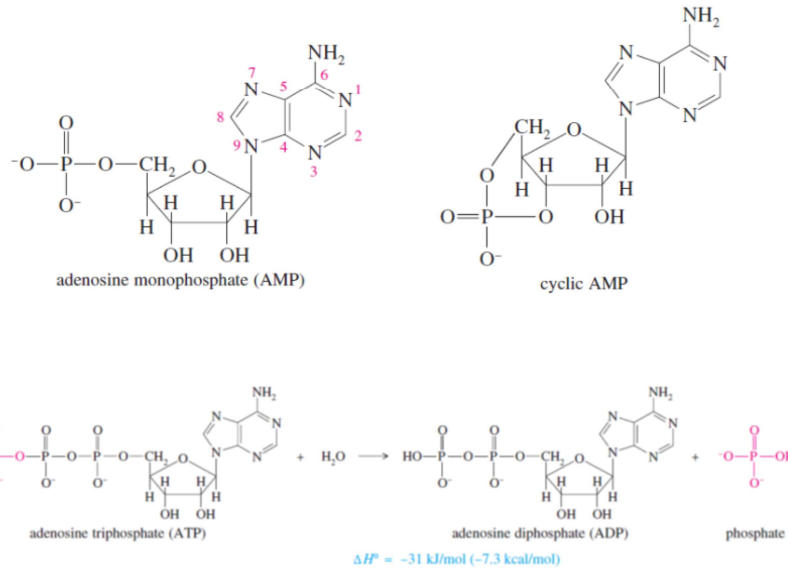
Nukleozidi

- brojanje (lokanti)



Bitno je da ste familijarni s brojanjem atoma u ovim molekulama, jer se kod DNA ili RNA uvijek govori o 3' ili 5' kraju lanca. Neki mutageni reagensi djeluju tako da alkiliraju gvanin na N7. Iz prikazanih slika jasno je što znače spomenuti brojevi.

Nukleotidi – fosfatni esteri nukleozida

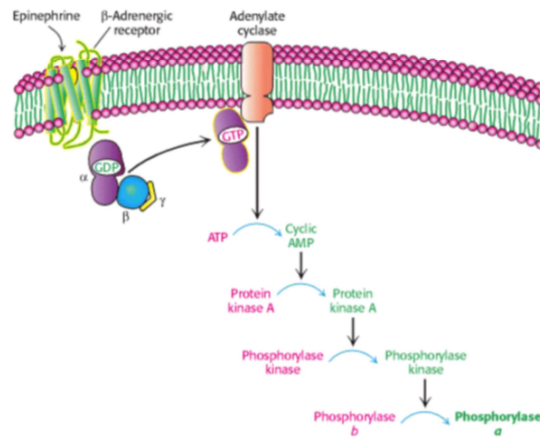


Najjednostavnije rečeno, nukleotidi su nukleozidi s fosfatnom skupinom. Fosfatna skupina obično je vezana preko ugljikovog atoma 5' (peti ugljikov atom šećera, ako brojite počevši od anomernog centra). Radi se o esteru nastalom između OH skupine položaja 5' i fosforne kiseline (H_3PO_4).

ATP, adenzin-trifosfat, vrlo je važna „valuta“ energije u metabolizmu. Hidrolizom fosfatnog dijela oslobađa se energija koju organizam koristi za druge procese koji ga održavaju na životu.

Postoje i ciklički fosfatni esteri nukleozida koji imaju svoju ulogu u metabolizmu →

Nukleotidi – fosfatni esteri nukleozida



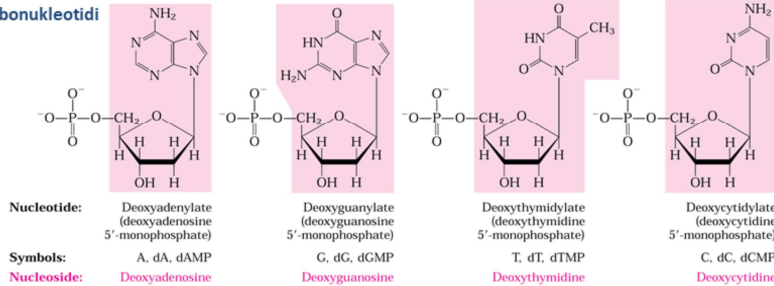
cAMP ima regulacijsku ulogu u razgradnji glikogena

Ovdje je prikazana uloga cikličkog adenzin-monofosfata u metabolizmu. Radi se o procesu kaskadne regulacije. Takve su regulacije česte kod metaboličkih procesa gdje je nužna vrlo brza reakcija/odgovor na novonastalu situaciju, npr. kod procesa zgrušavanja krvi.

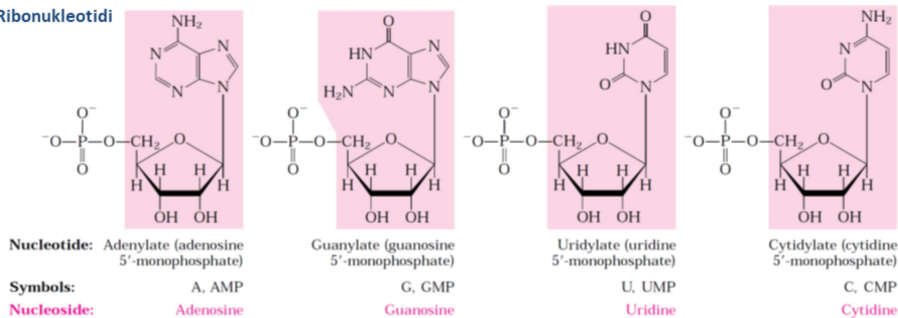
U ovom primjeru, epinefrin (adrenalin) se veže na receptor, koji će posredstvom enzima aktivirati adenilat-ciklazu. Ovaj enzim iz ATP-a sintetizira AMP. Nastali AMP djeluje katalitički na sljedeći proces, na način da aktivira enzim za njegovu provedbu. Tako ako npr. jedna molekula AMP-a aktivira 1000 molekula protein kinaze A, potom jedna molekula protein kinaze A aktivira 1000 molekula fosforilaze kinaze, da bi svaka od tih molekula aktivirala 1000 molekula fosforilaze a. Na taj način se primarni signal, jedna molekula AMP-a, pojačao za $1000 \times 1000 \times 1000 = 10^9$ puta. Fosforilaza započinje razgradnju glikogena, pri čemu se oslobađa glukoza, a time i energija. Ukupno gledano, epinefrin (adrenalin) djelovao je na način da je žurno potaknuo razgradnju glikogena, čime je oslobođena veća količina glukoze iz koje organizam može dobiti potrebnu energiju.

Nukleotidi – fosfatni esteri nukleozida

Deoksiribonukleotidi



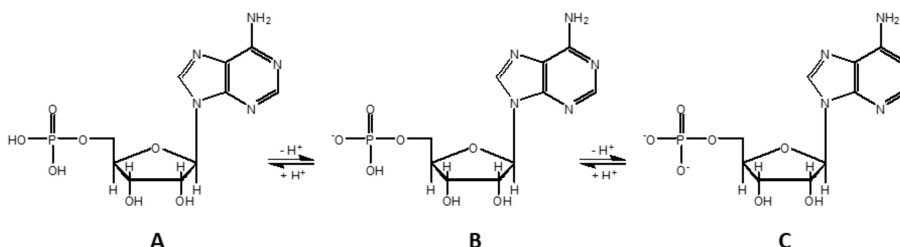
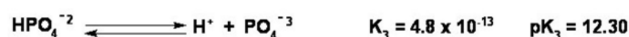
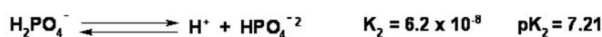
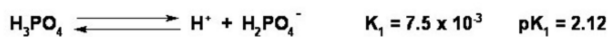
Ribonukleotidi



Ovdje su prikazani nukleotidi koje možemo naći u DNA i oni koje možemo naći u RNA. Navedena su njihova kemijska imena i kratice. Strukture svih ovih nukleotida trebali bi znati nacrtati. Zapamtite da fosfatna skupina dolazi na položaj 5', šećer je riboza u RNA, odnosno deoksiriboza u DNA. Nukleobaze su vezane za šećer uvijek preko istog N-atoma u strukturi (vrijedi za pirimidine i za purine).

Zadatak

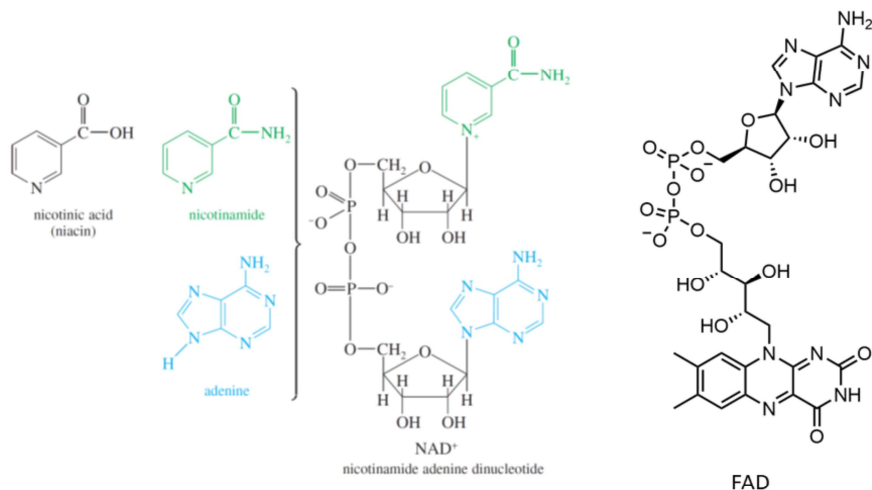
- fiziološki pH je oko 7.4
- Poznavajući konstante disocijacije fosforne kiseline, donesite zaključke o tome u kojem obliku je nukleotid prisutan pri fiziološkim uvjetima



Što je pKa? Ponovite si to od prije, postat će nam osobito važno kad prijedemo na kemiju aminokiselina i peptida.

U otopini ćemo uvijek imati prisutne sve vrste, samo će koncentracija nekih biti zanemarivo mala. Npr. koncentracija H_3PO_4 u lužnatoj vodenoj otopini je zanemariva, dok u kiseloj nije. Obično aproksimiramo da pri određenom pH imamo ravnotežu dvije vrste, koje smatramo protoniranim i deprotoniranim oblikom (kiselina i konjugirana baza). Takvi su parovi pokazani u tri jednadžbe postupne disocijacije H_3PO_4 . Koje će vrste biti u ravnoteži pri određenom pH, ovisi o pK vrijednosti. Raspišite Henderson-Hasselbalchovu jednadžbu. Pri kojem omjeru koncentracija protoniranog i deprotoniranog oblika će pH biti jednak pKa? Možete li iz toga izvući zaključak-rješenje ovog zadatka?

Nukleotidi koji nisu sastavni dio nukleinskih kiselina



Osim u nukleinskim kiselinama, nukleotide susrećemo i u nekim drugim biološki važnim molekulama. Od njih su vrlo važne NADH i FADH₂, koji u metaboličkim reakcijama služe kao reducensi. Reakcije u kojima sudjeluju vrlo su slične redukcijama u klasičnoj organskoj kemiji. Tako su reakcije s NADH često slične reakcijama gdje koristimo NaBH₄, a reakcije FADH₂ slične reakcijama gdje koristimo uvjete H₂/Pd.

Funkcije nukleotida

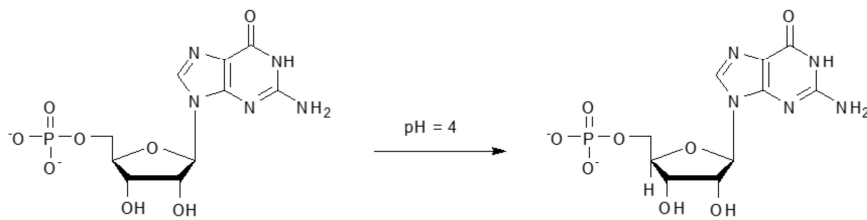
- Biosinteza nukleinskih kiselina
- Proizvodnja i prijenos energije
- Biosinteza proteina
- Regulatorne kaskade
- Intra- i interstanični prijenos signala
- Biosinteza nekih molekula
- ...

Svojstva nukleotida

- 1. Mononukleotidi su negativno nabijeni pri fiziološkom pH.**
- 2. Nukleotidi apsorbiraju UV svjetlo.**
- 3. Mnogi koenzimi su derivati nukleotida.**
- 4. Sintetski analozi nukleotida koriste se u kemoterapiji.**
- 5. Trifosfati nukleozida imaju visok potencijal prijenosa skupine.**
- 6. Neki nukleotidi su uključeni u prenošenje signala.**

Pokušajte dati racionalno objašnjenje za 1, 2 i 4

Stabilnost nukleotida u kiselim i bazičnim uvjetima

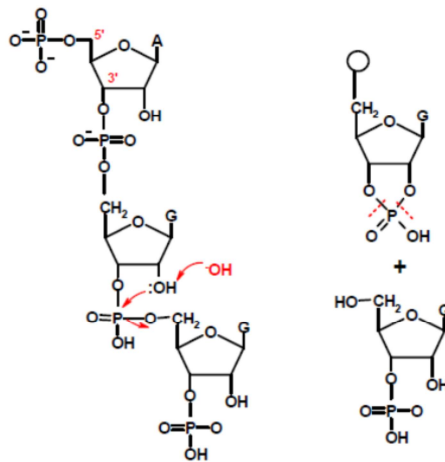


Nukleotidi su esteri fosforne kiseline i šećera riboze. Esteri su obično nestabilni u kiselim ili bazičnim uvjetima. Tako već pri pH vrijednosti 4 dolazi do hidrolize fosfatnog estera. U još kiselijem mediju dolazi do hidrolize glikozidne veze, pri čemu se oslobađa molekula šećera i nukleobaza.

Oba navedena procesa su nepovratna; reakcija u suprotnom smjeru neće se odvijati spontano. Nukleobaza i fosfat se mogu ponovno vezati sa šećernom jedinicom, ali to organizam košta energije (u valuti ATP-a).

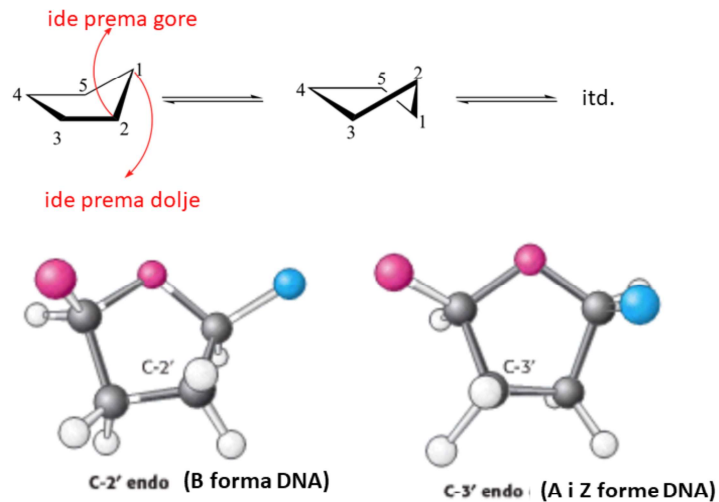
Stabilnost nukleotida u kiselim i bazičnim uvjetima

- RNA lako hidrolizira i u bazičnim uvjetima



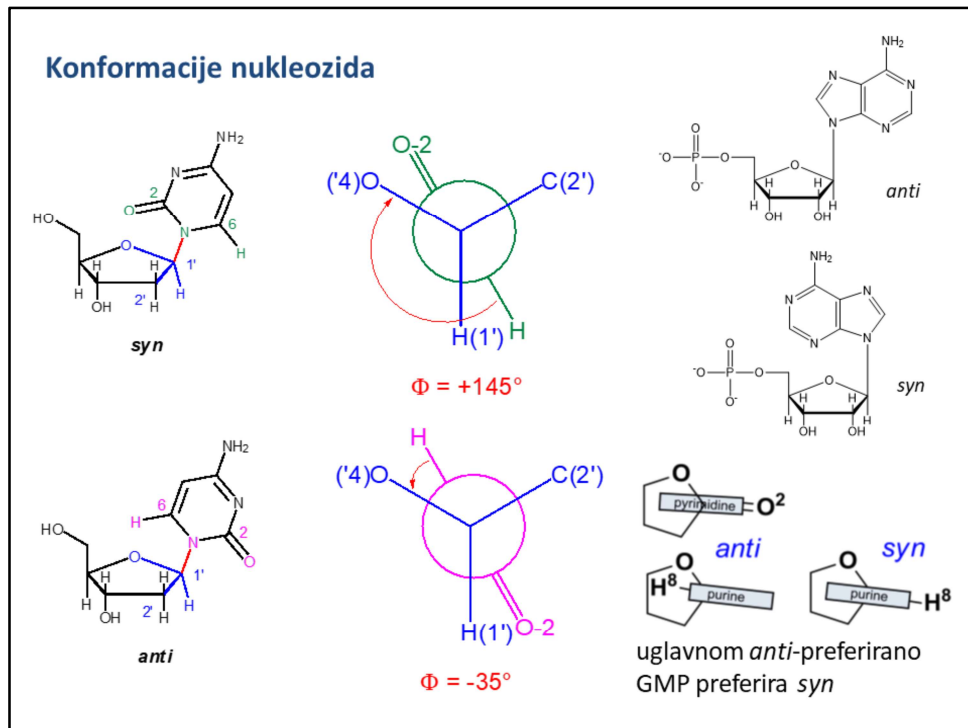
Kod RNA imamo OH skupinu na položaju 2'-riboze, koja može djelovati kao participirajuća skupina u hidrolizi fosfatnog estera i na taj način olakšati i ubrzati tu reakciju. Stoga je u bazičnim uvjetima RNA hidrolitički puno manje stabilna od DNA. Kod DNA nema OH skupine na položaju 2'-riboze pa do hidrolize fosfatnog estera dolazi puno sporije, jer se odvija isključivo izravnim nukleofilnim napadom hidroksilnog iona na fosfat.

Konformacije nukleozida



- konformacija šećera utječe na konformaciju DNA! (A, B i Z forme)

Konformacija šećernog dijela molekule od izuzetne je važnosti za DNA, jer u konačnici određuje kakvu će formu poprimiti DNA (A, B ili Z). Najstabilnija konformacija peteročlanih prstenova je ona u kojoj su 4 atoma u jednoj ravnini, a peti strši iznad te ravnine. C-atom koji nije u ravnini s ostalima u nazivu konformacije označujemo s endo. Takva struktura podsjeća na kuvertu. Kod deoksiriboze atom koji strši iznad ravnine obično je C-2' ili C-3'. Ove dvije konformacije prikazane su na slajdu.



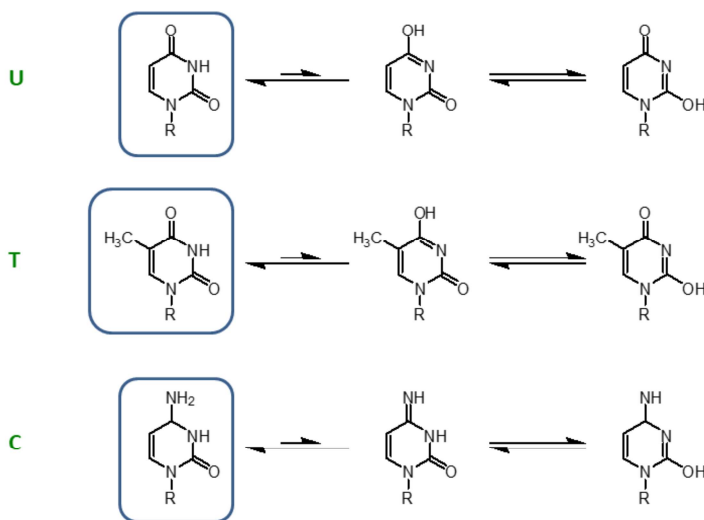
Osim konformacije samog šećernog dijela, ako gledamo cjelokupni nukleozid, možemo zamisliti konformacije gdje je nukleobaza otklonjena od molekule šećera (*anti*) ili se nalazi neposredno iznad nje (*syn*). Ova rotacija je moguća jer je nukleobaza povezana sa šećerom preko jednostruke veze, a znamo da je rotacija oko jednostruke veze slobodna (osim u posebnim slučajevima, npr. kod amida).

Za *syn* i *anti* konformacije možemo nacrtati Newmannovu projekciju te razmatrati konformacije/njihovu stabilnost u jedinicama kuta. Pri tome se gleda kut koji tvore C-H veza nukleobaze s C-O vezom poluacetalu u ribози (označeno crvenom strelicom).

Preferirana konfiguracija nukleozida je uglavnom *anti*, osim u rijetkim slučajevima, kad je *syn*.

Tautomerija nukleobaza

- tautomerna ravnoteža jako je pomaknuta na stranu keto-amino oblika kod C, odnosno diketo-oblika kod U i T



Za svaku nukleobazu možemo nacrtati tautomerne strukture. Ovdje su prikazane za pirimidinske baze, a za vježbu možete prikazati tautomere purinskih baza. Naravno, nisu svi ovi oblici jednako stabilni. U kojem obliku će nukleobaza biti prisutna, ovisit će o relativnoj stabilnosti svih oblika. Stabilnost pojedinog oblika ovisit će o otapalu, no kako u stanicama kao otapalo uvijek imamo vodu, prevladavajuća struktura bi trebala biti dobro definirana (zaokružene strukture), tj. molekula je prisutna u obliku koji je u vodenom mediju najstabilniji. Međutim, u interakciji s enzimima/proteinima i drugim molekulama mijenja se sredina u neposrednoj blizini nukleobaze, zbog čega neki drugi tautomerni oblik može postati favoriziran (npr. ako se stabilizira interakcijama kao što su vodikove veze). Nekad u DNA može biti prisutan neki drugi tautomerni oblik nukleobaze, što „zbuni” enzime pri prepisivanju DNA i u konačnici vodi do mutacije.

Osim tautomernih struktura, za nukleobaze možemo prikazati i rezonancijske strukture. Iz njih se može uočiti zašto nukleobaze imaju aromatski karakter (Kad je neka molekula aromatična?). Odaberite jednu purinsku i jednu pirimidinsku bazu pa im prikažite rezonancijske strukture. Označite strukturu u kojoj su prstenovi aromatični.