

# **ΣΥΜΠΛΟΚΑ ΜΕΤΑΛΛΙΚΩΝ ΙΟΝΤΩΝ ΜΕ ΠΕΠΤΙΔΙΑ**

**Αναπ. Καθ. Γεράσιμος Μαλανδρίνος**

## *Εισαγωγή*

n Σπουδαιότητα μεταλλικών ιόντων σε βιολογικά συστήματα

▶ Πρωτεΐνες-ένζυμα

▶ μοντέλα τους → πεπτίδια

▶ Βιοανόργανη Χημεία

## Εισαγωγή

### ► μεθοδολογία μελέτης

- ◇ σύνθεση πεπτιδικού μοντέλου
- ◇ μελέτη αλληλεπίδρασης με μεταλλικά ιόντα σε διάλυμα
- ποτενσιομετρία (τι είναι ;;;)



## Εισαγωγή

### n Ποτενσιομετρία-αρχή

Μέτρηση της διαφοράς δυναμικού που αναπτύσσεται μεταξύ ενός ηλεκτροδίου αναφοράς και ενός εκλεκτικού ηλεκτροδίου ιόντων σε διάλυμα (π.χ υποκαταστάτη ή υποκαταστάτη-μεταλλικού ιόντος) συναρτήσει του όγκου προστιθέμενης βάσης ή οξέος γνωστής συγκέντρωσης

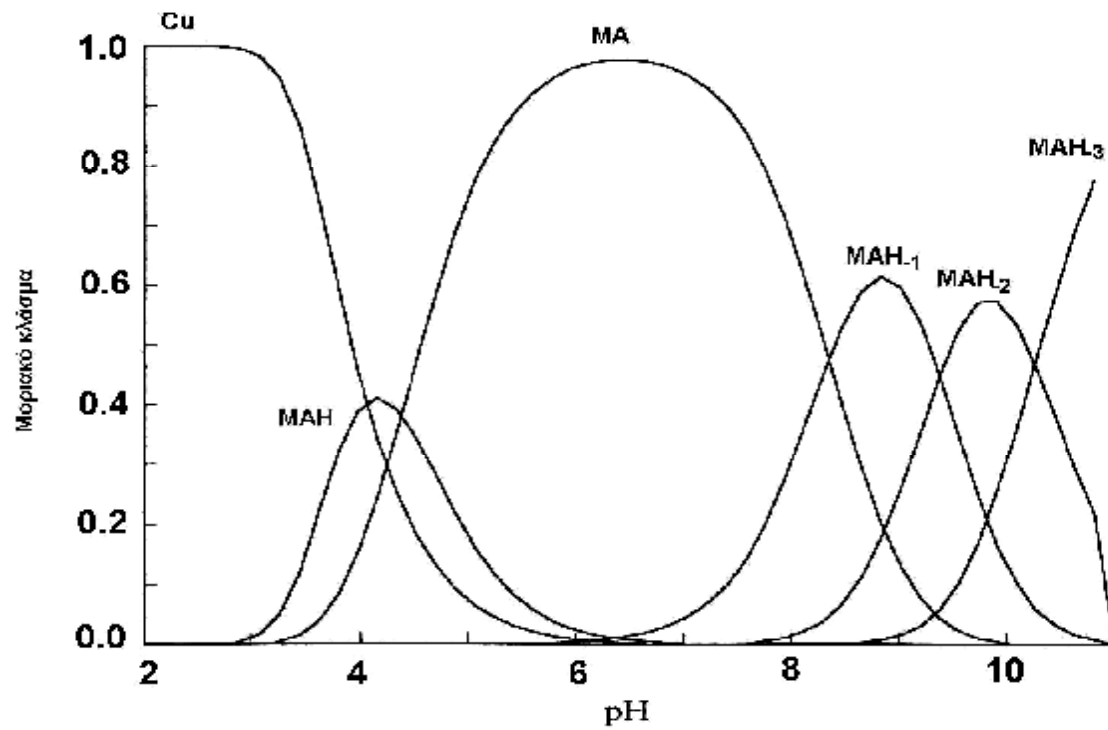
## Εισαγωγή

- n Τι πληροφορίες μπορούμε να αντλήσουμε από μια τέτοια μέτρηση;
  - προσδιορισμός συγκέντρωσης (M,L κλπ)
  - παράμετροι βαθμονόμησης ηλεκτροδίου
  - προσδιορισμός  $pK_a$  υποκαταστάτη
  - προσδιορισμός στοιχειομετρίας και σταθερών σχηματισμού συμπλόκων που σχηματίζονται
  - διαγράμματα κατανομής σωματιδίων συναρτήσει του  $pH$ ,  $pL$  ή  $pM$
  - Δεν εξάγουμε πληροφορίες σχετικά με τον τρόπο ένταξης του μεταλλικού ιόντος
  - χαρακτηρισμός σωματιδίων-

## Εισαγωγή

- Φασματοσκοπικές μέθοδοι (NMR, EPR, UV-Vis, CD)
- Βιολογική δράση-σύγκριση με το ένζυμο/πρωτεΐνη
- Εξαγωγή συμπερασμάτων-αξιολόγηση

# Εισαγωγή





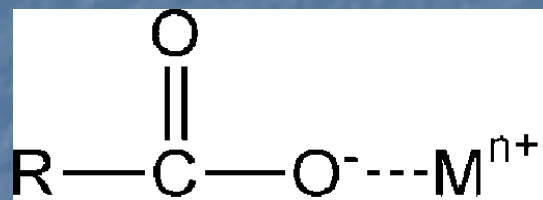
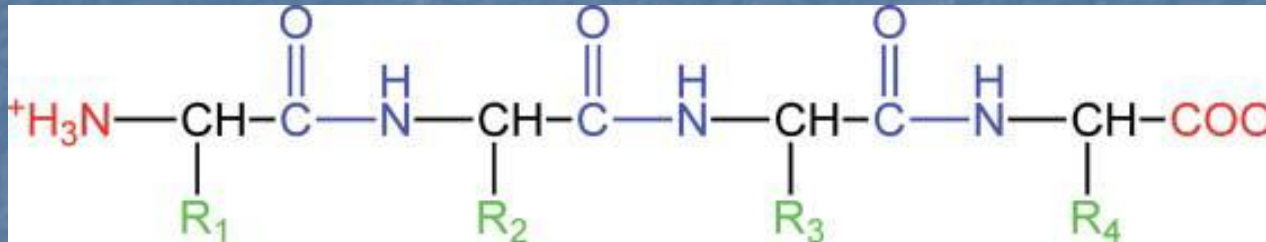
# Σύμπλοκα μεταλλικών ιόντων με πεπτίδια

σύμπλοκα μικρών πεπτιδίων (4-6 αμινοξέων) με τα μεταλλικά ιόντα Cu(II) και Ni(II)

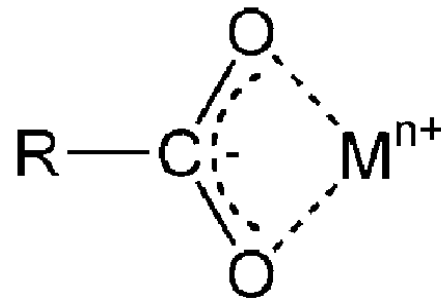
1. πεπτίδια χωρίς όξινες ή βασικές παράπλευρες ομάδες
2. πεπτίδια που περιέχουν το αμινοξύ **ιστιδίνη** (His)
3. πεπτίδια που περιέχουν το αμινοξύ **κυστεΐνη** (Cys)
4. πεπτίδια που περιέχουν τα αμινοξέα **ασπαρτικό οξύ** (Asp) και **γλουταμικό οξύ** (Glu)



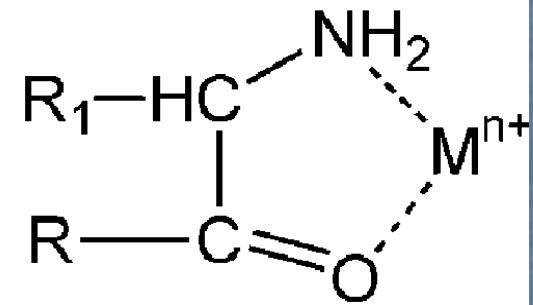
# Σύμπλοκα μεταλλικών ιόντων με πεπτίδια



(a)



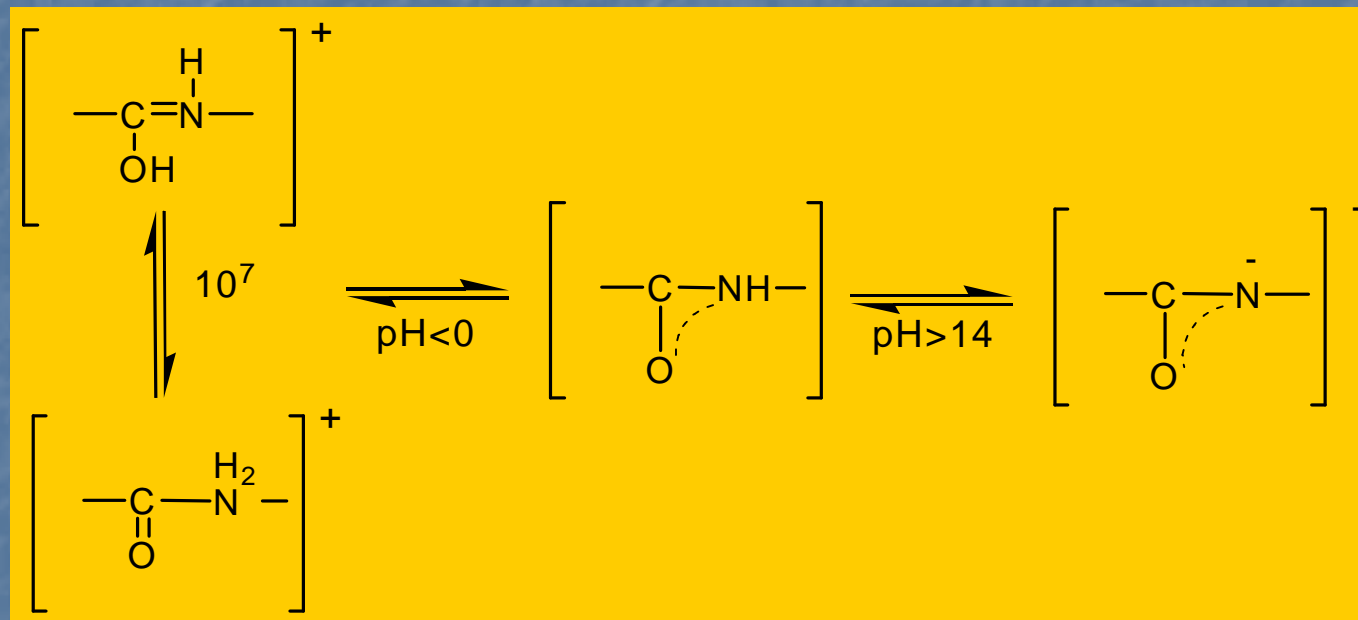
(b)

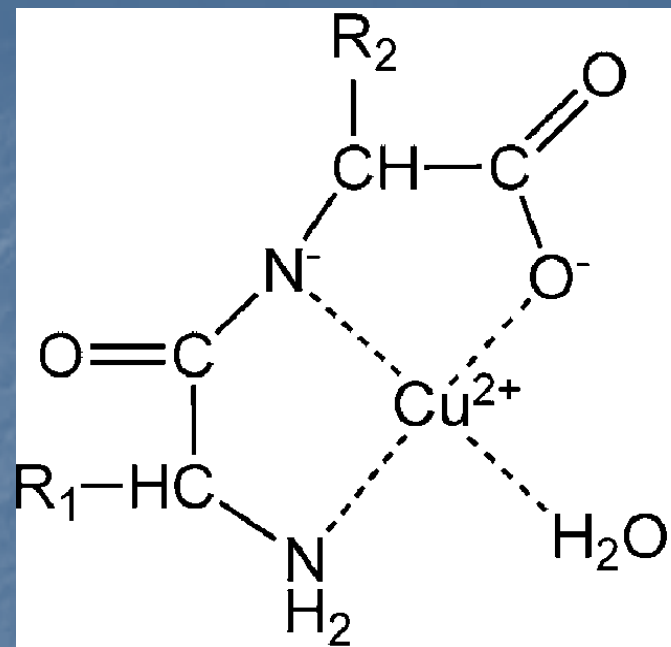


(c)

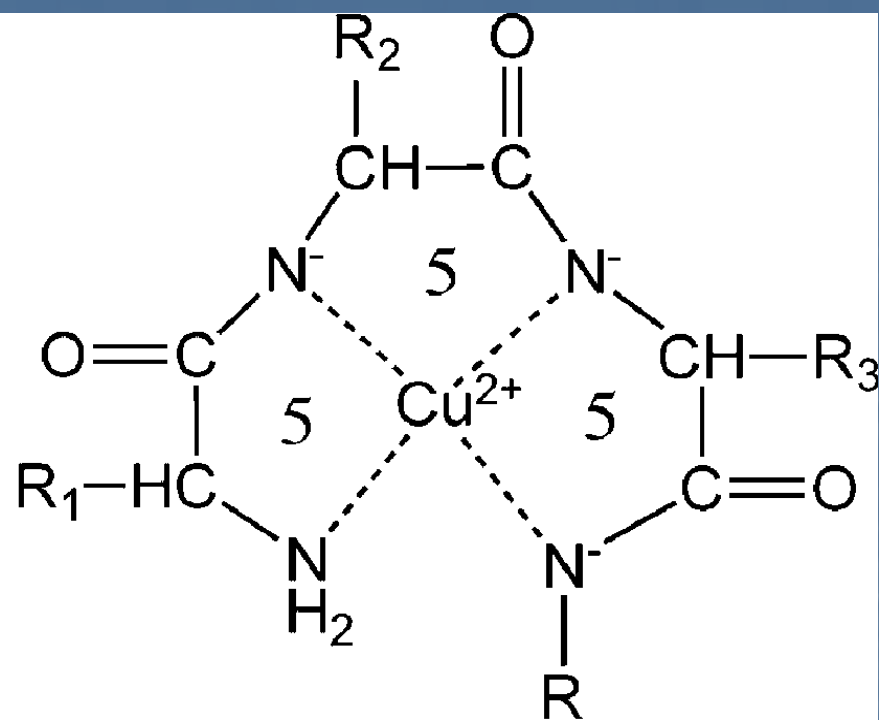
## Μεταλλικά σύμπλοκα πεπτιδίων χωρίς όξινης-βασικές παράπλευρες ομάδες

n Η αμιδική ομάδα (-CONH-)

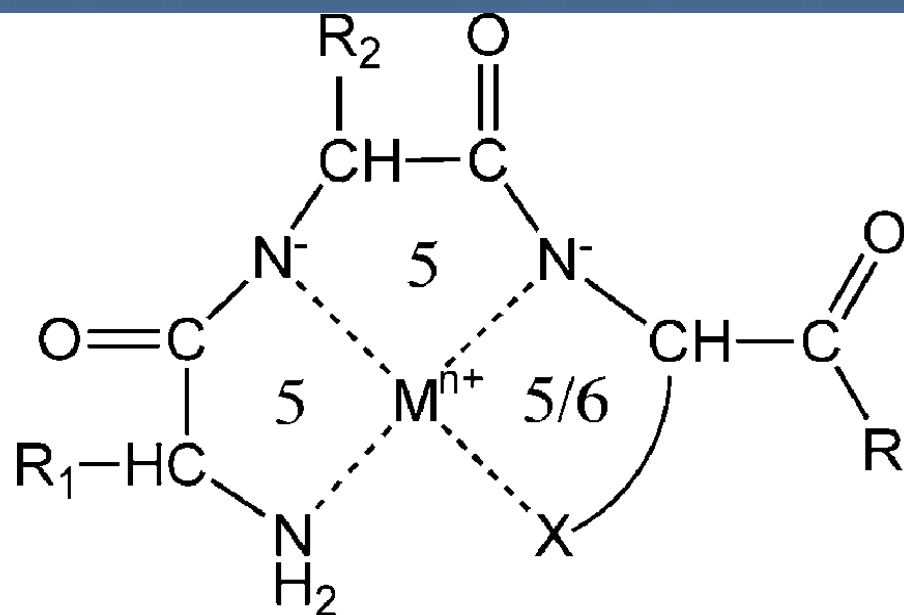




(a)



(b)

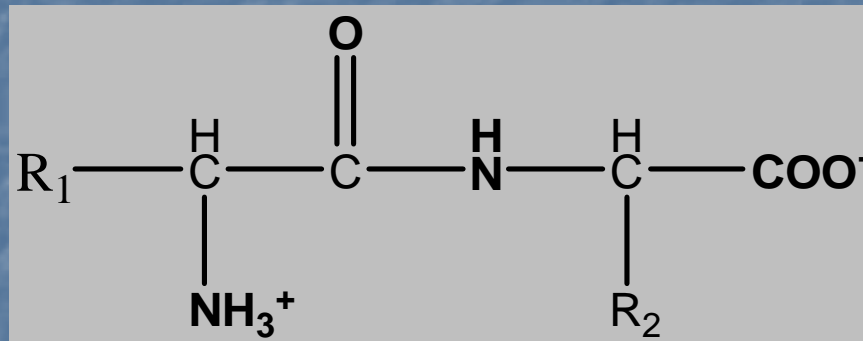


- a)  $X = N_{Im}$  (His);  $M^{n+} = Cu(II), Ni(II), Pd(II), Au(III), Pt(II)$
- b)  $X = \beta-COO^-$  (Asp);  $M^{n+} = Cu(II), (Ni(II), Pd(II))$
- c)  $X = S^-$  (Cys);  $M^{n+} = Ni(II), Pd(II)$
- d)  $X = S-CH_3$  (Met);  $M^{n+} = Pd(II), Pt(II)$



# Μεταλλικά σύμπλοκα πεπτιδίων χωρίς όξινης-βασικές παράπλευρες ομάδες

n οξεοβασικές ιδιότητες πεπτιδίων-πεπτιδικού δεσμού



Υποκαταστάτης	pK (NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	pK (COOH)
Gly	9.60	2.37
GlyGly	8.13	3.21
GlyGlyGly	7.96	3.27
GlyGlyGlyGly	7.97	3.24

τρεις κύριες όξινες/βασικές ομάδες

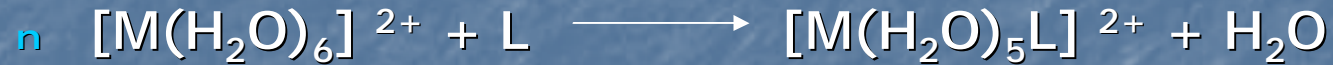
- Ποια είναι η επίδραση του μήκους της πεπτιδικής αλυσίδας στις τιμές των σταθ. ιονισμού;

## **Μεταλλικά σύμπλοκα πεπτιδίων χωρίς όξινης-βασικές παράπλευρες ομάδες**

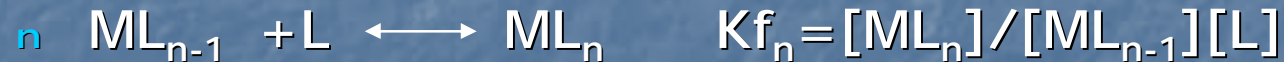
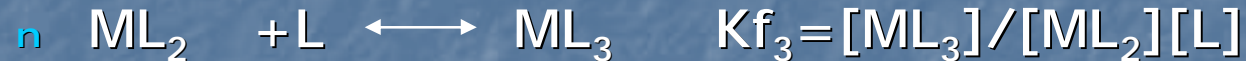
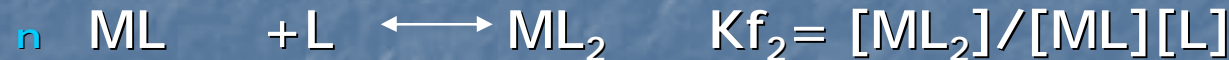
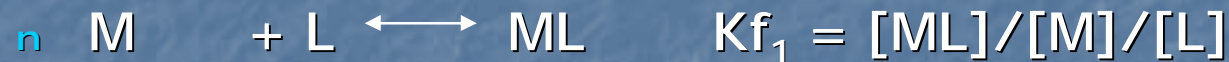
*Παράγοντες οι οποίοι καθορίζουν το είδος των σωματιδίων που σχηματίζονται κατά την αλληλεπίδραση πεπτιδίων-μεταλλικών ιόντων*

- n Η φύση του μεταλλικού ιόντος
  
- n το pH
  
- n Η φύση του αμινοξέος ή του πεπτιδίου
  - ◇ είδος παράπλευρης αλυσίδας/ων
  - ◇ μήκος πεπτιδικής αλυσίδας, κλπ
  
- n Η αναλογία  $M^{n+}$  : πεπτίδιο ή αμινοξύ

## Σύμπλοκα Cu(II)-ολιγογλυκίνο ή –αλάνινο πεπτιδίων



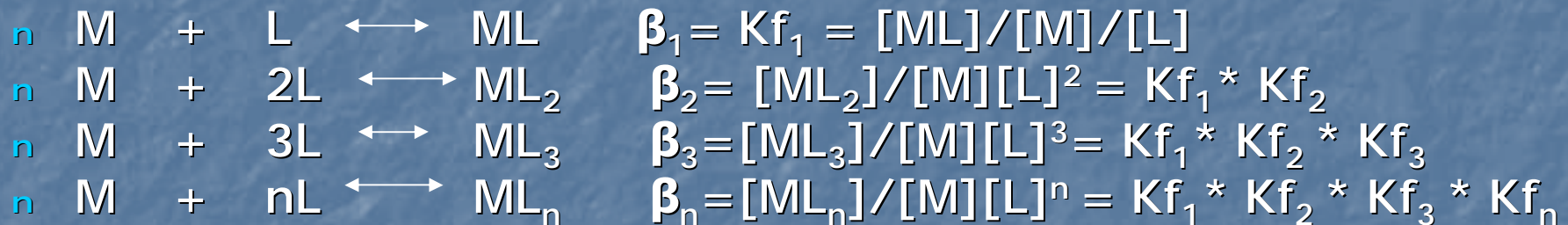
n Σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις L λαμβάνουν χώρα διαδοχικές αντιδράσεις υποκατάστασης μορίων νερού





## Σύμπλοκα Cu(II)-ολιγογλυκίνο ή –αλάνινο πεπτιδίων

n Ομοίως γαι τις προηγούμενες αντιδράσεις μπορούμε να γράψουμε



n Αφού λοιπόν  $\beta_n = K_n \cdot K_{n-1} \cdot K_{n-2} \dots K_1$

n ισχύει και  $\log \beta_n = \log K_n + \log K_{n-1} + \log K_{n-2} \dots \log K_1$

n Επίσης (σημαντική σχέση)  $\log \beta_n - \log \beta_{n-1} = \log K_n$



## Σύμπλοκα Cu(II)-ολιγογλυκίνο ή –αλάνινο πεπτιδίων

n Ισορροπίες που περιλαμβάνουν M, L, H<sup>+</sup>

n Η συμπλοκοποίηση περιγράφεται απ' την εξίσωση



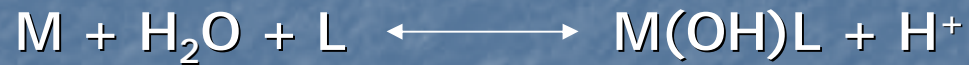
n και  $\beta_{p,q,r} = [M_pH_qL_r]/[M]^p[H]^q[L]^r$

n q αρνητικό σε δυο περιπτώσεις

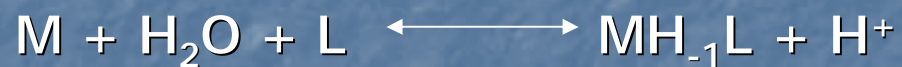
- υδρόλυση μεταλλικού ιόντος ή συμπλόκου
- ιονισμός πρωτονίου που κανονικά δεν ιονίζεται στην κλίμακα pH=0-14 (πχ πρωτόνιο αμιδικού δεσμού)

## Σύμπλοκα Cu(II)-ολιγογλυκίνο ή –αλάνινο πεπτιδίων

n Η αντίδραση



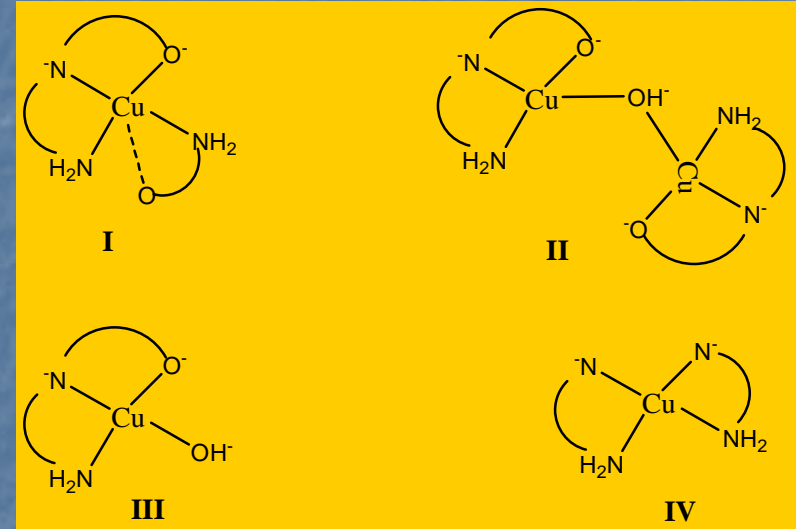
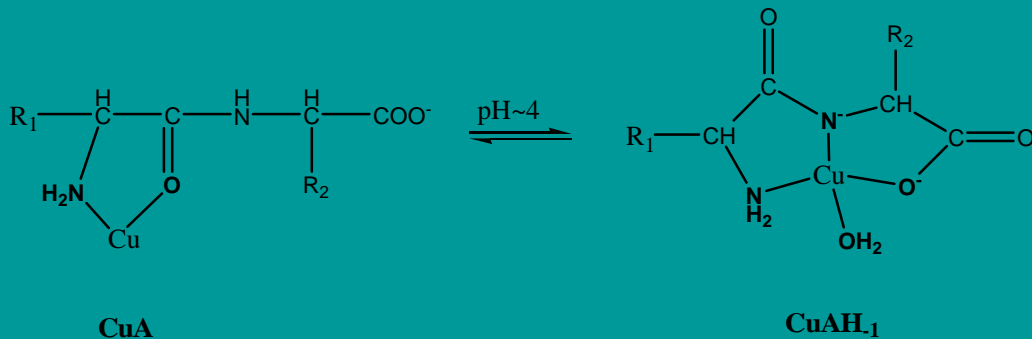
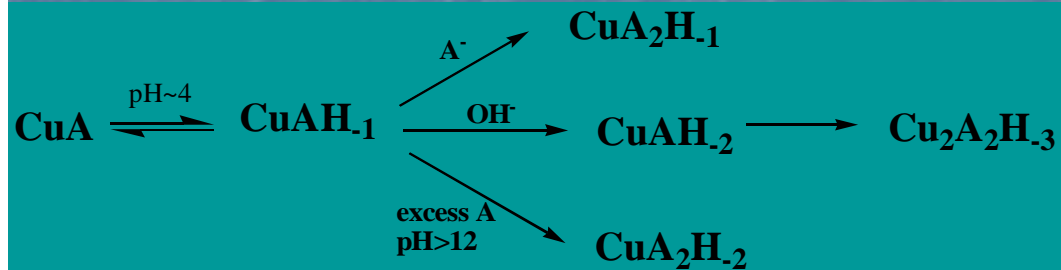
μπορεί να γραφτεί και ως:

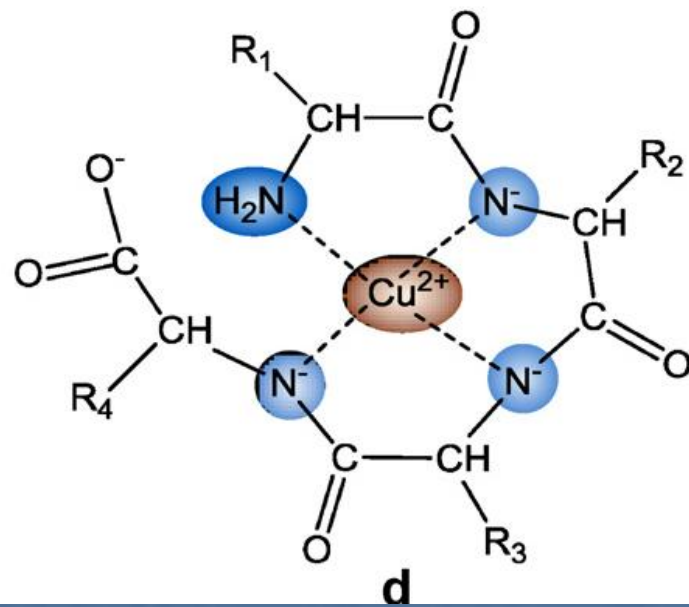
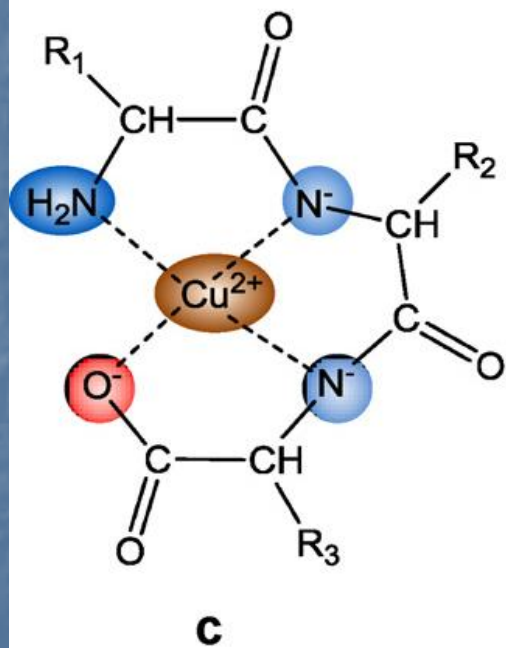
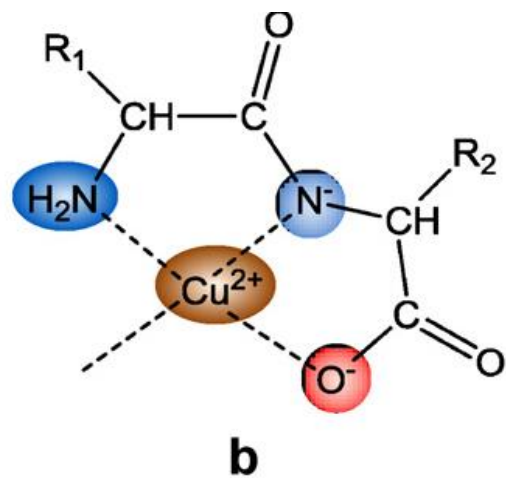
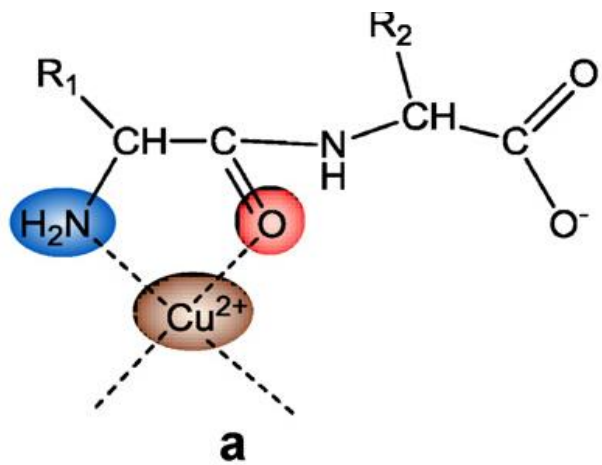


$$\text{με } \beta_{1,-1,1} = [M(OH)L]/[M][H]^{-1}[L]$$

# Σύμπλοκα Cu(II)-ολιγογλυκίνο ή -αλάνινο πεπτιδίων

$n \blacktriangleright$  GlyGly + Cu(II)





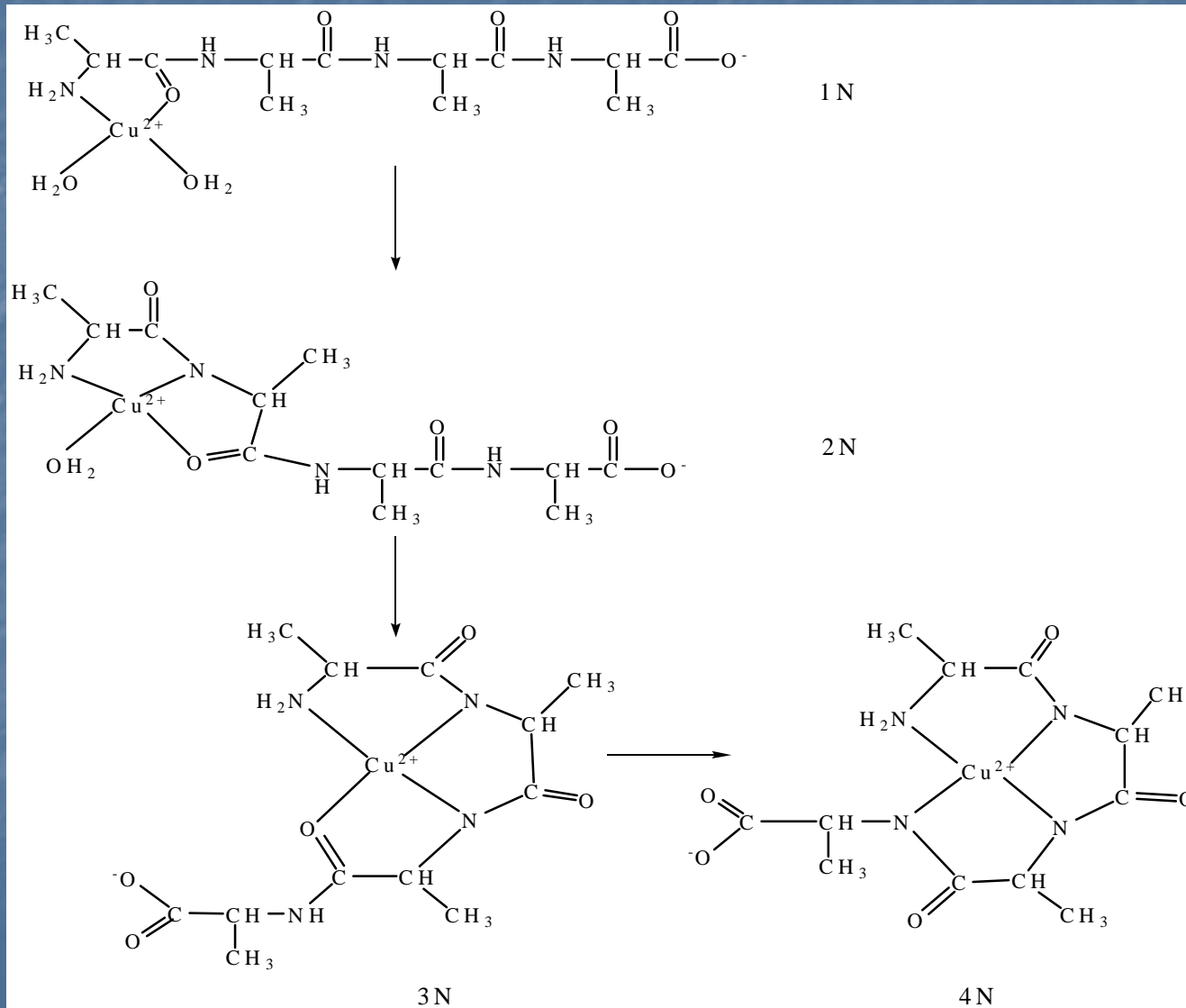


# Σύμπλοκα Cu(II)-ολιγογλυκίνο ή –αλάνινο πεπτιδίων

n ► Gly<sub>3</sub> ή Gly<sub>4</sub> ή Ala<sub>4</sub> + Cu(II)

Σωματίδια	GlyGly	GlyGlyGly	GlyGlyGlyGly
CuA	5.56	5.24	5.08
CuAH <sub>1</sub>	1.33	0.02	-0.42
CuAH <sub>2</sub>	-8.04	-6.58	-7.31
CuAH <sub>3</sub>	-	-	-16.60
CuA <sub>2</sub> H <sub>1</sub>	4.46	-	-
CuA <sub>2</sub> H <sub>3</sub>	-4.51	-	-
pK <sub>amide 1</sub>	4.23	5.22	5.50
pK <sub>amide 2</sub>	<b><u>9.37</u></b>	6.60	6.89
pK <sub>amide 3</sub>	-	-	9.29

# Σύμπλοκα Cu(II)-ολιγογλυκίνο ή -αλάνινο πεπτιδίων



## Σύμπλοκα Cu(II)-ολιγογλυκίνο ή –αλάνινο πεπτιδίων

- n Ποια η επίδραση των διαδοχικών αλλαγών στην σφαίρα ένταξης του μεταλλοϊόντος όσον αφορά τις φασματοσκοπικές παραμέτρους??
- n ανοικτό γαλάζιο (1N) à βαθύ κυανό (2N) à ιώδες (3N) à ρόζ(4N)
- n  $\lambda_{\max}$  από 720 nm (1N) σε 520-550 nm (4N)
- n μείωση του παράγοντα  $g$  και αύξηση του τελεστή υπέρλεπτης αλληλεπίδρασης  $A$  (EPR)

## Σύμπλοκα Ni(II)-ολιγογλυκινών

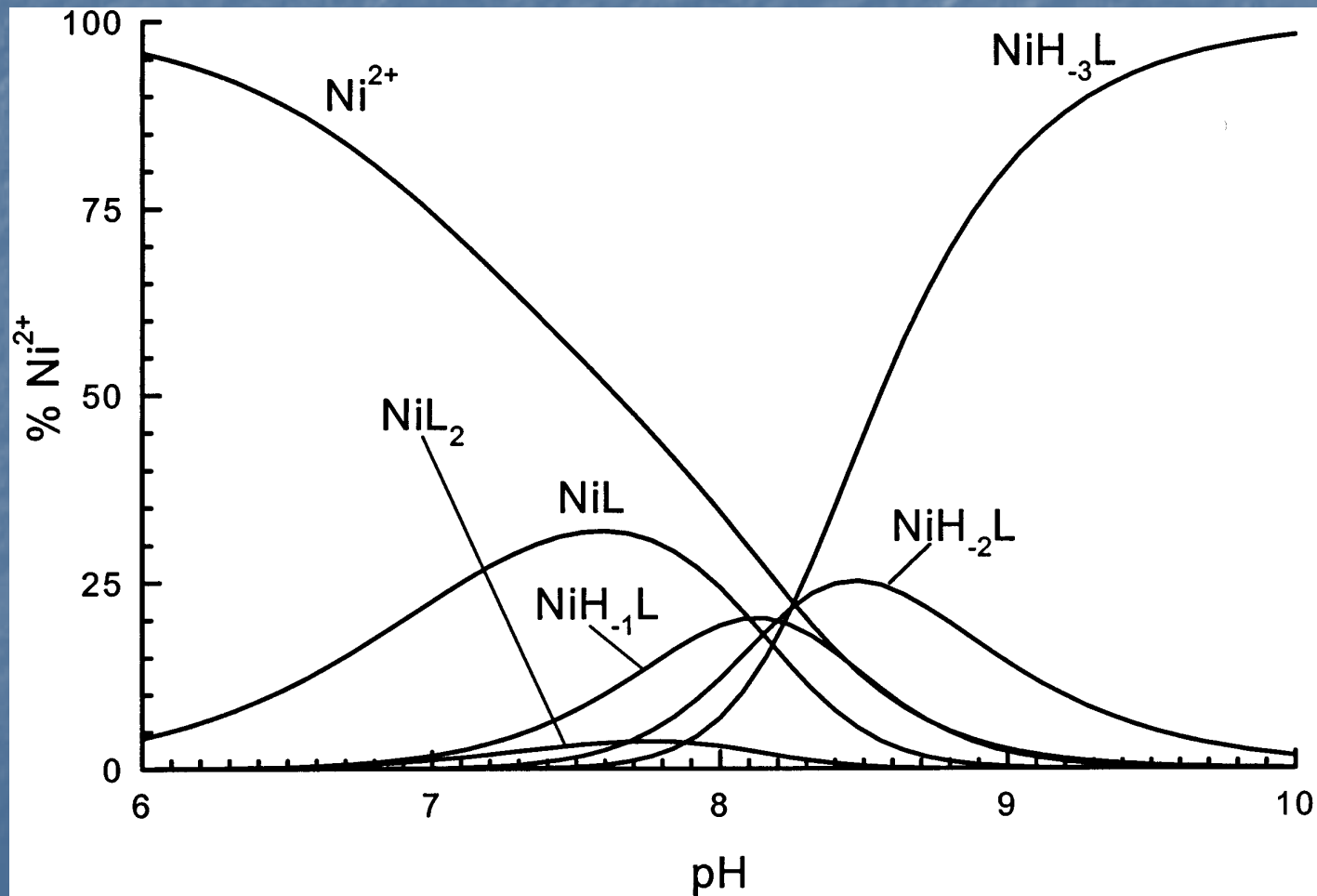
### *Ni(II) και ολιγογλυκίνες*

- κύριες διαφορές απ' τα αντίστοιχα σύμπλοκα του Cu(II)
  - ◇ αποπρωτονίωση πρώτου αμιδικού αζώτου σε υψηλότερες τιμές pH
  - ◇ συνεργατική αποπρωτονίωση υπολοίπων
  - ◇ μετάβαση από οκταεδρική γεωμετρία (υψηλού spin, παραμαγνητικά) σε επίπεδη τετραγωνική (χαμηλού spin, διαμαγνητικά). γιατί;



## Σύμπλοκα Ni(II)-ολιγογλυκινών

- Το σύστημα Ni(II)-Gly<sub>4</sub>



Άλλα μεταλλικά ιόντα (Pd(II), Co(II), Zn(II))

- Pd(II)

- ◇  $pK_{\text{amide1}} \sim 2, pK_{\text{amide2,3}} \sim 4$   
(συνεργατικά)

- ◇ σχηματισμός κίτρινων επίπεδων τετραγωνικών διαμαγνητικών συμπλόκων

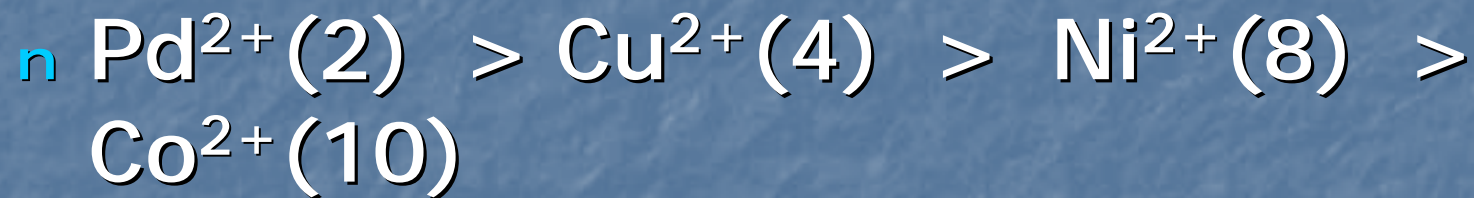
- ◇ δομές όπως Cu(II)-Ala<sub>4</sub>

Άλλα μεταλλικά ιόντα (Pd(II), Co(II), Zn(II))

- Co(II)
  - ◇  $pK_{\text{amide1}} \sim 10$
  - ◇ ταχεία οξείδωση σε αλκαλικό διάλυμα σχηματισμός συμπλόκων Co(III)
- Zn(II)
  - ◇ Δεν ιονίζεται ο αμιδικός δεσμός (υπάρχουν και εξαιρέσεις)
  - ◇ Σε ελαφρώς όξινα διαλύματα σχηματίζεται το σωματίδιο  $ZnA$  ίδιας δομής με το αντίστοιχο Cu(II)
  - ◇ Σε υψηλότερα pH  $\rightarrow$  υδρόλυση Zn(II)

Άλλα μεταλλικά ιόντα (Pd(II), Co(II), Zn(II))

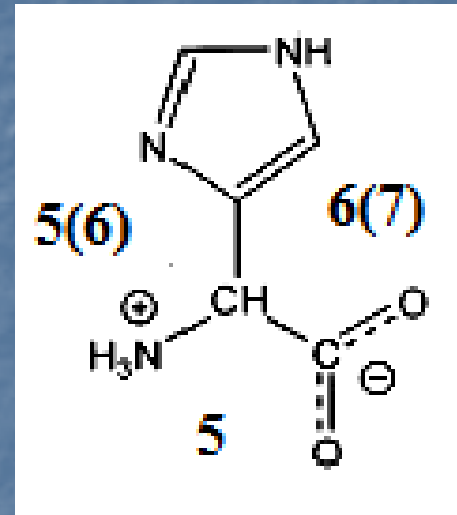
► Σειρά δραστηριότητας M(II) όσον αφορά τον ιονισμό του πεπτιδικού δεσμού





## Σύμπλοκα Cu(II), Ni(II) με πεπτίδια που περιέχουν το αμινοξύ ιστιδίνη (His)

η στοιχειομετρία των  
συμπλόκων καθώς και ο  
τρόπος ένταξης του  
μεταλλικού ιόντος εξαρτάται  
επιπλέον:



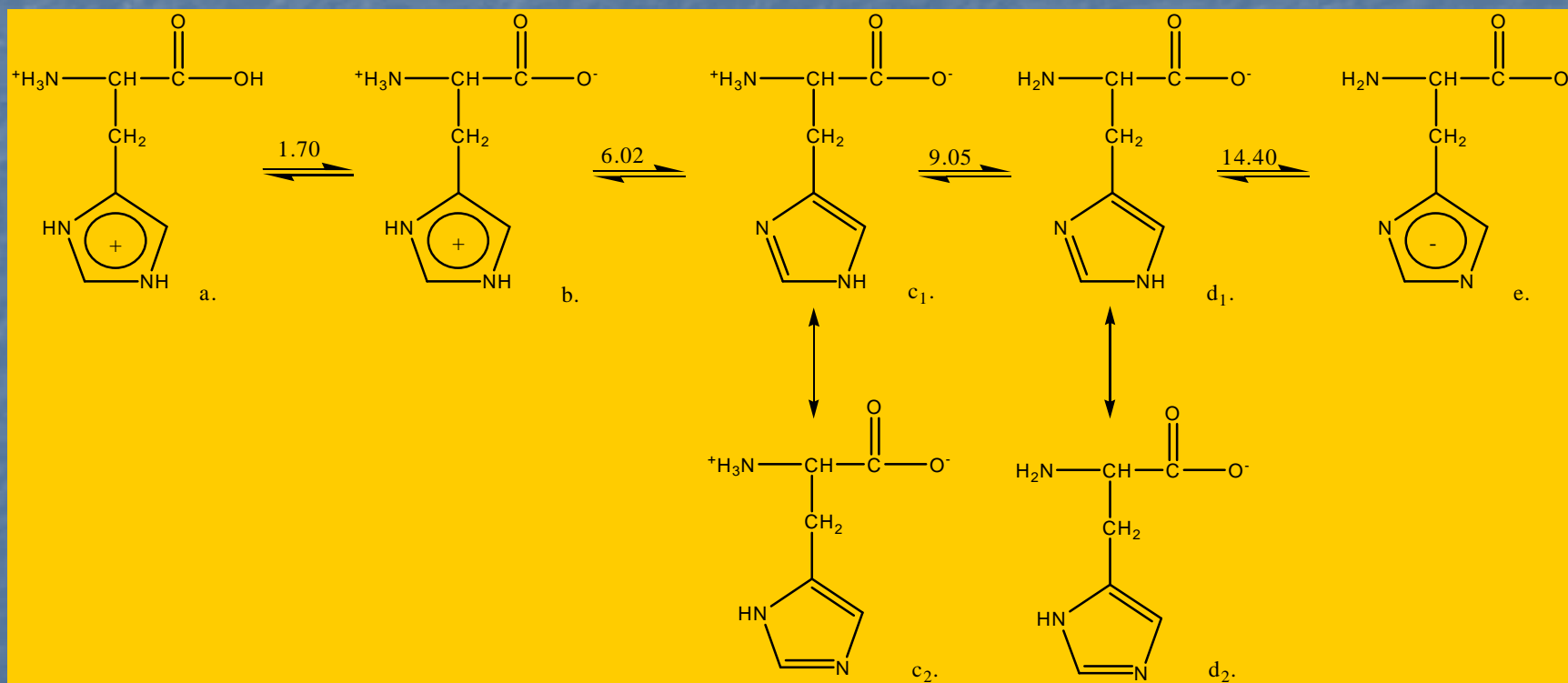
→ από την θέση της His  
στην πεπτ. αλληλουχία

*σειρά ιονισμού*

καρβοξυλικό άτομο O<sup>-</sup> N(3)  
ιμιδαζολίου α-NH<sub>2</sub> N(1)  
ιμιδαζολίου (πυρρολικό)

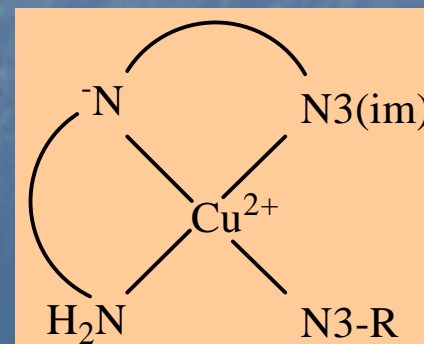
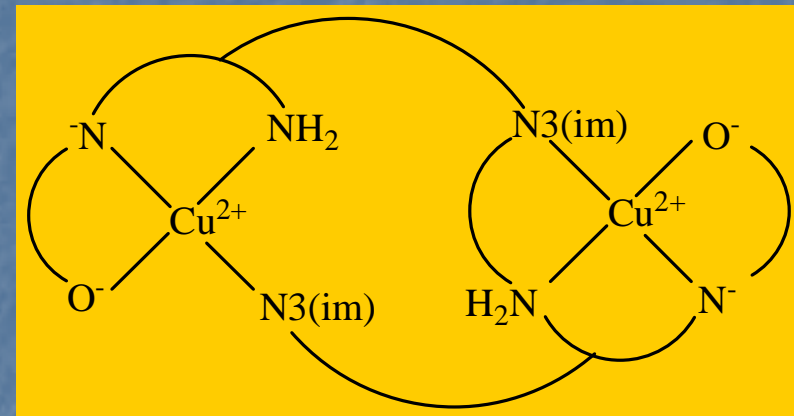
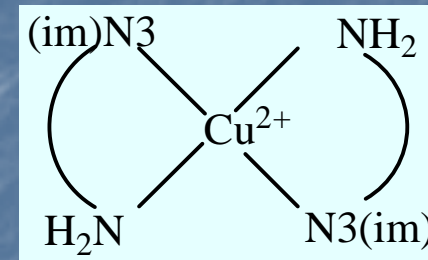
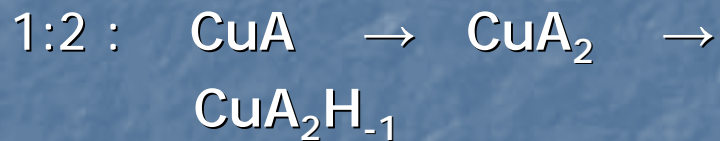
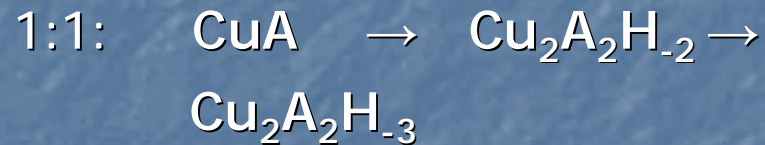
	pK
pK (α-COOH)	1.70
pK (imidazol)	6.02
pK (NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	9.09

# Σύμπλοκα Cu(II), Ni(II) με πεπτίδια που περιέχουν το αμινοξύ ιστιδίνη (His)



# Σύμπλοκα Cu(II), Ni(II) με πεπτίδια που περιέχουν το αμινοξύ ιστιδίνη (His)

n Διπεπτίδια του τύπου His-X  
και X-His (X=αλειφατικά  
αμινοξέα)



# Σύμπλοκα Cu(II), Ni(II) με πεπτίδια που περιέχουν το αμινοξύ ιστιδίνη (His)

n Διπεπτίδια του τύπου His-X και **X-His**  
(X=αλειφατικά αμινοξέα)

n

n 1:1 CuA  $\rightarrow$  CuAH<sub>-1</sub>  $\rightarrow$   
τετραπυρηνικά σύμπλοκα

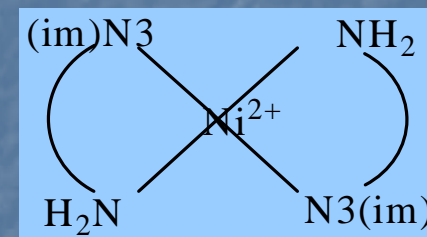
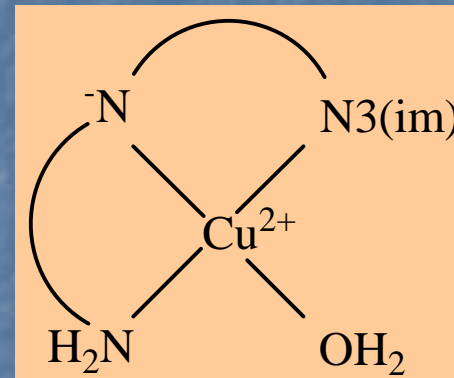
n

n 1:2 CuA  $\rightarrow$  CuAH<sub>-1</sub>  $\rightarrow$   
CuA<sub>2</sub>H<sub>-1</sub>

n **His-X** και Ni(II)  
κύριο σύμπλοκο το NiL<sub>2</sub> με ένταξη  
τύπου ισταμίνης

n **X-His** και Ni(II)

n κύριο σύμπλοκο το NiLH<sub>-1</sub> (pH~6.7)



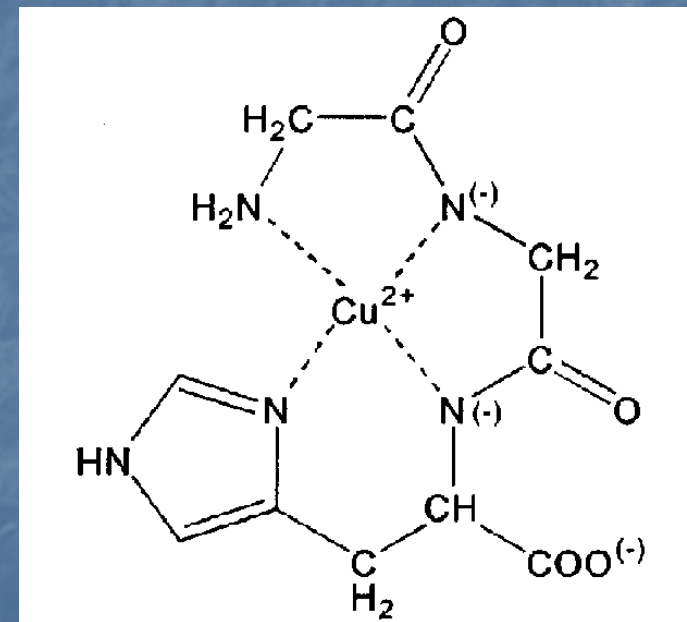
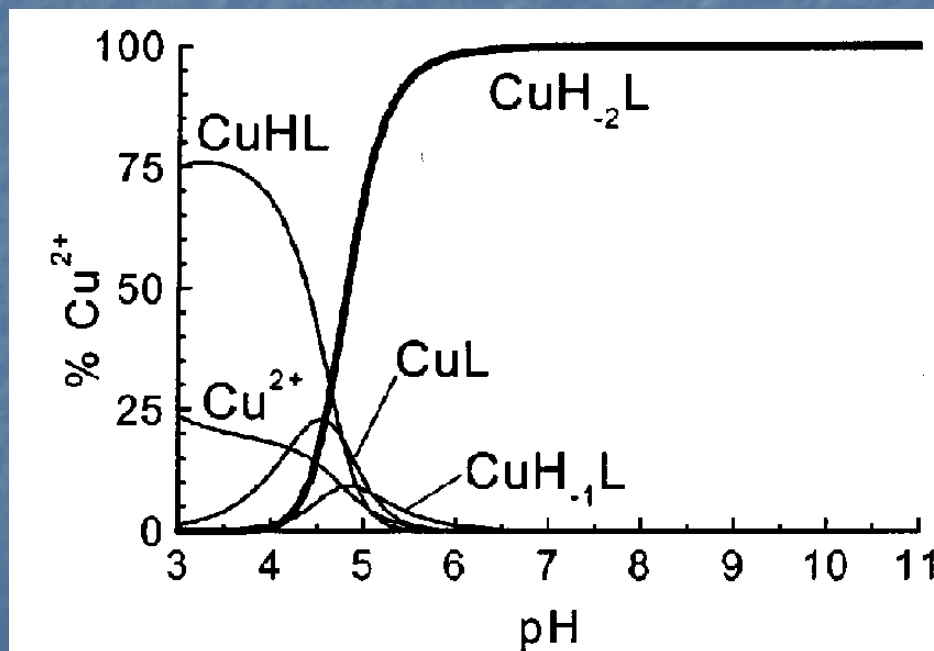
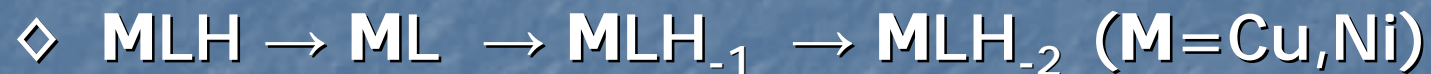


## Σύμπλοκα Cu(II), Ni(II) με πεπτίδια που περιέχουν το αμινοξύ ιστιδίνη (His)

### n Τριπεπτίδια του τύπου X-Y-His με Cu(II) και Ni(II)

- $Cu(II) + Gly-Gly-His$

Πορεία συμπλοκοποίησης

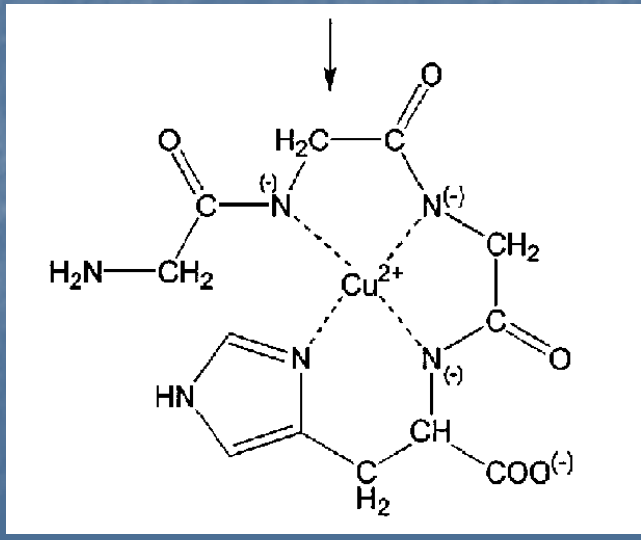
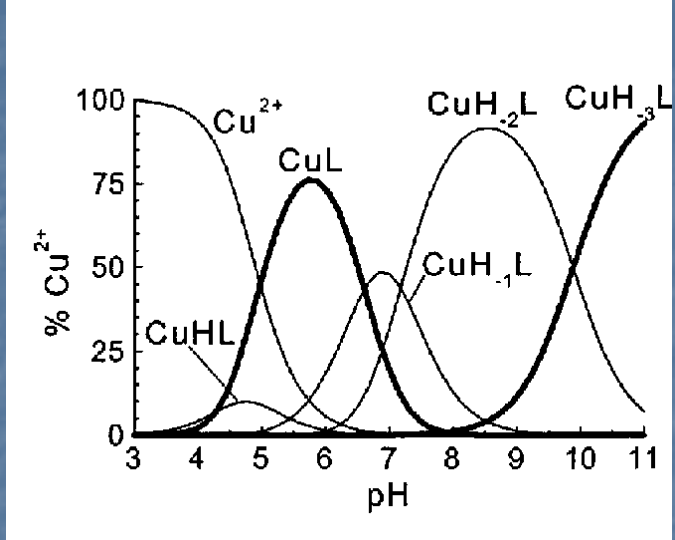
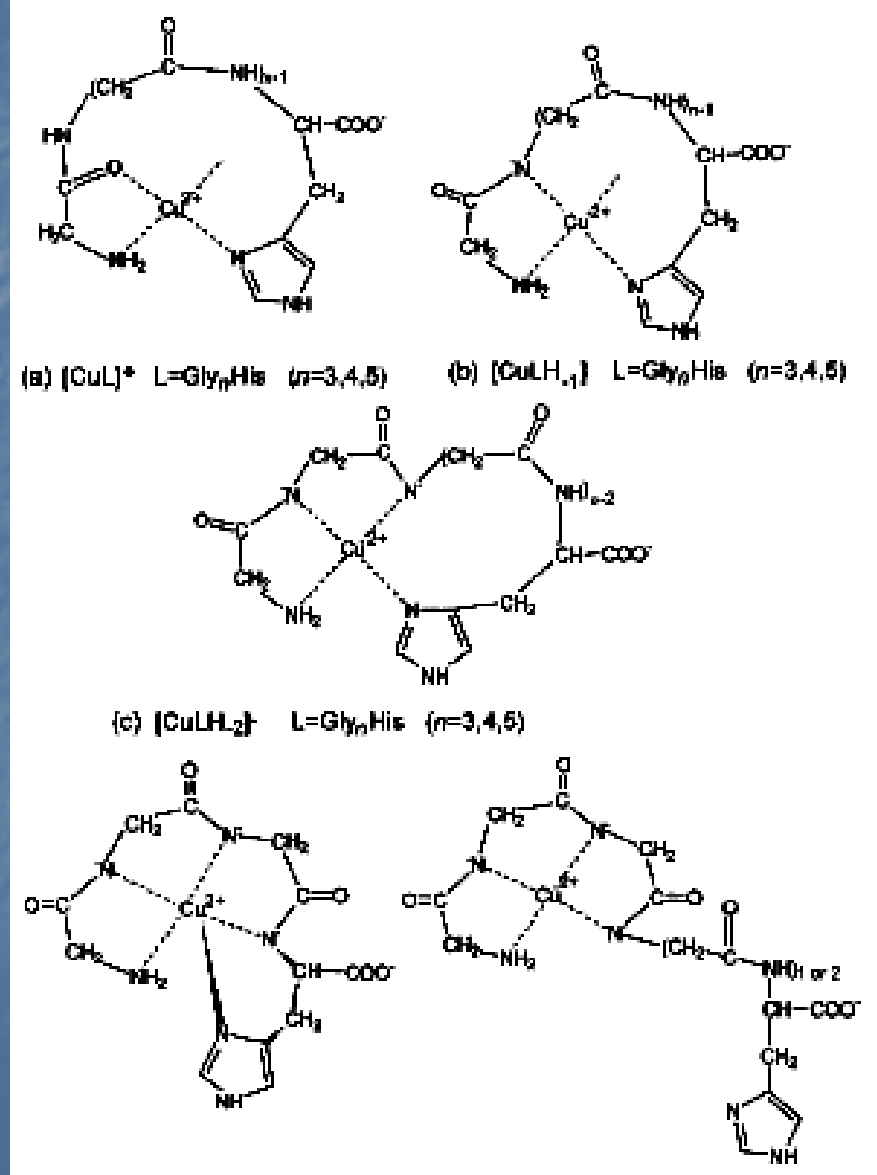


Σύμπλοκα Cu(II), Ni(II) με πεπτίδια που περιέχουν το αμινοξύ  
ιστιδίνη (His)

*Τετραπεπτίδια του τύπου X-Y-Z-His με Cu(II) και Ni(II)*

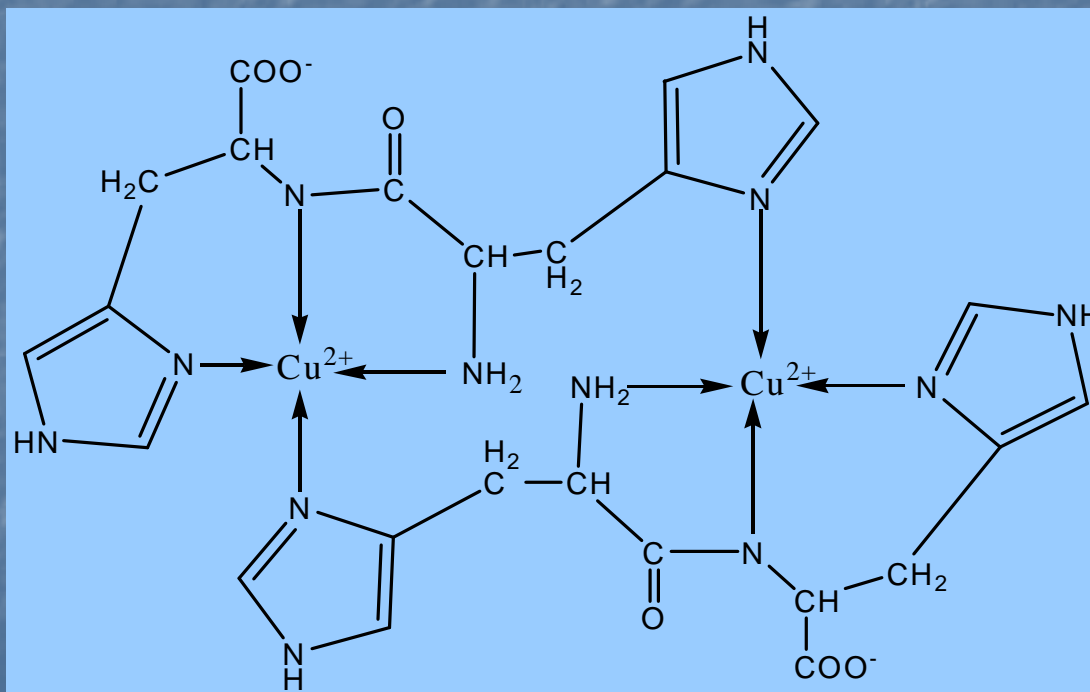
- Cu(II) + Gly-Gly-Gly-His Χαρακτηριστικά:
  - ◇ Διαδοχικός σχηματισμός 1N,2N,3N,4N σωματιδίων
  - ◇ η ένταξη ξεκινά από το ιμιδαζολικό άζωτο (όταν η απόσταση N-τελ άκρου-His > δυο αμινοξέων)
  - ◇ δεν υπάρχει συνεργατικότητα κατά την αποπρωτονίωση αμιδικών αζώτων
- Ni(II) + Gly-Gly-Gly-His Χαρακτηριστικά:
  - ◇ Τα ίδια, επιπλέον το 4N σύμπλοκο NiLH<sub>3</sub> επίπεδο τετραγωνικό και διαμαγνητικό

# Σύμπλοκα Cu(II), Ni(II) με πεπτίδια που περιέχουν το αμινοξύ ιστιδίνη (His)



## Σύμπλοκα Cu(II), Ni(II) με πεπτίδια που περιέχουν το αμινοξύ ιστιδίνη (His)

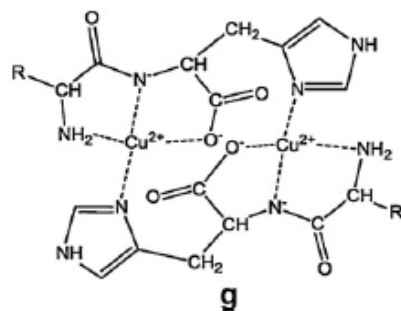
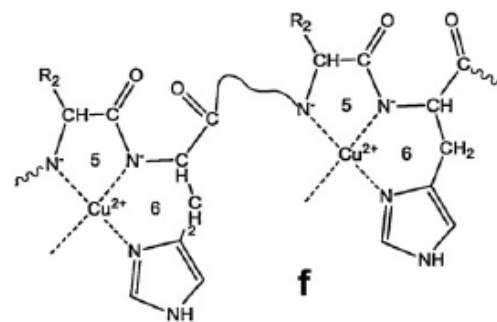
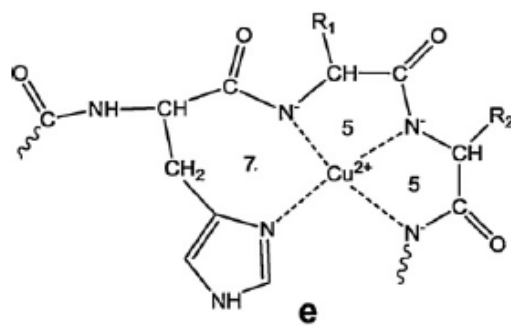
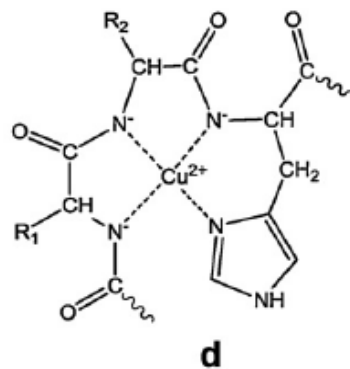
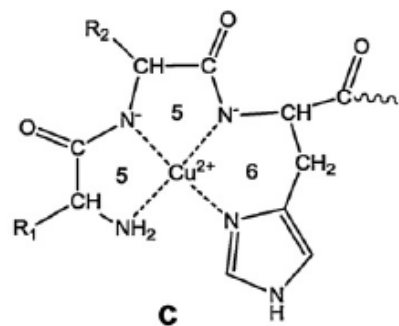
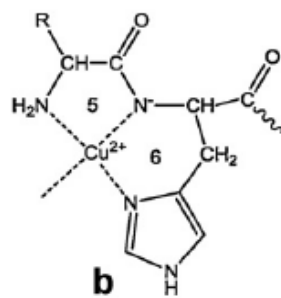
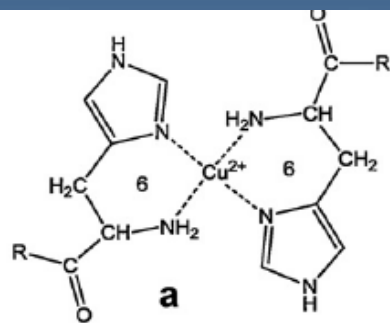
- Το διπεπτίδιο His-His.  
Αλληλεπίδραση με Cu(II)

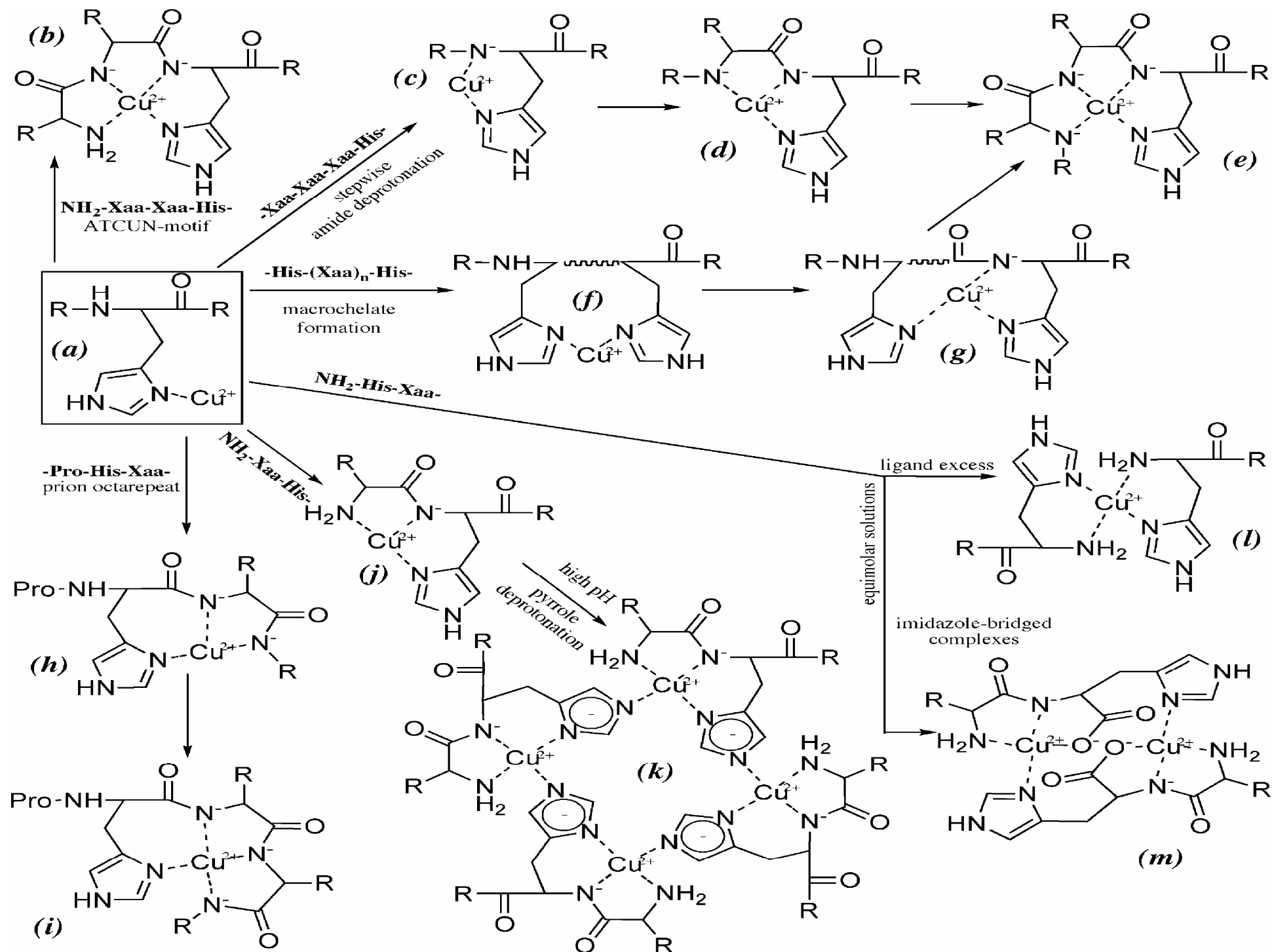




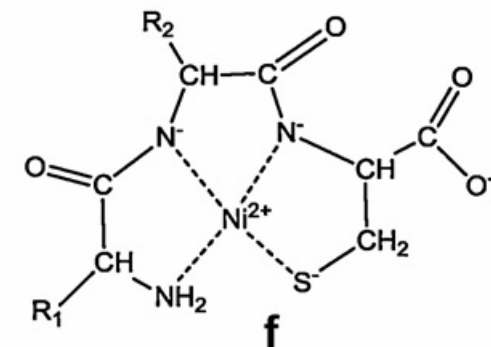
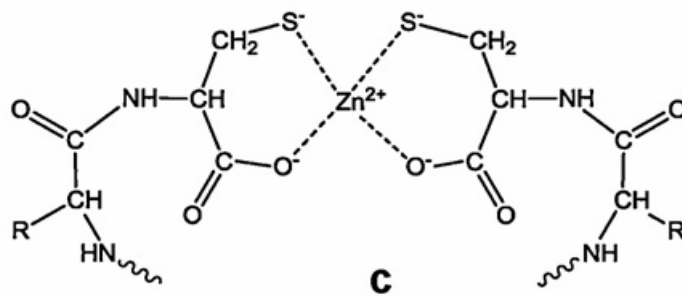
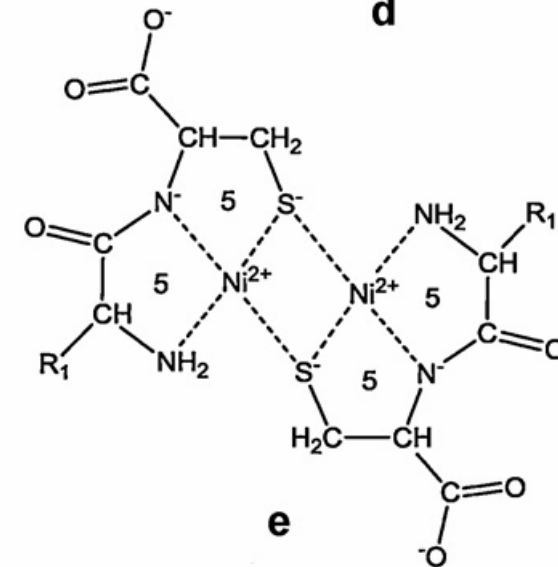
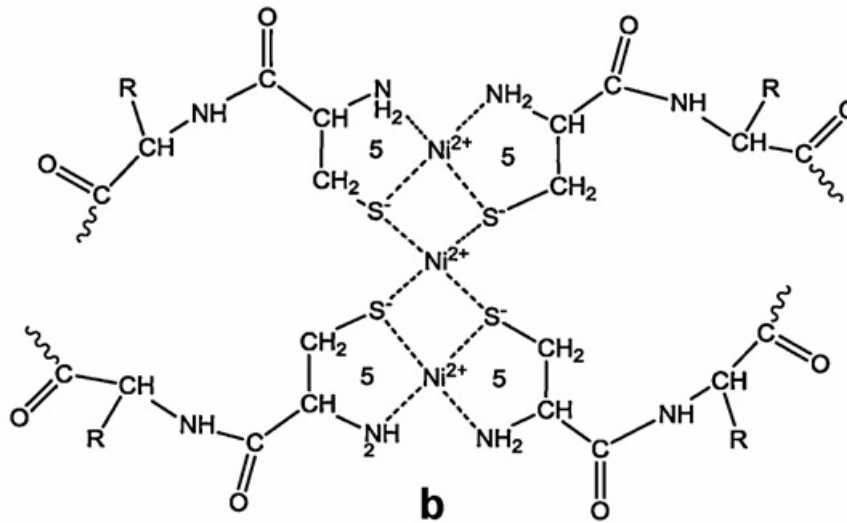
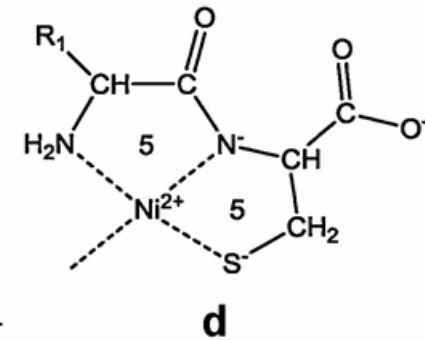
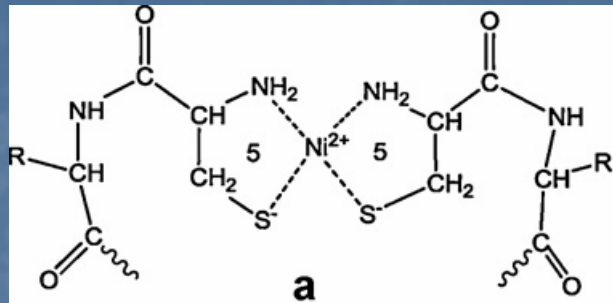
## Σύμπλοκα Cu(II), Ni(II) με πεπτίδια που περιέχουν το αμινοξύ ιστοιδίνη (His). Συμπεράσματα

- n (i) Η παρουσία ιστοιδίνης στην N-τελική θέση ενός πεπτιδίου παρεμποδίζει τον ιονισμό και ένταξη αμιδικών ατόμων αζώτου με τα μεταλλικά ιόντα, λόγω του σχηματισμού του θερμοδυναμικά σταθερού σωματιδίου ML με ένταξη τύπου ισταμίνης (N(3), α-NH<sub>2</sub>)
- n (ii) Η παρουσία ιστοιδίνης στην C-τελική ή ενδιάμεσες θέσεις αυξάνει μεν την σταθερότητα των σχηματιζόμενων συμπλόκων, παρεμποδίζει δε την ένταξη των ατόμων δοτών των αμινοξικών καταλοίπων που την ακολουθούν (ιστιδίνη) στην αλληλουχία.





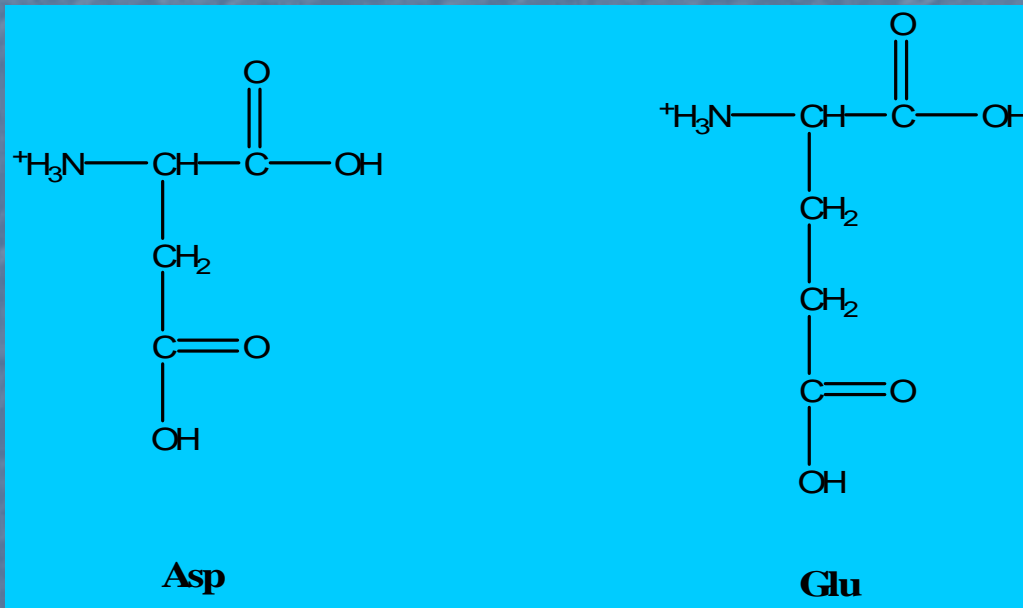
# Σύμπλοκα πεπτιδίων που περιέχουν το αμινοξύ κυστεινή





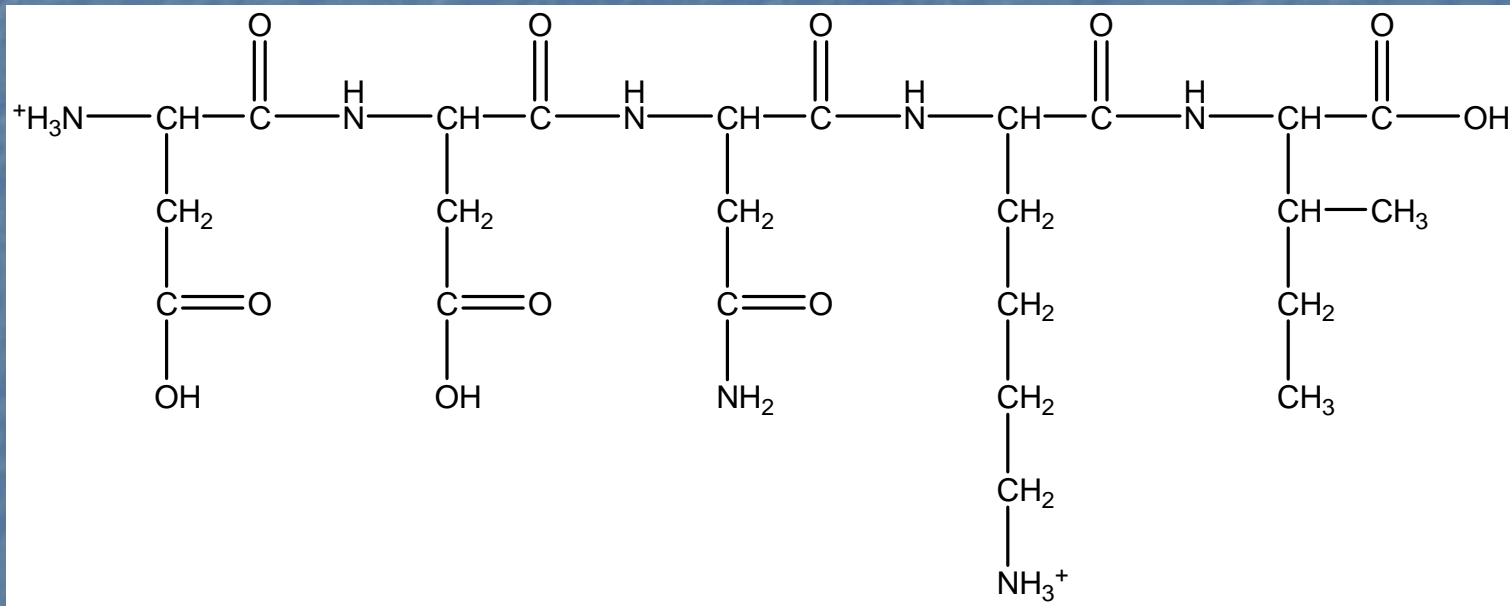
# Σύνπλοκα πεπτιδίων που περιέχουν τα αμινοξέα ασπαρτικό οξύ

(Asp) και γλουταμικό οξύ (Glu)



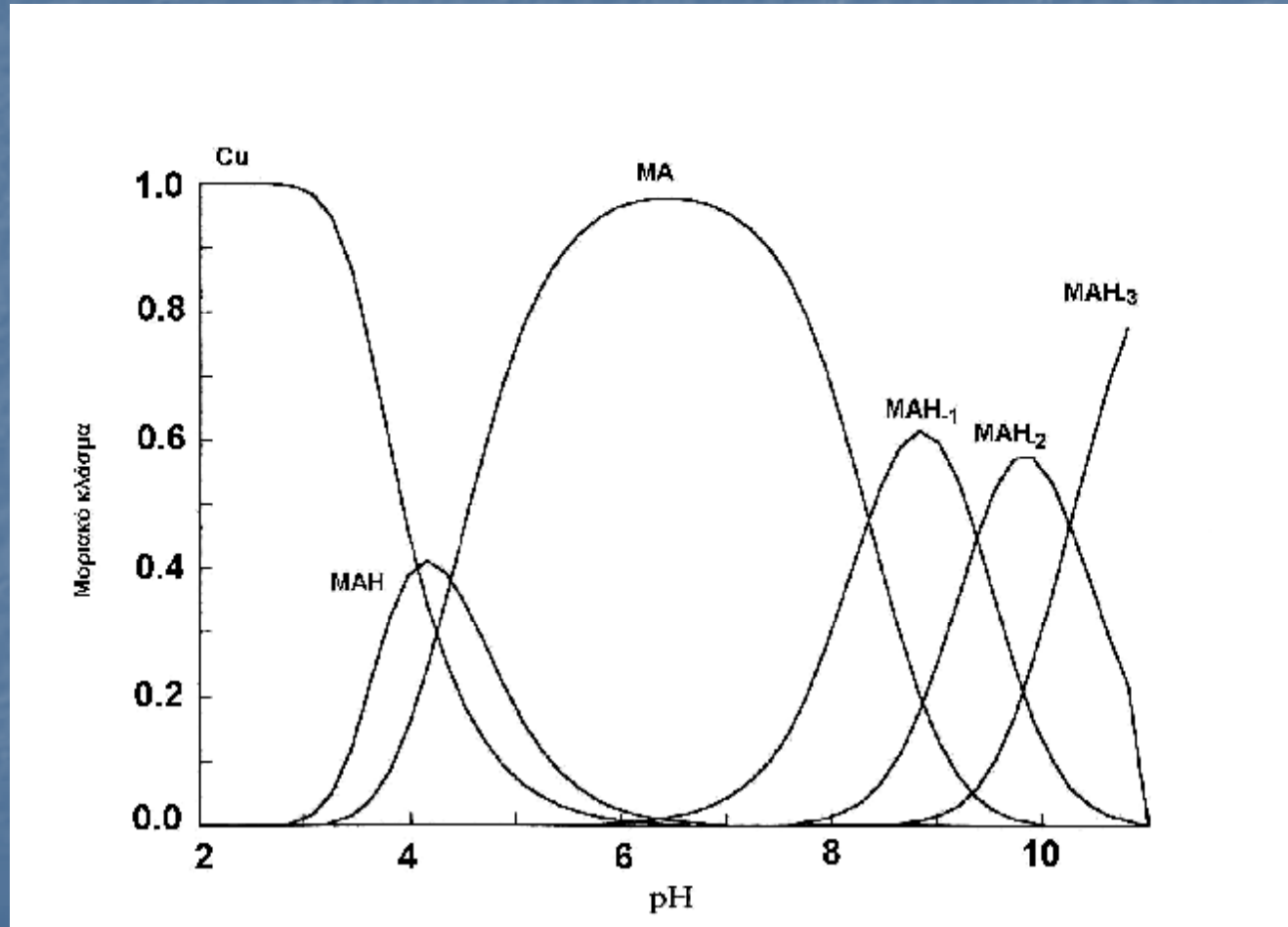
**Σύμπλοκα πεπτιδίων που περιέχουν τα αμινοξέα ασπαρτικό οξύ  
(Asp) και γλουταμικό οξύ (Glu)**

- ▶ Το σύστημα Cu(II):Asp-Asp-Asn-Lys-Ile

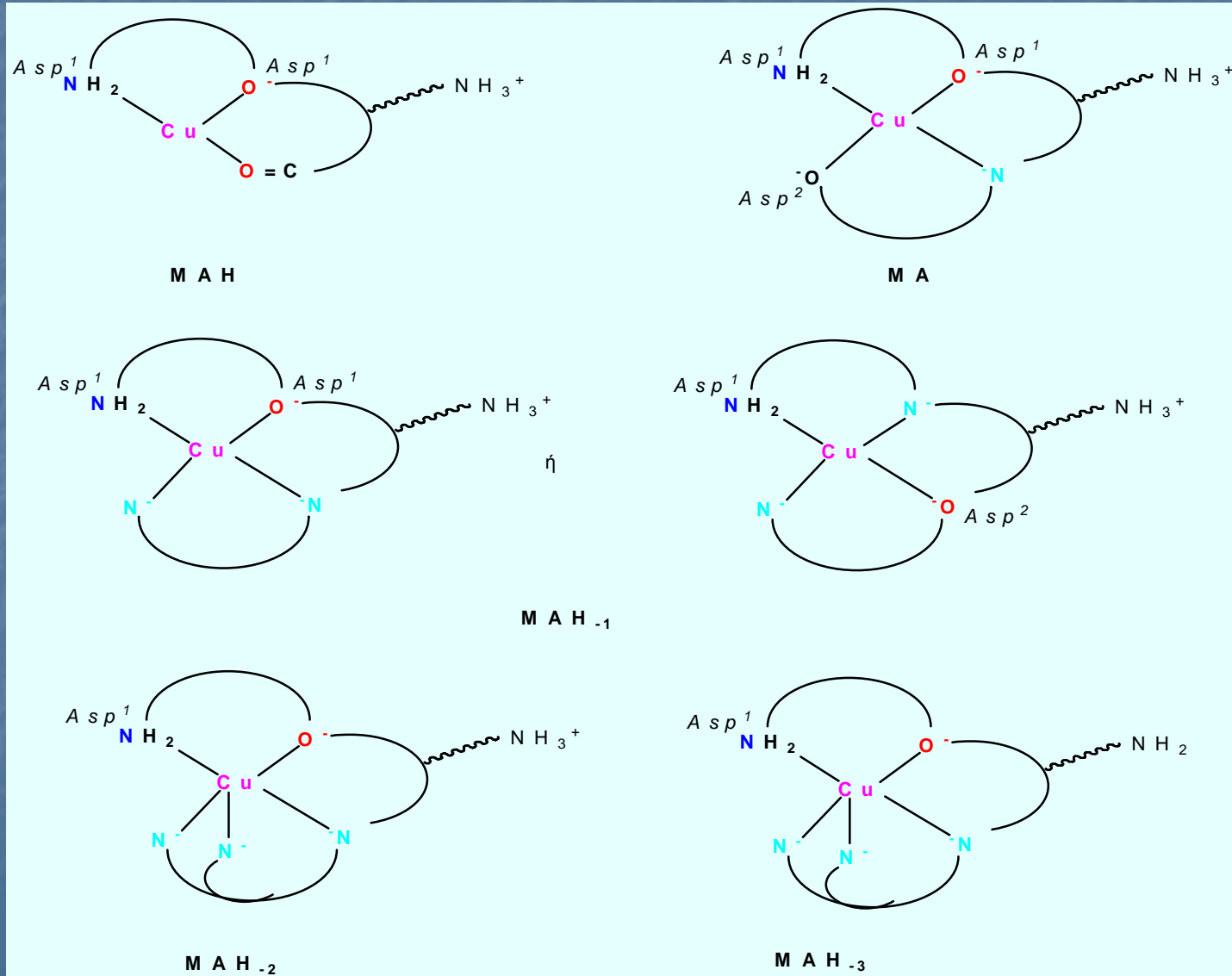


**Σύμπλοκα πεπτιδίων που περιέχουν τα αμινοξέα ασπαρτικό οξύ (Asp) και γλουταμικό οξύ (Glu)**

n  $\text{CuAH} \rightleftharpoons \text{CuA} \rightleftharpoons \text{CuAH}_{-1} \rightleftharpoons \text{CuAH}_{-2} \rightleftharpoons \text{CuAH}_{-3}$



# Σύμπλοκα πεπτιδίων που περιέχουν τα αμινοξέα ασπαρτικό οξύ (Asp) και γλουταμικό οξύ (Glu)





*Σύμπλοκα πεπτιδίων που περιέχουν τα αμινοξέα ασπαρτικό οξύ (Asp) και γλουταμικό οξύ (Glu)*

**n Συμπεράσματα**

- (α) Η παρουσία Asp στο N-τελικό άκρο ενός πεπτιδίου αυξάνει την ικανότητα ένταξης αυτού και παρεμποδίζει τον ιονισμό και ένταξη αμιδικών ατόμων N
- (β) Η παρουσία Asp στο C-τελικό άκρο επηρεάζει σημαντικά την σταθερότητα των σχηματιζόμενων σωματιδίων
- (γ) Η παρουσία Asp στην δεύτερη θέση της αλληλουχίας έχει ως αποτέλεσμα την διευκόλυνση του ιονισμού και ένταξης του πρώτου πεπτιδικού ατόμου N και την αντίστοιχη παρεμπόδιση των υπολοίπων

## **Σύμπλοκα πεπτιδίων που περιέχουν τα αμινοξέα ασπαρτικό οξύ (Asp) και γλουταμικό οξύ (Glu)**

(δ) Η παρουσία Asp στην τρίτη θέση της αλληλουχίας έχει ως αποτέλεσμα την ένταξη τριών ατόμων αζώτου ( $\alpha$ -NH<sub>2</sub>, δυο αμιδικά καθώς και το  $\beta$ -COO<sup>-</sup> του ασπαρτικού)

Ο ιονισμός και η συνακόλουθη ένταξη των πεπτιδικών ατόμων αζώτου λαμβάνει χώρα συνεργατικά και έτσι 2N σωματίδια της μορφής ( $\alpha$ -NH<sub>2</sub>, N(-)) δεν ανιχνεύονται

(ε) Τα παραπάνω συμπεράσματα (α-δ) έχουν περιορισμένη ή καθόλου εφαρμογή στα αντίστοιχα συστήματα όπου το αμινοξύ Asp αντικαθίσταται απ' το αμινοξύ Glu

(στ). Τα σχηματιζόμενα σύμπλοκα στα παραπάνω συστήματα είναι στην μεγάλη τους πλειοψηφία μονοπυρηνικά

# Ενδεικτική Βιβλιογραφία

- n Imre Sovago, Katalin Osz, *Dalton Trans.*, (2006), 3841–3854.
- n Imre Sovago, Csilla Kallay, Katalin Varnagy, *Coordination Chemistry Reviews* 256 (2012) 2225– 2233