

University of Groningen

Molecular motors in new media

Lubbe, Anouk Sophia

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2017

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Lubbe, A. S. (2017). *Molecular motors in new media*. Rijksuniversiteit Groningen.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

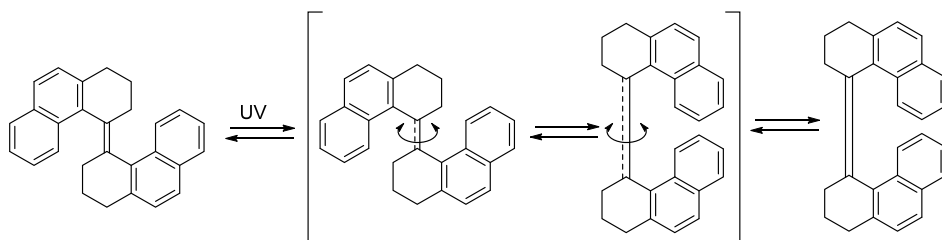
If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Samenvatting

Alles om ons heen, alles dat we kunnen aanraken of zien of ruiken, bestaat uit atomen. Wetenschappers hebben tot nu toe meer dan 100 verschillende soorten geobserveerd, die samen de bouwstenen van ons universum vormen. Door chemische bindingen te vormen kunnen atomen onderling combineren tot moleculen. Het grootste deel van de materie die we in een dag tegenkomen bestaat in een moleculaire vorm. Die deeltjes zijn zo klein dat ze de natuurwetten anders ondervinden dan wij. Een van de meest dominante krachten op de moleculaire schaal is Brownse beweging, een willekeurige beweging van alle moleculen. Het is misschien niet te zien als je naar een glas water kijkt, maar de individuele watermoleculen buitelen continu om elkaar heen.

Het menselijk lichaam heeft gecontroleerde beweging in een enkele richting op de moleculaire schaal nodig, bij voorbeeld om brandstof te transporteren of om spieren samen te trekken. Maar om een deeltje doelmatig voort te bewegen in wat een non-stop moleculaire orkaan genoemd mag worden is niet eenvoudig. De natuur heeft dit probleem opgelost door zogenaamde moleculaire motoren te gebruiken. Dit zijn enzymen die doelmatig van A naar B bewegen. Geïnspireerd door de natuur streven chemici ernaar om beweging in één richting te creëren met behulp van moleculen, om daarmee synthetische machines op de nanoschaal aan te drijven. Enzymen zijn veel kleiner dan de machines van onze macroscopische wereld, maar bestaan uit collecties van enorme moleculen en bevatten duizenden atomen. Aangezien binnen de organische scheikunde kleinere moleculen gebruikt worden was een nieuw ontwerp nodig.

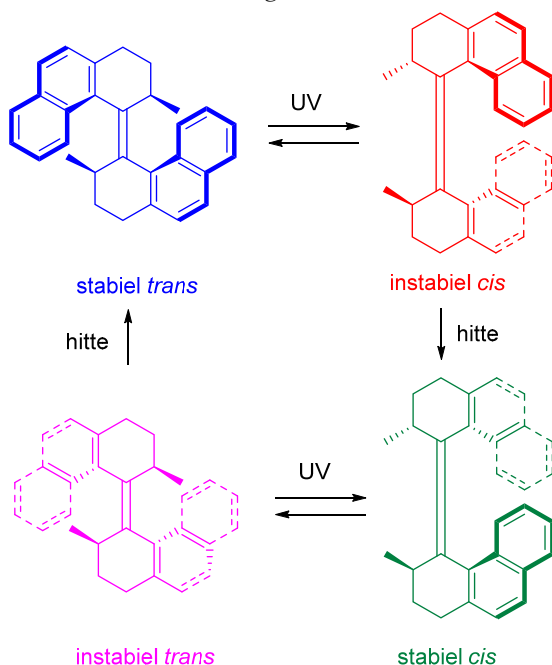


Figuur 1: Het schakelen van een overvolle-alkeenschakelaar.

Vroeg onderzoek in richting van het ontwikkelen van gecontroleerde rotatie was gericht op moleculaire schakelaars, moleculen die tussen twee vormen kunnen transformeren onder invloed van een impuls (zoals licht, pH, andere moleculen etc.). Overvolle-alkeenschakelaars (Figuur 1) bevatten een centrale dubbele binding, waar omheen vrije rotatie niet mogelijk is. Bestraling met UV licht verbreekt een van de bindingen tijdelijk, waarna vrije rotatie rond de overgebleven binding mogelijk is. Na een hele korte tijd wordt de tweede binding opnieuw gevormd. Het molecuul staat dan weer vast in zijn originele configuratie, of met de bovenkant 180° gedraaid ten opzichte van de onderkant. Deze rotatie is reversibel en de richting is willekeurig. Door een kleine aanpassing aan het ontwerp kunnen dit soort moleculen rotatie in een enkele richting ondergaan.

In door licht aangedreven, op overvolle alkeen gebaseerde moleculaire motoren (Figuur 2, vanaf nu 'moleculaire motoren' genoemd), kan de richting van de door UV licht aangedreven rotatie vastgelegd worden.

Wanneer de motor met UV licht bestraald wordt, stelt zich een evenwicht in waarin een deel van de moleculen in hun startconfiguratie staan (*stabiel trans*), en een deel van de moleculen hun bovenste helft bijna 180° ten opzichte van de onderste helft gedraaid hebben (*instabiel cis*). De *instabiele cis* isomeer kan twee verschillende processen ondergaan: terugdraaien onder invloed van UV licht of doordraaien onder invloed van warmte. Als de bestraling gestopt wordt op het moment dat het evenwicht zich heeft ingesteld zal alle *instabiele cis* isomeer een kleine onomkeerbare voorwaartse rotatie ondergaan en de zogenaamde *stabele cis* isomeer vormen, een proces dat versneld kan worden door de moleculen te verwarmen. Omdat de *stabele trans* isomeer onveranderd blijft onder deze omstandigheden leidt de combinatie van een fotochemische en een thermische stap tot een onomkeerbare 180° rotatie in een enkele richting van een deel van de moleculen, terwijl een deel onveranderd blijft. Door deze twee stappen te herhalen kan de *stabele cis* via de *instabiele trans* in de *stabele trans* omgezet worden, en daarmee een volledige 360° rotatie in een enkele richting rond de centrale as voltooien.



Figuur 2: Het schakelen van een moleculaire motor.

In 1999 werd de eerste moleculaire motor van dit type door onze groep beschreven. In de eerste jaren daarna was het onderzoek vooral gericht op het ontwikkelen van een theoretische kennis van de fotochemische en thermische processen. In de laatste jaren zijn succesvolle toepassingen gevonden in katalyse, ontwerp van materialen en nano-

technologie. De rotatie van een moleculaire motor werd bijvoorbeeld gebruikt om een moleculaire nano-auto in een rechte lijn over een oppervlak voort te stuwen. Ook kon een coöperatief effect verkregen worden uit de rotatie van de motors door ze op een oppervlak te bevestigen. Door het gecombineerde effect van miljoenen moleculaire motors kon een waterdruppeltje dat met het blote oog zichtbaar is bewogen worden.

Opvallend genoeg zijn toepassingen van moleculaire motoren in biologische condities zeldzaam, ook al is licht daar een ideale impuls. Licht interfereert niet met de meeste processen in de cel, de golflengte en intensiteit kunnen makkelijk gereguleerd worden en licht kan met hoge precisie toegepast worden.

Aangezien vele andere moleculaire fotoschakelaars in de afgelopen decennia met succes gebruikt zijn voor biochemische toepassingen is er een goede gelegenheid om motoren in een nieuwe omgeving te implementeren, waar nieuwe mogelijkheden kunnen ontstaan door hun vierstaps schakelcyclus en andere eigenschappen. Door de aromatische kernstructuur zijn moleculaire motoren sterk hydrofoob: ze lossen gewoonweg niet op in water. In dit proefschrift worden de eerste stappen in de richting van succesvolle toepassingen van moleculaire motoren onder fysiologische condities gezet. Het kernprobleem van de oplosbaarheid wordt geadresseerd, en verschillende strategieën om interferentie met en controle over processen in de cel te bereiken worden gebruikt.

Hoofdstuk 1 geeft een overzicht van recente ontwikkelingen in reversibele fotoregulatie van oligonucleotide structuur en functie. Poly- en oligonucleotiden zoals DNA en RNA bewaren onze genetische informatie in elke cel. Daarnaast wordt van een aantal ziekten gedacht dat ze een onderliggende genetische oorzaak hebben, zijn DNA mutaties nauw verwant aan kanker en wordt zelfs ouder worden geassocieerd met van nature voorkomende DNA schade. Als het functioneren van oligonucleotiden gecontroleerd zou kunnen worden, zouden deze processen door wetenschappers beïnvloed en gereguleerd kunnen worden. Aangezien bij de meeste processen waar DNA een rol in speelt de enkelstrengs vorm betrokken is, in plaats van de van nature meer voorkomende dubbelstrengs helix, richt onderzoek zich vaak op het controleren van het afwikkelen van de dubbele vorm tot de enkele vorm. Moleculaire fotoschakelaars kunnen op verschillende manieren in oligonucleotiden geïntegreerd worden. Als het molecuul geschakeld wordt, destabiliseert de dubbele helix, wat kan leiden tot afwikkeling tot de enkele vorm. De eerste pogingen tot introductie van schakelaars werden al twee decennia geleden gedaan, maar in de laatste jaren in bijzonder is de techniek verfijnd en zijn de eerste toepassingen al beschreven, waarin geïnterfereerd wordt met belangrijke processen in de cel zoals DNA reparatie en transcriptie.

Hoofdstuk 2 beschrijft het ontwerp, de synthese en het onderzoek van een DNA/moleculaire motorhybride. Met behulp van berekeningsstudies werd een verbindingstukje met daarin een moleculaire motor ontworpen, dat vervolgens in de ruggengraat van een kleine DNA haarspeld werd gebouwd. Nadat bevestigd werd dat de zelfcomplementaire structuur inderdaad een haarspeld vormt werd gedemonstreerd dat de motor rotatie in één richting ondergaat onder fysiologische omstandigheden, hoewel het thermische proces op lichaamstemperatuur mogelijk gehinderd is. Daarnaast wordt de

stabiliteit van de haarspeld significant beïnvloed door de 180° rotatie van de motor. Na het schakelen werd een afname van 6 °C in de smeltemperatuur waargenomen.

In hoofdstuk 3 wordt een moleculaire motor gefunctionaliseerd met thymine, een van de vijf van nature voorkomende nucleobasen. De motor bleek sterk te aggregeren en vormde regelmatige hexagonale vellen van enkele micrometers groot, die met behulp van transmissie-elektronenmicroscopie bestudeerd werden. Nadat elektronendiffractie-experimenten aantoonde dat deze vellen kristallijn zijn werd geprobeerd de motoren te laten draaien. Na bestraling met UV licht en verwarming braken de hexagonale vellen op in kleinere stukjes. UV-vis analyse bevestigde dat de motoren gedraaid hadden. Aldus beschrijft dit hoofdstuk het eerste voorbeeld van rotatie van een moleculaire motor in vaste toestand.

In hoofdstuk 4 wordt het grootste probleem van het toepassen van moleculaire motoren onder fysiologische omstandigheden aangekaart: oplosbaarheid. Quaternaire ammoniumgroepen werden geselecteerd als de meest geschikte water-oplosbare zijgroepen en twee verschillende motoren werden gesynthetiseerd en geanalyseerd. Het eerste ontwerp degradeerde snel in waterige oplossingen, waarschijnlijk vanwege eliminatie van ammoniumgroepen op een benzylicke positie. Het andere ontwerp werkte zoals verwacht in gebufferde oplossingen met verschillende pH's tussen 2 en 10, en werd bestudeerd met een aantal verschillende analytische technieken. Een kleine hoeveelheid degradatie werd geobserveerd onder lange bestraling, wat te wijten bleek aan additie van water aan de centrale dubbele binding van een fotogenerend intermediair van de motor. In een complementair onderzoek werd een eerder beschreven moleculaire motor bestudeerd in micellen, die functioneerden als een modelsysteem voor de lipide bilaag waar het celmembraan uit bestaat. De motor blijkt onder deze omstandigheden naar verwachting te functioneren.

Hoofdstuk 5 begeeft zich in de fotofarmacologie. In dit nieuwe onderzoeksveld wordt licht gebruikt om geneesmiddelen 'aan' en 'uit' te schakelen. Een fotoschakelaar wordt geïntegreerd met de kernstructuur van een bekend geneesmiddel. Door te schakelen verandert de structuur van het geneesmiddel en is deze niet meer actief. Als gevolg daarvan kan een geneesmiddel selectief 'aan' gezet worden op een specifieke locatie. Deze aanpak is in het bijzonder aantrekkelijk voor chemotherapie, een behandeling die verschrikkelijke bijwerkingen kan veroorzaken in kankerpatienten. In dit hoofdstuk worden twee verschillende medicijnen tegen kanker gemodificeerd. Eerst werd een moleculaire motor-analoog van cisplatine gesynthetiseerd en bestudeerd, maar de cytotoxiciteit kon niet getest worden wegens een gebrek aan oplosbaarheid. Daarnaast werd een fotoschakelbare analoog van colchicine ontworpen en geanalyseerd. De stof bleek redelijk instabiel te zijn, maar dat probleem kan naar verwachting opgelost worden door een water-oplosbare groep aan de structuur toe te voegen. Aan het eind van het hoofdstuk wordt een water-oplosbaar alternatief voorgesteld.

Hoofdstuk 6 verschaft een dieper inzicht in het verband tussen moleculaire motoren en het medium waarin ze opereren. Voor een aantal fotoschakelaars is allang vastgesteld dat zowel de fotochemische als de thermische stappen sterk afhankelijk kunnen zijn van

de eigenschappen van het oplosmiddel. Daarom werd de thermische isomerisatie van een moleculaire motor bestudeerd in 50 verschillende oplosmiddelen en mengsels van oplosmiddelen. Zoals verwacht werd een sterke correlatie gevonden tussen de rotatiefrequentie en de viscositeit van het oplosmiddel. Daarnaast bleken ook andere oplosmiddeleigenschappen de draaifrequentie te beïnvloeden. Door middel van statistische analyse werden de diffusiecoëfficiënt en de cohesieve energiedichtheid geïdentificeerd als de meest invloedrijke oplosmiddeleigenschappen, naast viscositeit. Deze bevindingen geven aan dat de invloed van het oplosmiddel op de thermische isomerisatie van een moleculaire motor voortkomen uit complexe interacties tussen zowel de individuele oplosmiddelmoleculen, als de oplosmiddelmoleculen met de motor.

