

Streszczenie rozprawy doktorskiej

Badania właściwości redoks kompleksów wybranych peptydów z jonami miedzi(II)

Tematyka niniejszej rozprawy obejmowała badania elektrochemicznych właściwości kompleksów jonów miedzi(II) ze specjalnie zaprojektowanymi i zsyntezowanymi grupami peptydowymi.

Przegląd literaturowy pracy zawiera krótką charakterystykę peptydów pod kątem ich aktywności biologicznej (rozdział 3.1). Szczególną uwagę zwróciłam na struktury koordynacyjne jakie mogą tworzyć peptydy z jonami miedzi na różnych stopniach utlenienia. Opisałam jak sposób koordynacji zależy od budowy łańcucha oraz pH roztworu. Omówiłam również najpowszechniej stosowane techniki badania struktur koordynacyjnych chelatów Cu(II)-peptydy.

Rozdział 3.2 poświęcony jest podziałowi peptydów natriuretycznych i ich znaczeniu w organizmie ludzkim. Związki te są hormonami peptydowymi odpowiedzialnymi między innymi za utrzymywanie prawidłowego ciśnienia krwi. W tym rozdziale, opisałam wyniki badań kompleksów peptydu NSF₁₋₂₈RY (który jest C-końcowym fragmentem przedsionkowego peptydu natriuretycznego) i jego alaninowych analogów przeprowadzone z wykorzystaniem technik potencjometrycznych i spektrofotometrycznych.

Przedmiotem rozważań zawartych w rozdziale 3.3 są właściwości redoks kompleksów jonów miedzi(II) z peptydami typu ATCUN. Zamieściłam w nim informacje zarówno na temat tripeptydów występujących w organizmach żywych, jak i specjalnie zaprojektowanych pochodnych syntetycznych, które selektywnie wiążą kationy miedzi(II).

W rozdziale 3.4 przytoczyłam najważniejsze informacje na temat beta-amyloidów (A β), ze szczególnym uwzględnieniem roli A β (1-x) (gdzie x może oznaczać 16, 40, lub 42 aminokwasy) w chorobie Alzheimera. Zawarłam zwięzły opis nowo odkrytych krótszych od N-końca pochodnych A β (4-x) i A β (5-x), których właściwości nie są w pełni znane. Rozdział

ten poświęcony został również redoksaktywności trzech aminokwasów wchodzących w skład budowy łańcucha β -amyloidów: tyrozynie, metioninie i histydynie. Następnie przybliżyłam dotychczas zaproponowane sposoby elektrochemicznej detekcji β -amyloidów. W ostatnich rozdziałach części teoretycznej niniejszej pracy skupiałam się na opisie woltamperometrycznych badań, których celem było scharakteryzowanie oddziaływań $A\beta(1-x)$ z jonami miedzi(II) oraz potencjalnymi substancjami leczniczymi.

W rozdziale zatytułowanym "metody pomiarowe stosowane w pracy" scharakteryzowałam techniki pomiarowe, którymi posługiwałam się w trakcie wykonywania badań zawartych w niniejszej pracy doktorskiej. Woltamperometrię cykliczną, pulsową różnicową i fali prostokątnej wykorzystywałam do badania właściwości redoks zarówno apo-peptydów jak i ich kompleksów z jonami miedzi(II). Natomiast spektrofotometrię UV-Vis stosowałam w celu wyznaczenia stężenia analizowanych związków.

Część eksperymentalną rozpoczyna opis aparatury pomiarowej, materiałów i odczynników wykorzystywanych w pracy. Rozdział 5.3 dotyczy sposobu prowadzenia syntezy peptydów oraz ich struktur.

Opis badań własnych, wykonanych w ramach niniejszej pracy, zawarty jest w trzech częściach. Pierwsza z nich dotyczy porównania elektrochemicznych właściwości kompleksów jonów miedzi(II) i analogów peptydu NSFRY. W kolejnych podrozdziałach przedstawiałam elektrochemiczną charakterystykę struktur koordynacyjnych $4N(O)^-$ (gdzie $(O)^-$ oznacza deprotonowany atom tlenu grupy hydroksylowej obecnej w tyrozynie), 4N oraz 3N i 2N. Szczególną uwagę poświęciłam najstabilniejszej strukturze 4N, którą tworzyły wszystkie badane pochodne. Ze względu na występowanie dwóch oddziaływań kation- π nad i pod płaszczyzną koordynacji Cu(II)-NSFRY jest jednym z najstabilniejszych chelatów w organizmie ludzkim. Wpływ tych oddziaływań analizowałam poprzez zastąpienie odpowiednich aminokwasów alaniną bądź fenyloalaniną. Najtrwalszym kompleksem (o najwyższym potencjale formalnym E_f reakcji Cu(II)/Cu(III)) okazał się Cu(II)-NSFRF, w którym tyrozyna została zastąpiona fenyloalaniną. Brak grupy hydroksylowej najprawdopodobniej ułatwiał zbliżenie się pierścienia aromatycznego do centrum metalicznego na odległość optymalną dla oddziaływania kation- π . Natomiast wprowadzenie alanin do łańcucha spowodowało osłabienie trwałości kompleksów, co oznacza że E_f chelatów Cu(II)-NSFRA i Cu(II)-NSAAY oraz Cu(II)-NSAAA wykazywał niższą wartość niż Cu(II)-NSFRY. Związkiem, który traktowałam jako „odnośnik” w stosunku do badanych peptydów była AAAAAA niezawierająca dużych grup funkcyjnych w łańcuchu bocznym. Zgodnie z oczekiwaniami, pentapeptyd ten najslabiej wiązał kationy miedzi(II) w związku

z tym proces utleniania centrum metalicznego Cu(II)/Cu(III) zachodził przy najniższej wartości potencjału tj. 382 mV.

Rozdział 6.2 poświęcony jest badaniu właściwości redoks kompleksów peptydów typu ATCUN (od ang. *amino terminal Cu(II)- and Ni(II)-binding motif*) z jonami miedzi(II). Tripeptydy te tworzą ze wspomnianymi kationami kompleksy o strukturze płaskiego kwadratu, w której centrum metaliczne otoczone dwoma pierścieniami pięciocłonowymi i sześciocłonowym ulega reakcji Cu(II)/Cu(III). Przeprowadzone przeze mnie badania wykonałam dla specjalnie zaprojektowanych przed doktora Arkadiusza Bonna pochodnych zawierających β-alaninę. Okazało się, że wprowadzanie do łańcucha beta-alaniny, która podobnie jak histydyna tworzy wokół centrum metalicznego pierścień sześciocłonowy istotnie wpływa na właściwości redoks badanych układów. W przypadku Cu(II)-ABH i Cu(II)-BAH, na voltamperogramach oprócz procesu Cu(II)/Cu(III) rejestrowałam również piki związane z reakcją Cu(II)/Cu(I). Osłabienie siły wiązania centrum metalicznego (wywołane większym naprężeniem sterycznym) powodowało najprawdopodobniej uwalnianie jonów miedzi(II) z chelatów, między innymi pod wpływem przykładania do elektrody ujemnego potencjału. Reakcji Cu(II)/Cu(I) nie obserwowałam w przypadku najsilniejszego kompleksu Cu(II)-AAH. Ponieważ w literaturze można znaleźć doniesienia na temat badań elektrochemicznych wykonywanych w roztworach buforowanych, zaproponowałam przeprowadzenie badań w dwóch roztworach podstawowych: zawierającym i pozbawionym buforu. Zastosowanie buforu TRIS wpłynęło na rejestrowaną odpowiedź prądową, zarówno położenie pików jak i ich kształt uległ zmianie.

W rozdziałach 6.3 oraz 6.4 opisałam wyniki uzyskane dla kompleksów jonów miedzi(II) i β-amyloidów. Swoją uwagę skupiałam na chelatach, w których ligandy stanowiły Aβ(1-16), Aβ(4-16) i Aβ(5-16) oraz odpowiednio ich krótsze analogi. Wykazałam, że w zależności od sposobu koordynacji kationów miedzi(II) centrum metaliczne może ulegać innym reakcjom redoks. Zgodnie z danymi literaturowymi, w kompleksie Cu(II)-Aβ(1-16) zachodziła nieodwracalna reakcja Cu(II)/Cu(I) (wartość rozseparowania pików ~ 400 mV). Natomiast w wyniku wiązania Cu(II) przez Aβ(4-16) powstawał kompleks o strukturze płaskiego kwadratu, w którym jony miedzi(II), pod wpływem przykładanego do elektrody potencjału, nieodwracalnie utleniały się do jonów miedzi(III). Nieodwracalność tej reakcji spowodowana była występowaniem redoksaktywnej tyrozyny w dziesiątej pozycji łańcucha. Najbardziej złożoną odpowiedzią elektrochemiczną charakteryzował się kompleks Cu(II)-Aβ(5-16), ponieważ centrum redoks ulegało reakcjom Cu(II)/Cu(I) (w zakresie ujemnych potencjałów, poniżej - 0.4 V) oraz Cu(II)/Cu(III) (w zakresie dodatnich potencjałów, powyżej 1.0 V).

Dodatkowo przeprowadziłam badania oddziaływań chelatu Cu(II)-A β (4-16) z pochodną potencjalnej substancji leczniczej, które wykazały, że substancja ta nie jest w stanie całkowicie odebrać kationów miedzi(II) od A β (4-16). W organizmie ludzkim najprawdopodobniej tworzy się redoksaktywny kompleks ternary, w którym centrum metaliczne redukuje się do Cu(I).

W ostatnim rozdziale przeprowadziłam dyskusję otrzymanych wyników i sformułowałam wnioski dotyczące redoksaktywności badanych przeze mnie kompleksów.

Elektrochemiczne badania oddziaływań wybranych peptydów z kationami miedzi(II) zostały ujęte w pięciu pracach opublikowanych w ramach niniejszej rozprawy (pozycje 1, 3-6, strona 169).

Słowa kluczowe: woltamperometria, peptydy, jony miedzi(II), kompleksy