

PEPTYDY JAKO POTENCJALNE LIGANDY WIĄŻĄCE JONY METALI PRZEJŚCIOWYCH

PEPTIDES AS POTENTIAL LIGANDS BINDING TRANSITION METAL IONS

Katarzyna Krupa*, **Monika K. Lesiów***,
Teresa Kowalik-Jankowska

*Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski,
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław*

**e-mail: katarzyna.krupa@chem.uni.wroc.pl, monika.lesiow@chem.uni.wroc.pl*

Pracę dedykujemy pamięci Pani Profesor Małgorzaty Jeżowskiej-Bojczuk

Abstract

Wprowadzenie

1. Peptydy jako ligandy wiążące jony metali przejściowych
2. Reszty aminokwasowe biorące udział w procesie koordynacji jonów metali
3. Wpływ różnych czynników na sposób koordynacji
 - 3.1. Blokada grupy aminowej lub karboksylowej (N- lub C-końcowej) peptydu
 - 3.2. Obecność niekoordynujących i koordynujących łańcuchów bocznych w sekwencji peptydu
 - 3.3. Pozycja reszty histydylowej w sekwencji aminokwasowej peptydu
 - 3.4. Wpływ ilości reszt histydylowych na trwałość tworzących się kompleksów
4. Aktywność biologiczna peptydowych kompleksów z jonami metali przejściowych

Piśmiennictwo cytowane

mgr Katarzyna Krupa – w latach 2010–2015 studiowała na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego uzyskując w 2015 roku tytuł magistra. Obecnie doktorantka stacjonarnych studiów doktoranckich chemii na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Jej zainteresowania naukowe skupiają się wokół biologicznej chemii nieorganicznej.

mgr Monika Katarzyna Lesiów – w latach 2010–2015 studiowała na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego uzyskując w 2015 roku tytuł magistra. Obecnie doktorantka stacjonarnych studiów doktoranckich chemii na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Jej zainteresowania naukowe skupiają się wokół chemii bionieorganicznej oraz medycznej.

prof. dr hab. Teresa Kowalik-Jankowska – ukończyła studia na Wydziale Matematyki, Fizyki, Chemii i Astronomii Uniwersytetu Wrocławskiego. Uzyskała stopień doktora i doktora habilitowanego na rodzimej uczelni. Obecnie jako profesor zwyczajny pracuje na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Zainteresowania w pracy naukowej koncentrują się na oddziaływaniu jonów metali (Cu^{2+}) z ligandami o znaczeniu biologicznym.

ABSTRACT

Peptides are crucial ligands for transition metal ions and form complexes with them, that can have important biological activity. Many factors impact on the creation of complexes such as: protection of amine group from *N*-terminal or carboxylate group from *C*-terminals of the protein, the presence of noncoordinating and coordinating side chains in the peptide sequence, the number of histidyl residues and their location in the peptide chain. In complexes the metal ion can be bound by various donor atoms from amino acids residues (*e.g.* nitrogen, oxygen or sulphur). In general, the protection of *N*- or *C*-terminal groups influences the less stable formation of complexes. Stable complexes are created, if the free amine group from the *N*-terminal is involved in the coordination process. Peptides with noncoordinating side chains include alanine or glycine. Glycine complexes are more stable than these with alanine. Histidyl residue is the most effective amino acid residue in binding metal ions. The amine group of the lysyl residue, thiol from cysteine or carboxylate from aspartyl or glutamyl residues are also functional groups that coordinate metal ions. The coordination process is initiated by a group that anchors metal ion. A free amine group from *N*-terminus or imidazole nitrogen are the best examples of anchor groups. The metal ions can also be bound through amide nitrogens, after their forced deprotonation by the anchor group and formation of chelate rings. Peptides containing two or more histidyl residues exhibit high structural diversity in the complexes formation. In addition, these peptides can also form macrochelates and polynuclear complexes. The location of amino acid residues in the peptide chain (especially histidyl residue) also results in the thermodynamically stable formation of complexes.

Keywords: peptides, histidine residue, metal complexes, coordination mode

Słowa kluczowe: peptydy, reszta histydyłowa, kompleksy metali, model koordynacyjny

WPROWADZENIE

Jony metali przejściowych są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Biorą udział w wielu procesach biochemicznych, np.: oddychaniu komórkowym, reakcjach enzymatycznych i przekazywaniu impulsów nerwowych [1, 2]. W przestrzeni międzykomórkowej nie występują w wolnej formie, lecz najczęściej są związane przez aminokwasy, peptydy lub białka [3, 4]. Skompleksowanie jonu metalu może skutkować różnymi właściwościami powstających kompleksów, np. ich aktywnością biologiczną.

Białka lub peptydy posiadające wiele potencjalnych atomów donorowych, zdolnych do wiązania jonów metali, są dla nich idealnymi i specyficznymi ligandami. Azot oraz tlen wchodzące w skład głównego łańcucha peptydowego są najczęstszymi atomami donorowymi dla takich jonów metali, jak: Cu(II), Ni(II) czy Zn(II) [5, 6]. Dodatkowo, niektóre aminokwasy posiadają koordynujący łańcuch boczny, który jest zdolny do tworzenia wiązań koordynacyjnych z jonem metalu. Najbardziej efektywnym donorem jest, jak się wydaje imidazolowy azot reszty histydylowej [7]. Sekwencje bogate w reszty histydylowe oraz multi-histydylowe są najbardziej charakterystycznymi motywami w białkach wiążących jony Cu(II). Co ciekawe, pozycja tej reszty aminokwasowej w sekwencji peptydowej ma duży wpływ na rodzaj tworzącego się kompleksu oraz jego trwałość. Dla reszt aminokwasowych zawierających niekoordynujący łańcuch boczny istotną rolę w kotwiczeniu jonów metali przejściowych pełni *N*-terminalna grupa aminowa. Ułożenie przestrzenne reszt aminokwasowych wokół centrum metalicznego ma wpływ na aktywność powstających kompleksów. Oddziaływania kation- π miedziowych kompleksów zawierających hydrofobowe, aromatyczne pierścienie tryptofanu, tyrozyny czy fenyloalaniny decydują o ich aktywności redoks. Odgrywają one również istotną rolę w stabilizowaniu struktury białek [6, 8, 9].

1. PEPTYDY JAKO LIGANDY WIĄŻĄCE JONY METALI PRZEJŚCIOWYCH

Peptydy są efektywnymi ligandami zawierającymi reszty aminokwasowe zdolnymi do koordynowania jonów metali przejściowych. Ich związanie może powodować zmianę struktury powstałych kompleksów oraz specyficzne ułożenie łańcuchów bocznych reszt aminokwasowych [10, 11].

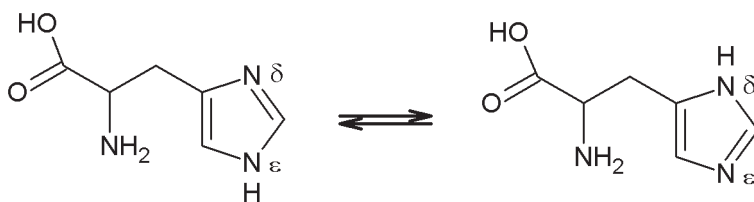
Stabilność peptydowych kompleksów ma fundamentalne znaczenie w projektowaniu biologicznie aktywnych kompleksów. Pozwala ona na zrozumienie i wyjaśnienie procesów biologicznych [4]. Czynnikiem wpływającymi na trwałość powstających kompleksów są: rodzaj jonu metalu, zdolność do tworzenia trwałych pierścieni chelatowych, a także możliwość tworzenia silnych wiązań koordynacyjnych jonu metalu z atomem donorowym reszty aminokwasowej [12].

Najbardziej efektywna w wiązaniu jonów metali jest reszta histydylowa, której rola została szeroko opisana w literaturze [3]. Ponadto, lizyna, kwas glutaminowy

i asparaginowy, cysteina czy metionina to przykłady innych aminokwasów potencjalnie wiążących jony metali. Proces koordynacji rozpoczyna się poprzez zakotwiczenie jonu metalu przez atom donorowy reszty aminokwasowej, pochodzący z głównego bądź bocznego łańcucha peptydowego. Donorami mogą być: atom azotu, tlenu czy siarki. Co ważne, możliwe jest wymuszenie deprotonacji azotów amidowych, pochodzących z wiązań peptydowych przez wcześniejsze związanie się jonu metalu do innych ugrupowań i utworzenie 5- bądź 6-członowych pierścieni chelatowych. Blokada grup końcowych, obecność łańcuchów bocznych zdolnych do koordynacji, pozycja reszty aminokwasowej w sekwencji łańcucha peptydowego oraz jej ilość mogą wpływać na sposób wiązania jonów metali do fragmentów białek. Jeśli peptyd posiada wolną grupę aminową na *N*-końcu, to bierze ona udział w procesie koordynacji. Zablockowanie tej grupy, uniemożliwia ten proces [7].

2. RESZTY AMINOKWASOWE BIORĄCE UDZIAŁ W PROCESIE KOORDYNACJI JONÓW METALI

Peptydy zawierające reszty aminokwasowe, takie jak histydyna, lizyna, kwas asparaginowy, cysteina, posiadające wiele atomów donorowych (azot z pierścienia imidazolowego, azot *N*-końcowej grupy aminowej, tlen grupy karboksylowej lub karbonylowej, siarka z ugrupowania tiolowego) są idealnymi ligandami dla jonów metali przejściowych, (m.in. Cu(II), Ni(II), Zn(II)) [11, 13, 14]. Spośród wyżej wymienionych, to właśnie histydyna jest najefektywniejszym aminokwasem, mającym aż trzy miejsca donorowe zdolne do wiązania jonów metali (azot grupy aminowej, tlen grupy karboksylowej oraz azot z pierścienia imidazolowego). Dzięki temu możliwe jest utworzenie dwóch trwałych termodynamicznie pierścieni chelatowych 5- i 6-członowego [10]. Dzięki występowaniu zjawiska tautomerii jon metalu może być wiązany zarówno przez atom azotu: δN , jak i ϵN , pochodzący z pierścienia imidazolowego (Rys. 1) [11].



Rysunek 1. Wzór strukturalny histydyny
Figure 1. Structural formula of histidine

3. WPŁYW RÓŻNYCH CZYNNIKÓW NA SPOSÓB KOORDYNACJI

3.1. BLOKADA GRUPY AMINOWEJ LUB KARBOKSYLOWEJ (N- LUB C-KOŃCOWEJ) PEPTYDU

Protekcja *N*-końcowej grupy aminowej bądź *C*-końcowej grupy karboksylowej ma istotny wpływ na przebieg procesu koordynacji jonu metalu do peptydu. Szczególnie istotna okazuje się *N*-końcowa grupa aminowa. Jeśli jest ona wolna, bardzo często działa jako ugrupowanie kotwiczące jon metalu. Jeśli zostanie zablokowana, np. przez acetylację ($-\text{COCH}_3$), koordynację musi rozpocząć donor łańcucha bocznego reszty aminokwasowej zdolnej do wiązania jonu metalu [5, 15]. Jak się okazuje, uczestnictwo wolnej grupy aminowej ma duży wpływ na stabilność powstających kompleksów. Najbardziej stabilnymi kompleksami metali są te, w których w proces wiązania zaangażowana jest wolna *N*-końcowa grupa aminowa. W literaturze opisano model koordynacyjny dwóch fragmentów białka angiogeniny z jonami Cu(II). Wybrane fragmenty różnią się jedynie tym, że jeden posiada wolną grupę aminową na *N*-końcu (Ang(1-17)), a drugi *N*-blokującą grupę acetylową (Ac(Ang1-17)). Istotna różnica występuje w grupie kotwiczącej jon Cu(II). W Ang(1-17) to wolna grupa aminowa z *N*-końca rozpoczyna proces koordynacji jonu metalu, natomiast azot z ugrupowania imidazolowego jest potencjalnym miejscem kotwiczenia w AcAng(1-17). Miareczkowanie potencjometryczne pozwoliło na wyznaczenie stałych dysocjacji ligandów oraz stałych trwałości dla obu kompleksów [16]. Porównanie wartości stałych jasno wskazuje, że powstające kompleksy dla peptydu z niezablokowaną terminalną grupą aminową są trwalsze, w porównaniu do tych z zablokowaną grupą [17]. Najczęściej występujące sposoby wiązania peptydowych kompleksów Cu(II), Ni(II) z wolną grupą aminową oraz zawierających resztę histydyny to: 1) $\{\text{NH}_2, \text{N}_{\text{im}}^-\}$ – model histaminowy, 2) $\{\text{NH}_2, \text{N}_{\text{am}}^-, \text{N}_{\text{im}}^-\}$ – model Gly-His. W przypadku peptydów o dłuższej sekwencji aminokwasowej zazwyczaj obserwuje się sposób wiązania $\{\text{NH}_2, \text{N}_{\text{am}}^-, \text{N}_{\text{am}}^-, \text{N}_{\text{im}}^-\}$ dla sekwencji Xaa-Yaa-His lub $\{\text{N}_{\text{am}}^-, \text{N}_{\text{am}}^-, \text{N}_{\text{am}}^-, \text{N}_{\text{im}}^-\}$ dla peptydów *N*-acylowych zawierających resztę histydyny [9].

3.2. OBECNOŚĆ NIEKOORDYNUJĄCYCH I KOORDYNUJĄCYCH ŁAŃCUCHÓW BOCZNYCH W SEKWENCJI PEPTYDU

Aminokwasy posiadają charakterystyczne łańcuchy boczne różniące się rozmiarem, kształtem, ładunkiem, zdolnością do tworzenia wiązań wodorowych oraz reaktywnością chemiczną [18]. Ich sfunkcjonalizowane łańcuchy boczne są szczególnie ważne, ponieważ warunkują aktywność centrów enzymów. W roztworze jony metali przejściowych, tj. Cu(II), Pd(II) i Ni(II) reagują z peptydami, które zawierają aromatyczne oraz alifatyczne łańcuchy boczne. Jeśli są one rozgałęzione tak jak w leucynie, tryptofanie, tyrozynie oraz są usytuowane w sąsiedztwie pierścienia chelatowego, mogą oddziaływać z jonem metalu.

W koordynacji jonów metali przejściowych mogą brać udział zarówno aminokwasy posiadające koordynujący, jak i niekoordynujący łańcuch boczny. Peptydy z niekoordynującymi łańcuchami bocznymi mają tylko trzy lub cztery typy centrów donorowych dostępnych dla jonu metalu. Są to: aminowy lub amidowy atom azotu i karbonylowy lub karboksylowy atom tlenu. Najważniejszym z nich atomem donorowym jest *N*-terminalny azot. Sąsiadujący tlen karbonylowy jest drugim atomem donorowym uzupełniającym pierścień chelatowy [13]. Wraz ze wzrostem wartości pH, jony Cu(II) są zdolne do sukcesywnej deprotonacji azotów peptydowych tworząc wiązania Cu-N-. Oligopeptydy składające się z glicyny lub alaniny są dobrymi przykładami prostych peptydów z niekoordynującymi łańcuchami bocznymi. Wiązanie jonów Cu(II) lub Ni(II) do tych peptydów zaczyna się przez *N*-terminalną grupę aminową, która działa jako miejsce kotwiczące, chroniąc jednocześnie przed hydrolizą jonu metalu. Peptydy oparte na motywie glicylowym tworzą silniejsze kompleksy niż ich odpowiedniki alaninowe [10]. Peptyd NSF₂RY-NH₂ jest najbardziej efektywnym ligandem dla jonów Cu(II) spośród wszystkich oligopeptydów z niekoordynującymi łańcuchami bocznymi. Stałe trwałości dla kompleksów, w których jon metalu skoordynowany jest przez cztery atomy azotu (4N), są prawie pięć rzędów wyższe, w porównaniu do pentaalaniny [19]. Ponadto badania kompleksów Cu(II) i Ni(II) z peptydowymi fragmentami białka prionowego dowiodły, że obecność niekoordynujących łańcuchów bocznych wpływa na stosunek izomerów koordynacyjnych. Aromatyczne pierścienie fenyloalaniny, tyrozyny lub tryptofanu czy alifatyczne hydrofobowe łańcuchy reszt aminokwasowych mogą zwiększać stabilność kompleksu przez bezpośrednie interakcje elektronowe z jodem metalu, „*stacking*” pomiędzy dwoma pierścieniami aromatycznymi lub efekty hydrofobowe [15, 19, 20, 21].

Wysokie powinowactwo peptydowych ligandów do wiązania jonów metali wymaga obecności silnie koordynujących łańcuchów bocznych zawierających ugrupowania karboksylowe, karbonylowe, tiolowe lub imidazolowe. Peptydowe fragmenty hormonu tymopoetyny działają jako najprostsze modele do badania wpływu grupy karboksylowej z łańcucha bocznego reszty kwasu asparaginowego na proces tworzenia kompleksów. Obecność grupy β-COO- kwasu asparaginowego w sekwencji aminokwasowej peptydu zawsze zwiększa termodynamiczną stabilność kompleksów. Ponadto, grupa β-karboksylowa reszty kwasu asparaginowego (Asp) chroni ligand przed deprotonacją kolejnych azotów amidowych. Jeśli kwas asparaginowy jest usytuowany w trzeciej pozycji łańcucha peptydowego (Xaa-Xaa-Asp-Xaa), wówczas tworzy się w wysokich wartościach pH kompleks, w którym jony Cu(II) skoordynowane są przez trzy atomy azotu {NH₂, N_{am}⁻, N_{am}⁻} oraz atom tlenu grupy karboksylowej. Doniesienia literaturowe wskazują na większą rolę stabilizującą grupy β-COO- pochodzącej z kwasu asparaginowego niż kwasu glutaminowego [22].

Łańcuch boczny reszty lizylowej odgrywa znaczącą rolę w procesie koordynacji jonu metalu. Grupa ε-NH₂ z łańcucha bocznego reszty lizylowej jest potencjal-

nym miejscem wiążącym jon metalu, jednak grupa ta nie może współzawodniczyć z silnymi atomami donorowymi reszty histydylowej czy kwasu asparaginowego. Co interesujące, wyniki uzyskane dla dipeptydów z resztą lizylową (Gly-Lys, His-Lys, Ala-Lys) pokazują, że grupa ϵ -NH₂ może mieć istotne znaczenie w tworzeniu mostków w dijadrowych kompleksach. Badania potencjometryczne często wskazują na obniżenie wartości pK_a reszty lizylowej w kompleksie w porównaniu z wartością pK_a tej grupy w wolnym ligandzie. Nie oznacza to jednak, że reszta ta bezpośrednio bierze udział w wiązaniu jonu metalu, a jedynie znajduje się ona blisko centrum koordynacji [23, 24].

Grupa tiolowa reszty cysteinyłowej wykazuje największe powinowactwo do jonów Zn(II). Takie kompleksy odgrywają istotną rolę w zmianie struktury peptydu i ich aktywności biologicznej. Przykładem kompleksu, w którym reszty cysteinyłowe wiążą jon Zn(II), jest palec cynkowy Cys₂His₂. Jest to szczególnie ważna klasa białek wiążąca jony tego metalu, oddziałująca z DNA i kontrolująca ekspresję genów. W palcu cynkowym (Cys₂His₂) centrum koordynacyjne tworzą dwa wiązania jonu Zn(II) z atomami siarki reszt cysteinyłowych i dwa imidazolowe atomy azotu reszt histydyłowych [25].

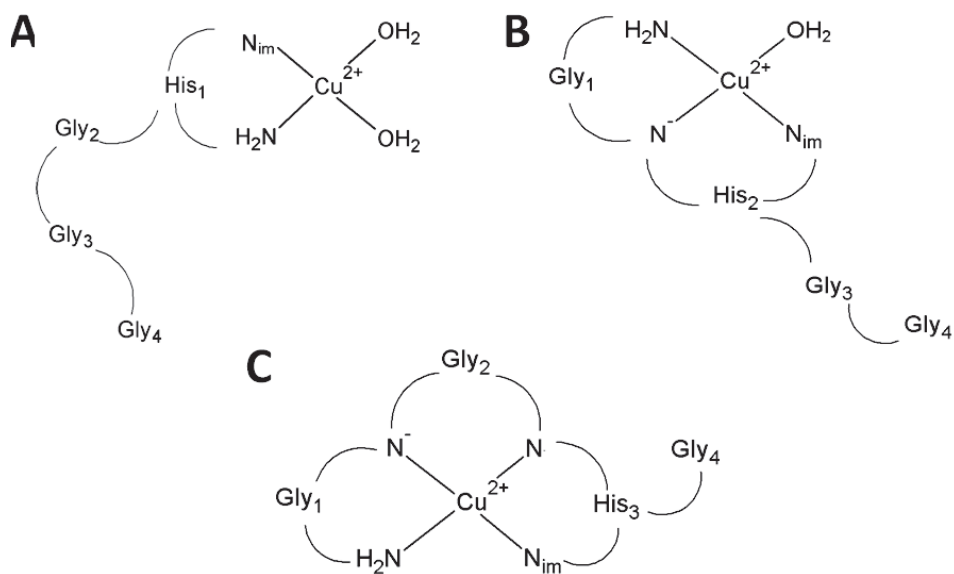
3.3. POZYCJA RESZTY HISTYDYLOWEJ W SEKWENCJI AMINOKWASOWEJ PEPTYDU

Zdolność peptydu do wiązania jonów metalu silnie zależy od pozycji reszty histydyłowej w sekwencji aminokwasowej peptydu. Imidazolowy atom azotu działa zazwyczaj jako grupa kotwicząca jon metalu. W peptydach z wolnym *N*-końcem grupa aminowa często konkuruje z imidazolem o pierwszeństwo w wiązaniu jonu Cu(II). Co więcej, oba atomy azotów tych grup, usytuowane blisko siebie, mogą tworzyć efektywne makrochelaty [10].

Peptydy o dłuższym łańcuchu głównym, zawierającym resztę histydyłową w pierwszej pozycji (**His1**) sekwencji aminokwasowej mogą tworzyć dimeryczne kompleksy. Zablokowanie *N*-końcowej grupy powoduje jednoczesne rozpoczęcie procesu koordynacji przez imidazolowy atom azotu i dwa lub trzy azoty amidowe. Prowadzi to do powstawania termodynamicznie mniej stabilnych 7-członowych pierścieni chelatowych i jednego lub dwóch stabilnych 5-członowych pierścieni, jeśli koordynacja imidazolowego atomu azotu reszty histydyliny zachodzi w kierunku *C*-końca. Jeśli koordynacja azotu imidazolowego zachodzi w kierunku *N*-końca, wówczas tworzy się stabilniejszy pierścień 6-członowy [10, 26].

Reszta histydyłowa w drugiej pozycji (**His2**) łańcucha peptydowego z niezablokowaną *N*-terminalną grupą umożliwia jednoczesne zaangażowanie azotu aminowego, imidazolowego i amidowego w wiązanie jonu Cu(II). W zakresie pH od 4–9 dominującym kompleksem jest CuH₋₁L z następującym sposobem koordynacji: {NH₂, N_{am}⁻, N_{im}⁻}. Bardzo wysoka trwałość tego kompleksu wynika z tworzenia 5- i 6-członowego pierścienia chelatowego [5].

Peptydy zawierające zablokowaną grupę aminową na *N*-końcu oraz resztę histydylową w trzeciej pozycji (**His3**) wykazują szczególne powinowactwo do jonów Cu(II), wynikające ze zdolności do tworzenia trzech pierścieni chelatowych, będących wynikiem koordynacji Cu(II) do czterech atomów azotu (4N) {N_{im}, N_{am}⁻, N_{am}⁻, N_{am}⁻}. Natomiast peptydy z wolną *N*-końcową grupą aminową działają jak motyw ATCUN. Sekwencje aminokwasowe oparte na tym motywie często tworzą kompleksy o następującym sposobie wiązania: 4N {NH₂, N_{am}⁻, N_{am}⁻, N_{im}} z trzema termodynamicznie stabilnymi pierścieniami chelatowymi (jeden pierścień 6-członowy i dwa 5-członowe). Tworzone w ten sposób czteroazotowe kompleksy {NH₂, N_{am}⁻, N_{am}⁻, N_{im}} są najbardziej trwałe spośród wszystkich kompleksów tworzonych przez ligandy peptydowe. Kompleksy Ni(II) są bardzo podobne do tworzonych przez jony Cu(II) [5, 8, 10, 26].



Rysunek 2. Struktury kompleksów Cu(II) z peptydami zawierającymi resztę histydyny w różnych pozycjach sekwencji aminokwasowej A) His-Gly-Gly-Gly (CuL), B) Gly-His-Gly-Gly (CuH₁L), C) Gly-Gly-His-Gly (CuH₂L)

Figure 2. Structures of Cu(II) complexes with peptides containing a histidine residue in different positions of amino acid sequence A) His-Gly-Gly-Gly (CuL), B) Gly-His-Gly-Gly (CuH₁L), C) Gly-Gly-His-Gly (CuH₂L)

3.4. WPŁYW ILOŚCI RESZT HISTYDYLOWYCH NA TRWAŁOŚĆ TWORZĄCYCH SIĘ KOMPLEKSÓW

Peptydy zawierające dwie lub więcej reszt histydylowych wykazują bardzo wysoką różnorodność strukturalną w reakcjach tworzenia kompleksów z jonami metali. Umożliwiają one tworzenie się makrochelatów i/lub polijądrowych kompleksów [5]. Multihistydynowe peptydy są często obiecującymi modelami naśla-

dującymi strukturę i aktywność katalityczną różnych metalo-enzymów, (np.: Cu, Zn-SOD i oksydazy zawierające miedź). Polihistydylowe regiony tworzą stabilne kompleksy z jonami metalu, tj.: Cu(II), Ni(II) i Zn(II) [3, 26]. W blokowanych peptydach na *N*-końcu z grupą acylową z motywem His-His (Ac-GHHRHG i Ac-HHGHRG) koordynacja jonu Cu(II) rozpoczyna się poprzez tworzenie kompleksu zawierającego imidazolowy atom azotu w sferze koordynacji jonu metalu (1N). Dla peptydów typu His-Xaa-His (Ac-HRHGHG i Ac-HGHRHG) najpierw tworzy się kompleks, w którym jony metalu wiązane są przez dwa imidazolowe atomy azotu reszt histydyny (2N).

His-His jest najprostszym peptydem posiadającym więcej niż jedną resztę histydylową. W pH 4 dominującą formą jest CuHL z histaminowym typem koordynacji $\{NH_2, N_{im}^-\}$. W zakresie pH 5–6 tworzy się kompleks CuL z następującym sposobem wiązania jonów Cu(II): $\{NH_2, N_{am}^-, N_{im}^-\}$. W pH około 7 tworzy się dimer karnozynowy $Cu_2H_2L_2$. W peptydach z dwoma resztami histydylowymi acetylacja grupy aminowej ma duży wpływ na struktury tworzących się kompleksów [3]. W ligandzie Ac-11-16H (Ac-EVHHQK-NH₂) imidazolowy atom azotu działa jako miejsce kotwiczące. W zakresie pH od 4–7 jon Cu(II) jest związany przez dwa azoty imidazolowe $\{N_{im}^-, N_{im}^-\}$, a wraz ze wzrostem pH azoty amidowe uczestniczą w procesie koordynacji jonów metali. Rozdzielenie dwóch reszt histydylowych resztą aminokwasową (His-Xaa-His, Xaa-His-Yaa-His) zmienia zdolności koordynacyjne tych peptydów. Dla His-Gly-His-Gly dominującą formą w roztworze jest czteroazotowy kompleks CuH_2L $\{NH_2, N_{am}^-, N_{am}^-, N_{im}^-\}$. *N*-terminalna grupa aminowa wraz z ugrupowaniem imidazolowym jest zaangażowana w tworzenie kompleksów miedzi z pentadeca peptydami, zawierającymi reszty histydylowe, rozdzielone między sobą dwoma resztami aminokwasowymi. Przykładem peptydu z takim sposobem koordynacji jest 114–128 fragment białka SPARC- TLEDTKKGHKLHLDY oparty na motywie His-Xaa-Yaa-His. Acetylacja grupy aminowej indukuje tworzenie się kompleksów z zaangażowaniem dwóch reszt histydylowych [8].

4. AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA PEPTYDOWYCH KOMPLEKSÓW Z JONAMI METALI PRZEJŚCIOWYCH

Kompleksy metali przejściowych odgrywają istotną rolę w dziedzinach naukowych, takich jak medycyna, biologia oraz farmacja. Jony metali mogą mieć istotny wpływ na strukturę naturalnych i syntetycznych oligopeptydów i ich aktywność biologiczną [27, 28]. Ponadto, peptydowe kompleksy Cu(II) mogą być bardziej odporne na enzymatyczną degradację, w porównaniu do wolnych ligandów [29]. Kompleksy Cu(II) z amyloidem β ($A\beta$) mają istotne znaczenie w inicjowaniu chorób neurodegeneracyjnych (szczególnie choroby Alzheimerera) [4]. $A\beta$ może koordynować jony metali przejściowych, tj.: Cu(II), Fe(II), Zn(II) i tworzyć z nimi aktywne kompleksy. Jak udowodniono, przyczyniają się one do generowania reaktywnych form tlenu (RFT) w mózgu. Zaburzenie równowagi pomiędzy produkcją RFT, a działaniem

przeciwtleniaczy może prowadzić do stresu oksydacyjnego, który przyczynia się do inicjowania chorób neurodegeneracyjnych [3].

Kompleksy Cu(II) z di-, tri i tetra- peptydami, zawierającymi tylko reszty glicylowe (GG, GGG i GGGG) i histydylowe w różnej pozycji (HGG, GHG, GGH i GGHG), wykazują aktywność dysmutazy ponadtlenkowej [30]. Wygaszają one toksyczny anionorodnik ponadtlenkowy produkowany w wielu układach biologicznych.

Neb-kolostatyna jest peptydem o następującej sekwencji aminokwasowej: SIVPLGLPVPVIGPIVVGPR, indukującym apoptozę w komórkach Mącznika młynarka. Jest to szkodnik powszechnie występujący w Stanach Zjednoczonych, dodatkowo wywołujący liczne alergię [31]. Kompleksy Cu(II) z Neb-kolostatyną wykazują silniejszą aktywność proapoptyczną na hemocyty owadów, w porównaniu do wolnych peptydów [32].

Fusobacterium nucleatum (*Fn*) jest beztlenową Gram-ujemną bakterią, bytującą w jamie ustnej człowieka. Jej obecność wiązana jest z wieloma chorobami, takimi jak: choroby płuc, przyzębia, zespół Lemierre oraz nowotwory. Dowiedzono, że istnieje związek pomiędzy tą bakterią, a rakiem jelita grubego. Peptydowe kompleksy Cu(II) z fragmentami białek błony zewnętrznej *Fn* (FadA i FomA) w obecności nadtlenu wodoru generują reaktywne formy tlenu (RFT). Niszczą one ważne biologicznie makromolekuły np. DNA, co może przyczyniać się do procesów mutagenyzy, a następnie prowadzić do kancerogenezy [33, 34].

Peptyd –TESHHK- wiążąc efektywnie jony Cu(II) i Ni(II) tworzy stabilne kompleksy zdolne do generowania RFT. Poprzez generację rodnika tlenowego dochodzi do indukowania promutagennej 8-okso-2'-deoksyguanozyny. Badania te dostarczają informacji na temat mechanizmów toksyczności peptydowych kompleksów z jonami metali przejściowych [35].

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] Z. Wu, F.A. Fernandez-Lima, D.H. Russell, *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, 2010, **21**, 522.
- [2] K. Zavitsanos, A.M. Nunes, G. Malandrinos, N. Hadjiliadis, *J. Inorg. Biochem.*, 2011, **105**, 102.
- [3] J. Wątyły, A. Hecel, M. Rowińska-Żyrek, H. Kozłowski, *Inorg. Chim. Acta.*, 2018, **472**, 119.
- [4] T. Kowalik-Jankowska, M. Ruta, K. Wiśniewska, L. Łankiewicz, *J. Inorg. Biochem.*, 2003, **95**, 270.
- [5] J. Wątyły, A. Hecel, P. Kołkowska, H. Kozłowski, M. Rowińska-Żyrek, *Curr. Med. Chem.*, 2018, **25**, 22.
- [6] M. Z. Wiloch, U.E. Wawrzyniak, I. Ufnalska, G. Piotrowski, A. Bonna, W. Wróblewski, *PLoS One*, 2016, **11**, 1.
- [7] J. Brasuń, H. Czapor, A. Matera-Witkiewicz, A. Kotynia, A. Sochacka, M. Cebart, *Dalton Trans.*, 2010, **39**, 6518.
- [8] S. Timári, C. Kállay, K. Ósz, I. Sóvágó, K. Várnagy, *Dalton Trans.*, 2009, **48**, 1962.
- [9] K. Várnagy, J. Szabó, I. Sóvágó, G. Malandrinos, N. Hadjiliadis, D. Sanna, G. Micera, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2000, **4**, 467.
- [10] H. Kozłowski, W. Bal, M. Dyba, T. Kowalik-Jankowska, *Coord. Chem. Rev.*, 1999, **184**, 319.

- [11] G.Y. Park, J.Y. Lee, R.A. Himes, G.S. Thomas, N.J. Blackburn, K.D. Karlin, *J. Am. Chem. Soc.*, 2014, **136**, 12532.
- [12] S. Medici, M. Peana, V.M. Nurchi, M.A. Zoroddu, *Molecules*, 2013, **18**, 12396.
- [13] I. Sóvágó, K. Várnagy, K. Ósz, *Comment. Inorg. Chem.*, 2010, **23**, 149.
- [14] A. Matera, J. Brasuń, M. Ceburat, J. Świątek-Kozłowska, *Polyhedron*, 2008, **27**, 1539.
- [15] Á. Grenács, A. Kaluha, C. Kállay, V. Józai, D. Sanna, I. Sóvágó, *J. Inorg. Biochem.*, 2013, **128**, 17.
- [16] I. Zawisza, M. Rózga, W. Bal, *Coord. Chem. Rev.*, 2012, **256**, 2297.
- [17] A. Magri, A. Munzone, M. Peana, S. Medici, M.A. Zoroddu, O. Hansson, C. Satriano, E. Rizzarelli, D. La Mendola, *Int. J. Mol. Sci.*, 2016, **17**, 1240.
- [18] P. Hu, C. Sorensen, M.L. Gross, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 1995, **6**, 1079.
- [19] W. Bal, M. Dyba, F. Kasprzykowski, H. Kozłowski, R. Latajka, L. Łankiewicz, Z. Maćkiewicz, L.D. Pettit, *Inorg. Chim. Acta.*, 1998, **283**, 1.
- [20] W. Bal, M. Dyba, H. Kozłowski, *Acta Biochim Pol.*, 1997, **44**, 467.
- [21] A. Kadej, M. Kuczer, E. Czarniewska, A. Urbański, G. Rosiński, T. Kowalik-Jankowska, *J. Inorg. Biochem.*, 2016, **163**, 147.
- [22] C. Kállay, Z. Nagy, K. Várnagy, G. Malandrinos, N. Hadjilias, I. Sóvágó, *Bioinorg. Chem. Appl.*, 2007, **2007**, 30394.
- [23] F.A. Bettelheim, W.H. Brown, M.K. Campbell, S.O. Farrell, O.J. Torres, *Introduction to Organic and Biochemistry*, Brooks/Cole, Cengage Learning, Belmont 2013.
- [24] G.C. Barrett, J.S. Davies, *Amino acids, peptides and proteins*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge 2002.
- [25] N.J. Pace, E. Weerapana, *Biomolecules*, 2014, **4**, 419.
- [26] H. Kozłowski, T. Kowalik-Jankowska, M. Jeżowska-Bojczuk, *Coord. Chem. Rev.*, 2005, **249**, 2323.
- [27] K. Kochman, A. Gajewska, H. Kochman, H. Kozłowski, E. Masiukiewicz, B. Rzeszotarska, *J. Inorg. Biochem.*, 1997, **65**, 277.
- [28] L. Mazur, B. Modzelewska-Banachiewicz, R. Paprocka, M. Zimecki, U.E. Wawrzyniak, J. Kutnowska, G. Ziółkowska, *J. Inorg. Biochem.*, 2012, **114**, 55.
- [29] A. Herman, H. Kozłowski, M. Czauderna, K. Kochman, K. Kulon, A. Gajewska, *J. Physiol. Pharmacol.*, 2012, **63**, 69.
- [30] R. Pogni, M.C. Baratto, E. Busi, R. Basosi, *J. Inorg. Biochem.*, 1999, **73**, 157.
- [31] D.C. Schroekenstein, S. Meier-Davis, R.K. Bush, *J Allergy Clin Immunol.*, 1990, **86**, 182.
- [32] T. Kowalik-Jankowska, A. Kadej, M. Kuczer, E. Czarniewska, *Polyhedron*, 2017, **134**, 365.
- [33] M.K. Lesiów, U.K. Komarnicka, K. Stokowa-Sołtys, K. Rolka, A. Łęgowska, N. Ptaszyńska, R. Wiczorek, A. Kyzioł, M. Jeżowska-Bojczuk, *Dalton Trans.*, 2018, **47**, 5445.
- [34] K. Krupa, M. Lesiów, K. Stokowa-Sołtys, R. Starosta, N. Ptaszyńska, A. Łęgowska, K. Rolka, M. Wernecki, M. Cał, M. Jeżowska-Bojczuk, *in press*.
- [35] P. Kaczmarek, M. Jeżowska-Bojczuk, K. Gatner, W. Bal, *Dalton Trans.*, 2005, **0**, 1985.

* Katarzyna Krupa i Monika K. Lesiów w równym stopniu przyczyniły się do opracowania tej publikacji i powinny być uważane za pierwszych autorów.

Praca wpłynęła do Redakcji 30 maja 2018