

ZWIĄZKI MAKROCYKLICZNE I ICH KOMPLEKSY METALI JAKO INTERKALATORY DNA

MACROCYCLIC COMPOUNDS AND THEIR METAL COMPLEXES AS DNA INTERCALATORS

Martyna Getka, Jarosław Kowalski

*Uniwersytet Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Warszawie,
Wydział Matematyczno-Przyrodniczy, Szkoła Nauk Ścisłych,
ul. Wóycickiego 1/3, 01-938 Warszawa,
e-mail: martynagetka@gmail.com, jaroslaw.kowalski@uksw.edu.pl*

Abstract

Wykaz stosowanych symboli i oznaczeń

Wprowadzenie

1. Makrocykliczne kompleksy metali

2. Makrocykliczne i pseudomakrocykliczne ligandy DNA

2.1. Porfirynoidy

2.2. Saleny i ich kompleksy

2.3. 14-członowe tetraazamakrocykliczne zasady Schiffa

2.3.1. Dibenzotetraazaannuleny

2.3.2. Inne pochodne dibenzotetraazaannulenów

2.3.3. Kompleksy cyklidenowe

2.4. Makrocykliczne interkalatory dwucentrowe

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

Martyna Getka jest absolwentką chemii Uniwersytetu Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Warszawie, gdzie w 2023 roku uzyskała tytuł magistra. W ramach pracy magisterskiej prowadziła badania nad aminowymi kompleksami cyklidenowymi jako interkalatorami DNA, natomiast jej wcześniejsza praca dyplomowa dotyczyła modyfikacji tetracyjanowych pochodnych dihydrotetraaza[14]annulenu.



<https://orcid.org/0009-0002-4041-5772>

Dr Jarosław Kowalski jest adiunktem w Instytucie Nauk Chemicznych na Wydziale Matematyczno-Przyrodniczym Uniwersytetu Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Warszawie, gdzie pracuje od 2018 roku. Stopień doktora nauk chemicznych uzyskał w Instytucie Chemii Organicznej PAN w Warszawie w 2008 roku. Odbił staż podoktorski w University of Warwick (Wielka Brytania). Jego zainteresowania naukowe obejmują chemię supramolekularną i koordynacyjną, syntezę oraz badanie właściwości kompleksów metali przejściowych, chemię makrocycli, oddziaływania gość-gospodarz, a także projektowanie nowych materiałów i analogów DNA o właściwościach funkcjonalnych. Jest autorem publikacji naukowych w renomowanych czasopismach międzynarodowych i kierownikiem oraz wykonawcą projektów badawczych finansowanych przez krajowe agencje grantowe.



<https://orcid.org/0000-0002-6493-9741>

ABSTRACT

Interactions of small molecules with DNA remain an important area of research in bioorganic, bioinorganic, medicinal and supramolecular chemistry. Among the various modes of DNA recognition, intercalation is of particular interest because it enables strong and often selective binding to nucleic acids, thereby influencing fundamental biological processes such as replication, transcription and DNA repair. This review summarizes current knowledge on macrocyclic compounds and their metal complexes as DNA intercalators, focusing on the structural factors governing their binding properties and biological activity.

Particular attention is devoted to porphyrinoids, salen-type systems, tetraaza[14]macrocyclic Schiff bases and cyclidene derivatives, as well as to multicentre architectures containing more than one potential intercalating unit. The ability of these compounds to combine aromatic π -surfaces with metal coordination sites enables simultaneous control of charge, geometry, redox behaviour and supramolecular interactions. As a consequence, their association with DNA may range from classical intercalation to more complex binding modes involving groove recognition, G-quadruplex stabilization or catalytic DNA cleavage. The reviewed studies demonstrate that macrocyclic systems constitute versatile platforms for the design of DNA-targeting agents with potential applications in molecular diagnostics, biosensing, photodynamic therapy and anticancer drug development.

Keywords: DNA intercalation, macrocyclic compounds, metal complexes, porphyrinoids, Schiff bases

Słowa kluczowe: interkalacja DNA, związki makrocykliczne, kompleksy metali, porfirynoidy, zasady Schiffa

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

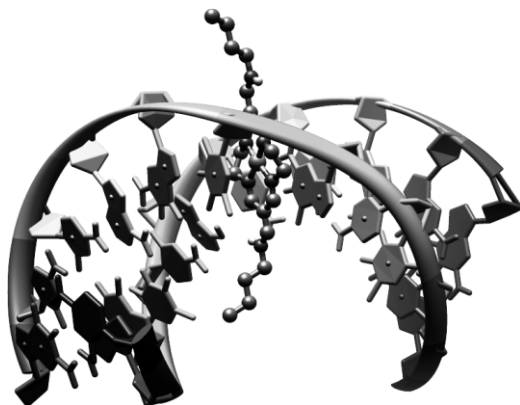
NNEP	– zasada wykluczenia najbliższego sąsiada (ang. <i>Nearest Neighbour Exclusion Principle</i>)
PDT	– terapia fotodynamiczna (ang. <i>Photodynamic Therapy</i>)
NMR	– magnetyczny rezonans jądrowy (ang. <i>Nuclear Magnetic Resonance</i>)
EPR	– spektroskopia elektronowego rezonansu paramagnetycznego (ang. <i>Electron Paramagnetic Resonance</i>)
CD	– dichroizm kołowy (ang. <i>Circular Dichroism</i>)
LD	– dichroizm liniowy (ang. <i>Linear Dichroism</i>)

WPROWADZENIE

Oddziaływania małych cząsteczek z DNA od wielu lat pozostają przedmiotem zainteresowania wielu dziedzin nauki, wśród których można wymienić nie tylko biologię czy chemię medyczną, ale również chemię bioorganiczną i bionieorganiczną, biotechnologię, biofizykę i chemię fizyczną, a nawet chemię supramolekularną i modelowanie molekularne. Szczególną uwagę poświęca się związkom zdolnym do interkalacji, czyli wnikanía pomiędzy sąsiadujące pary zasad azotowych stanowiących trzon struktur helikalnych kwasów nukleinowych. Tego rodzaju oddziaływania mogą prowadzić do zmian w strukturze DNA, co w żywych organizmach będzie skutkowało poważną ingerencją w tak fundamentalne procesy, jak replikacja, transkrypcja czy naprawa materiału genetycznego. Z tego względu interkalatory stanowią ważną grupę związków wykorzystywanych zarówno w badaniach nad DNA, jak i w poszukiwaniu nowych substancji o potencjalnym zastosowaniu terapeutycznym[1,2].

Rozwój badań nad interkalacją rozpoczął się w połowie XX wieku wraz z obserwacją zmian właściwości spektroskopowych barwników aromatycznych w obecności DNA[3,4]. Przełomowe znaczenie miały prace Lermana, który w 1961 roku, badając pochodne akrydyny, zaproponował model zakładający wsuwanie się płaskich cząsteczek pomiędzy pary zasad azotowych i wprowadził do literatury termin „interkalacja”[5]. Od tego czasu zidentyfikowano wiele klas związków zdolnych do tego typu oddziaływań, a analiza ich budowy pozwoliła określić cechy sprzyjające wiązaniu z DNA. Najważniejszą cechą strukturalną większości interkalatorów jest obecność płaskiego, aromatycznego układu, który może wykazywać korzystne oddziaływanie typu π - π z zasadami purynowymi i pirymidynowymi (rysunek 1), stanowiące główną siłę stabilizującą powstający kompleks interkalatora z DNA[1,2,6]. W praktyce wiązanie interkalatora zależy jednak nie tylko od samego procesu interkalacji. Istotny udział mają również oddziaływania wodorowe, elektrostatyczne oraz siły van der Waalsa — obecne pomiędzy grupami peryferyjnymi interkalatora a pozostałymi elementami podwójnej helisy[1]. Ostatnie z wymienionych oddziaływań ma największy wkład przy wiązaniu cząsteczek w obrębie bruzdy większej i mniejszej (ang. *major groove* i *minor groove*), podczas gdy oddziaływania wodorowe i elektrostatyczne mogą stanowić czynnik stabilizujący interkalację. Możliwe jest to wówczas, gdy cząsteczka gościa wyposażona jest w peryferyjne ugrupowania zawierające słabo związane protony lub grupy obdarzone ładunkiem dodatnim. Szczególne znaczenie mają tu grupy aminowe, amoniowe czy tetraalkilamoniowe, które mogą zajmować miejsce w pobliżu ujemnie naładowanych grup fosforanowych DNA.

Jak już wyżej wspomniano, interkalacja polega na wsuwaniu się płaskich, nienasyconych układów pierścieniowych, najczęściej π -akceptorowych, pomiędzy dwie pary zasad DNA. Proces ten nie zachodzi jednak w sposób chaotyczny i przypadkowy. Niemal zawsze interkalacja jest zgodna z modelem opisanym przez McGhee i von Hippa, który podlega zasadzie wyłączenia najbliższego sąsiada (ang. *nearest neighbour exclusion principle*, NNEP), zgodnie z którą jedna cząsteczka interkalatora przypada na dwie kolejne luki pomiędzy parami zasad[7]. Pozwala to ograniczyć niekorzystne zmiany konformacyjne helisy, a tym samym zachować stabilność całego układu.



Rysunek 1. Schematyczne przedstawienie cząsteczki makrocyklicznej interkalującej w DNA[8].
Figure 1. Schematic representation of macrocyclic molecule intercalating into DNA[8].

Wśród licznych grup interkalatorów szczególnie interesującą klasę reprezentują związki makrocykliczne. Ich podstawą strukturalną są pierścienie o większej liczbie członów (umownie powyżej jedenastu) — nierzadko zawierające heteroatomy — często obejmujące fragmenty nienasycone lub stanowiące struktury aromatyczne. Układy takie mogą być skondensowane lub połączone wiązaniami z innymi pierścieniami, a także zawierać w strukturze dodatkowe centra oddziaływań, takie jak grupy kationowe czy jony metali, stabilizujące kompleks z DNA, o czym wspomniano już wyżej. Możliwość modyfikacji budowy makrocykla, na przykład sposobu przyłączenia tego typu fragmentów oddziałujących, czy też poprzez wprowadzenie lub zmianę rodzaju centrum metalicznego sprawia, że związki te są szczególnie atrakcyjnymi obiektami badań w chemii supramolekularnej, koordynacyjnej i medycznej[9,10].

Do najważniejszych grup związków makrocyklicznych zdolnych do interkalacji można zaliczyć porfiryroidy (w tym porfiryny, ftalocyjaniny, korole, korficyny i inne) oraz tetraazamakrocykliczne zasady Schiffa, zarówno w postaci ligandów, jak i kompleksów metali przejściowych. Wśród interkalatorów można często spotkać również układy o budowie cyklofanowej, zawierające fragmenty aromatyczne zdolne do interkalacji, np. pirydynowe czy akrydynowe[11], a także saleny. Ostatnie z wymienionych układów nie stanowią co prawda klasycznych związków makrocyklicznych, jednak dzięki płaskiej budowie, obecności rozbudowanego układu π -elektronowego oraz zdolności do tworzenia trwałych kompleksów z jonami metali przejściowych wykazują wiele cech wspólnych z tetraazamakrocyklami. Ponadto liczne zależności pomiędzy budową, rodzajem centrum metalicznego a sposobem oddziaływania z DNA obserwowane dla kompleksów salenowych są analogiczne do tych występujących w przypadku wielu ligandów makrocyklicznych. Z tego względu układy salenowe mogą być traktowane jako istotny punkt odniesienia przy analizie oraz projektowaniu makrocyklicznych interkalatorów DNA.

Wspomniane wyżej grupy interkalatorów makrocyklicznych i salenowych, dzięki łatwości modyfikacji oraz zdolności do wiązania jonów metali przejściowych, idealnie łączą właściwości interkalacyjne z dodatkowymi cechami, takimi jak aktywność redoks czy unikalne właściwości fotofizyczne.

Cechy te otwierają szerokie możliwości ich praktycznego wykorzystania – od zaawansowanej diagnostyki molekularnej, przez stabilizację struktur G-kwadrupleksów[12,13] i projektowanie sztucznych nukleaz zdolnych do katalitycznego cięcia DNA, aż po celowaną terapię fotodynamiczną (PDT[14]) oraz nowatorskie leki przeciwnowotworowe[15]. Należy jednak podkreślić, że choć głównym przedmiotem niniejszego opracowania są związki zdolne do interkalacji DNA, wiele z omawianych układów może oddziaływać z kwasami nukleinowymi również na inne sposoby, między innymi poprzez wiązanie w obrębie bruzd, stabilizację struktur G-kwadrupleksowych lub katalityczne uszkodzanie DNA.

1. MAKROCYKLICZNE KOMPLEKSY METALI

Jak już wspomniano, do szczególnie często badanych, ale również bardzo perspektywicznych interkalatorów, należą nienasycone ligandy zdolne do wiązania jonów metali przejściowych. Ich popularność związana jest w dużej mierze z ich wysoką trwałością chemiczną oraz stosunkowo prostą syntezą, co jest z pewnością związane z wyższą symetrią tych układów. Stabilność tego typu układów wiąże się z kolei z możliwością łatwej funkcjonalizacji w sposób nienaruszający rdzenia makrocyklicznego. Modyfikacja może polegać na wprowadzaniu reaktywnych grup do obwodowych fragmentów liganda już na etapie jego syntezy i późniejszą ich funkcjonalizację. Równie ważnym sposobem zmierzającym do modyfikacji właściwości omawianych układów jest kompleksowanie różnych jonów metali przejściowych oraz zmiana ich stopnia utlenienia[16]. Wiele ligandów skutecznie stabilizuje ten sam metal w kilku stanach utlenienia, co znacząco zwiększa możliwości projektowania nowych układów[17].

Zmiana stopnia utlenienia lub rodzaju skoordynowanego jonu może prowadzić do powstania kompleksów o dodatnim lub ujemnym ładunku[18]. W takich przypadkach związki najczęściej izolowane są w postaci soli, a dobór odpowiedniego przeciwjonu pozwala regulować ich rozpuszczalność. W praktyce umożliwia to prowadzenie badań w szerszym zakresie rozpuszczalników, co jest szczególnie korzystne podczas analiz związków o potencjalnej aktywności biologicznej. Warto podkreślić, że odpowiedni ładunek cząsteczki można uzyskać nie tylko poprzez kompleksowanie metalu, ale również dzięki odpowiedniej funkcjonalizacji chemicznej[17].

Zdolność ligandów makrocyklicznych do tworzenia kompleksów z metalami przejściowymi występującymi na różnych stopniach utlenienia otwiera również możliwość zastosowania metod elektrochemicznych w badaniach nad interkalacją. Techniki elektrochemiczne pozwalają nie tylko analizować właściwości redoks takich układów, lecz także projektować receptory i sondy wykorzystujące fragmenty struktur o potwierdzonej aktywności interkalacyjnej. Tego typu rozwiązania mogą w przyszłości znaleźć zastosowanie w urządzeniach diagnostycznych oraz biosensorach[19].

Koordynacja jonu metalu przez ligandy wyraźnie wpływa również na właściwości spektroskopowe otrzymanych kompleksów. Zmianom ulegają zarówno położenie, jak i intensywność pasm absorpcyjnych, a informacje o procesie kompleksowania można uzyskać także na podstawie widm w podczerwieni oraz

ramanowskich, odzwierciedlających zmiany w strukturze elektronowej, polarności i polaryzowalności cząsteczek[20].

Cennych danych dostarczają również techniki magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR), a dla kompleksów paramagnetycznych także spektroskopia EPR. Bardzo często do monitorowania procesu koordynacji wykorzystuje się ponadto pomiary fluorescencji, obserwując wygaszenie lub – w zależności od rodzaju kompleksu – zwiększenie intensywności emisji[20].

2. MAKROCYKLICZNE I PSEUDOMAKROCYKLICZNE LIGANDY DNA

2.1. Porfirynoidy

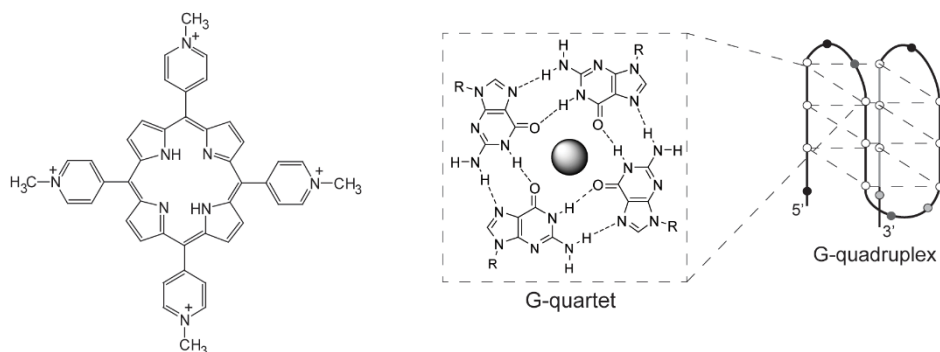
Techniki spektroskopowe — zarówno absorpcyjne, jak i luminescencyjne — stanowią jedną z najważniejszych metod wykorzystywanych do charakterystyki ligandów i kompleksów z grupy porfiryn, ftalocyjanin i innych porfirynoidów. Wynika to z faktu, że związki te pochłaniają promieniowanie w zakresie światła widzialnego oraz wykazują właściwości fluorescencyjne. Cechy te umożliwiają ich zastosowanie zarówno w diagnostyce obrazowej, jak i w fotodynamicznej terapii nowotworów (PDT)[21]. Po podaniu organizmowi fotosensybilizatora i jego aktywacji światłem laserowym dochodzi do powstawania tlenu singletowego, który wywołuje uszkodzenia prowadzące do śmierci komórek nowotworowych.

Istotnym kierunkiem badań nad porfirynami i ftalocyjaninami są, rzecz jasna, także ich oddziaływania z DNA[22,23]. Związki te wykorzystuje się do analizy budowy DNA oraz poznawania mechanizmów wiązania różnych cząsteczek z materiałem genetycznym. Ich aktywność opiera się przede wszystkim na zdolności do interkalacji, jednak rozmiary makrocyklicznego pierścienia uniemożliwiają wsunięcie całej cząsteczki pomiędzy pary zasad. Funkcję interkalującą pełnią zatem najczęściej aromatyczne podstawniki, zwłaszcza *p*-podstawione pierścienie *N*-metylopirydyniowe przyłączone do atomów węgla mostków metinowych, a więc w tzw. pozycjach *mezo*[24,25]. Sam układ tetraazamakrocykliczny wzmacnia stabilność kompleksu z DNA poprzez oddziaływania z resztami fosforanowymi i cukrowymi. Mogą to być wiązania wodorowe, oddziaływania elektrostatyczne, a w przypadku metaloporfiryn i metaloftalocyjanin również wiązania koordynacyjne. Wartości stałych asocjacji takich układów z DNA mieszczą się zazwyczaj w zakresie 10^3 – 10^6 M⁻¹ i są silnie uzależnione od rodzaju zastosowanych podstawników aromatycznych[24].

W szczególnych przypadkach opisano również możliwość bezpośredniego zakotwiczenia pierścienia porfiryнового w strukturze DNA. Zjawisko to zachodzi w miejscach, gdzie w podwójnej helisie występują sztucznie utworzone luki pozbawione par zasad, umożliwiające ulokowanie makrocykla. Kompleksy tego typu, unieruchomione na powierzchni elektrody, po oświetleniu generują sygnał elektryczny w układzie elektrochemicznym, wykazując podobieństwo do procesów zachodzących podczas fotosyntezy. Doniesienia literaturowe wskazują ponadto, że niektóre ftalocyjaniny oddziałują także z potrójną helisą DNA. Mechanizm obejmuje jednocześnie interkalację oraz wiązanie w obrębie bruzd, a odpowiadające mu stałe asocjacji osiągają wartości rzędu 10^3 – 10^4 M⁻¹[24].

Oprócz oddziaływań z klasyczną dwuniciową helisą DNA znaczące zainteresowanie badaczy koncentruje się również na zdolności porfiryroidów do rozpoznawania i stabilizacji struktur G-kwadrupleksowych. Zarówno porfiryny, jak

i ftalocyjaniny wykazują bardzo wysokie powinowactwo do czteroniciowych fragmentów DNA, czego potwierdzeniem są wartości stałych asocjacji wynoszące zazwyczaj od 10^5 do 10^7 M^{-1} [12,26]. Tak silne wiązanie wynika z możliwości tworzenia rozległych oddziaływań π - π pomiędzy płaskim układem tetraazamakrocyklicznym a zewnętrznymi tetradami guaninowymi G-kwadrupleksu. Duża powierzchnia kontaktu sprzyja efektywnemu stackingowi i prowadzi do znacznego zwiększenia stabilności powstającego kompleksu [12,24] (rysunek 2).



Rysunek 2. Przykład struktury G-kwadrupleksu i G-kwartetu z porfiryną [12].

Figure 2. Example of a G-quadruplex structure and a G-quartet with a porphyrin [12].

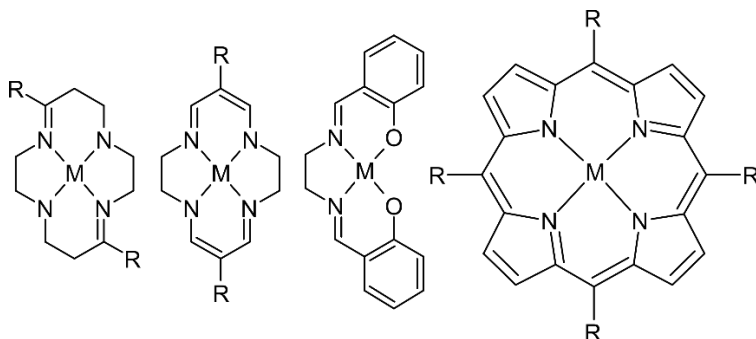
Choć struktury kwadrupleksowe nie należą do najczęściej spotykanych form DNA, odgrywają istotną rolę w procesach biologicznych związanych między innymi z regulacją ekspresji genów, podziałami komórkowymi oraz replikacją materiału genetycznego wirusów [27]. Z tego względu ich selektywna stabilizacja przez odpowiednio dobrane ligandy może wpływać na przebieg wymienionych procesów, a tym samym znaleźć zastosowanie w terapii chorób o podłożu genetycznym, w tym nowotworów [28]. Szczególne zainteresowanie wzbudzają G-kwadrupleksy obecne w telomerach, odpowiadających za ochronę końców chromosomów i zachowanie ich stabilności podczas kolejnych podziałów komórkowych [29]. Stabilizacja tych struktur przez ligandy porfirynowe może ograniczać aktywność telomerazy odpowiedzialnej za odbudowę telomerów w komórkach nowotworowych, a tym samym prowadzić do zahamowania ich niekontrolowanej proliferacji. Należy jednak podkreślić, że większość dostępnych danych dotyczących tego typu układów pochodzi z badań *in vitro*, a ich rzeczywista skuteczność terapeutyczna wymaga dalszej weryfikacji w bardziej złożonych modelach biologicznych.

Zakres zastosowań porfiryń i metaloporfiryń wykracza daleko poza badania oddziaływań z DNA oraz terapię fotodynamiczną [30]. Dzięki korzystnym właściwościom fotofizycznym, elektrochemicznym i zdolności do kompleksowania jonów metali związki te są wykorzystywane między innymi jako środki kontrastowe w obrazowaniu metodą rezonansu magnetycznego (MRI) [31,32], elementy biosensorów oraz komponenty elektrochemicznych układów diagnostycznych

przeznaczonych do wykrywania określonych sekwencji DNA[33]. Szczególne znaczenie mają tu metaloporfiryny zawierające jony manganu(III), gadolinu(III) lub żelaza(III)[31], a także materiały hybrydowe łączące porfiryny z przewodzącymi nanomateriałami[33,34].

2.2. Saleny i ich kompleksy

Wśród układów często porównywanych z makrocyclicznymi interkalatorami DNA istotne miejsce zajmują saleny i ich kompleksy metali. Mimo że nie są one związkami makrocyclicznymi w ścisłym znaczeniu tego terminu, wykazują szereg cech wspólnych z niektórymi układami tej grupy. Ich właściwości strukturalne i koordynacyjne sprawiają, że saleny często opisuje się jako funkcjonalne analogi tetraazamakrocyclicznych zasad Schiffa. Szczególnie interesujące są kompleksy ligandów salenowych z metalami przejściowymi, które — podobnie do makrocyclicznych zasad Schiffa — charakteryzują się płaską strukturą, rozbudowanym układem sprzężonych wiązań π oraz względnie małym rozmiarem[35] (rysunek 3).



Rysunek 3. Przykładowe wzory kolejno: związek Curtisa, cykliden, salen, porfiryne.
Figure 3. Example structures, in order: Curtis complex, cyclidene, salen, porphyrin.

Właściwości takie sprzyjają oddziaływaniom z DNA, w tym interkalacji fragmentów aromatycznych pomiędzy parami zasad. Warto jednak zauważyć, że swoją popularność saleny zawdzięczają przede wszystkim wyjątkowym właściwościom katalitycznym oraz zdolności do tworzenia trwałych kompleksów metali przejściowych. Dzięki temu znalazły szerokie zastosowanie w chemii koordynacyjnej, materiałowej i medycznej[35–37]. Znaczenie tej grupy związków niewątpliwie związane jest również z właściwościami spektroskopowymi. Wiele pochodnych wykazuje fluorescencję zależną od obecności jonów metali lub środowiska molekularnego, dzięki czemu mogą być wykorzystywane chociażby jako sondy analityczne oraz układy do obrazowania biomedycznego[35].

Z punktu widzenia niniejszego opracowania szczególne znaczenie mają jednak oddziaływania kompleksów salenowych z kwasami nukleinowymi. Dostępne wyniki wskazują, że pochodne salenowe mogą oddziaływać z DNA zarówno poprzez interkalację, jak i wiązanie w obrębie bruzd podwójnej helisy, osiągając zwykle stałe

asocjacji rzędu 10^4 – 10^5 M⁻¹[35,37]. Wykazano przy tym, że siła wiązania zależy od budowy liganda, rodzaju podstawników oraz obecności odpowiedniego centrum metalicznego[36,37]. Powinowactwo do DNA można dodatkowo zwiększyć poprzez wprowadzenie dodatnio naładowanych grup funkcyjnych wzmacniających oddziaływania elektrostatyczne z ujemnie naładowanym szkieletem fosforanowym kwasu nukleinowego.

Interkalacja i inne odwracalne formy wiązania DNA nie wyczerpują jednak spektrum aktywności pochodnych salenowych wobec kwasów nukleinowych. Opisano liczne przykłady kompleksów zdolnych do katalitycznego uszkodzania materiału genetycznego lub inicjowania jego modyfikacji chemicznych[38–41]. Aktywność taka może obejmować między innymi selektywne rozcinanie nici DNA, reakcje rodnikowe prowadzące do modyfikacji zasad azotowych oraz fotochemicznie indukowaną degradację materiału genetycznego. Przykładowo kompleksy manganu(III) mogą katalizować selektywne rozcinanie nici DNA w obecności utleniaczy[38], podczas gdy wybrane kompleksy miedzi(II) powodują degradację DNA w warunkach redukujących[39]. Z kolei kompleksy niklu(II) zawierające aromatyczne fragmenty trimetyloamoniowe inicjują reakcje rodnikowe prowadzące do kowalencyjnej modyfikacji reszt guaninowych DNA[40], zaś niektóre kompleksy platyny(II) po naświetleniu indukują rozpad podwójnej nici poprzez generowanie reaktywnych form tlenu[41].

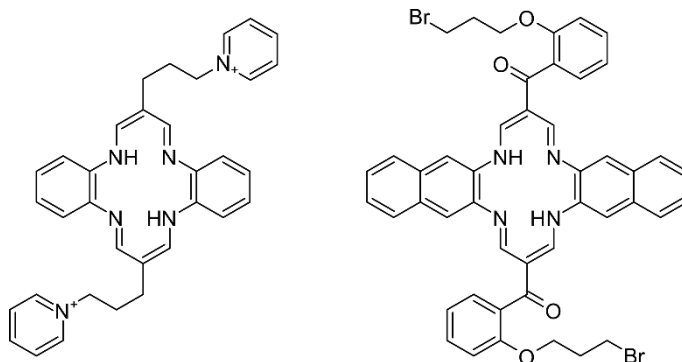
Wysoka aktywność katalityczna, elastyczność działania oraz łatwość syntezy i modyfikacji czynią saleny jedną z kluczowych klas związków zdolnych do oddziaływania z kwasami nukleinowymi. Ich różnorodność strukturalna pozwala na precyzyjne sterowanie powinowactwem do DNA oraz mechanizmem tworzenia kompleksów supramolekularnych[35]. W wybranych zastosowaniach biologicznych lub diagnostycznych silna aktywność katalityczna tradycyjnych salenów może stanowić istotną wadę, prowadząc do niepożądanych reakcji ubocznych. Przejście na bardziej zabudowane szkielety makrocykliczne pozwala skutecznie wygasić tę niechcianą reaktywność poprzez ograniczenie dostępu do centrum metalicznego, przy jednoczesnym zachowaniu kluczowych cech rozpoznania molekularnego[17,42]. Bogata wiedza na temat zależności między strukturą a aktywnością salenów stanowi zatem cenny punkt wyjścia do racjonalnego projektowania makrocycli o ściśle dostosowanym profilu — takich, które przenoszą zalety salenów na bardziej stabilne układy, wyeliminowawszy przy tym ich katalityczne efekty uboczne w terapii celowanej czy biosensoryce.

2.3. 14-członowe tetraazamakrocycliczne zasady Schiffa

Układami o zbliżonej do salenów budowie i podobnych właściwościach koordynacyjnych są 14-członowe tetraazamakrocycliczne zasady Schiffa (rysunek 3). Tworzą one trwałe, często barwne kompleksy z metalami przejściowymi, co umożliwia ich badanie metodami spektroskopowymi i elektrochemicznymi. Wyróżniają się także stabilnością, stosunkowo prostą syntezą oraz łatwością modyfikacji. Szczególnie popularne są układy 14-członowe, charakteryzujące się płaską lub niemal płaską budową i wysoką symetrią, co sprzyja

ich zastosowaniom w chemii supramolekularnej, m.in. w konstrukcji receptorów czy analogów DNA zdolnych do interkalacji[8,17].

Wśród tetraazamakrocyclicznych zasad Schifffa można wyróżnić zarówno układy dość ubogie w wiązania π , takie jak na przykład makrocykle typu Curtisa[43] (z zaledwie dwiema grupami iminowymi), jak również pierścienie wyraźnie bogatsze w atomy węgla sp^2 , a nawet w pełni nienasycone. To właśnie związki zawierające układ sprzężonych wiązań podwójnych, a przez to mające przynajmniej częściowo płaską budowę, wykazują w tej grupie największe powinowactwo do par zasad azotowych DNA[8].



Rysunek 4. Przykładowe związki otrzymane przez grupę Eilmes[44].

Figure 4. Example compounds obtained by the group of Eilmes[44].

2.3.1. Dibenzotetraazaannuleny

Badania nad właściwościami tetraaza[14]makrocykli w tym obszarze prowadziła między innymi grupa badawcza skupiona wokół Eilmes[44–46], analizując powinowactwo różnych dibenzotetraazaannulenów (ściślej: dibenzodihydrotetraazaannulenów, DBTAA, rysunek 4) do dwuniciowego DNA. Badania objęły szereg pochodnych wyposażonych w łańcuchy boczne o zróżnicowanej długości, najczęściej zakończone grupami amoniowymi lub pirydyniowymi. Wyznaczone stałe asocjacji mieściły się w zakresie 10^5 – 10^9 M^{-1} , a mechanizm oddziaływania miał zazwyczaj charakter mieszany, obejmujący zarówno interkalację, jak i oddziaływania w obrębie bruzd DNA. Najsilniejsze powinowactwo do kwasów nukleinowych obserwowano dla pochodnych zawierających kationowe ugrupowania pirydyniowe.

Analiza spektroskopowa wykazała ponadto, że badane związki nie wykazują istotnej tendencji do samoagregacji w środowisku wodnym, co odróżnia je od wielu kationowych porfiryn i sprzyja tworzeniu dobrze zdefiniowanych kompleksów z DNA i RNA. Zaproponowano, że makrocycliczny rdzeń interkaluje pomiędzy parami zasad, natomiast dodatnio naładowane łańcuchy boczne oddziałują jednocześnie z bruzdą mniejszą i grupami fosforanowymi szkieletu cukrowo-fosforanowego. Taki sposób wiązania prowadził do wyraźnej preferencji sekwencji bogatych w pary A-T(U) względem fragmentów G-C oraz skuteczniejszej stabilizacji termicznej dwuniciowego DNA niż analogicznych struktur RNA.

Wszystkie badane związki wykazywały od umiarkowanej do wysokiej aktywności antyproliferacyjnej wobec ludzkich linii komórek nowotworowych. Zaobserwowano przy tym wyraźną zależność pomiędzy budową kationowego łańcucha bocznego a aktywnością biologiczną, co wskazuje, że modyfikacja podstawników peryferyjnych może stanowić prostą i skuteczną metodę precyzyjnego dostrajania zarówno właściwości wiązania z DNA/RNA, jak i potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej pochodnych DBTAA[45].

2.3.2. Inne pochodne dibenzotetraazaannulenów

Interesującą grupę związków stanowią również bardziej podstawione 14-członowe tetraazamakrocycliczne zasady Schiffa. Ligandy te oraz ich kompleksy z jonami metali przejściowych — między innymi Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} i Mn^{2+} — szeroko badane były przez Ramana[47]. Wykazano między innymi, że związki te są zdolne do oddziaływania z DNA, choć obliczone stałe asocjacji rzędu 10^4 M^{-1} wskazują na wyraźnie niższe powinowactwo do DNA niż wyżej omawianych pochodnych DBTAA. Można to prawdopodobnie przypisać brakowi dodatkowych kationowych podstawników peryferyjnych, które wzmacniałyby oddziaływania elektrostatyczne z ujemnie naładowanym szkieletem fosforanowym DNA. Zastosowanie metod spektroskopowych, elektrochemicznych i lepkościowych pozwoliło jednak wykazać, że dominującym mechanizmem wiązania pozostaje interkalacja, związana z wprowadzaniem płaskich fragmentów makrocykla pomiędzy sąsiednie pary zasad nukleinowych.

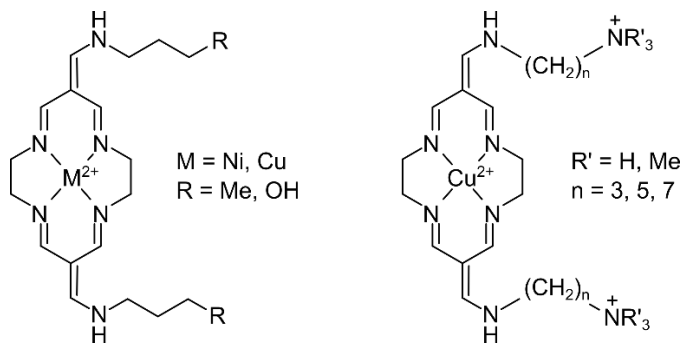
Na uwagę zasługują również właściwości biologiczne tych układów. Kompleksy metali wykazywały z reguły wyższą aktywność przeciwdrobnoustrojową niż odpowiadające im wolne ligandy, co wskazuje na istotny wpływ jonu metalu na aktywność biologiczną całego układu. Ponadto wybrane kompleksy, między innymi miedzi(II) i niklu(II), były zdolne do skutecznej fragmentacji DNA. Aktywność ta wiązana jest z procesami redoks zachodzącymi na centrum metalicznym i prowadzącymi do powstawania reaktywnych form tlenu odpowiedzialnych za uszkodzenia materiału genetycznego. Połączenie właściwości interkalacyjnych z aktywnością nukleazową sprawia, że tetraazamakrocycliczne kompleksy metali pozostają interesującymi obiektami badań zarówno w kontekście projektowania sztucznych nukleaz, jak i nowych związków o potencjalnym zastosowaniu przeciwnowotworowym.

2.3.3. Kompleksy cyklidenowe

Badania nad oddziaływaniami tetraaza[14]makrocycli z DNA obejmują również cyklideny, stanowiące grupę kationowych tetraaza[14]makrocycli, które wcześniej były dość szeroko badane w obszarze chemii supramolekularnej. Dzięki obecności elektronoakceptorowego pierścienia makrocyclicznego oraz możliwości łatwej modyfikacji struktury znalazły one zastosowanie między innymi przy konstrukcji receptorów zdolnych do wiązania anionów, aminokwasów czy niewielkich cząsteczek organicznych, a także jako kluczowe fragmenty strukturalne układów topologicznie związanych, takich jak przełączalne katenany i rotaksany. W trakcie badań z udziałem DNA zauważono, że nawet stosunkowo proste kompleksy cyklidenowe mogą wywoływać istotne zmiany w widmach dichroizmu

kołowego (CD) i liniowego (LD) roztworów DNA, co wskazuje na silne oddziaływanie z podwójną helisą[8]. Stało się to punktem wyjścia do szerszych badań nad możliwością interkalacyjnego wiązania tych związków z kwasami nukleinowymi.

Wykorzystując między innymi wspomniane wyżej techniki oraz ilościowe badania z użyciem spektroskopii UV-Vis wykazano, że kompleksy cyklidenowe (rysunek 5) tworzą z DNA kompleksy zgodne z modelem wyłączenia najbliższego sąsiada (NNEP), charakterystycznym dla większości znanych interkalatorów. Wyznaczone dzięki miareczkowaniom stałe asocjacji pozwoliły określić wpływ poszczególnych elementów strukturalnych na siłę oddziaływań z DNA. Wykazano między innymi, że kompleksy miedzi(II) i niklu(II) wykazują zbliżoną skłonność do interkalacji, natomiast funkcjonalizacja egzocyklicznych atomów azotu prowadzi do niewielkiego osłabienia wiązania. Wykazano również, że istotne znaczenie ma budowa łańcuchów bocznych. Wydłużenie podstawników ułatwiało ich dopasowanie do bruzd DNA, a obecność końcowych grup amoniowych, zarówno protonowanych, jak i alkilowanych, wyraźnie zwiększała powinowactwo badanych układów do kwasu nukleinowego. Efekt ten przypisano dodatkowym oddziaływaniom elektrostatycznym pomiędzy kationowymi podstawnikami a grupami fosforanowymi DNA. Najsilniejsze oddziaływania obserwowano dla kompleksów miedzi(II) zawierających grupy amoniowe, których stałe asocjacji osiągały wartości rzędu 10^5 M^{-1} , a więc o około rząd wielkości większe niż w przypadku analogicznych związków pozbawionych takich ugrupowań.



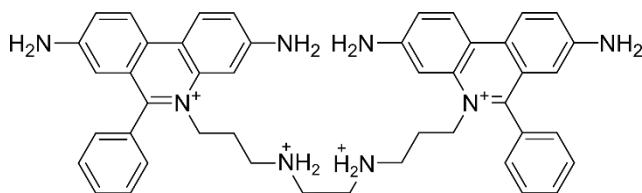
Rysunek 5. Interkalatory cyklidenowe (jako przeciwjony stosowano chlorki lub heksafluorofosforany).
Figure 5. Cyclidene intercalators (chlorides and hexafluorophosphates were used as counterions).

Cyklideny znalazły również zastosowanie w bardziej zaawansowanych badaniach dotyczących modyfikowanych oligonukleotydów. Choć kationowe pochodne okazały się nietrwałe w warunkach stosowanych podczas automatycznej syntezy DNA, ich neutralne kompleksy miedzi(II) i niklu(II) zachowywały wystarczającą stabilność, aby mogły zostać wbudowane w strukturę oligonukleotydów[48]. Otrzymane w ten sposób sondy molekularne zachowywały zdolność do lokalnej interkalacji i wykazywały interesującą selektywność wobec zasad znajdujących się naprzeciwko jednostki makrocyklicznej. Wyniki badań sugerują, że układy te są zdolne do rozpoznawania pojedynczych zmian sekwencji w komplementarnej nici DNA, co stwarza perspektywy ich wykorzystania w konstrukcji sond do wykrywania polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP) oraz innych zastosowaniach z zakresu diagnostyki molekularnej.

Przedstawione powyżej przykłady pokazują, że makrocykliczne czy pseudomakrocykliczne interkalatory DNA, obejmujące między innymi porfirynoidy, kompleksy salenowe, cyklideny i inne tetraazamakrocycyle, tworzą z kwasami nukleinowymi trwałe kompleksy o stałych asocjacji najczęściej mieszczących się w zakresie od około 10^4 do 10^8 M^{-1} . O sile wiązania decyduje nie tylko obecność płaskiego, aromatycznego układu zdolnego do interkalacji, lecz również charakter podstawników peryferyjnych oraz obecność centrum metalicznego, które mogą dostarczać dodatkowych oddziaływań elektrostatycznych czy koordynacyjnych. W większości opisanych przypadków dominującym mechanizmem wiązania pozostaje klasyczna interkalacja pojedynczego fragmentu aromatycznego pomiędzy sąsiednie pary zasad, często wspomagana oddziaływaniami w obrębie bruzd DNA. Zdolność do precyzyjnego dostrajania tych właściwości poprzez modyfikację rdzenia makrocyklicznego, funkcjonalizację podstawników bocznych lub zmianę jonu metalu sprawia, że związki te stanowią niezwykle wszechstronną grupę ligandów DNA.

2.4. Makrocykliczne interkalatory dwucentrowe

Możliwości projektowania interkalatorów nie ograniczają się jednak wyłącznie do modyfikacji pojedynczej jednostki wiążącej. Alternatywną strategią, która okazała się szczególnie skuteczna w zwiększaniu powinowactwa do kwasów nukleinowych, jest zwielokrotnienie liczby fragmentów zdolnych do interkalacji w obrębie jednej cząsteczki. Podejście to doprowadziło do powstania grupy związków określanych mianem bis-interkalatorów i, szerzej, interkalatorów wielocentrowych. W układach tych dwa lub więcej fragmentów interkalujących może oddziaływać jednocześnie z podwójną helisą DNA, co prowadzi do znacznego wzrostu stabilności powstających kompleksów. W konsekwencji stałe asocjacji bis-interkalatorów do podwójnej helisy DNA są od kilkuset do nawet miliona razy wyższe niż w przypadku odpowiadających im klasycznych monointerkalatorów, osiągając wartości rzędu 10^8 – 10^{11} M^{-1} . Aby obie jednostki mogły równocześnie wsunąć się między pary zasad, łącznik molekularny projektuje się tak, aby zgodnie z regułą wykluczania najbliższego sąsiada pominął dokładnie jedną parę zasad, łącząc optymalnie elastyczność przestrzenną z odpowiednim zasięgiem wzdłuż bruzdy DNA.



Rysunek 6. Przykładowy bis-interkalator oparty strukturalnie na bromku etydyny.
Figure 6. An example of ethidium-based bis-intercalator.

Początki badań nad bis-interkalacją sięgają naturalnych produktów pochodzenia mikrobiologicznego. Za pierwszy dobrze scharakteryzowany bis-interkalator uznaje się echinomycynę, antybiotyk wyizolowany z bakterii

Streptomyces echinatus. Częsteczka ta zawiera dwie grupy chinoksalinowe połączone sztywnym rdzeniem peptydowym, które mogą jednocześnie interkalować w dwóch odrębnych miejscach podwójnej helisy. Badania kompleksów echinomycyny z DNA odegrały kluczową rolę w zrozumieniu mechanizmu bis-interkalacji i dostarczyły jednych z pierwszych eksperymentalnych dowodów potwierdzających regułę wyłączenia najbliższego sąsiada (NNEP). Odkrycia te zapoczątkowały intensywne poszukiwania syntetycznych odpowiedników o jeszcze większym powinowactwie do DNA i bardziej precyzyjnie kontrolowanych właściwościach wiążących. Przełomowe znaczenie miały prace Le Pecq'a i współpracowników, którzy w połowie lat siedemdziesiątych zsyntetyzowali pierwsze układy zawierające dwa fragmenty akrydynowe połączone elastycznym łącznikiem polimetylenowym (rysunek 6)[49,50]. Badania tych układów pozwoliły określić zależność pomiędzy długością i geometrią łącznika a efektywnością bis-interkalacji, tworząc podstawy współczesnego projektowania wielocentrowych ligandów DNA. W kolejnych dekadach opracowano liczne klasy związków wykorzystujących tę koncepcję, obejmujące między innymi pochodne akrydynowe, fenazynowe, antracenowe, naftalenodiimidowe oraz szereg układów metaloorganicznych i makrocyclicznych.

Niezwykle ważnym etapem w rozwoju bis-interkalatorów było wykorzystanie struktur makrocyclicznych, które oprócz zdolności do wiązania DNA mogą wykazywać również właściwości redoks, koordynacyjne oraz interesujące cechy fotofizyczne[51]. Wśród makrocyclicznych bis-interkalatorów stosunkowo dobrze poznaną grupę stanowią dimery porfiryne. Związki te otrzymuje się najczęściej poprzez połączenie dwóch jednostek porfirynowych za pomocą elastycznych łączników alifatycznych[52] lub glikolowych[53], a także bardziej sztywnych mostków aromatycznych[54]. W celu zwiększenia rozpuszczalności w środowisku wodnym oraz wzmocnienia oddziaływań z ujemnie naładowanym szkieletem fosforanowym DNA do ich struktury często wprowadza się kationowe podstawniki, takie jak grupy *N*-metylopirydyniowe.

Badania spektroskopowe wykazały, że odpowiednio zaprojektowane dimery porfiryne mogą oddziaływać z DNA w sposób zgodny z modelem bis-interkalacji, osiągając znacznie większe powinowactwo do kwasów nukleinowych niż odpowiadające im monomery. Szczególnie interesujące są układy zawierające dwa centra cynku(II)[54], dla których zaobserwowano powstawanie uporządkowanych kompleksów z DNA. W wyniku związania z helisą ruchliwość obu fragmentów porfirynowych ulega ograniczeniu, co prowadzi do pojawienia się charakterystycznych sygnałów dichroizmu kołowego związanych ze sprzężeniem ekscytonowym pomiędzy chromoforami[55]. Powstawanie silnych sygnałów indukowanego dichroizmu kołowego oraz efektów sprzężenia ekscytonowego sprawia, że niektóre dimery porfiryne mogą pełnić rolę sond wrażliwych na sposób związania z DNA i lokalnej organizacji przestrzennej helisy, znajdując zastosowanie w badaniach konformacyjnych kwasów nukleinowych[53,54].

Warto również podkreślić, że obecność dwóch sprzężonych chromoforów porfirynowych w jednej cząsteczce umożliwia zwiększenie efektywnego przekroju absorpcji światła oraz modyfikację właściwości fotofizycznych układu. Z tego względu dimery porfiryne są badane nie tylko jako ligandy DNA, lecz również jako potencjalne fotouczulacze stosowane w terapii fotodynamicznej[21] oraz jako

wielofunkcyjne układy łączące właściwości rozpoznawania DNA z generowaniem reaktywnych form tlenu[56].

Ważną grupę wielocentrowych ligandów DNA stanowią dimeryczne pochodne salenów i salfenów oraz ich kompleksy metali przejściowych. Duża różnorodność strukturalna tych układów wynika zarówno z możliwości modyfikacji mostków łączących poszczególne jednostki ligandowe, jak i ze swobodnego doboru centrum metalicznego. Pozwala to na precyzyjne kształtowanie geometrii cząsteczki, właściwości elektronowych oraz sposobu oddziaływania z kwasami nukleinowymi. W rezultacie związki te stanowią niezwykle wszechstronną grupę ligandów DNA, obejmującą zarówno układy wykazujące właściwości interkalacyjne, jak i kompleksy zdolne do katalitycznego rozszczepiania DNA czy selektywnego rozpoznawania alternatywnych struktur kwasów nukleinowych, takich jak G-kwadrupeksy.

W zależności od budowy liganda i rodzaju zastosowanego metalu związki te mogą wykazywać odmienne właściwości biologiczne. Szczególnie dobrze poznane są dinuklearne kompleksy miedzi(II) oparte na ligandach salenowych i salfenowych[57]. Związki te oddziałują z DNA na drodze interkalacji, a jednocześnie są zdolne do jego rozszczepiania zarówno w warunkach oksydacyjnych, jak i hydrolitycznych. Szczególnie wysoką aktywność obserwowano dla pochodnej salfenowej, której bardziej rozbudowany układ aromatyczny wzmacniał zarówno powinowactwo do DNA, jak i efektywność jego degradacji. Wyniki te wskazują, że odpowiednia modyfikacja szkieletu ligandowego może stanowić skuteczną metodę projektowania wielocentrowych kompleksów metali o właściwościach sztucznych nukleaz.

Nie wszystkie układy salfenowe są jednak projektowane pod kątem rozszczepiania DNA. Odrębny nurt badań koncentruje się na kompleksach bis-salfenowych zawierających między innymi jony niklu(II) i platyny(II), które wykazują wyjątkowo wysokie powinowactwo do struktur G-kwadrupeksowych[58,59]. Oddziałując z zewnętrznymi tetradami guaninowymi, mogą znacząco zwiększać stabilność tych struktur, czego konsekwencją jest między innymi hamowanie aktywności telomerazy oraz wpływ na ekspresję genów związanych z proliferacją komórek nowotworowych. Z tego względu bis-salfeny i ich kompleksy metali są intensywnie badane jako potencjalne związki przeciwnowotworowe oraz narzędzia do selektywnego rozpoznawania alternatywnych struktur DNA[60].

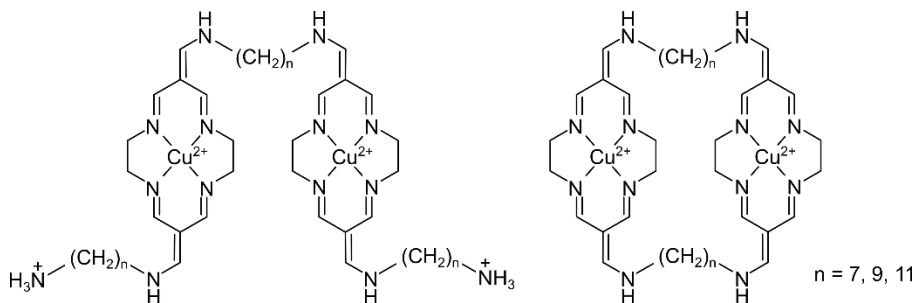
Odrębną grupę wielocentrowych ligandów DNA stanowią bis-cyklofany, w których dwa aromatyczne fragmenty π -elektronowe, najczęściej zawierające jednostki naftalenowe, antracenowe lub akrydynowe, połączone są za pomocą dwóch lub większej liczby mostków kowalencyjnych, tworząc sztywną architekturę makrocykliczną. Do najbardziej znanych przedstawicieli tej klasy należą cyklofany akrydynowe oraz kationowe aza-cyklofany zawierające ugrupowania pirydyniowe. Układy te odegrały istotną rolę w badaniach nad oddziaływaniami małych cząsteczek z DNA, dostarczając cennych informacji na temat wpływu geometrii liganda na przebieg procesu interkalacji oraz zmian konformacyjnych zachodzących w obrębie podwójnej helisy.

W przypadku wielu bis-cyklofanów obserwuje się złożony mechanizm wiązania obejmujący zarówno interkalację fragmentów aromatycznych pomiędzy parami zasad, jak i dodatkowe oddziaływania w obrębie bruzd DNA. Szczególne

znaczenie ma przy tym preorganizacja przestrzenna narzucona przez sztywny szkielet makrocycliczny, która może prowadzić do zwiększenia selektywności oraz stabilności tworzonych kompleksów. W niektórych przypadkach obecność wnęki cyklofanowej stwarza ponadto możliwość jednoczesnego oddziaływania z dodatkowymi cząsteczkami gości lub jonami, co czyni te układy interesującymi obiektami badań w chemii supramolekularnej[17,42].

Podobnie jak inne bis-interkalatory, związki te są przedmiotem zainteresowania chemii medycznej i biologii molekularnej[61]. Wykazano bowiem, że wielopunktowe oddziaływanie z DNA może skuteczniej zaburzać procesy replikacji i transkrypcji niż w przypadku klasycznych monointerkalatorów, co sprawia, że związki tej grupy są rozważane jako potencjalne leki przeciwnowotworowe oraz sondy do badań struktury kwasów nukleinowych[62,63].

Oprócz opisanych wyżej układów porfiryńowych, salenowych i cyklofanowych, interesującą klasę potencjalnych bis-interkalatorów stanowią również pochodne cyklidenowe (rysunek 7). Badania nad oddziaływaniami monocyklidenów z DNA wykazały, jak już wyżej wspomniano, że związki te oddziałują z podwójną helisą głównie poprzez interkalację wspomaganą dodatkowymi oddziaływaniami elektrostatycznymi podstawników bocznych. Stosunkowo wysokie wartości stałych asocjacji, osiągające dla niektórych pochodnych wartości rzędu 10^5 M^{-1} [8,64,65], skłoniły badaczy do zaprojektowania bardziej złożonych układów wielocentrowych zawierających dwa fragmenty cyklidenowe[65–67]. Oczekiwano, że obecność dwóch potencjalnych centrów interkalujących doprowadzi do dalszego wzrostu powinowactwa do DNA.



Rysunek 7. Struktura kationów dwucentrowych interkalatorów cyklidenowych.

Figure 7. Structures of bis-cyclidene intercalator cations.

Rzeczywiście, liniowy układ bis-cyklidenowy (rysunek 7, z lewej) wiązał się z DNA znacznie silniej niż jego monocykliczny odpowiednik (rysunek 5, z prawej), osiągając stałą asocjacji o wartości bliskiej 10^6 M^{-1} . Interesujące okazało się jednak to, że również bis-makrocycl (rysunek 7, z prawej) wykazywał wysokie powinowactwo do DNA, mimo iż jego cykliczna budowa wyklucza możliwość przeplatania fragmentów cząsteczki przez podwójną helisę. Doprowadziło to do wniosku, iż kompleksy cyklidenowe mogą jedynie częściowo wsuwać się pomiędzy pary zasad. Badania stechiometryczne wykazały ponadto, że zarówno układy monocyklidenowe, jak i bis-cyklidenowe wiążą się z DNA zgodnie z zasadą NNEP, co sugeruje, że nawet w przypadku związków zawierających dwa pierścienie tylko jeden z nich uczestniczy bezpośrednio w procesie interkalacji. Drugi fragment

makrocykliczny może natomiast dodatkowo stabilizować kompleks poprzez oddziaływania elektrostatyczne lub koordynacyjne z otoczeniem podwójnej helisy.

Wyniki te wskazują, że wzrost powinowactwa obserwowany dla wielocentrowych ligandów DNA nie zawsze jest bezpośrednio związany z klasyczną bis-interkalacją wszystkich obecnych w cząsteczce chromoforów. W niektórych przypadkach równie istotną rolę odgrywa możliwość wielopunktowej stabilizacji kompleksu poprzez oddziaływania zachodzące poza miejscem właściwej interkalacji. Pochodne cyklidenowe stanowią tym samym interesujący przykład układów pośrednich pomiędzy klasycznymi bis-interkalatorami a bardziej złożonymi wielocentrowymi ligandami DNA.

PODSUMOWANIE

Przedstawione w niniejszym opracowaniu przykłady pokazują, że związki makrocykliczne i ich kompleksy metali stanowią niezwykle wszechstronną grupę ligandów DNA, których właściwości można dostrajać poprzez modyfikację struktury makrocykla, charakteru podstawników peryferyjnych oraz rodzaju skoordynowanego jonu metalu. O ile klasyczne porfirynoidy, saleny i tetraazamakrocykliczne zasady Schiffa wykazują zdolność do tworzenia trwałych kompleksów z DNA głównie dzięki interkalacji wspomaganej oddziaływaniami elektrostatycznymi i koordynacyjnymi, o tyle bardziej złożone układy wielocentrowe pozwalają dodatkowo wykorzystać efekt wielopunktowego wiązania do zwiększenia powinowactwa i selektywności względem określonych struktur kwasów nukleinowych. Należy przy tym pamiętać, że część omawianych układów oddziałuje z kwasami nukleinowymi również w sposób odmienny od klasycznej interkalacji, między innymi poprzez rozpoznawanie struktur G-kwadrupleksowych lub katalityczne uszkodzanie DNA.

Szczególne znaczenie mają przy tym kompleksy metali przejściowych, które oprócz oddziaływania z DNA mogą wykazywać aktywność redoks, fotodynamiczną lub nukleazową. Połączenie właściwości interkalacyjnych z możliwością kontrolowanego uszkodzania materiału genetycznego, stabilizacji struktur G-kwadrupleksowych oraz transportu sygnału spektroskopowego lub elektrochemicznego sprawia, że układy te pozostają obiecującymi kandydatami do zastosowań w diagnostyce molekularnej, biosensoryce, terapii fotodynamicznej oraz projektowaniu nowych leków przeciwnowotworowych. Pomimo obiecujących wyników większość omawianych zastosowań przeciwnowotworowych pozostaje obecnie na etapie badań przedklinicznych i wymaga dalszej weryfikacji.

Analiza przedstawionych przykładów wskazuje, że o skuteczności makrocyklicznych ligandów DNA decyduje przede wszystkim obecność rozbudowanego i możliwie płaskiego układu π -elektronowego, odpowiednio dobranych podstawników kationowych wzmacniających oddziaływania elektrostatyczne z DNA oraz możliwość wykorzystania centrum metalicznego do regulacji właściwości elektronowych, koordynacyjnych i redoks. Szczególnie korzystne okazuje się łączenie interkalacji z dodatkowymi oddziaływaniami stabilizującymi kompleks, takimi jak wiązanie w obrębie bruzd lub wielopunktowe rozpoznawanie kwasów nukleinowych. Jednocześnie duża

różnorodność strukturalna omawianych związków oraz możliwość racjonalnego kształtowania ich właściwości poprzez modyfikację makrocykla, podstawników peryferyjnych i centrum metalicznego wskazują, że projektowanie nowych ligandów DNA pozostaje dynamicznie rozwijającym się obszarem chemii bioorganicznej, koordynacyjnej i supramolekularnej.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] F.P. Guengerich, in *Molecular Life Sciences*, (Wells, R. D., Bond, J. S., Klinman, J. & Masters, B. S. S.) Springer New York, 2018, 45.
- [2] A. Mukherjee, W.D. Sasikala, in *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, Elsevier, 2013, **92**, 1.
- [3] A.R. Peacocke, J.N.H. Skerrett, *Transactions of the Faraday Society*, 1956, **52**, 261.
- [4] G. Oster, *Transactions of the Faraday Society*, 1951, **47**, 660.
- [5] L.S. Lerman, *Journal of Molecular Biology*, 1961, **3**, 18.
- [6] A.C. Hangan *et al.*, *Molecules*, 2024, **29**, 4361.
- [7] J.D. McGhee, P.H. Von Hippel, *Journal of Molecular Biology*, 1974, **86**, 469.
- [8] I. Mames, A. Rodger, J. Kowalski, *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2015, **2015**, 630.
- [9] L.F. Lindoy, K.-M. Park, S.S. Lee, *Chem. Soc. Rev.*, 2013, **42**, 1713.
- [10] Z. Liu, S.K.M. Nalluri, J.F. Stoddart, *Chemical Society Reviews*, 2017, **46**, 2459.
- [11] S. Adhikari, A.K. Mitra, *Journal of the Iranian Chemical Society*, 2023, **20**, 2399.
- [12] E.J. Andrew *et al.*, *PLoS ONE*, 2013, **8**, e66242.
- [13] H. Arthanari, P.H. Bolton, *Chemistry & Biology*, 2001, **8**, 221.
- [14] D.E.J.G.J. Dolmans, D. Fukumura, R.K. Jain, *Nature Reviews Cancer*, 2003, **3**, 380.
- [15] S. Amatori *et al.*, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2016, **162**, 154.
- [16] M. Inclán *et al.*, *Journal of the American Chemical Society*, 2012, **134**, 9644.
- [17] B. Korybut-Daszkiewicz, R. Bilewicz, K. Woźniak, *Coordination Chemistry Reviews*, 2010, **254**, 1637.
- [18] J. Taraszewska *et al.*, *Electrochimica Acta*, 2007, **52**, 3556.
- [19] M. Sirajuddin, S. Ali, A. Badshah, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2013, **124**, 1.
- [20] V. González-Ruiz *et al.*, in *Biomedical Engineering, Trends, Research and Technologies*, IntechOpen, 2011.
- [21] A.E. O'Connor, W.M. Gallagher, A.T. Byrne, *Photochemistry and Photobiology*, 2009, **85**, 1053.
- [22] D. Mathew, S. Sujatha, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2021, **219**, 111434.
- [23] N.Sh. Lebedeva, E.S. Yurina, *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2024, **50**, 2567.
- [24] S.Y. Cho *et al.*, *ACS Omega*, 2020, **5**, 10459.
- [25] R. Kuroda *et al.*, *FEBS Letters*, 1990, **262**, 293.
- [26] M. Cavallari, A. Garbesi, R. Di Felice, *The Journal of Physical Chemistry B*, 2009, **113**, 13152.
- [27] R. Hänsel-Hertsch, M. Di Antonio, S. Balasubramanian, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2017, **18**, 279.
- [28] K. Kawauchi *et al.*, *Genes*, 2020, **11**, 1340.
- [29] N. Kosiol *et al.*, *Molecular Cancer*, 2021, **20**, 40.
- [30] M. Imran *et al.*, *Biosensors*, 2018, **8**, 95.
- [31] R.C. Lyon *et al.*, *Magnetic Resonance in Medicine*, 1987, **4**, 24.
- [32] K.D.W. Vollett, D.A. Szulc, H.-L.M. Cheng, *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, **24**, 9532.
- [33] F. Canonne *et al.*, *Sensor Letters*, 2008, **6**, 570.
- [34] D. Duc La *et al.*, *Sustainable Chemistry One World*, 2024, **3**, 100017.

- [35] A. Erxleben, *Inorganica Chimica Acta*, 2018, **472**, 40.
- [36] T.S. Lange *et al.*, *PLoS ONE*, 2008, **3**, e2303.
- [37] K.I. Ansari *et al.*, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2009, **103**, 818.
- [38] D.J. Gravert, J.H. Griffin, *The Journal of Organic Chemistry*, 1993, **58**, 820.
- [39] S. Routier *et al.*, *The Journal of Organic Chemistry*, 1996, **61**, 2326.
- [40] J.G. Muller *et al.*, *Coordination Chemistry Reviews*, 1999, **185–186**, 761.
- [41] M. Bartlett *et al.*, *Chemistry – A European Journal*, 2024, **30**, e202402465.
- [42] I.V. Korendovych, R.A. Roesner, E.V. Rybak-Akimova, in *Advances in Inorganic Chemistry*, Elsevier, 2006, **59**, 109.
- [43] N.F. Curtis, D.A. House, *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 1965, **168**, 5502.
- [44] D. Pawlica *et al.*, *Tetrahedron*, 2009, **65**, 3980.
- [45] M.R. Stojković *et al.*, *New Journal of Chemistry*, 2010, **34**, 500.
- [46] A. Kaźmierska *et al.*, *Tetrahedron*, 2015, **71**, 4163.
- [47] N. Raman, A. Sakthivel, K. Rajasekaran, *Journal of Coordination Chemistry*, 2009, **62**, 1661.
- [48] J.-L.H.A. Duprey *et al.*, *Journal of the American Chemical Society*, 2016, **138**, 746.
- [49] B. Gaugain *et al.*, *Biochemistry*, 1978, **17**, 5071.
- [50] G.P. Moloney, D.P. Kelly, P. Mack, *Molecules*, 2001, **6**, 230.
- [51] O. Baudoin *et al.*, *The Journal of Organic Chemistry*, 1997, **62**, 5458.
- [52] H. Okada, H. Imai, Y. Uemori, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2001, **9**, 3301.
- [53] C. Lee *et al.*, *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 2012, **16**, 1159.
- [54] Y. Ishikawa, N. Yamakawa, T. Uno, *Molecules*, 2008, **13**, 3117.
- [55] P.P. Roy *et al.*, *Journal of the American Chemical Society*, 2022, **144**, 6298.
- [56] M. Haeubl *et al.*, *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 2009, **14**, 1037.
- [57] P. Rabindra Reddy, A. Shilpa, *Chemistry & Biodiversity*, 2011, **8**, 1245.
- [58] C. Zhou *et al.*, *Chemistry – A European Journal*, 2017, **23**, 4713.
- [59] T. Kench *et al.*, *Bioconjugate Chemistry*, 2023, **34**, 911.
- [60] N.H. Campbell *et al.*, *Journal of Medicinal Chemistry*, 2012, **55**, 209.
- [61] B. Baguley *et al.*, *Current Medicinal Chemistry*, 2003, **10**, 2643.
- [62] M.F. Brana *et al.*, *Current Pharmaceutical Design*, 2001, **7**, 1745.
- [63] Nial J. Wheate *et al.*, *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 2007, **7**, 627.
- [64] Martyna Magdalena Getka, praca magisterska, Uniwersytet Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Warszawie, Warszawa, 2023.
- [65] J. Kowalski, Recent Applications of Cyclidene Complexes, w: K. Trojanowski *et al.*, A quarter-century of Faculty of Mathematics and Natural Sciences. School of Exact Sciences, Uniwersytet Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Warszawie, 2025, 38.
- [66] Julia Zacharczuk, praca licencjacka, Uniwersytet Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Warszawie, Warszawa, 2023.
- [67] Kacper Romatowski, praca licencjacka, Uniwersytet Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Warszawie, Warszawa, 2026.

Praca wpłynęła do Redakcji 15 sierpnia 2026 r.

